

DIEGO MUNHOZ GOMES

**POTENCIAL HORMÉTICO DE HERBICIDAS COM DIFERENTES MECANISMOS DE
AÇÃO EM *Urochloa decumbens* E *Eucalyptus urograndis***

Botucatu

2023

DIEGO MUNHOZ GOMES

**POTENCIAL HORMÉTICO DE HERBICIDAS COM DIFERENTES MECANISMOS
DE AÇÃO EM *Urochloa decumbens* E *Eucalyptus urograndis***

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Ciência Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Domingues
Velini

Botucatu

2023

G633p

Gomes, Diego Munhoz

Potencial hormético de herbicidas com diferentes mecanismos de ação em *Urochloa decumbens* e *Eucalyptus urograndis* / Diego Munhoz Gomes. -- Botucatu, 2023
146 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientador: Edivaldo Domingues Velini

1. Hormesis. 2. Subdoses. 3. Estímulo. 4. Eucalipto. 5. Planta daninha. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

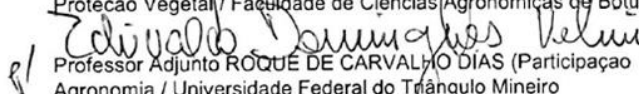
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: POTENCIAL HORMÉTICO DE HERBICIDAS COM DIFERENTES
MECANISMOS DE AÇÃO EM *Urochloa decumbens* E *Eucalyptus urograndis*

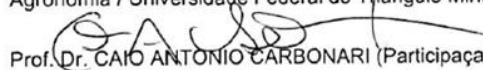
AUTOR: DIEGO MUNHOZ GOMES

ORIENTADOR: EDIVALDO DOMINGUES VELINI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Florestal, pela
Comissão Examinadora:


Prof. Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI (Participação Presencial)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu


Professor Adjunto ROQUE DE CARVALHO DIAS (Participação Virtual)
Agronomia / Universidade Federal do Triângulo Mineiro


Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI (Participação Presencial)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu

Botucatu, 02 de agosto de 2023

Primeiramente a Deus,

Aos meus amados pais, Maria Cristina e João Batista,

Aos meus avós,

A todos os meus familiares e amigos,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus acima de tudo e todos. Pelos momentos que me trouxe dificuldades para que me tornasse forte, por todas as dificuldades e problemas que me proporcionou, assim me tornando mais sábio, pelos perigos que me colocou, me dando mais coragem para superar os obstáculos, por todas as boas pessoas que colocou em minha vida, me ensinando a ser paciente e a amar.

Aos meus pais Maria Cristina Munhoz Gomes e João Batista Gomes, por todo amor, carinho, apoio, dedicação e compreensão em todos os momentos da minha vida. Jamais conseguirei expressar e retribuir tudo que vocês fizeram por mim. Saibam que serei eternamente grato. Os senhores são o maior e melhor presente que Deus pode dar a alguém, tenho muito orgulho dos senhores. Em resumo, gratidão, amo vocês.

A minha avó Maria Pedra, que me acolheu como filho em sua casa em toda a minha formação. A minha avó Leonilda (nenê), que sempre me deu carinho e suporte, sempre se preocupando mais comigo do que com ela. Ao meu falecido avô Flávio, por todos os momentos proporcionados na minha infância. Ao meu querido e amado avô Milton (naná), por todos os momentos que tivemos juntos, por todas as risadas, por todas as brincadeiras, ensinamentos, carinhos, por me tratar como um filho em sua vida, que Deus esteja com o senhor, muito obrigado por ter sido uma pessoa maravilhosa na minha vida, gostaria demais que o senhor estivesse presente neste dia, mas o senhor cumpriu o seu papel, combateu o bom combate, terminou a corrida (2 Timóteo 4:7).

Ao Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini, pelas oportunidades que colocou em minha vida, pela orientação, pela paciência, por todos os conselhos e por ter contribuído muito na minha formação pessoal e profissional. Que Deus continue abençoando o senhor, para que possa proporcionar oportunidades, e formar mais pessoas, assim como fez comigo.

Ao Prof. Dr. Caio Antônio Carbonari, por todos os ensinamentos e por toda a paciência. Saliento que este contribuiu muito para que eu estivesse aqui, pois foi meu orientador na graduação.

Ao Prof. Dr. Roque de Carvalho Dias, que me apresentou o laboratório e esteve comigo no começo dessa jornada. Com toda paciência transmitiu todo o seu conhecimento.

Aos técnicos do laboratório do Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), que se tornaram muito mais que amigos, José Guilherme Cordeiro, José Roberto Marques da Silva e Luiz Marcelo Siono, por toda a paciência, por todo aprendizado, pelo apoio, pelos momentos de descontração e por toda a ajuda prestada no laboratório e fora dele.

A todos os amigos do laboratório (NUPAM), que de alguma maneira, direta ou indiretamente estiveram juntos comigo neste caminho, Raphael Mereb Negrisoli, Saulo Plínio Simões, Renato Nunes Costa, Ana Karollyna Alves de Matos, Guilherme Bacarim Pavan, Ivana Santos Moisinho, Jéssica Alves Bonamichi, Leandro Bianchi, Maria Lúcia Bueno Trindade, Renan Fonseca Nascentes, Vitor Muller Anunciato, pelo aprendizado e companheirismo.

A minha noiva Fabiana, por todo o apoio nos momentos mais difíceis, pelo carinho, por toda a atenção, por todo tempo que estive do meu lado, sempre me incentivando, me dando forças, por todos os conselhos, por todo o tempo que deixava de fazer alguma coisa e me doava esse tempo precioso. Que Deus continue abençoando ela grandiosamente.

A todos os amigos da graduação, que sempre me apoiaram e que sempre estavam comigo me fazendo sorrir e transmitindo os seus conhecimentos, cada um com um conselho e aprendizado diferente.

Ao Programa de Pós- graduação em Ciência Florestal da Faculdade de Ciências Agronômicas – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu/SP, por permitir a obtenção deste título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que de alguma maneira contribuíram para que fosse possível concluir este projeto.

“O fracasso não acontece quando se erra, mas quando se desiste face ao erro”.

CORTELLA, Mario Sergio. Qual é a tua obra?: inquietações propositivas sobre gestão, liderança e ética. Editora Vozes Limitada, 2017.

RESUMO

Quando um organismo é exposto diretamente a um agente de estresse e verifica-se o comportamento bifásico da curva dose-resposta pode haver estímulo ou inibição em diferentes doses. O efeito bifásico da curva ocorre em doses muito elevadas, causando um efeito tóxico, ou em doses baixas, que contribuem com efeitos benéficos, essa caracterização é conhecida como hormesis. Estudos e pesquisas contribuem para entender e explicar esses efeitos. Para ampliar o conhecimento sobre o tema em questão, o objetivo do trabalho é avaliar a ocorrência de hormesis em plantas, causadas por herbicidas que atuam em diferentes mecanismos de ação. Mudas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *Urochloa decumbens* foram transplantadas em unidades experimentais de 1,7 litros. Os tratamentos foram dispostos em delineamento de blocos casualizados com seis repetições. Os herbicidas testados foram glyphosate; 2,4-D; flumioxazin; isoxaflutole e glufosinate para ambas as espécies. As doses utilizadas tem como referencial a dose de bula do herbicida, identificada como “x”, desta maneira as plantas foram submetidas a dez doses de cada herbicida: 4x; 2x; x; x/2; x/4; x/8; x/16; x/32; x/64; x/128 e 0 (tratamento controle sem aplicação). As avaliações foram realizadas por meio de variáveis morfológicas: biomassa seca, altura, diâmetro e número de perfilhos, além da avaliação de fitotoxicidade, variáveis fisiológicas, variáveis fotossintéticas e consumo de água, além de taxa de assimilação líquida de CO₂; Transpiração foliar; Concentração interna de CO₂. Com base nas três variáveis citadas acima foram determinados, também, os valores de eficiência instantânea de carboxilação. As duas espécies testadas responderam de maneiras diferentes, não obtendo respostas homogêneas para todas as variáveis. Para a espécie *E. urograndis* clone I144 os herbicidas que apresentaram efeitos de estímulos ao final do experimento (28 dias após a aplicação) foram: 2,4-D em biomassa seca; flumioxazin em biomassa seca com fitointoxicação moderada, isoxaflutole nas análises fisiológicas e os demais herbicidas glufosinate, glyphosate não apresentaram estímulos nas subdoses testadas. A *U. decumbens* apresentou efeitos horméticos nos seguintes herbicidas e nas seguintes variáveis: glyphosate em altura e número de perfilhos, isoxaflutole nas variáveis fisiológicas e glufosinate com estímulo em altura e na biomassa seca, os demais não apresentaram resultados e ajuste de modelo para hormesis.

Palavras-chave: hormesis, subdoses, estímulo, eucalipto, planta daninha.

ABSTRACT

When an organism is directly exposed to a stress agent and the biphasic behavior of the dose-response curve is observed, there may be stimulation or inhibition at different doses. The biphasic effect of the curve occurs at very high doses, causing a toxic effect, or at low doses, which contribute beneficial effects; this characterization is known as hormesis. Studies and research contribute to understanding and explaining these effects. To expand knowledge on the topic in question, the objective of the work is to evaluate the occurrence of hormesis in plants, caused by herbicides that act on different mechanisms of action. Seedlings of *Eucalyptus urograndis* clone I144 and *Urochloa decumbens* were transplanted in 1.7 liter experimental units. The treatments were arranged in a randomized block design with six replications. The herbicides tested were glyphosate; 2,4-D; flumioxazin; isoxaflutole and glufosinate for both species. The doses used are based on the herbicide leaflet dose, identified as “x”, in this way the plants were subjected to ten doses of each herbicide: 4x; 2x; x; x/2; x/4; x/8; x/16; x/32; x/64; x/128 and 0 (control treatment without application). The evaluations were carried out using morphological variables: dry biomass, height, diameter and number of tillers, in addition to the evaluation of phytotoxicity, physiological variables, photosynthetic variables and water consumption, in addition to the net CO₂ assimilation rate; Leaf transpiration; Internal CO₂ concentration. Based on the three variables mentioned above, the instantaneous carboxylation efficiency values were also determined. The two species tested respond in different ways, not obtaining homogeneous responses for all variables. For the species *E. urograndis* clone I144, the herbicides that showed stimulus effects at the end of the experiment (28 days after application) were: 2,4-D in dry biomass; flumioxazin in dry biomass with moderate phytotoxicity, isoxaflutole in physiological analyzes and the other herbicides glufosinate and glyphosate did not present stimuli in the subdoses tested. *U. decumbens* showed hormetic effects on the following herbicides and the following variables: glyphosate on height and number of tillers, isoxaflutole on physiological variables and glufosinate with stimulus on height and dry biomass, the others did not show results and model adjustment for hormesis.

Keywords: hormesis, underdoses, stimulus, eucalyptus, weed.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
CAPÍTULO 1 – SUBDOSES DE GLYPHOSATE COM POSSÍVEL EFEITO HORMÉTICO EM <i>Eucalyptus urograndis</i> E <i>Urochloa decumbens</i>	22
1.1 INTRODUÇÃO	22
1.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
1.4 CONCLUSÃO.....	42
1.5 REFERÊNCIAS.....	43
CAPÍTULO 2- EFEITOS DE SUBDOSES DE 2,4-D EM <i>Eucalyptus urograndis</i> E <i>Urochloa decumbens</i>	46
2.1 INTRODUÇÃO	46
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
2.4 CONCLUSÃO.....	65
2.5 REFERÊNCIAS.....	67
CAPÍTULO 3 – SUBDOSES DE FLUMIOXAZIN COM POSSÍVEL EFEITO HORMÉTICO EM <i>Eucalyptus urograndis</i> E <i>Urochloa decumbens</i>	69
3.1 INTRODUÇÃO	69
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	70
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
3.4 CONCLUSÃO.....	90
3.5 REFERÊNCIAS.....	92
CAPÍTULO 4 – APLICAÇÃO DE SUBDOSES DE ISOXAFLUTOLE EM <i>Eucalyptus urograndis</i> E <i>Urochloa decumbens</i>	94
4.1 INTRODUÇÃO	94
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	95
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	99
4.4 CONCLUSÃO.....	114
4.5 REFERÊNCIAS.....	115
CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS EFEITOS HORMÉTICOS EM <i>Eucalyptus urograndis</i> E <i>Urochloa decumbens</i> APÓS APLICAÇÃO DO HERBICIDA GLUFOSINATE	117

5.1	INTRODUÇÃO.....	117
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS	118
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	122
5.4	CONCLUSÃO	137
5.5	REFERÊNCIAS	138
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	141
	REFERÊNCIAS.....	143

INTRODUÇÃO GERAL

O termo hormesis foi criado em 1943, por Southam e Ehrlich, com base na palavra grega “hormo”, que significa “excitar”. Até onde foi possível avançar no levantamento de dados históricos, efeitos estimulatórios e inibitórios de uma mesma substância em diferentes doses foram citados pela primeira vez por Paracelsus.

O fenômeno caracterizado como hormesis foi relacionado a herbicidas inicialmente nos anos de 1950 (Minarik et al., 1951), sendo a partir de então, objetivo de diversos trabalhos que buscaram investigar o comportamento de doses sub letais de diversos herbicidas em plantas (Riepma, 1954; Miller et al., 1962; Ascherman, 1963; Ries et al., 1967; Wiedman; Appleby, 1972).

O efeito hormético ocorre quando ao expor um organismo a um agente de estresse verifica-se o comportamento bifásico da curva dose-resposta, havendo estímulo ou inibição em diferentes doses (Bukowski; Lewis, 2000; Calabrese, 2004; Mattson, 1997; Murado; Vásquez, 2010).

Este ocorre quando há efeitos tóxicos de uma substância benéfica aplicada em doses excessivas ou quando uma substância tóxica é benéfica se aplicada em baixas doses. Herbicidas, desenvolvidos para intoxicar plantas, são compostos particularmente interessantes para avaliar a ocorrência de hormesis considerando que seus efeitos e doses de aplicação já estão bem estabelecidos, simplificando a estratégia experimental e a definição do que são doses normais, baixas e altas. Sabe-se que a principal função de um herbicida é o controle de plantas daninhas, algumas vezes por diversos motivos isto não ocorre e pode causar estímulo dessas plantas.

Doses desuniformes de defensivos agrícolas são comumente aplicadas em condições de campo. A baixa quantidade de trabalhos sobre o assunto acabam evidenciando deposições de defensivos com alto grau de variabilidade ao longo da planta, seja somente em folhas, planta inteira ou alvos artificiais (Velini et al., 2017). A consequência da variabilidade são as combinações de doses juntamente com a pressão de seleção em função de uma dose mal ajustada ou desuniforme (Velini et al. 2016). A tecnologia de aplicação mostra-se fundamental para que esses erros sejam corrigidos, deve-se entender que mesmo perante a aplicação de subdoses de um produto há indivíduos dentro de uma mesma parcela que irão ser subjulgados a

doses acima da recomendada, e da mesma maneira, o uso de doses elevadas não irá assegurar que algumas plantas não irão receber subdoses do produto. Este aspecto é relevante considerando que Powles e Yu (2010) observaram que doses de herbicidas acima do recomendado acabam resultando em um alto grau de fitotoxicidade e posteriormente a morte da planta, porém essa quantidade aplicada pode selecionar genes resistentes raros, acarretando em plantas resistentes e de difícil controle. Neste segmento os mesmos autores notaram que subdoses de herbicidas acarretam na morte de algumas plantas, mas não acontece o controle total das plantas invasoras, selecionando todos os possíveis genes de resistência, ou seja, os genes de alta e baixa intensidade.

A desuniformidade da aplicação se dá por diversas maneiras entre elas temos o estádios fenológicos e tamanho das plantas, segundo Vila-Aiub e Ghera (2005), a variação na quantidade de ingrediente ativo que chega por unidade de peso ou de área foliar das plantas alvo não é homogênea.

Outro fator relevante a ser considerado no momento da aplicação que afeta as doses unitárias de produtos são os ricocheteamentos da barra de pulverização, tanto no sentido vertical quanto no sentido horizontal (Speelman; Jansen, 1974; Nation, 1982; Langenakens et al., 1999; Ooms et al., 2003), a proteção pela cobertura morta (Tokura, 2006) e a proteção por outras plantas daninhas ou cultivadas (Silva, 2000; Gazziero et al., 2006; Souza et al., 2007; Vila-aiub; Ghera, 2005). Matos (2018) trabalhando com misturas de sulfentrazone e diuron observou que características das formulações, a diferença de solubilidade e densidade entre os herbicidas, o tempo entre o preparo da solução e a aplicação e as falhas dos sistemas de agitação dos tanques de pulverizadores aumentam a desuniformidade das doses pontualmente aplicadas sendo observadas amplitudes de até 35% nas doses de diuron. O autor também observou que o intervalo de seis horas entre o preparo da solução e a aplicação reduziu em até 18,64% a dose média de diuron depositada nos alvos. É importante destacar que as causas de variação nas doses pontuais ou unitárias citadas ocorrem simultaneamente em aplicações de herbicidas em áreas de produção.

Gazziero et al. (2006) e Souza et al. (2007) avaliaram a variabilidade de doses depositadas em plantas daninhas em início de desenvolvimento na cultura da soja. A análise das informações obtidas pelos autores indica que as plantas

daninhas que receberam doses abaixo do recomendado e não sofreram sintomas de fitointoxicação, sofreram efeitos horméticos.

Além da variação da dose de aplicação, as plantas podem entrar em contato com baixas doses de herbicidas por várias causas: erros no preparo de caldas; deposição por deriva, ao não seguir as recomendações das condições de aplicação (Carbonari et al., 2011); pelo contato de folhas, raízes e outras estruturas de plantas não tratadas e tratadas; absorção a partir do solo de herbicidas fortemente sorvidos e pouco disponíveis; absorção a partir do solo quando a concentração do herbicida foi reduzida por degradação; se houve chuva após a aplicação e a quantidade do herbicida remanescente na folha foi reduzida (Velini et al., 2010); pelo efeito “guarda-chuva” de plantas maiores sobre as menores, reduzindo a quantidade de produto que atinge as plantas menores e quando ocorre a aplicação proposital de baixas doses como no uso de herbicidas como maturadores.

Os trabalhos de Calabrese (2007), Calabrese e Agathokleous (2020) e Agathokleous et al. (2020) indicam que os efeitos horméticos são de ocorrência geral em diferentes espécies, abrangendo procariotos, fungos, plantas, invertebrados e mamíferos, incluindo os seres humanos e se aplicam a possivelmente todos os agentes de estresse. Agathokleous et al. (2020) observaram que as pesquisas em hormesis estão se desenvolvendo rapidamente na área vegetal, com importantes implicações para a avaliação de risco, biologia de estresse e agricultura. Os autores discutiram ainda os mecanismos envolvidos nos efeitos horméticos, os efeitos de estresses combinados e a duração dos efeitos horméticos.

Calabrese e Agathokleous (2020) também afirmaram que a curva de dose-resposta bifásica, que caracteriza a hormesis, tem ocorrência geral independentemente do sistema biológico, do nível de organização do organismo envolvido, da característica avaliada e do agente de estresse considerado e seu mecanismo de ação.

A magnitude das respostas estimulantes observadas em todos os campos da ciência, para os diferentes compostos tóxicos e organismos, varia em média entre 30 e 60% acima da testemunha (Calabrese; Blain, 2005; Calabrese, 2008, 2010). Especificamente para herbicidas, os estímulos em plantas podem chegar a 100%, mas em geral, estão entre 20-30% de estímulo após aplicação de subdoses (Cedergreen et al., 2005).

Estímulos em características indicadoras de crescimento já foram observados em diversas culturas, como por exemplo, eucalipto (Velini et al., 2008; Nascentes, 2016), pinus (Velini et al., 2008) e soja (Velini et al., 2008; Silva et al., 2015).

A espécie alvo desta dissertação *Urochloa decumbens* é uma espécie amplamente cultivada como forrageira e, também, citada como uma das principais plantas daninhas do Brasil em várias culturas (Queiroz et al., 2014; Bianco et al., 2005; Lorenzi, 2000), destacando-se culturas perenes. Além dos problemas de competição com outras culturas, esta espécie também pode apresentar efeito alelopático, como observado em culturas de eucalipto, algodão, milho, arroz, soja e trigo (Souza et al., 2003; Souza et al., 2006; Timossi et al., 2006; Kobayashi e Noguchi, 2015).

A espécie *Urochloa decumbens* possui uma grande relevância como planta daninha ou cultivada, por ser facilmente reproduzida por meio de sementes e vegetativamente, por produzir sementes predominantemente apomíticas (Valle e Savidan, 1996) o que reduz a variabilidade genética (Goulart et al., 2007) e aumenta a reprodutibilidade dos resultados experimentais. Sendo possível obter padrões analíticos dos compostos alelopáticos identificados por Kobayashi e Noguchi (2015). Especificamente para *Urochloa decumbens*, é bastante relevante avaliar os possíveis efeitos do glyphosate sobre a produção de sementes, conforme já observado em outras espécies por Gomes (2014), Anunciato (2018), Cesco (2018) e Mollae (2020). Possíveis aumentos na produção de sementes podem ser muito significativos em termos de manejo dessa espécie quando ocorre como planta daninha, mas pode contribuir para a produção de sementes quando o objetivo é o seu cultivo.

É necessário aprofundar as pesquisas sobre os mecanismos de ação envolvidos nos efeitos horméticos considerando a grande diversidade de espécies e agentes de estresse para os quais esses efeitos são observados. O entendimento dos mecanismos de ação certamente contribuirá para que possam ter possíveis usos práticos para as substâncias que causam efeitos horméticos ou para as informações sobre estímulo de crescimento ou reprodução obtidas neste tipo de pesquisa.

A aplicação de doses de herbicidas baixas o suficiente para causar hormesis pode ser frequente e relevante em condições de campo, justificando a realização de

estudos para caracterizar possíveis efeitos horméticos de vários herbicidas e não apenas do glyphosate.

É possível notar na literatura que poucos são os trabalhos publicados com hormesis em comparação com demais trabalhos realizados nas áreas de ciências agrárias e florestais, desta maneira muitos dos trabalhos são voltados a estudos e revisões de literatura, além da grande maioria das pesquisas serem relacionadas com os efeitos causados em plantas por subdoses de glyphosate.

Desta maneira ao observar a falta de estudos com vários herbicidas e os seus possíveis efeitos horméticos sobre o gênero *Eucalyptus* sp. e a espécie *Urochloa decumbens*, a qual é uma das principais plantas daninhas competidoras com o gênero *Eucalyptus*, faz-se necessário avaliar a ocorrência de hormesis de herbicidas que atuam em diferentes mecanismos de ação.

CAPÍTULO 1

SUBDOSES DE GLYPHOSATE COM POSSÍVEL EFEITO HORMÉTICO EM *Eucalyptus urograndis* E *Urochloa decumbens*

1.1 INTRODUÇÃO

O glyphosate é um herbicida de ação sistêmica, aplicado em pós-emergência, que controla um amplo espectro de plantas daninhas (Franz et al., 1997), não seletivo, exceto para as culturas geneticamente modificadas que possuem tolerância a este herbicida (Galli, 2009). Derivado de aminoácidos, apresentando como mecanismo de ação a inibição da enol-piruvil-shikimato-fosfato sintetase (EPSPS; EC 2.5.1.19), é facilmente translocável, desta maneira é possível observar a morte de estruturas reprodutivas, como bulbos, rizomas e tubérculos, acarretando até mesmo na morte do sistema radicular (Kruse et al., 2000).

A inibição da enzima EPSPs (5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase) é realizada através do glyphosate, o único composto capaz de realiza-la em doses ou concentrações que viabilizem seu uso comercial como herbicida (Velini et al., 2009). A EPSPs faz parte da rota do ácido chiquímico, é a enzima responsável por uma das etapas de síntese dos aminoácidos aromáticos triptofano, fenilalanina e tirosina (Kruse et al., 2000), essenciais para o crescimento e sobrevivência das plantas (Luchini, 2009), e que também funcionam como precursores de muitos metabólitos secundários incluindo pigmentos, flavonoides, auxinas, fitoalexinas, lignina e taninos (Herrmann, 1995). Aproximadamente 20% do carbono fixado pela fotossíntese e 35% da matéria seca da planta é derivada desta rota (Gazziero; Prete, 2004).

A ação do glyphosate na rota do ácido chiquímico, representa o processo de senescência e morte da planta tratada por este composto, este processo se deve a falha na produção de um vasto conjunto de compostos que derivam dessa rota, assim como a desregulação do fluxo de carbono afetando a redução da síntese proteica em função da redução das concentrações dos aminoácidos aromáticos (Velini et al., 2009). Os sintomas de injúria que podem ser percebidos visualmente desenvolvem-se lentamente. Pode ser observado uma redução no porte das plantas devido a inibição de crescimento, com posterior amarelecimento, clorose, necrose e morte (Marchesi, 2016).

No ambiente, o glyphosate é rapidamente inativado no solo pela sorção dos

coloides, com ($\text{Koc } 24000 \text{ mg L}^{-1}$) ou pela rápida degradação microbiana (Gimsing et al., 2004). Como resultado da forte sorção, o glyphosate é pouco lixiviável no solo (Rodrigues; Almeida, 2011). Ao longo dos últimos 40 anos o glyphosate provou por que é o herbicida mais conhecido e mais utilizado no controle de plantas daninhas, este fato deve-se ao seu controle eficiente sobre um amplo espectro de plantas daninhas, além de sua capacidade de translocação nas plantas, possibilitando o uso de gotas mais grossas em sua aplicação, evitando assim o risco de deriva, mostrando-se como um herbicida com segurança toxicológica e ambiental, juntamente com um baixo custo (Marchesi, 2016). A descrição da síntese desse composto é de 1964, originalmente desenvolvido como agente quelante industrial, seu uso como herbicida foi registrado em 1971 (Ahsan et al., 2008; Preston; Wakelin, 2008).

O bloqueio da via do ácido chiquímico resulta no acúmulo de chiquimato nos tecidos das plantas tratadas com glyphosate levando a uma deficiência de produtos finais importantes, tais como lenhinas, alcaloides, flavonoides e uma diminuição da fixação de CO_2 e produção de biomassa de uma forma dependente da dose (Olesen; Cedergreen, 2010). A inibição da EPSPs causada devido ao acúmulo de chiquimato, a medição deste e de outros metabólitos, buscam relacionar esses resultados com o efeito benéfico da hormesis em baixas doses de glyphosate (Nascentes, 2016; Singh; Shaner, 1998; Velini et al., 2008).

Quanto à exposição e aplicação sequencial de subdoses de glyphosate, Silva et al. (2015) observaram que a pré-exposição de plântulas de soja a tratamentos com subdoses de glyphosate promoveu maiores estímulos de crescimento e que as doses horméticas ótimas foram geralmente maiores em plantas pré-tratadas do que as plantas que não tinham sido expostas previamente ao glyphosate. Assim, a pré-exposição a subdoses de glyphosate pode intensificar a resposta hormética quando há uma segunda exposição da planta a uma dose baixa de glyphosate.

Em termos de identificação das doses que promovem estímulo máximo, Moraes (2016) avaliando plantas de *Urochloa decumbens* submetidas a doses e subdoses de glyphosate verificou estímulos máximos atingidos com a dose $11,25 \text{ g e.a. ha}^{-1}$. E, ao comparar seis experimentos com a aplicação dessa subdose, concluiu que a dose de $11,25 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ de glyphosate pode tanto estimular quanto inibir o crescimento nas várias repetições dos experimentos individualmente consideradas. A autora concluiu que as doses que promovem inibição ou estímulo

são muito próximas tornando difícil o uso das doses horméticas para aumentar o crescimento dessa forrageira em especial, considerando-se que as doses de herbicidas não são uniformes no campo, como comentado anteriormente.

Para o uso desse composto com intervalos de doses que produzam hormesis é necessário entender que o estímulo está diretamente correlacionado com os estádios de desenvolvimento da plantas, assim como a diferença de resposta entre espécies (Meschede et al., 2008; Carvalho et al., 2013). O estágio de crescimento da planta e estado fisiológico, juntamente com a exposição às baixas doses podem afetar significativamente a qualidade e quantidade das características das respostas ao efeito (Belz; Duke, 2014).

Velini et al. (2008), verificaram efeito hormético de glyphosate em culturas de milho, soja, eucalipto e pinus a partir de 1,8 até 36 g 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.

A subdose de 10,5 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate pulverizada em plantas de *Urochloa brizantha* proporcionou incremento na produção de massa seca de 31,8% em relação ao controle, porém, em avaliações mais tardias, a subdose de 12,62 g e.a. ha⁻¹ foi a que se destacou, e promoveu aumento de 21,8% na produção de massa seca (Nascentes et al., 2015).

Alguns estudos conduziram análises fisiológicas com o objetivo de contribuir no entendimento dos efeitos horméticos de glyphosate. Cedergreen e Olesen (2010), demonstraram que plantas de cevada expostas a subdoses de glyphosate (11 a 45 g e.a. ha⁻¹), apresentaram estímulos na fotossíntese das folhas que persistiram até a colheita. Mais recentemente, estímulos da taxa de assimilação de CO₂, condutância estomática e taxa de transpiração das folhas de cana-de-açúcar também foram observados após aplicação de subdoses de glyphosate (Nascentes et al, 2016). Nascentes et al (2016) demonstraram que subdoses do composto foram responsáveis por estímulos nos parâmetros morfológicos, como o peso de folha e caule.

Em resumo, baixas doses de glyphosate podem estimular o crescimento e a produção de várias espécies. Também são descritos estímulos do glyphosate à capacidade das plantas sensíveis ou resistentes a este herbicida se reproduzirem (Gomes, 2014; El-Shahawy; Sharara, 2011; Anunciato, 2018; Cesco, 2018; Mollae, 2020). Merecem destaque os efeitos de baixas doses de glyphosate antecipando o

florescimento e aumentando o número de inflorescências e sementes produzidas por genótipos resistentes a este herbicida. Além da pressão de seleção exercida pelo próprio herbicida, possivelmente os efeitos benéficos do glyphosate à reprodução dos genótipos resistentes são relevantes para que estes genótipos se tornem dominantes nos locais de aplicação com uso contínuo do glyphosate (Anunciato, 2018; Cesco, 2018).

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

1.2.1 Avaliação da ocorrência de hormesis de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *U. decumbens* após aplicação de subdoses de glyphosate

Os estudos foram conduzidos em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente ao Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, campus de Botucatu, SP.

As unidades experimentais foram compostas por vasos com capacidade de 1,7 litros, preenchidos com substrato Carolina Soil® composto por turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada, com pH 5,7 ($\pm 0,5$). As condições de semeadura, desbaste, transplante das mudas e condução foram ajustadas para cada espécie. As plantas foram mantidas em bancadas sob condição de plena luz antes e após a aplicação. As aplicações foram feitas quando as plantas de *Urochloa decumbens* estavam com 4-5 perfilhos em média e as plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 estavam com aproximadamente 30-35 cm de altura. Os ensaios foram conduzidos com seis repetições. A época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições meteorológicas estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições de umidade e temperatura no momento da aplicação do experimento.

Espécies	Época		Estádio da planta			Condição de aplicação	
	Transplante semeadura	Aplicação	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Nº de perfilho	Temperatura (°C)	Umidade (%)
Eucalyptus	05/09/22	24/09/22	30-35	3,5-5	--	27	72
Urochloa	24/09/22	24/10/22	28-31	--	4-5	28	75

As avaliações finais de biomassa seca (parte aérea) foram realizadas aos 28 dias após a aplicação (DAA). Foram realizadas avaliações de altura das plantas, diâmetro do caule do eucalipto e contagem de perfilhos da *Urochloa decumbens* aos 3; 7; 14; 21 e 28 DAA. Além das avaliações visuais de injúria (fitointoxicação) segundo a escala percentual de notas, onde “0” corresponde a nenhuma injúria e “100” significa a morte das plantas, conforme a Sociedade Brasileira da Ciência em plantas Daninhas (1995).

A altura da planta de *E. urograndis* clone I144 foi determinada da base do caule da planta ao ápice da planta, enquanto o diâmetro foi mensurado com auxílio de um paquímetro digital, à altura de três centímetros do colo da planta. As plantas de *U. decumbens* foram mensuradas (altura) da base da planta até a folha mais longa (ápice da planta).

Para determinar a matéria seca das plantas, as amostras foram acondicionadas em estufa com circulação forçada de ar, mantendo-se 60 °C constantes por 15 dias, posteriormente pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g.

As avaliações de consumo de água e das variáveis fotossintéticas foram realizadas em parte dos tratamentos (*E. urograndis* clone I144, doses de 12,7; 50,65 e 405 g e.a ha⁻¹ e *U. decumbens*, doses de 12,7 e 50,65 g e.a ha⁻¹), considerando o tempo necessário para obter essas informações em cada unidade experimental. Foram utilizadas duas unidades analisadores de gás por infravermelho, IRGA LCpro-SD (ADC BioScientific Ltd, UK) equipados com compensadores de luz e com a concentração de CO₂ ambiente. Foram analisadas as seguintes variáveis: i) taxa de assimilação líquida de CO₂ (A, em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$); ii) Transpiração foliar (E, em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$); iii) Concentração interna de CO₂ (Ci, em $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Com base nas três variáveis citadas acima foram determinados, também, os valores de eficiência instantânea de carboxilação (EiC) ((A/Ci), em $(\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$) e eficiência do uso de água (EUA) ((A/E), em $(\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1})^{-1}$).

As aplicações dos herbicidas foram realizadas com auxílio do simulador de aplicação, com controle de velocidade, pressão e vazão. Sendo utilizada barra de aplicação equipada com quatro pontas de pulverização XR 11002 espaçadas de 50 cm e pressurizada a 2 bar. A velocidade foi de 1 m s⁻¹ condicionando volume de aplicação de 200 L ha⁻¹.

Foi utilizada uma ampla faixa de doses com o objetivo de avaliar a ocorrência de hormesis, os efeitos ocorrem em doses muito inferiores às de uso comercial. Tomando como referencial a dose de bula do herbicida (Crucial) (1620 g e.a ha⁻¹), identificada como “x”, foram utilizadas as seguintes doses: 4x; 2x; x; x/2; x/4; x/8; x/16; x/32; x/64; x/128 e 0 (tratamento controle sem aplicação). As doses acima da dose comercial contribuíram no ajuste de modelos permitindo a estimativa precisa dos valores mínimos previstos para a biomassa.

1.2.2 Procedimentos para a análise dos resultados

Para as curvas dose-resposta, realizadas nos estudos foram ajustados modelos de regressão não-linear apresentados por Brain e Cousens (1989) e Streibig (1980) seguindo o procedimento descrito por Velini et al. (2008). Para estes dados foi utilizado o programa estatístico R e para confecção dos gráficos o programa Sigmaplot 12.5, sendo também calculados o intervalo de confiança (p=0,05) da média no software Microsoft Excel, sendo eles adicionados às médias nos gráficos (Equação 1).

$$\text{Equação 1: } Ic = \frac{t \cdot DP}{\sqrt{n}}$$

Onde, Ic = Intervalo de confiança, t = valor de t tabelado a 5%, DP = desvio padrão e $\sqrt{n}$ = raiz quadrada do número de repetições.

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

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

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

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

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

Os modelos acima usam estrutura unificada com coeficiente “b” parametrizado, denotando a inclinação da curva dose-resposta, “c” e “d” representam as assíntotas inferior e superior respectivamente, ou limites da resposta, e o parâmetro “e” é o logaritmo do ponto de inflexão. No modelo de Braian e Cousens (1988) há uma adição do coeficiente “f”, sendo o ponto que o diferencia do modelo de Streibig (1980), desta maneira este parâmetro se refere a taxa de estímulo, o que leva a deduzir o efeito hormético, porém segundo KNEZEVIC; STREIBIG e RITZ (2007) e SCHABENBERGER et al. (1999) esse efeito só se torna verdadeiro quando for diferente de 0 a 5% de probabilidade. Desta maneira as variáveis que apresentaram efeito hormético foram ajustadas dentro do modelo 1.

O ajuste dos dados no modelo de 5 parâmetros só é realizado a partir da análise entre a diferença da soma de quadrado médio da regressão dos dois modelos. A associação do quadrado médio com a inclusão do coeficiente “f” é testado com um grau de liberdade. Assim se o quadrado médio do modelo 1 for maior que o modelo 2 rejeita-se a hipótese de $f=0$, ocorrendo o estímulo de hormesis e assim aplicando o modelo 1. Na ocorrência do valor do quadrado médio não se mostrar significativo, a hipótese $f=0$ foi aceita e assim conclui-se que não havia efeito de hormesis e utilizou-se o modelo 2 (4 parâmetros) (Velini, 2008).

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.3.1 Altura

As plantas de *U. decumbens* e *E. urograndis* clone I144 apresentaram redução do crescimento em doses acima de 202,5 e 810 g e.a ha⁻¹ respectivamente, ocorrendo na região dos meristema uma pequena clorose, a qual, foi seguida de necrose foliar. As plantas de *E. urograndis* clone I144 apresentaram leves estrias brancas nas brotações novas. A espécie *U. decumbens* quando submetida as doses

de 101,3 e 202,5 g e. a há⁻¹ aumentaram o número de perfilhos. Em seguida houve o murchamento das folhas e morte das plantas. Este é um herbicida com ação sistêmica, sendo translocado facilmente.

Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão deste item se apresentam expostos na Tabela 2 e 3.

Tabela 2 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para altura de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o glyphosate

<i>E. urograndis</i> clone I144 altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	2,157**	2,723**	3,639**	5,725**	9,520**
Hipótese f≠0	--	--	--	--	0,035
Modelo	--	--	--	--	2
Regressão	--	--	--	--	26,30
R^2	--	--	--	--	0,83
Constantes					
b	--	--	--	--	0.98026
c	--	--	--	--	38.02666
d	--	--	--	--	50.14433
e	--	--	--	--	113.0451
f	--	--	--	--	--
CV (%)	9,58	9,22	9,52	9,34	9,00

**, * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f

Tabela 3 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para altura de plantas de *U. Decumbens* para o glyphosate

<i>U. decumbens</i> altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	2,727**	8,843**	19,810**	21,526**	26,089**
Hipótese f≠0	--	--	5,996	4,599	19,918
Modelo	--	--	1	1	1
Regressão	--	--	60,39	67,03	77,69
R^2	--	--	0,94	0,96	0,97
Constantes					
b	--	--	1.99149	2.14211	2.50422
c	--	--	33.31236	33.70495	34.00136
d	--	--	45.59674	47.17495	47.23434
e	--	--	23.86955	25.67609	20.37693
f	--	--	0.63892	0.55329	1.34806
CV (%)	8,60	9,18	8,92	9,05	10,15

**, * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f

Figura 1 – Altura de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.

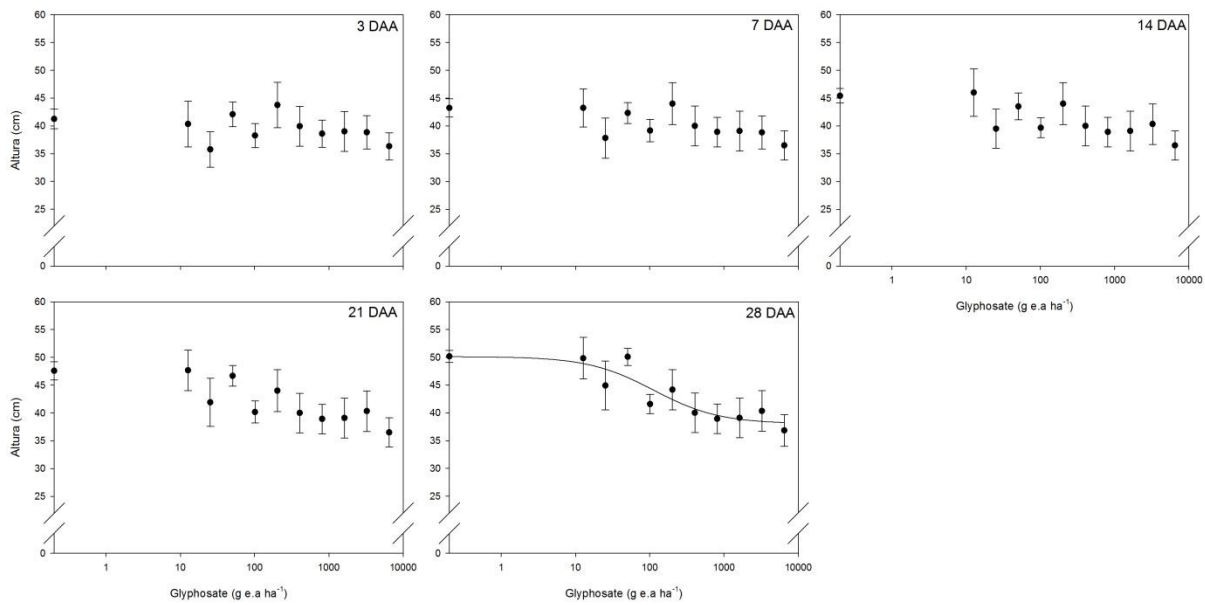
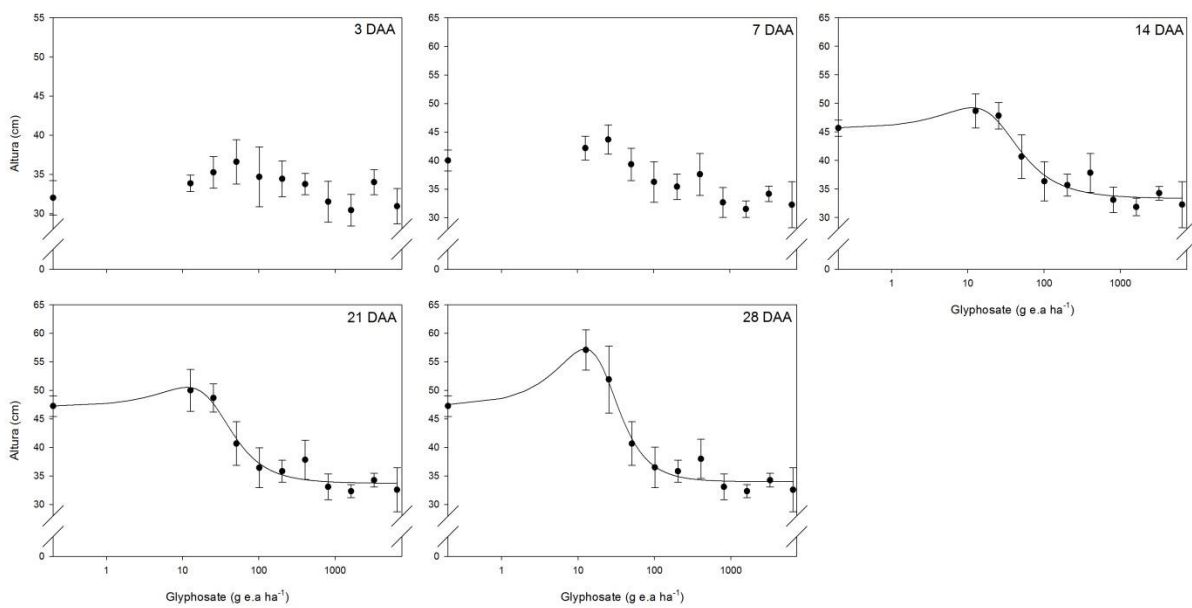


Figura 2 – Altura de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.



O *E. urograndis* clone I144 teve reduções de altura significativas nas doses acima de 405 g e.a ha⁻¹, estagnando o seu crescimento em altura, havendo uma redução de aproximadamente 24 % de crescimento nessas doses em relação a planta controle. Apenas aos 28 DAA o modelo de quatro parâmetros foi ajustado, mas ainda não apresentou hormesis para a variável altura (Figura 1). Este fato se reflete no item 1.3.6 deste capítulo, onde é possível observar que o modelo ajustado para biomassa seca de *E. urograndis* clone I144 foi o modelo 2, não apresentando efeito hormético. Através do estudo realizado podemos sugerir que as doses utilizadas em estudos futuros sejam doses abaixo da dose mínima testada nesse capítulo.

A *U. decumbens* respondeu significativamente aos estímulos de glyphosate para a variável altura. Pode-se observar na Figura 2 que a partir dos 14 DAA a faixa de estímulo com acréscimo de 5% em relação ao controle foi de 4,2 a 21 g e.a ha⁻¹, com a dose máxima de estímulo de 11,4 g e.a ha⁻¹, ocasionando um estímulo máximo de 7,96 %. A faixa de dose de estímulo, a dose máxima e o estímulo máximo para os 21 DAA se mantiveram praticamente os mesmos em comparação a avaliação de 14 DAA, sendo 5,2 a 17 g e.a ha⁻¹, 11,4 g e.a ha⁻¹ e 7,1 % de estímulo, respectivamente. Aos 28 DAA a *U. decumbens* apresentou o maior estímulo entre os períodos (21,19 %), com a dose máxima de 12,4 g e.a ha⁻¹, ampliando a faixa de dose para 1,8 a 27 g e.a ha⁻¹.

Dados os resultados é importante ressaltar como o glyphosate atua, ou seja, ele é responsável por inibir a enzima EPSPs (5-enolpiruvilshiquimato 3-fosfato sintase), além da síntese dos aminoácidos aromáticos. A inibição desta enzima acaba desviando compostos fotossintetizados para a via do chiquimato, devido ao aumento da atividade da primeira enzima na via do chiquimato (DAHPS), esse efeito é secundário na ação do glifosato, porém apresenta-se muito importante, causando uma redução na eficiência fotossintética (Senseman, 2007). Segundo Vidal et al., (2014) 35% ou mais da massa seca das plantas é composta por derivados de chiquimato, sendo que 20% do carbono fixado segue pela via metabólica.

Em trabalho realizado por Moraes et al. (2020), os autores verificaram efeitos horméticos nas plantas de *U. decumbens* na dose de 11,25 g e.a ha⁻¹, o que reflete e explica a dose deste trabalho, onde a dose responsável por estímulo na cultura encontra-se muito próxima dos autores citados acima. Os mesmos autores encontraram estímulos de aproximadamente 30 e 24 % em relação ao tratamento

controle com a dose citada. Percebe-se que a mesma dose não apresentou efeitos significantes na cultura de *E. urograndis* clone I144 para altura, desta maneira podemos anotar diferentes respostas a mesma dose testada em diferentes espécies e períodos, ocorrendo até mesmo uma variabilidade dentro da mesma espécie dentro da mesma dose testada, como foi observado por Moraes et al. (2020).

1.3.2 Diâmetro (*E. urograndis* clone I144)

Não houve ajuste de modelo para diâmetro até os 14 DAA, aos 21 DAA encontrou-se um efeito transiente de estímulo, a dose máxima responsável por este efeito foi 109 g e.a ha⁻¹, encontrando-se uma faixa de estímulo de 33 a 179 g e.a ha⁻¹, o estímulo máximo gerado neste período foi de 10,9 %, porém este efeito foi atenuado aos 28 DAA (Figura 3).

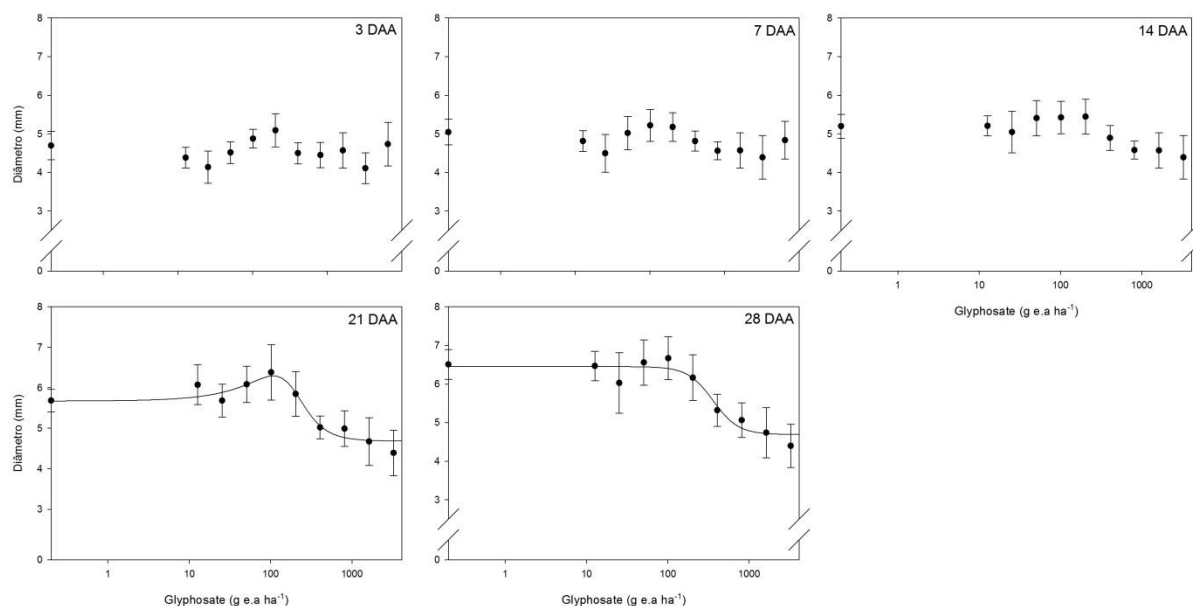
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção para diâmetro de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o glyphosate

<i>E. urograndis</i> clone I144 diâmetro					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	2,311**	1,864 ^{ns}	3,022**	7,097**	9,273**
Hipótese f≠0	--	--	--	4,142	0,862
Modelo	--	--	--	1	2
Regressão	--	--	--	16,54	29,05
R ²	--	--	--	0,93	0,94
Constantes					
b	--	--	--	3.06E+00	2.77837
c	--	--	--	4.68E+00	4.69095
d	--	--	--	5.67E+00	6.45114
e	--	--	--	1.87E+02	359.45035
f	--	--	--	8.54E-03	--
CV (%)	10,39	10,51	10,55	11,26	11,92

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

Figura 3 – Diâmetro de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.



Segundo Marques et al. (2019), mudas tratadas com 36 g e.a ha⁻¹ obtiveram um incremento de 32,5 % a mais que o controle no diâmetro da base das mudas de eucalipto. Porém estudos relatam que doses de 172,8 e 345,6 g e.a ha⁻¹ ocasionam injúrias nas plantas de eucalipto, com redução de altura, diâmetro e massa seca (Santos et al., 2006). Desta maneira é possível dizer que a espécie não se comporta de maneira uniforme para a variável. Possivelmente a justificativa para o efeito aos 21 DAA é a rápida translocação do herbicida, onde a exsudação do glyphosate pela raiz dos 14 até os 21 DAA deixou a planta com uma subdose do composto, causando assim um estímulo, porém dos 21 aos 28 DAA a planta exsudou a maior parte do herbicida, igualando o efeito ao tratamento controle.

O diâmetro das plantas se mostra como uma variável de difícil mensuração, pela dificuldade apresentada de obter a medida sempre no mesmo ponto da primeira avaliação. Porém representa muito bem um dos efeitos de crescimento da planta, refletindo diretamente na biomassa seca.

1.3.3 Perfilho (*Urochloa decumbens*)

A aplicação dos tratamentos de *U. decumbens* foram feitas quando as plantas estavam em média com 4 a 5 perfilhos, o desenvolvimento dos perfilhos ao longo do tempo foi em função da dose de glyphosate aplicada. As maiores doses afetaram o crescimento e o perfilhamento da planta 7 DAA, enquanto algumas doses do composto acabaram estimulando a super brotação de perfilhos entre o período de avaliação de 21 e 28 DAA. O incremento desse número de perfilhos se mostraria importante para a *U. decumbens* quando cultivadas como plantas forrageiras pois os perfilhos são a unidade básica de desenvolvimento, produzindo uma maior quantidade de folhas e aumentando a sua taxa fotossintética.

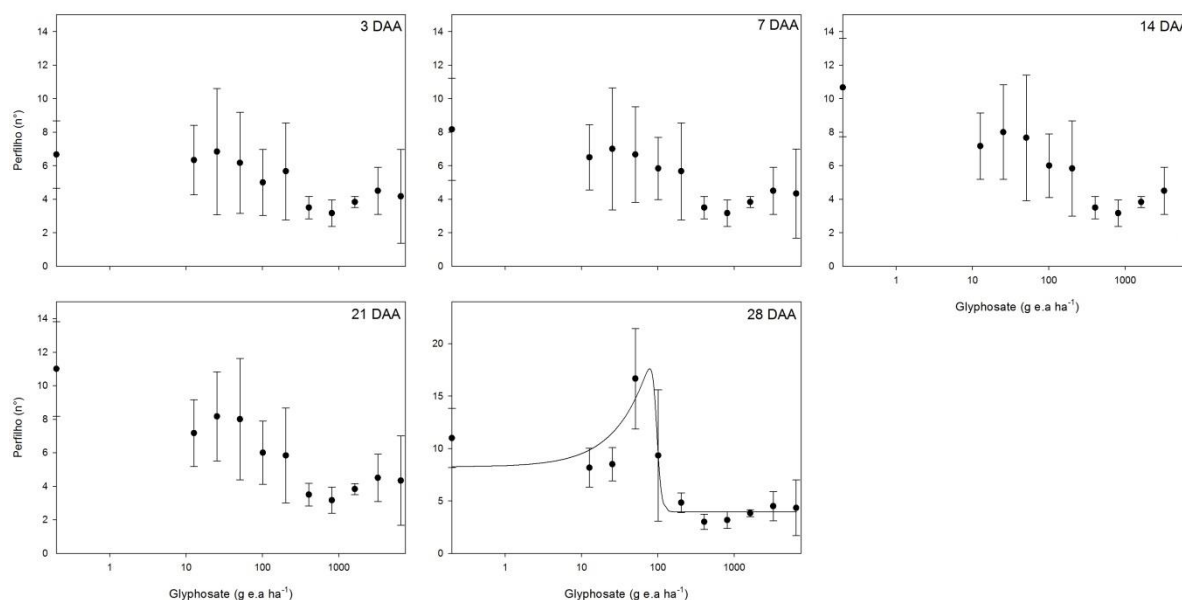
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para perfilho de plantas de *U. decumbens* para o glyphosate

<i>U. decumbens</i> perfilho					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	1,358 ^{ns}	1,963 ^{ns}	4,031**	4,635**	8,598**
Hipótese f≠0	--	--	--	--	11,148
Modelo	--	--	--	--	1
Regressão	--	--	--	--	20,76
R^2	--	--	--	--	0,85
Constantes					
b	--	--	--	--	14.672029
c	--	--	--	--	3.944345
d	--	--	--	--	8.233336
e	--	--	--	--	95.91385
f	--	--	--	--	0.128679
CV (%)	54,91	52,69	48,13	46,44	50,03

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

Figura 4 – Perfilho de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.



O perfilhamento das plantas de *U. decumbens* seguiram um comportamento muito similar até os 21 DAA. Aos 28 DAA houve um aumento significativo na dose de 79 g e.a ha⁻¹, ocorrendo um estímulo de 113,8 %, com uma faixa de estímulo de 52,6 a 103 g e.a ha⁻¹ (Figura 4). As doses a partir de 202,5 g e.a ha⁻¹ reduziram a produção de perfilhos, essa redução da produção de perfilhos interfere diretamente na eficiência fotossintética da planta, pois está terá uma área menor para realiza-la, além de influenciar no potencial de reserva, interferindo até mesmo no desenvolvimento das rebrotas, o que reflete diretamente na biomassa seca dos tratamentos. Moraes et al. (2016) também encontraram efeitos parecidos de perfilhamento de brachiaria em subdoses de glyphosate. Trabalhos realizados por Carbonari et al. (2007) constataram que subdoses do composto (3,6 g e.a ha⁻¹) influenciavam diretamente na produção de ramos laterais na cultura do eucalipto.

1.3.4 Fitotoxidade

Os níveis de fitointoxicação das espécies aumentaram de acordo com o passar dos períodos avaliados e com o aumento das doses testadas. A severidade das injúrias se mostraram mais relevantes acima da dose de 101,25 g e.a ha⁻¹, isto pode ser observado nas duas espécies testadas. As espécies testadas respondem de maneira diferente para cada dose, as plantas de *E. urograndis* clone I144 atingiram nível máximo de injúria (100 %) a partir da dose comercial testada (1620 g e.a ha⁻¹), os períodos de avaliação que representaram esse grau de severidade são os períodos de 21 e 28 DAA (Figura 5). Enquanto as plantas de *U. decumbens* apresentaram níveis de 100 % de fitointoxicação a partir de 810 g e.a ha⁻¹ aos 28 DAA (Figura 6).

As menores doses 12,66 e 25,3125 g e.a ha⁻¹ não apresentaram significativos danos causados pelo uso do composto, sendo que a menor dose não apresentou nenhum sintoma para as duas espécies.

Figura 5 – Fitointoxicação de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.

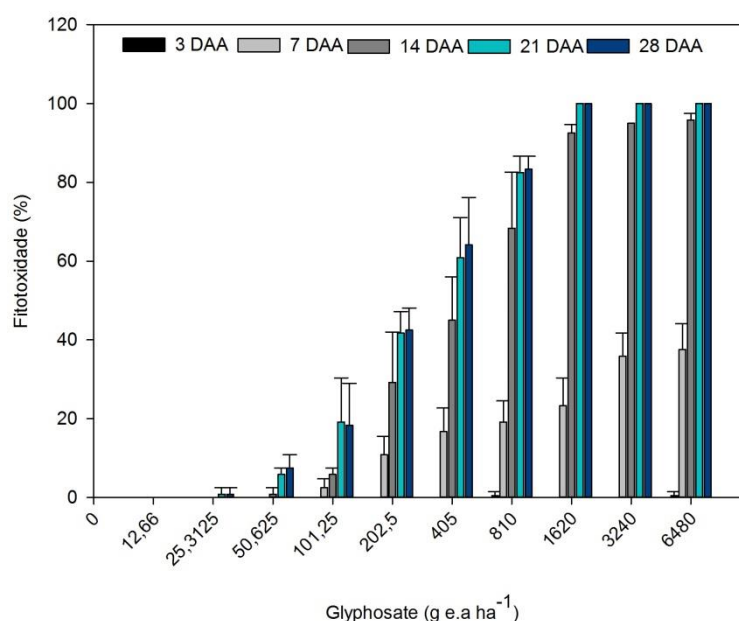
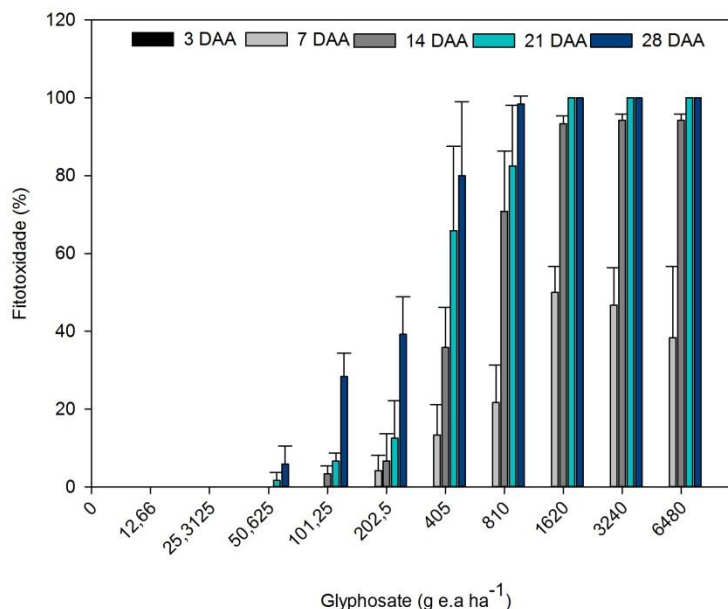


Figura 6 – Fitointoxicação de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.

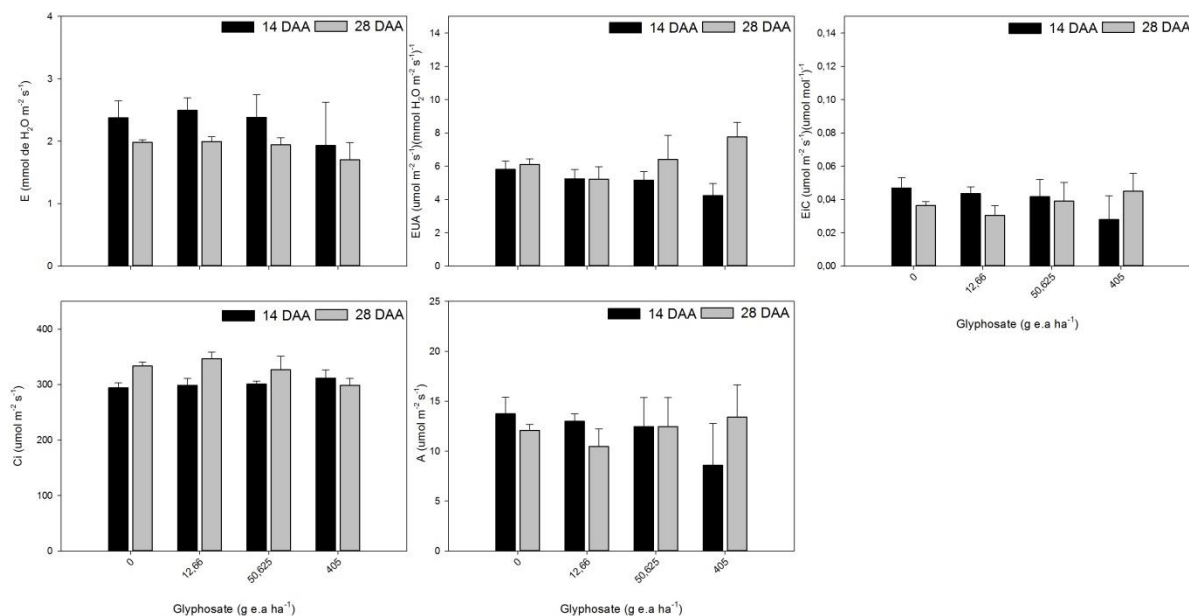


Devido a rápida translocação do glyphosate e devido a fitotoxidade observada nas primeiras avaliações, principalmente em doses acima de 202,5 g e.a ha⁻¹, houve a queima do ponteiro das plantas, necrose foliar e redução do crescimento, o que acabou reduzindo as variáveis avaliadas neste trabalho.

1.3.5 Análises fisiológicas

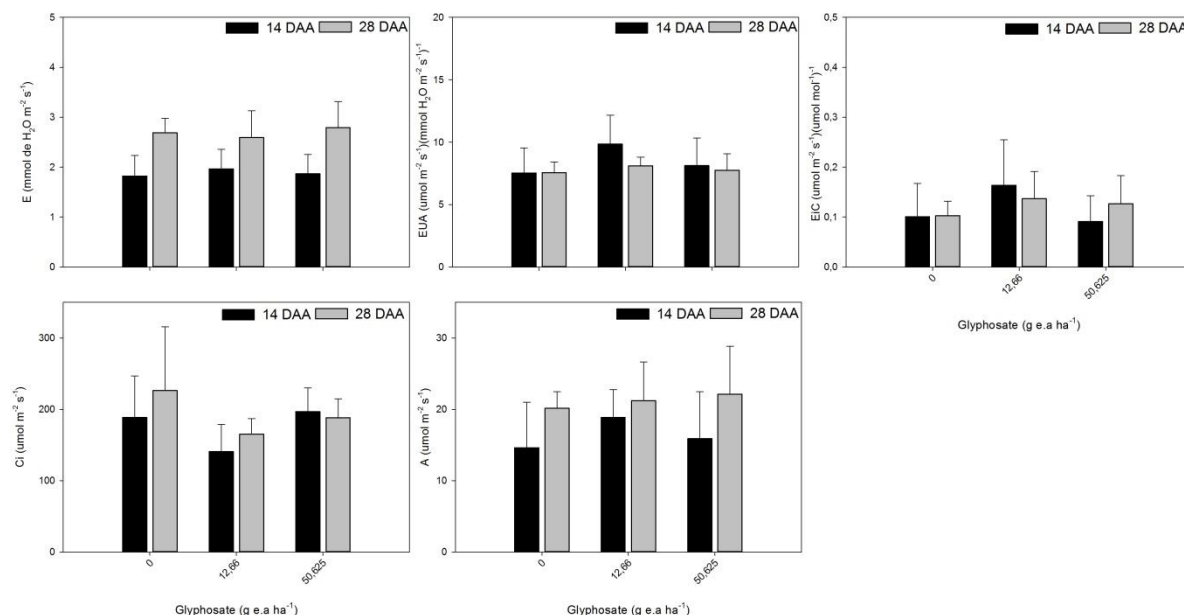
O presente trabalho realizado com plantas de *E. urograndis* clone I144 obteve aumento de 27 % na eficiência do uso da água em relação ao controle aos 28 DAA, com subdoses de glyphosate de 405 g e.a ha⁻¹, a mesma dose aos 14 DAA estava com redução de 10 %, o que reflete o aumento da eficiência em função do tempo. Os dados de assimilação tiveram um comportamento similar, a maior dose aos 28 DAA é superior aos 14 DAA. A transpiração apresentou uma redução de 12 % na maior dose aos 14 DAA (Figura 7).

Figura 7 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *Eucalyptus urograndis* clone I144 aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.



As taxas de transpiração em *U. decumbens* tratadas com subdoses de glyphosate foram estáveis em todas as doses e em todos os períodos de avaliação em comparação com o controle. A maior eficiência no uso da água (30 %) e eficiência de carboxilação (60%) ocorreram aos 14 DAA na menor dose de glyphosate testada. O aumento da assimilação interna de carbono nestas condições foi de 29 %, porém estes efeitos foram transitórios entre os 14 e 28 DAA (Figura 8).

Figura 8 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *U. decumbens* aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.



Os herbicidas podem influenciar negativamente ou positivamente a eficiência do uso da água, este fato ocorre devido ao estresse gerado, afetando diretamente a fotossíntese. As plantas de *E. urograndis* clone I144 e *U. decumbens* tiveram acréscimo na variável, fato que pode ser relacionado a subdosagem aplicada. O eucalipto quando exposto a subdoses de 43 e 86 g e.a ha⁻¹ apresentaram estímulo na taxa de fotossíntese e na eficiência no uso da água aos 21 DAA (Machado et al., 2010).

O aumento da assimilação está diretamente correlacionado com a eficiência do uso da água, com o aumento da assimilação temos o aumento do uso da água, essa taxa fotossintética está diretamente relacionada com o consumo de CO₂ e o aumento da biomassa, porém a recuperação desses efeitos dos 14 aos 28 DAA justificam a resposta da biomassa, não havendo estímulo no último período de avaliação para biomassa seca das duas espécies (Concenção et al., 2008).

A maior eficiência na carboxilação da *U. decumbens* na dose de 12,5 g e.a ha⁻¹ aos 14 DAA está relacionado ao aumento da assimilação de CO₂ e a redução do carbono interno, pelo fato dos dois fatores estarem correlacionados (A/Ci). A

diminuição do Ci está relacionada a condutância estomática, havendo uma maior taxa de fixação de CO₂ (Cedergreen e Olsen, 2010).

1.3.6 Biomassa seca

As duas espécies testadas se mantiveram com biomassa estável nas menores doses quando comparadas com o controle, não havendo redução na altura das plantas. O efeito hormético se encontra em doses muito abaixo da dose comercial recomendada, desta maneira as doses do herbicida não proporcionaram efeitos estimulatórios em biomassa seca. Possivelmente seria necessário testes com curvas de dose mais amplas, abaixo de 12,7 g e.a ha⁻¹.

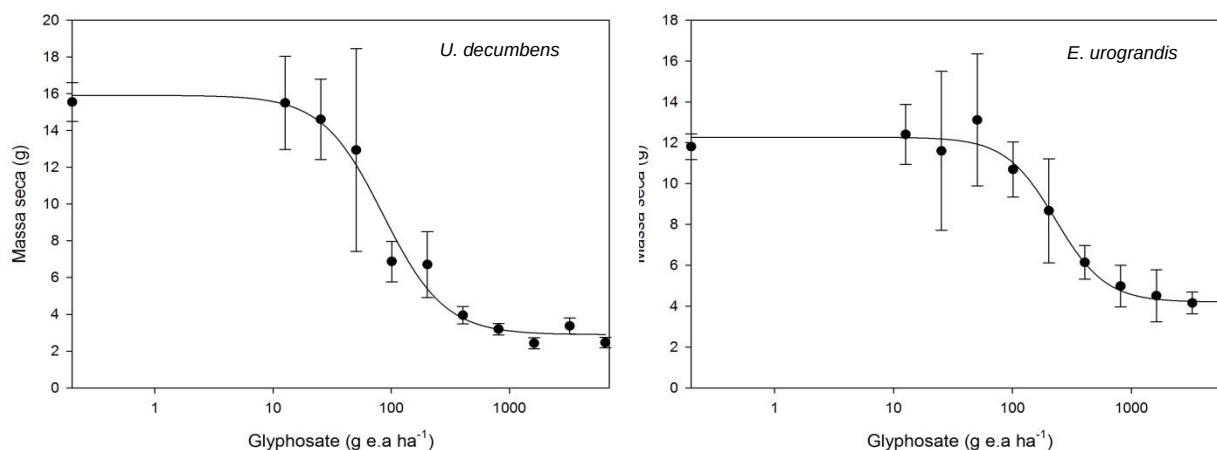
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção para biomassa seca de plantas de *Urochloa decumbens* e *Eucalyptus urograndis* clone I144 para o glyphosate

Valor de F	<i>E. urograndis</i> clone I144	<i>U. decumbens</i>
Doses	13,91**	27,10**
Hipótese f≠0	0,76	0,87
Modelo	2	2
Regressão	45,59**	88,56**
R ²	0,98	0,98
Constantes		
b	2,07	1,68
c	4,2	2,90
d	12,27	15,92
e	230,05	85,77
f	--	--
CV (%)	28,89	32,75

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

Figura 9 - Biomassa seca de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *Urochloa decumbens*, 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate.



Devido a não ocorrência de efeitos estimulatórios o modelo de hormesis de cinco parâmetros não se adequou as duas espécies, sendo ajustado o modelo de quatro parâmetros. Para o *E. urograndis* clone I144 a dose responsável por proporcionar uma redução significativa de 5% é de 71 g e. a ha⁻¹, enquanto as maiores doses 1620; 3240 e 6480 g e. a ha⁻¹ proporcionaram reduções de biomassa similares, entre 64 e 65 %. A espécie *U. decumbens* teve um decréscimo de 5% de biomassa a partir da dose de 17 g e. a ha⁻¹, as suas maiores doses assim como para o *E. urograndis* clone I144, se mantiveram estáveis, com 81 % de redução em relação a dose 0. Segundo trabalho realizado por Velini et al. (2008), os autores identificaram que doses muito baixas (1,9 a 3,7 g e. a ha⁻¹) já causam o estímulo de crescimento na planta de eucalipto. Para o acúmulo de biomassa das plantas de eucalipto (*E. grandis*) basta apenas 3,6 e 7,2 g e. a ha⁻¹, além de promover um maior acúmulo de brotações laterais (Carbonari et al., 2007). Cedergreen (2008) trabalhando com plantas de cevada sob 10 a 15 doses de oito herbicidas e observou que glyphosate e metsulfuron-methyl estimularam o incremento da biomassa em aproximadamente 25% quando aplicados em doses correspondentes a 5 à 10% da recomendada. O presente trabalho realizado adotou a menor dose de 12,7 g e. a ha⁻¹, o que pode justificar a falta do efeito estimulatório para a variável analisada.

1.4 CONCLUSÃO

O glyphosate de maneira geral não apresentou resultados de hormesis para os parâmetros avaliados, quando houve a presença de algum estímulo este se mostrou passageiro ao longo dos períodos de avaliação. Porém as plantas de *U. decumbens* apresentaram estímulo em seu crescimento (altura) e aumento do número de perfilhos aos 28 DAA. As variáveis fisiológicas que apresentaram estímulo para *U. decumbens* (eficiência do uso da água, eficiência intrínseca de carboxilação e assimilação) e para *E. urograndis* clone I144 (eficiência do uso da água e assimilação) não se refletiram no incremento de biomassa seca. As doses de glyphosate responsáveis por causar hormesis podem estar abaixo da menor dose utilizada neste trabalho (12,7 g e. a ha⁻¹). Doses menores ou maiores que as presentes neste capítulo podem causar ou não efeitos de estímulo em diferentes espécies, desta maneira adota-se que cada planta, cada estágio morfológico que a planta encontra-se irá ter uma resposta diferente as subdoses de glyphosate.

1.5 REFERÊNCIAS

AHSAN, N.; LEE, D. G.; LEE, K. W.; ALAM, I.; LEE, S.H.; BAHK, J. D.; LEE, B. H. Glyphosate-induced oxidative stress in rice leaves revealed by proteomic approach. **Plant Physiol Biochem** 46:1062-1070 (2008).

ANUNCIATO, V.M. **Efeitos do glyphosate no crescimento e reprodução de biótipos de *Digitaria insularis* resistente ou suscetível a este herbicida**. 2018, 67 f. *Dissertação* (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - FCA/UNESP.
BELZ, R. G.; DUKE, S. O. Herbicides and plant hormesis. *Pest Manag Sci* 70:698-707 (2014).

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

Moraes, C. P.; Brito, I.P.F.S.; Tropaldi, L.; Carbonari, C.A.; Velini, E. D. (2020) Efeito hormético do glifosato em plantas de *Urochloa decumbens* , **Journal of Environmental Science and Health**, Part B, 55:4, 376 - 381, DOI: 10.1080/03601234.2019.1705114

CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A.; DUKE, S.O. Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. **An Acad Bras Cienc** 85:813-822 (2013).

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

CESCO, V. J. S. **Hormesis de glyphosate no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo de biótipos de *Conyza* spp.** 2018, 85 f. *Dissertação* (Mestrado em Agronomia/Agricultura) – FCA/UNESP.

CONCENÇÃO, G. et al. Eficiência fotossintética de biótipos de azevém em condição de competição. **Planta Daninha**, v. 19, n. 2, p. 247-253, 2008.

EL-SHAHAWY, T. A.; SHARARA, F. A. A. Hormesis influence of glyphosate in between increasing growth, yield and controlling weeds in faba bean. **J Am Sci** 7:139-144 (2011).

FRANZ, J.E.; MAO, M. K.; SIKORSKI, J. A. Uptake, transport and metabolism of glyphosate in plants. In: *Glyphosate: a unique global herbicide*, ed. by Franz FE, Mao, MK and Sikorski, JA. Washington: **American Chemical Society**, 143-181 (1997).

GALLI, A. J. B. A. Molécula glyphosate e a agricultura brasileira. In: **Glyphosate**, ed. by Velini ED, Meschede DK, Carbonari CA, Trindade MLB. Fepaf: Botucatu, 17-19 (2009).

GAZZIERO, D. L. P.; PRETE, C. E. C. Resistência é a questão. **Revista Cultivar** 4:22-24 (2004).

GOMES, G. L. G. C. **Caracterização bioquímica e morfofisiológica de populações de buva (*Conyza spp.*) resistentes ao glyphosate**. 2014. 112f. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) – FCA/UNESP (2014).

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

KRUSE, N. D.; TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores da EPPSS: Revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas** 1:139-146 (2000).

LUCHINI, L. C. Considerações sobre algumas propriedades físico-químicas do glyphosate. In: **Glyphosate**, ed. by Velini ED, Meschede DK, Carbonari CA, Trindade MLB. Fepaf: Botucatu, p. 21-30 (2009).

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

MARCHESI, B.B. **Efeitos de formulações e intervalos sem chuva na absorção, translocação e eficácia de Glyphosate e 2, 4-D**. 2016. 77f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu (2016).

MARQUES, Kecy Dhones Monteiro et al. SUBDOSES DE GLYPHOSATE EM MUDAS DE EUCALIPTO. **Arigó-Revista do Grupo PET e Acadêmicos de Geografia da Ufac**, v. 2, n. 1, p. 47-49, 2019.

MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A. Baixas doses de glyphosate e seus efeitos no crescimento de *Commelina benghalensis*. **R Bras Herb** 7:53-58 (2008).

MOLLAEE, M.; MATLOOB, A.; MOBLI, A.; THOMPSON, M.; CHAUHAN, B. S. Response of glyphosate-resistant and susceptible biotypes of *Echinochloa colona* to low doses of glyphosate in different soil moisture conditions. **PLoS ONE** 15(5): e0233428 (2020).

MORAES, C.P. **Controle e hormesis de glyphosate em *Brachiaria decumbens***. 2016. 62f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu (2016).

NASCENTES, R .F.; FAGAN, E. B.; SOARES, L. H.; OLIVEIRA, C. B.; BRUNELLI, M. C. Hormesis de glyphosate em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas** 6:55-64 (2015).

OLESEN, C. F.; CEDERGREEN, N. Glyphosate uncouples gas exchange and chlorophyll fluorescence. **Pest Manag Sci** 66:536-542 (2010).

OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTINE, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária Ltda., 2011

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6 ed. Londrina: Ed dos autores. 1-84 (2011).

SANTOS, L. D. T.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; DUARTE, W. M.; TIBURCIO, R. A. S.; SANTOS, M. V. Intoxicação de espécies de eucalipto submetidas a deriva do glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 24, n. 2, p. 359-364, 2006

SENSEMAN, S. A. et al. **Herbicide handbook**. Lawrence, US: Weed Science Society of America, 2007.

SILVA, F. M. L.; DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; VELINI, E. D. Low doses of glyphosate change the responses of soybean to subsequent glyphosate treatments. **Weed Res** 56:124-136 (2015).

SINGH, B. K.; SHANER, D. L. Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate resistant plants. **Weed Technol** 12:527-530 (1998).

VELINI, E.D.; ALVES, E.; GODOY, M.C.; MESCHEDE, D.K.; SOUZA, R.T.; DUKE, S.O. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pest Manag Sci** 64:489-496 (2008).

VIDAL, R. A. *et al.* Mecanismos de ação dos herbicidas. **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**, v. 10, p. 235-256, 2014.

CAPÍTULO 2

EFEITOS DE SUBDOSES DE 2,4-D EM *Eucalyptus urograndis* E *Urochloa decumbens*

2.1 INTRODUÇÃO

Os processos que envolvem a agricultura e a silvicultura não são estáticos ao longo do tempo, sendo necessário o desenvolvimento e a adaptação para as novas mudanças no cenário nacional e internacional. No âmbito do controle de plantas daninhas os herbicidas desempenham um papel fundamental para o desenvolvimento de algumas culturas. Porém, a compreensão dos mecanismos de ação é necessária para o posicionamento desses compostos em cada ambiente e cultura.

Vários herbicidas são lançados no mercado. As novas formulações ou novos compostos são testados e empregados no controle de plantas que se tornaram resistentes e de difícil controle. Porém o 2,4-D é um dos herbicidas mais antigos comercialmente, aparecendo no mercado por volta de 1945, após a Segunda guerra mundial. Utilizado amplamente no mundo como controlador de plantas de folhas largas. O 2,4-D é um composto hormonal sintético que age como mimetizador do ácido indolacético, o principal hormônio que produz auxina nas plantas. Sua ação consiste em desregular o crescimento das plantas invasoras, levando a inibição do desenvolvimento radicular e do crescimento vegetativo (Marchesi, 2016). Herbicidas mimetizadores de auxina ou também conhecidos como auxínicos, ficaram conhecidos como hormonais ou reguladores de crescimento devido as mudanças que estes podem causar nos metabólitos e na parte bioquímica das plantas (Senseman, 2007). A ação de interferência na enzima RNA-polimerase acaba afetando a síntese de ácidos nucleicos e proteínas (Thill, 2003). Segundo Oliveira e Constantini (2011) as consequências em espécies dicotiledôneas são o crescimento desordenado dos tecidos e vegetais. Por atingir principalmente plantas invasoras de folhas largas é um herbicida com potencial uso em culturas forrageiras monocotiledôneas.

Devido ao uso de 2,4-D no controle de plantas daninhas há uma grande preocupação em relação aos possíveis efeitos negativos sobre as plantas não alvo.

É necessário que haja estudos exploratórios sobre os possíveis efeitos horméticos de subdoses de 2,4-D, para que facilite a interpretação da resposta de baixas doses deste produto. Pois subdoses do composto podem vir a trazer respostas adaptativas benéficas as plantas.

A característica de hormesis em plantas é representada pelo efeito bifásico, onde baixas concentrações do herbicida podem induzir efeitos estimulatórios, enquanto altas doses podem levar a efeitos negativos. A resposta da curva de hormesis se apresenta em forma de U invertido, considerada por muitos como uma resposta adaptativa, podendo ser ocasionada pelo rompimento induzido da homeostase, ou uma resposta evolutiva, estimulando um custo energético da planta e prejudicando alguma característica do organismo (Calabrese, 1999; Forbes, 2000; Calabrese; Baldwin, 2002; Parsons, 2003).

O aumento de variáveis morfológicas e produtivas em algodoeiro com plantas tratadas com 0,25 % da dose recomendada salienta a possibilidade de hormesis de 2,4-D em diferentes espécies (Marques, 2019). Estudo realizado com arroz em terras altas mostra um aumento de 19 % no número de espiguetas por panícula (Marsala, 2022). Plantas arbustivas como o pequi também apresentaram respostas horméticas à subdoses de 2,4-D, havendo efeitos de aumento da área foliar (Tavares et al., 2017).

A *U. decumbens*, por se tratar de uma planta não alvo do mecanismo de ação do 2,4-D pode sofrer estímulos em doses mais elevadas, aumentando o seu crescimento e a fotossíntese. Gramíneas de uma maneira geral não sofrem fitointoxicação, pois metabolizam muito rápido o composto. Desta maneira por não afetar o desenvolvimento de gramas o 2,4-D é uma alternativa para controle de dicotiledôneas em gramados (Rodrigues & Almeida, 2005).

No entanto é necessário ressaltar que o efeito de hormesis não é um fenômeno universal, o que acarreta em efeitos diferentes para cada planta, cada estágio de crescimento e desenvolvimento, assim como as diferentes doses e condições ambientais. Além dos fatores já listados acima, os mecanismos subjacentes aos efeitos estimulatórios de 2,4-D não foram completamente elucidados, exigindo assim estudos mais específicos sobre o tema.

Neste contexto este capítulo tem como objetivo investigar os efeitos de exposição das plantas *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *Urochloa decumbens* a exposição de subdoses de 2,4-D, buscando compreender os mecanismos

horméticos envolvidos, avaliando quais os parâmetros e variáveis recebem estímulo por meio da aplicação de subdoses do composto.

Compreender os estímulos ajudará no manejo de diferentes espécies, corrigindo o posicionamento do produto e desenvolvendo estratégias mais eficientes, conciliando a eficácia do controle de plantas invasoras com a promoção de estímulos das culturas desejadas.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Avaliação da ocorrência de hormesis de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *U. decumbens* após aplicação de subdoses de 2,4-D

Os estudos foram conduzidos em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente ao Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, campus de Botucatu, SP.

As unidades experimentais foram compostas por vasos de 1,7 litros, preenchidos com substrato Carolina Soil[®] composto por turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada, com pH 5,7 ($\pm 0,5$). As condições de semeadura, desbaste, transplante das mudas e condução foram ajustadas para cada espécie. As plantas foram mantidas em bancadas sob condição de plena luz antes e após a aplicação. As aplicações foram feitas sobre as plantas de *Urochloa decumbens* com 4-5 perfilhos em média e as plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 com aproximadamente 30-35 cm de altura. Os ensaios conduzidos com seis repetições. A época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições meteorológicas estão descritas na Tabela 7.

Tabela 7 – Época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições de umidade e temperatura no momento da aplicação do experimento.

Espécies	Época		Estádio da planta			Condição de aplicação	
	Transplante semeadura	Aplicação	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Nº de perfilho	Temperatura (°C)	Umidade (%)
Eucalyptus	05/09/22	24/09/22	30-35	3,5-5	--	27	72
Urochloa	24/09/22	24/10/22	28-31	--	4-5	28	75

As avaliações finais de biomassa seca (parte aérea) foram realizadas aos 28 dias após a aplicação (DAA). Foram realizadas avaliações de altura das plantas, diâmetro do caule do eucalipto e contagem de perfilhos da *Urochloa decumbens* aos 3; 7; 14; 21 e 28 DAA. Além das avaliações visuais de injúria (fitointoxicação) segundo a escala percentual de notas, onde “0” corresponde a nenhuma injúria e “100” significa a morte das plantas, conforme a Sociedade Brasileira da Ciência em plantas Daninhas (1995).

A altura da planta de *E. urograndis* clone I144 foi determinada da base do caule da planta ao ápice da planta, enquanto o diâmetro mensurado com paquímetro digital, à altura de três centímetros do colo da planta. As plantas de *U. decumbens* foram mensuradas (altura) da base da planta até a folha mais longa (ápice da planta).

Para determinar a biomassa seca das plantas, as amostras foram acondicionadas em estufa com circulação forçada de ar, mantendo-se 60 °C constantes por 15 dias, posteriormente pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g.

As avaliações de consumo de água e das variáveis fotossintéticas foram realizadas em parte dos tratamentos (*E. urograndis* clone I144, doses de 7,8; 31,4 e 251,25 g e.a ha⁻¹ e *U. decumbens*, doses de 7,8; 31,4; 251,25 e 4020 g e.a ha⁻¹), considerando o tempo necessário para obter essas informações em cada unidade experimental. Foram utilizadas duas unidades analisadores de gás por infravermelho, IRGA LCpro-SD (ADC BioScientific Ltd, UK) equipados com compensadores de luz e com a concentração de CO₂ ambiente. Foram analisadas as seguintes variáveis: i) taxa de assimilação líquida de CO₂ (A, em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$); ii) Transpiração foliar (E, em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$); iii) Concentração interna de CO₂ (Ci, em $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Com base nas três variáveis citadas acima foram determinados, também, os valores de eficiência instantânea de carboxilação (EiC) ((A/Ci), em $(\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$) e eficiência do uso de água (EUA) ((A/E), em $(\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1})^{-1}$).

A aplicação do herbicida foi realizada com auxílio do simulador de aplicação, com controle de velocidade, pressão e vazão. Sendo utilizada barra de aplicação equipada com quatro pontas de pulverização XR 11002 espaçadas de 50 cm e pressurizada a 2 bar. A velocidade foi de 1 m s⁻¹ condicionando volume de aplicação de 200 L ha⁻¹.

Foi utilizada uma ampla faixa de doses com o objetivo de avaliar a ocorrência de hormesis, os efeitos ocorrem em doses muito inferiores às de uso comercial. Tomando como referencial a dose de bula do herbicida (DMA 806 BR) (1005 g e.a ha⁻¹), identificada como “x”, foram utilizadas as seguintes doses: 4x; 2x; x; x/2; x/4; x/8; x/16; x/32; x/64; x/128 e 0 (tratamento controle sem aplicação). As doses acima da dose comercial contribuíram nos ajustes dos modelos permitindo a estimativa precisa dos valores mínimos previstos para a biomassa.

2.2.2 Procedimentos para a análise dos resultados

Para as curvas dose-resposta, realizadas nos estudos foram ajustados modelos de regressão não-linear apresentados por Brain e Cousens (1989) e Streibig (1980) seguindo o procedimento descrito por Velini et al. (2008). Para estes dados foi utilizado o programa estatístico R e para confecção dos gráficos o programa Sigmaplot 12.5, sendo também calculados o intervalo de confiança (p=0,05) da média no software Microsoft Excel, sendo eles adicionados às médias nos gráficos (Equação 1).

$$\text{Equação 1: } I_c = \frac{t \cdot DP}{\sqrt{n}}$$

Onde, Ic = Intervalo de confiança, t = valor de t tabelado a 5%, DP = desvio padrão e $\sqrt{n}$ = raiz quadrada do número de repetições.

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

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

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

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

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

Os modelos acima usam estrutura unificada com coeficiente “b” parametrizado, denotando a inclinação da curva dose-resposta, “c” e “d” representam as assíntotas inferior e superior respectivamente, ou limites da resposta, e o parâmetro “e” é o logaritmo do ponto de inflexão. No modelo de Braian e Cousens (1988) há uma adição do coeficiente “f”, sendo o ponto que o diferencia do modelo de Streibig (1980), desta maneira este parâmetro se refere a taxa de estímulo, o que leva a deduzir o efeito hormético, porém segundo KNEZEVIC; STREIBIG e RITZ (2007) e SCHABENBERGER et al. (1999) esse efeito só se torna verdadeiro quando for diferente de 0 a 5% de probabilidade. Desta maneira as variáveis que apresentaram efeito hormético foram ajustadas dentro do modelo 1.

O ajuste dos dados no modelo de 5 parâmetros só é realizado a partir da análise entre a diferença da soma de quadrado médio da regressão dos dois modelos. A associação do quadrado médio com a inclusão do coeficiente “f” é testado com um grau de liberdade. Assim se o quadrado médio do modelo 1 for maior que o modelo 2 rejeita-se a hipótese de f=0, ocorrendo o estímulo de hormesis e assim aplicando o modelo 1. Na ocorrência do valor do quadrado médio não se mostrar significativo, a hipótese f=0 foi aceita e assim conclui-se que não havia efeito de hormesis e utilizou-se o modelo 2 (4 parâmetros) (VELINI, 2008).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Altura

A altura de *E. urograndis* clone I144 não foi afetada positivamente pelas doses de 2,4-D. Aos 3 e 7 DAA a taxa de crescimento se manteve nas mudas. O intervalo de 7 a 14 DAA mostrou um comportamento de paralização do crescimento das plantas, não havendo mais acréscimo a partir da dose de 502,5 à 4020 g e.a ha⁻¹

¹. Foram observadas reduções de 21 % na dose de 2010 g e.a ha⁻¹ aos 28 DAA (Figura 10).

Para *U. decumbens* não houve ajuste dos modelos, porém algumas doses apresentaram estímulo ao 2,4-D. Ao comparar o crescimento do controle aos 3 DAA com 28 DAA observa-se incremento de 15,5 cm de altura, enquanto as plantas que receberam tratamentos de 125,6; 251,2; 502 e 1005 g e.a ha⁻¹ incrementos de 24,5; 21,3; 23,7 e 25,2 cm respectivamente, portanto a porcentagem de estímulo de crescimento para estas doses são de 58; 37; 52 e 62 % em relação ao controle respectivamente. As menores doses também apresentaram incrementos na altura, porém menores que as dosagens já citadas, as doses iniciais de 2,4-D com 7,8; 15,7; 31,4 e 62,8 g e.a ha⁻¹ mostraram estímulos de 13; 25; 21 e 9 % respectivamente em relação ao controle (Figura 11).

Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regressão deste item se apresentam expostos nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regressão para altura de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o 2,4-D

<i>E. urograndis</i> clone I144 altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	1,111 ^{ns}	1,290 ^{ns}	1,506 ^{ns}	2,759**	5,309**
Hipótese f≠0	--	--	--	--	1,248
Modelo	--	--	--	--	2
Regressão	--	--	--	--	14,90
R ²	--	--	--	--	0,84
Constantes					
b	--	--	--	--	9.83177
c	--	--	--	--	42.13139
d	--	--	--	--	49.98408
e	--	--	--	--	128.00807
f	--	--	--	--	--
CV (%)	10,45	10,23	9,89	9,49	9,87

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

Tabela 9 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para altura de plantas de *U. decumbens* para o 2,4-D

<i>U. decumbens</i> altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	5,348**	2,966**	1,979 ^{ns}	2,277**	2,986**
Hipótese f≠0	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	5,93	8,24	8,30	9,06	10,85

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

Figura 10 – Altura de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de 2,4-D.

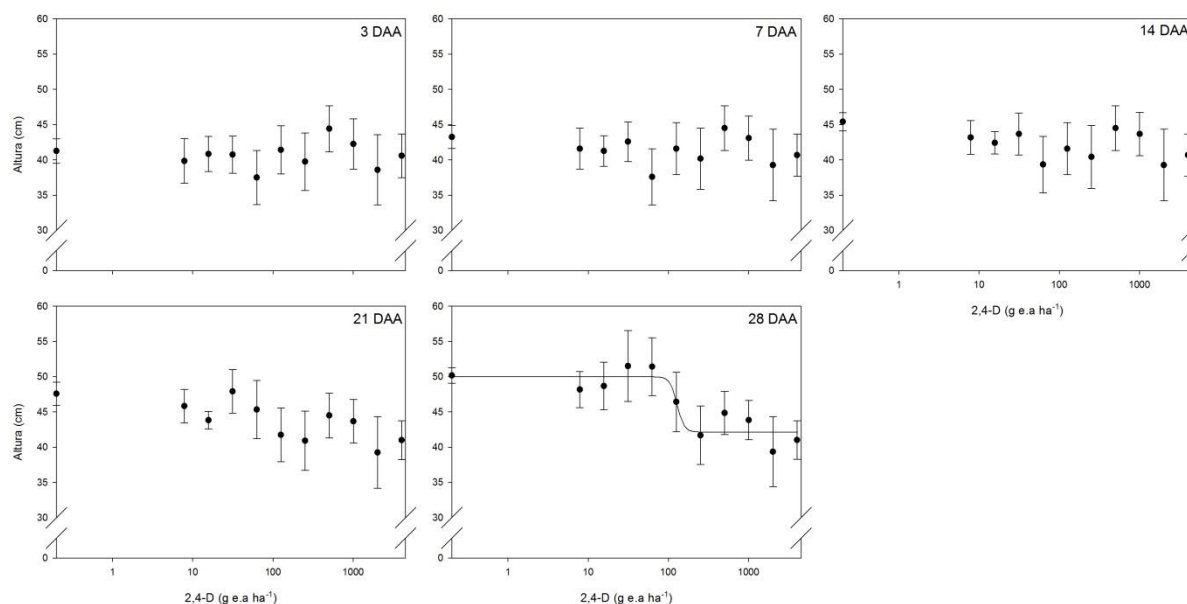
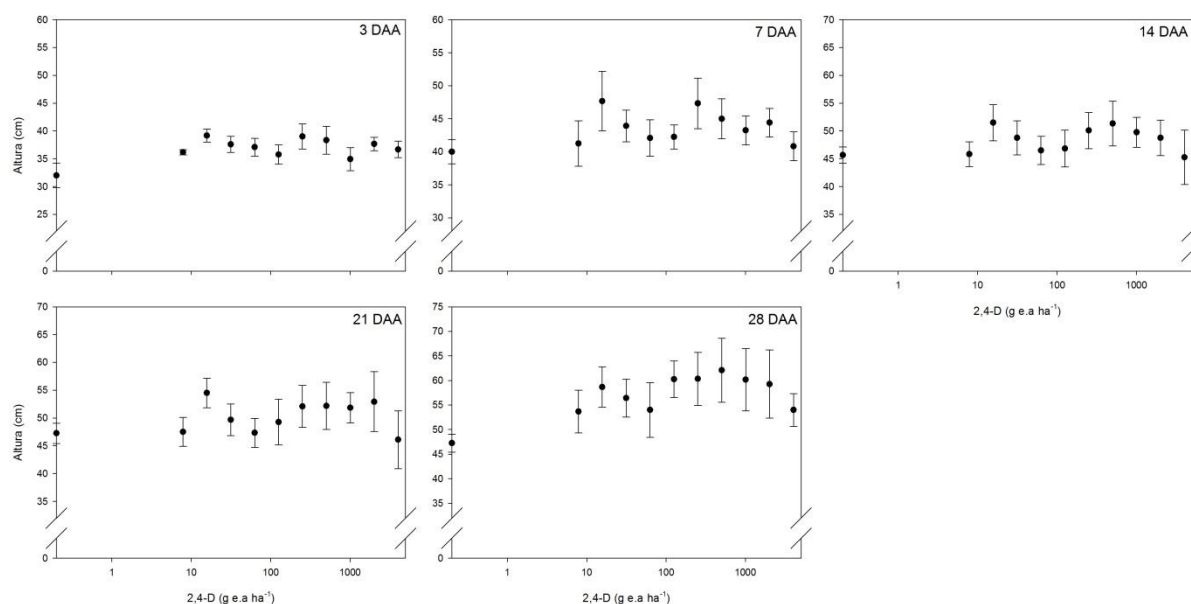


Figura 11 – Altura de *U. decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de 2,4-D.



As avaliações de altura são fundamentais para observar efeitos horméticos ao longo do tempo, pois muitas vezes o efeito de estímulo pode se mostrar transiente entre os períodos, assim como a recuperação de plantas fitointoxicadas. A avaliação da altura das plantas é representativo devido aos efeitos morfológicos causados pelo 2,4-D, este herbicida apresenta respostas de crescimento anormal em plantas, caracterizada pelo alongamento e encurvamento de ramos e folhas, efeito conhecido como epinastia e encarquilhamento, esse efeito é causado devido a desregulação hormonal.

Apesar da paralização do crescimento das mudas de *E. urograndis* clone I144, os efeitos causados pelo herbicida 2,4-D apresentaram uma maior produção de ramos laterais, além da epinastia de folhas, pecíolos, ramos e caule, proporcionando aumento da biomassa seca nas menores doses. As doses acima de 502,5 g e.a. ha⁻¹ proporcionaram encarquilhamento, clorose, murchamento e necrose das folhas, ocorrendo uma posterior morte das plantas, o que justifica a paralização do crescimento (Oliveira e Constantini, 2011; Vidal et al., 2002). O 2,4-D é portanto um herbicida que afeta o crescimento, interferindo no processo de alongamento e divisão celular, por ser uma planta rústica e lenhosa as menores doses de 2,4-D não afetaram seu crescimento em altura. As diferenças fisiológicas e metabólicas do

eucalipto em comparação com as plantas daninhas que o 2,4-D controla pode ter favorecido na falta de efeitos negativos nas doses abaixo de 62,8 g e.a ha⁻¹.

Devido as plantas de *U. decumbens* serem monocotiledôneas, não apresentaram nenhuma injúria causada pelo herbicida. A *U. decumbens* pertence a família das poáceas, ou seja, das gramíneas, apresentam características morfogênicas e mecanismos que reduzem o efeito desses herbicidas. Entre as características responsáveis por minimizar e anular a ação do herbicida estão o câmbio revestido pelo esclerênquima, o que dificulta o seu rompimento; a exsudação radicular e a degradação do produto devido a reações de oxidação (Dias, 2015). As plantas de *U. decumbens* possivelmente apresentaram estímulo devido ao aumento da atividade da auxina endógena, produzida pela planta por meio de processos metabólicos. Outro fator a ser considerado é o estímulo do etileno pela auxina, levando a planta a apresentar anomalias no seu crescimento. O etileno é responsável por expandir lateralmente as células, o que possivelmente pode levar ao aumento do volume de caules e raízes estimulando o crescimento da parte aérea da planta.

2.3.2 Diâmetro (*Eucalyptus urograndis* clone I144)

Não houve ganhos de diâmetro quando utilizado o herbicida, porém as maiores doses apresentaram uma redução do diâmetro das plantas, como é o caso da dose comercial aplicada de 1005 g e.a ha⁻¹ e duas vezes a dose (2010 g e.a ha⁻¹) que obtiveram reduções de 3,5 e 22 % respectivamente no último período de avaliação (Figura 12).

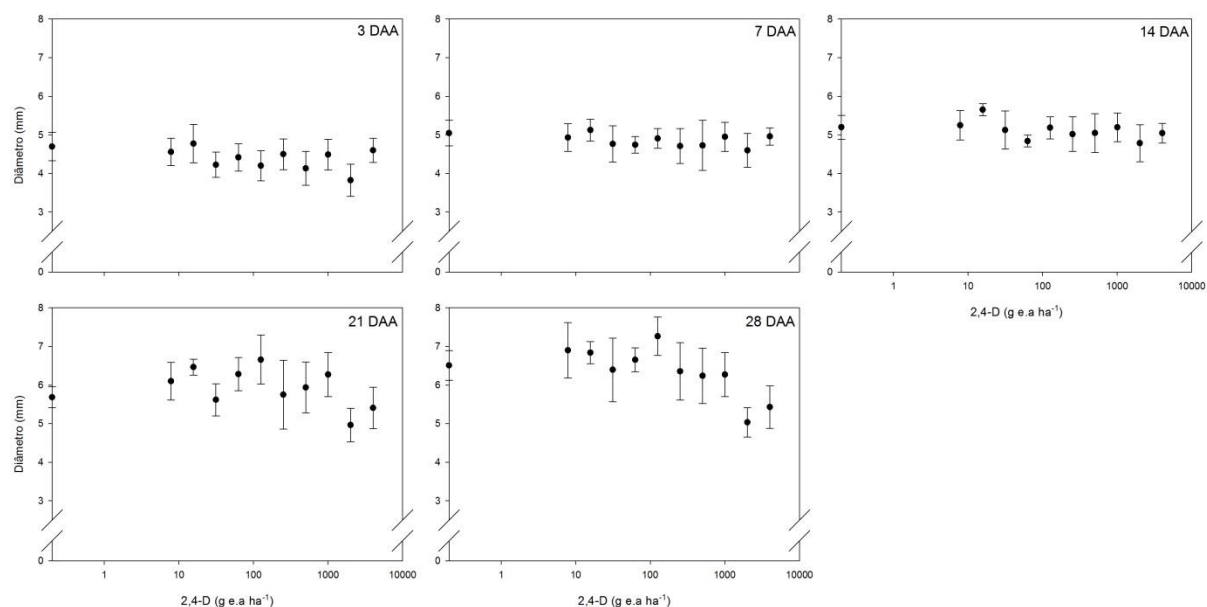
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 10.

Tabela 10 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para diâmetro de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o 2,4-D

<i>E. urograndis</i> clone I144 altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	1,980 ^{ns}	0,662 ^{ns}	1,487 ^{ns}	3,328**	4,814**
Hipótese f=0	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	11,07	10,01	9,01	11,30	11,25

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

Figura 12 – Diâmetro de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de 2,4-D.



A aplicação de 2,4-D em plantas de *E. urograndis* clone I144 acarreta em mudanças e alterações no desenvolvimento, as mudanças morfológicas são específicas do produto, incluindo o diâmetro do caule.

Como comentado nos itens anteriores, o 2,4-D é um fitohormônio sintético,

que induz o crescimento desordenado da planta, o que altera o processo de divisão celular, causando alongamento. Portanto, se houver o aumento do diâmetro este será por conta da consequência do mecanismo de ação do herbicida. As doses de 2,4-D podem induzir incremento, mas não necessariamente causar estímulo na biomassa seca, pois esse estímulo no diâmetro na maioria das vezes é responsável por causar danos às folhas, retardar o crescimento e causar a morte das plantas. Em estudos com subdoses de 2,4-D, a concentração de 0,625 mg.i.a.L⁻¹ induziu o aumento da altura e do diâmetro, indicando níveis de alterações da auxina endógena com a aplicação do herbicida (Fragoso et al., 2014).

Outro fator a ser considerado é a lignificação da planta, onde níveis de 2,4-D podem ser responsáveis por produzir a parede primária, a qual não é lignificada. A lignina é uma macromolécula tridimensional amorfa, associada à celulose na parede vegetal, conferindo a função de rigidez as células, devido a falta da lignina e a construção primeiramente da parede primária, pode ocorrer um aumento nas células, o que pode acarretar no aumento do diâmetro das plantas de *E. urograndis* clone I144 (Eberhardt et al., 1993).

É importante ressaltar que os sintomas apresentados por *E. urograndis* clone I144 pode variar de acordo com a espécie, com a dose aplicada, com o clone e com a idade de aplicação da planta.

2.3.3 Perfilho (*Urochloa decumbens*)

Os efeitos horméticos de estímulo de perfilho em brachiaria se mostram importantes para manejo em gramados, assim como os efeitos de regulador de crescimento. Porém não houve estímulo de subdoses de 2,4-D em *U. decumbens*, mas as maiores doses reduziram o desenvolvimento de novos perfilhos, a dose controle teve um acréscimo de 5 perfilhos dos 3 aos 28 DAA, enquanto as duas doses acima da recomendada (2010 e 4020 g e.a ha⁻¹) obtiveram um incremento de 1 e 2 perfilhos respectivamente (Figura 13).

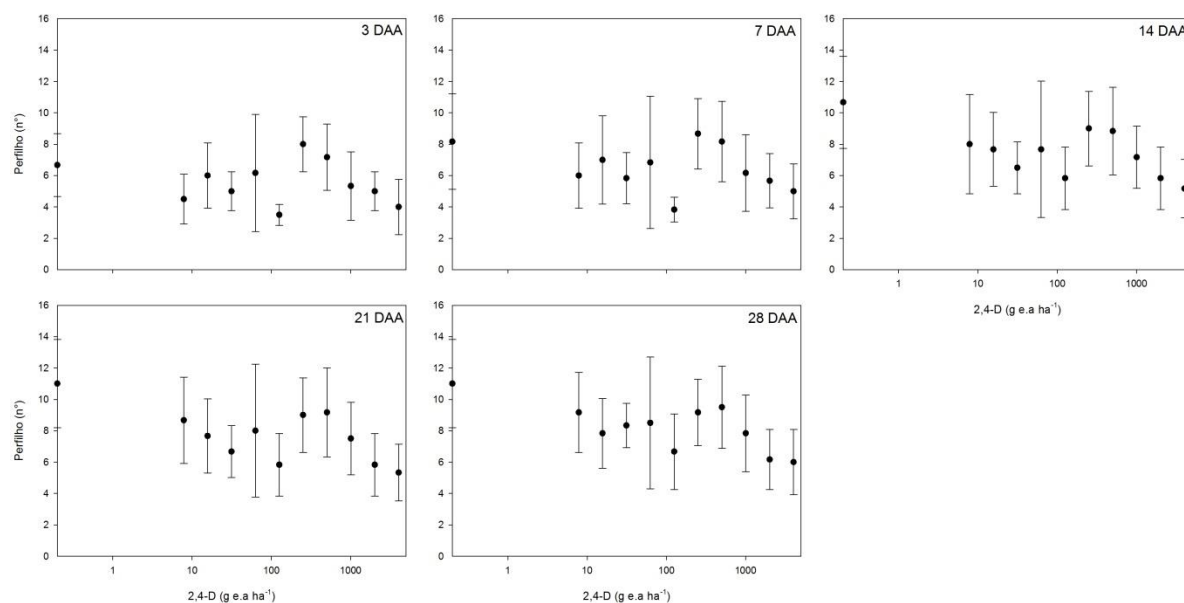
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 11.

Tabela 11 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para perfilho de plantas de *Urochloa decumbens* para o 2,4-D

<i>E. urograndis</i> clone I144 altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	1,817 ^{ns}	1,369 ^{ns}	1,502 ^{ns}	1,730 ^{ns}	1,392 ^{ns}
Hipótese f=0	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	44,68	47,31	43,45	41,51	38,50

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

Figura 13 – Perfilho de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de 2,4-D.



O herbicida 2,4-D é utilizado em gramíneas devido ao controle que este oferece a plantas de folhas largas, as quais competem por nutrientes, água, luz entre outros fatores. O 2,4-D acaba sendo um herbicida seletivo a espécies gramíneas monocotiledôneas, sendo utilizado em pastagens, áreas de gramado e

campos esportivos. O aumento do perfilho das gramíneas acabam aumentando a área foliar responsável por realizar fotossíntese, além de aumentar a cobertura do solo, o que é de extremo interesse em áreas de conservação, como por exemplo áreas de controle de erosão.

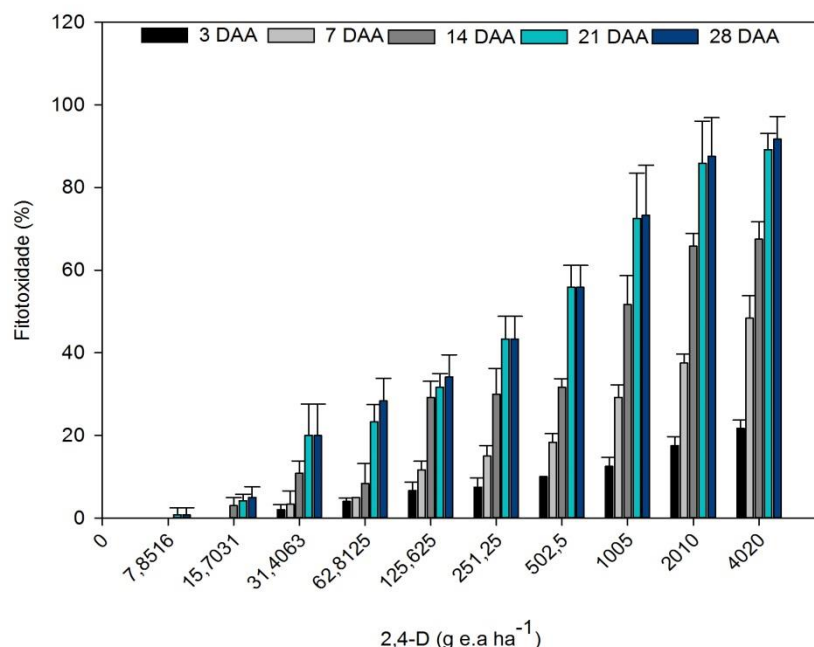
A hormesis de plantas após a aplicação de herbicidas, normalmente ocorre nas menores doses, porém devido aos mecanismos que a *U. decumbens* possui como exsudação radicular e a degradação do produto devido a reações de oxidação, subdoses de 2,4-D não apresentaram estímulo (Dias, 2015). Ainda assim doses acima da recomendada (2010 e 4020 g e.a ha⁻¹) apresentaram inibição de novos perfilhos, o que pode ser justificado pelo excesso do fitohormônio sintético auxínico, o qual é responsável pelo crescimento das plantas. Desta maneira a planta tratada com maiores doses de 2,4-D desprenderam sua energia para o crescimento em altura e não para a produção de novos perfilhos (De Goes Maciel, 2008).

O glyphosate em pequenas doses pode agir como regulador de crescimento, assim como o 2,4-D, a combinação dos dois herbicidas com doses de 0,2 + 0,3 kg/ha e a 0,3 + 0,4 kg/ha respectivamente, causam severas injúrias de até 6 semanas após a aplicação, porém o crescimento e as hastes sofrem reduções até 10 semanas após a aplicação (Arteca, 1995; Jhonson, 1990).

2.3.4 Fitotoxicidade

A fitointoxicação causada por 2,4-D é muito mais evidente em plantas dicotiledôneas do que em plantas monocotiledôneas gramíneas. As notas de injúria de 2,4-D sobre plantas de *E. urograndis* clone I144 foram crescentes com o passar do tempo, respondendo de acordo com a dose aplicada. O *E. urograndis* clone I144 apresentou efeitos de injúria em todas as doses testadas, porém as maiores doses apresentaram maiores níveis de intoxicação em comparação com as menores doses de 2,4-D. Os maiores níveis de injúria visual observada foram aos 21 e 28 DAA, com muita semelhança entre os resultados. A dose comercial recomendada e as duas doses acima da comercial (1005; 2010 e 4020 g e.a ha⁻¹) apresentaram níveis de fitointoxicação de 73; 87 e 91 % respectivamente aos 28 DAA. A dose de 7,8 g e.a ha⁻¹ obteve nota de injúria abaixo de 1% (Figura 14). As plantas de *U. Decumbens* não apresentaram nenhum tipo de sintomas de injúria.

Figura 14 – Fitointoxicação de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de 2,4-D.



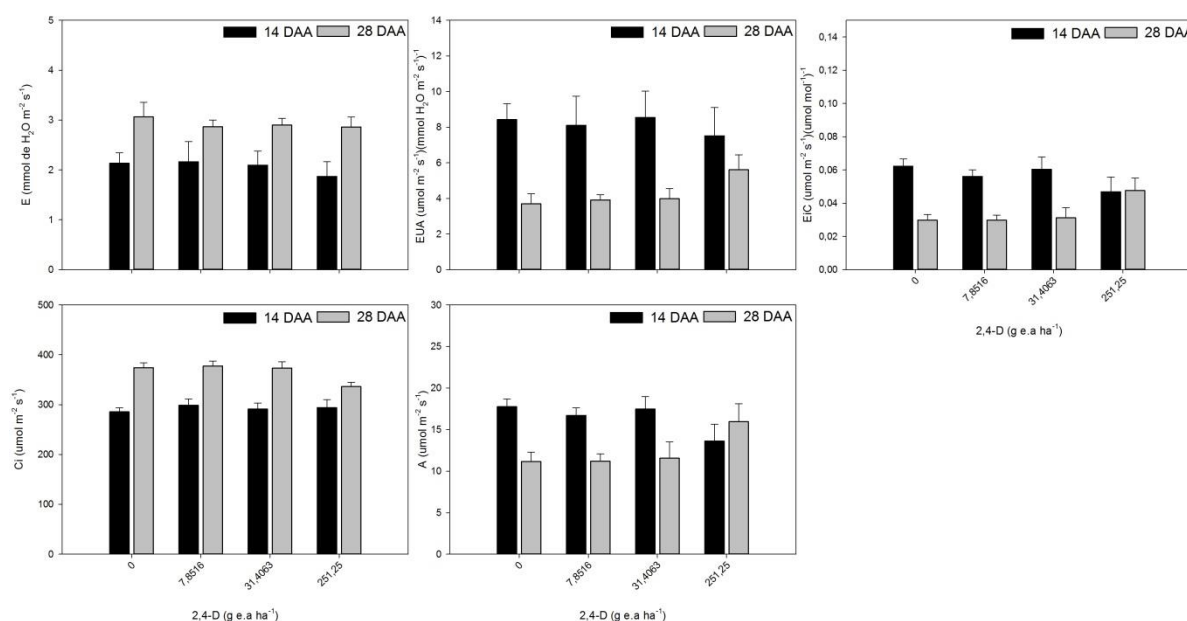
As plantas podem receber subdoses de diversas maneiras, seja por erros de aplicação ou mesmo por deriva do produto em conformidade com agentes climáticos. As plantas susceptíveis a este produto podem responder de maneira clara aos sintomas causados pelo tratamento com 2,4-D. A absorção foliar do produto faz com que o transporte pelo floema atinja os demais tecidos e órgãos que não sofreram contato na aplicação, ao atingir as partes sensíveis da planta como por exemplo os meristemas, afeta o crescimento e causa danos significativos. O *E. Urograndis* clone I144 de maneira geral se mostrou suscetível aos tratamentos com o herbicida 2,4-D, doses de 7,8 e 15,5 g e.a ha⁻¹ foram menos afetadas pelo produto, pois são subdoses não letais, entretanto doses acima de 502,5 g e.a ha⁻¹ já apresentaram injúrias à cima de 50 %. A resposta às doses menores de maneira geral são compreendidas como doses não letais, porém afetam o desenvolvimento da planta, podendo gerar estímulo.

Os resultados de fitointoxicação de *U. decumbens* corroboram com resultados da literatura em que doses de 2,4-D + picloran (360 + 96, 720 + 192, 1.080 + 288, 1.440 + 384 g i.a. ha⁻¹) não apresentam nenhum sintoma de injúria sobre as plantas de *Melinis minutiflora* P. Beauv (Santos et al., 2006).

2.3.5 Análises fisiológicas

Em plantas de *E. urograndis* clone I144 houve uma queda da assimilação de CO_2 na dose de 251,3 g e.a ha^{-1} (redução de 23 %), o que levou a queda da eficiência do uso da água em 10,7 % aos 14 DAA. Porém aos 28 DAA o aumento da taxa de assimilação de CO_2 com 251,3 g e.a ha^{-1} de 2,4-D foi de 42 % em relação ao controle, consequentemente aumentando as taxas de eficiência do uso da água e eficiência intrínseca de carboxilação devido a queda do carbono interno (Ci) (Figura 15).

Figura 15 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *Eucalyptus urograndis* clone I144 aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de 2,4-D.

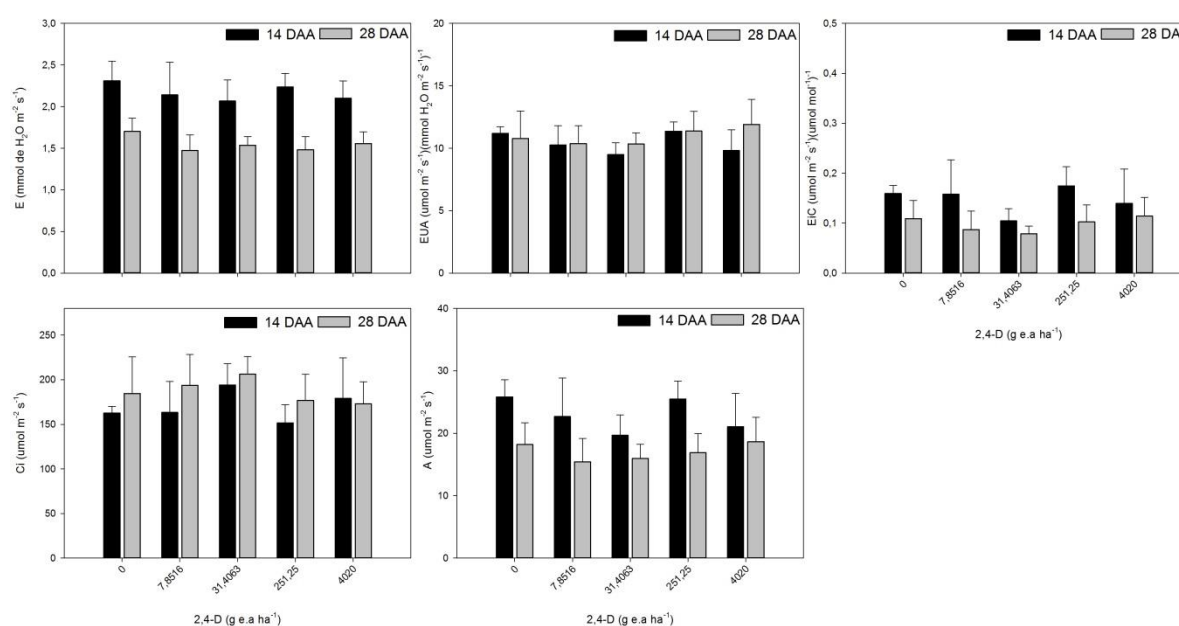


Um dos efeitos do 2,4-D é a redução da eficiência fotossintética, isso ocorre devido à alterações em algumas estruturas, como os cloroplasto, organelas e possivelmente a redução da enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase. Aos 14 DAA a redução da taxa de CO_2 pode ter acontecido por diversos fatores, mas uma das explicações seria um suprimento insuficiente de carboidratos para a planta, afetando seu vigor e sua produtividade. Porém aos 28 DAA a planta aumentou a taxa de

assimilação de CO_2 , fato que pode ter ocorrido pois com o passar do tempo o herbicida foi metabolizado e exsudado na raiz, fato que pode ter conferido respostas ao estresse gerado pela aplicação do herbicida. Com o acréscimo da assimilação e a queda ou manutenção da transpiração e do carbono interno houve o aumento da eficiência do uso da água e da carboxilação. O *Megathyrsus maximus* sobre aplicação de 2,4-D a longo prazo alterou a produção de forragem, pois as folhas possivelmente concentraram substância em sua estruturas para fotossíntese (Da Silva, 2022).

A espécie *U. decumbens* apresentou um aumento na eficiência do uso da água nas nas maiores doses avaliadas (251,25 e 4020 g e.a ha^{-1}) aos 28 DAA, mas apresentou reduções da eficiência intrínseca de carboxilação na dose de 31,4 g e.a ha^{-1} no mesmo período. Os demais resultados se mantiveram semelhantes com o controle (Figura 16). Possivelmente a *U. decumbens* não sofre muitas alterações fisiológicas devido aos fatores comentados acima e nos outros itens.

Figura 16 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *U. decumbens* aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de 2,4-D.



Outras análises são pertinentes para constatar efeitos estimulatórios do 2,4-D, como, análises de clorofila, a qual é essencial para fotossíntese e produção de energia para as plantas, pois leves alterações na pigmentação podem agir na eficiência fotossintética. Análises de estresse oxidativo pois o 2,4-D pode induzir a produção excessiva de ROS. O estresse oxidativo pode ser quantificado através da avaliação de enzimas antioxidantes, e análise de atividade hormonal na planta, a qual explicaria alguns fatores expressos nas plantas de *U. decumbens* e *E. urograndis* clone I144, estas análises podem ser quantificadas por cromatografia, analisando concentrações de auxinas, citocininas e giberilinas nas plantas.

2.3.6 Biomassa seca

As plantas de *U. decumbens* não sofreram danos relevantes o que não acarretou em perda de biomassa seca, já as plantas de *E. urograndis* clone I144 apresentaram perdas significativas de biomassa nas maiores doses (125,25; 502,5; 1005; 2010 e 4020 g e.a ha⁻¹), porém houve efeito hormético em doses menores (Figura 17).

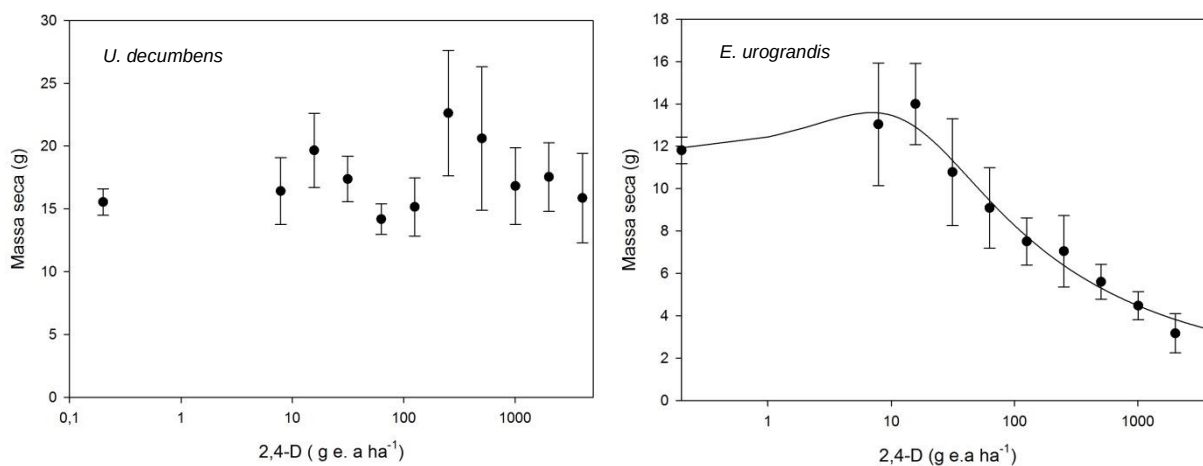
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regressão deste item se apresentam expostos na Tabela 12.

Tabela 12 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para biomassa seca de plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *U. decumbens* para o 2,4-D

Valor de F	<i>E. urograndis</i> clone I144	<i>U. decumbens</i>
Doses	21,482**	2,413**
Hipótese $f \neq 0$	6,885	--
Modelo	1	--
Regressão	52,62	--
R^2	0,98	--
Constantes		
b	1.33461	--
c	1.36539	--
d	11.76256	--
e	12.66795	--
f	1.05251	--
CV (%)	24,76	23,08

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

Figura 17 – Biomassa seca de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *Urochloa decumbens*, 28 dias após a aplicação de diferentes doses de 2,4-D.



A faixa de dose estimulante para o 2,4-D no *E. urograndis* clone I144 é de 0,9 – 21 g e.a ha⁻¹, sendo que a dose máxima de estímulo é de 7 g e.a ha⁻¹, ocasionando um estímulo máximo de 13,4% em relação ao tratamento controle. Desta maneira percebe-se que plantas dicotiledôneas respondem melhor a estímulos tanto inibitórios quanto estimulantes em herbicidas auxínicos. Fragoso et

al. (2012) observaram ganhos para área foliar e para a biomassa seca em *Eucalyptus grandis* clone I144, com concentração significativa de 2,4-D de 2,5 mg.i.a.L⁻¹, obtendo assim ganhos na fotossíntese e demais alterações no metabolismo do vegetal. Os autores também observaram ganhos na altura e no diâmetro, com concentrações de 0,625 mg.i.a.L⁻¹, indicando mais uma vez que os níveis de auxína são alterados com a aplicação do produto, obtendo efeitos de alongamento celular.

Devido as características da *U. decumbens*, pode-se notar que a mesma não sofre efeito do herbicida, pois algumas características suas atuam para que o herbicida não haja em seu metabolismo. Desta maneira não houve um decréscimo da biomassa seca em função das doses aplicadas. Porém o aumento da altura da planta pode ter ocasionado um aumento na biomassa seca nas doses de 251,25 e 502,5 g e.a ha⁻¹, com aumento de 45,5 e 32,4 % respectivamente em relação ao controle.

2.4 CONCLUSÃO

As plantas de *E. urograndis* clone I144 e *U. decumbens* apresentaram comportamentos diferentes a tratamentos de subdoses e doses acima de 1005 g e.a ha⁻¹ de 2,4-D. Devido aos mecanismos envolvidos nas plantas de *U. decumbens* não houve sintomas de fitointoxicação pelo composto, o que acarretou em um aumento da altura das plantas em todas as doses aos 28 DAA, conseqüentemente houve um aumento na biomassa seca, porém este efeito não foi refletido em brotações de novos perfilhos.

As subdoses de 2,4-D causaram injúrias as plantas de *E. urograndis* clone I144, o aumento do diâmetro em algumas plantas ocorreu devido ao efeito do crescimento desordenado das células, podendo ser discutido se este efeito é apresentado como hormético. Porém a biomassa seca do eucalipto foi estimulada em doses de 0,9 à 21 g e.a ha⁻¹. O aumento da assimilação de CO₂ levou ao aumento da eficiência do uso da água e da eficiência intrínseca de carboxilação, porém este aumento foi observado em doses acima das doses que apresentaram respostas horméticas na biomassa seca.

Os estudos com subdoses de 2,4-D em plantas de *E. urograndis* clone I144 não se apresentam abundantes em literatura, este fato deve-se a baixa utilização do

herbicida nesta cultura, devido ao risco de derivas do produto afetarem o desenvolvimento das plantas. Em gramíneas é mais comum o uso deste herbicida devido ao controle que possui sobre dicotiledôneas, sendo seletivo as espécies monocotiledôneas gramíneas. Portanto torna-se necessário estudar o efeito desse herbicida em várias culturas, pois cada cultura irá responder morfollogicamente e fisiologicamente diferente ao estresse causado pelo 2,4-D, esses estudos ajudarão a posicionar o produto corretamente, seja como regulador, estimulante ou no controle de plantas daninhas.

2.5 REFERÊNCIAS

ARTECA, R.N. Plant growth substances: principles and applications. New York: **Chapman & Hall**, 1995.

CALABRESE, E. J. Evidence that hormesis represents an “overcompensation” response to a disruption in homeostasis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 135, p. 137-42, 1999.

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

DA SILVA, Gabriel Feitosa et al. Desenvolvimento e tolerância *Megathyrus maximus* x *M. infestum* cv. Massai submetido a diferentes doses de 2, 4-D nortox. **Scientific Electronic Archives**, v. 15, n. 11, 2022.

DE GOES MACIEL, Cleber Daniel et al. Misturas em tanque de 2, 4-d+ picloram e reguladores vegetais em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. MG-5. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 7, n. 2, p. 43-52, 2008.

DIAS, G. L. S. **Sintomas de intoxicação de culturas por herbicidas**. 2015.

EBERHARDT, T.L.; BERNARDS, M.A.; HE, L.; DAVIN, L.B.; WOOTEN, J.B.; LEWIS, N.G. Lignification in cell suspension cultures of *Pinus taeda* – in situ characterization of a gymnosperm lignin. **The Journal of Biological Chemistry**, V. 268,(28), p. 21088- 21096, 1993.

FRAGOSO, A.M. **Variações nos níveis de elementos minerais após aplicações de 2,4-D em progênies de *Eucalyptus grandis***. 2014. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

MARCHESI, B. B. Efeitos de formulações e intervalos sem chuva na absorção, translocação e eficácia de Glyphosate e 2, 4-D. 2016.

MARQUES, R. F. et al. Hormesis de 2, 4-D sal colina em algodoeiro cultivado no Cerrado. 2019.

MARSALA, L. et al. Can 2, 4-D promote the hormesis effect in upland rice?. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 57, n. 8, p. 680-685, 2022.

OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J. Plantas daninhas e seu manejo. Guaíba: **Agropecuária**, 2001. 362 p.

OLIVEIRA JUNIOR, R.S. Mecanismos de ação de herbicidas. In.: OLIVEIRA JUNIOR, R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H., editores. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax; 2011.

PARSONS, P. A. Metabolic efficiency in response to environmental agents predicts hormesis and invalidates the linear No-Threshold Premise: Ionizing radiation as a case study. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 443, p. 450-33, 2003.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 5. ed. Londrina, 2005, 592p.

SANTOS, M.V.; FREITAS, F.C.L.; FERREIRA, F.A.; VIANA, R.G.; TUFFI SANTOS, L.D.; FONSECA, D.M. Efficacy and persistence of herbicides in pasture soils. **Planta Daninha**, Viçosa, v.24, n.2, p.391-398, 2006.

SENSEMAN, S. A. et al. **Herbicide handbook**. Lawrence, US: Weed Science Society of America, 2007.

SENSEMAN, S. A. **Herbicide handbock**. 9th Edition, Lawrence: Weed Science Society of America. 2007. 485 p.

TAVARES, C. J. et al. Crescimento inicial de plantas de pequi após aplicação de 2, 4-D. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 89, p. 81-87, 2017.

VIDAL, R. A. **Ação dos herbicidas**. Porto Alegre: Evangraf, 2002.

CAPÍTULO 3

SUBDOSES DE FLUMIOXAZIN COM POSSÍVEL EFEITO HORMÉTICO em *Eucalyptus urograndis* E *Urochloa decumbens*

3.1 INTRODUÇÃO

O amplo uso de produtos químicos no controle de plantas daninhas pode acarretar em riscos as culturas não alvo (desejadas), quando o posicionamento e os devidos cuidados não são tomados (Hemphill Jr. & Montgomery, 1981). Com o aumento da tecnologia e a implantação da Agricultura 4.0 é necessário atentar-se a alguns pontos. O aumento do uso de drones como aplicadores de defensivos vem se expandindo ao longo dos anos, uma má aplicação aérea devido a altura das postas de pulverização em relação ao solo e fatores climáticos desfavoráveis para a aplicação podem levar o produto a longas distância e atingir culturas que não são de interesse para o controle (deriva), afetando as plantas com subdoses do produto (Da Cunha, 2008). No entanto não devemos julgar somente a aplicação aérea, colocando-a como vilã na tecnologia de aplicação, pois da mesma maneira que ocorre má aplicações com aviões e drones também pode ocorrer más aplicações terrestres. Essa subdosagem ou superdosagem causada por variados efeitos pode ser prejudicial a plantas sensíveis ou até mesmo causar estímulo em plantas não desejadas (Tuffi Santos, 2015).

A explicação para o estímulo de subdoses de um determinado produto químico é caracterizado como hormesis, o estresse gerado pelo composto aplicado remete a planta a apresentar diferentes respostas, sejam elas morfológicas ou fisiológicas (Velini, 2019). Este fenômeno está sendo amplamente estudado em diversas áreas da biologia e da toxicologia, porém estudos sobre o efeito de flumioxazin e os efeitos horméticos ocasionados em aplicações de subdoses ainda é um tema de pesquisa a ser estudado.

Dentre os herbicidas disponíveis para o controle de plantas daninhas em áreas florestais (aplicação em pós e pré-emergência da cultura) o flumioxazin torna-se uma boa saída no quesito eficácia e eficiência de controle. Porém é necessário entender os efeitos causados por esse herbicida em áreas de florestas plantadas, como por exemplo o eucalipto (no caso deste capítulo o *Eucalyptus urograndis* clone

I144) e os seus efeitos nas plantas daninhas, como por exemplo a *U. decumbens*, planta daninha muito abundante no Brasil e que compete por água, luz e nutrientes, além de possuir efeitos alelopático que podem prejudicar o desenvolvimento do eucalipto (Brendolan et al., 2000).

O mecanismo de ação do flumioxazin está relacionado com a inibição da PROTOX, esta enzima é responsável por causar danos aos tecidos das plantas no momento em que há contato, sendo necessária a presença de luz para ativação (Silva, A. A; Dantonino, L; Ferreira, F. A, 2014). Herbicidas com esse mecanismo de ação podem penetrar por meio das raízes, dos caules e pelas folhas jovens. São herbicidas com pouca ou nenhuma translocação, devido a este comportamento a presença de sintomas de fitointoxicação nas plantas de *Eucalyptus urograndis* e *Urochloa decumbens* foi observada onde houve o contato do produto com a planta, causando necrose foliar e arroxamento das folhas, sintoma característico dos inibidores da PROTOX.

Diante desse contexto o objetivo deste capítulo é explorar os possíveis efeitos horméticos causados por aplicações de subdoses de flumioxazin em plantas de *E. urograndis* clone I144 e *U. decumbens*, avaliando os possíveis efeitos fisiológicos e morfológicos das plantas tratadas.

A compreensão destes efeitos implicará em melhores posicionamentos e cuidados que devem ser tomados em aplicações de flumioxazin, levando em consideração quais são as doses subletais e doses excessivas responsáveis por causar estímulos e danos as espécies.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Avaliação da ocorrência de hormesis de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *U. decumbens* após aplicação de subdoses de flumioxazin

Os estudos foram conduzidos em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente ao Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, campus de Botucatu, SP.

As unidades experimentais foram compostas por vasos de 1,7 litros, preenchidos com substrato Carolina Soil® composto por turfa de esfagno, vermiculita

e casca de arroz carbonizada, com pH 5,7 ($\pm 0,5$). As condições de semeadura, desbaste, transplante das mudas e condução foram ajustadas para cada espécie. As plantas foram mantidas em bancadas sob condição de plena luz antes e após a aplicação. As aplicações foram realizadas sobre *Urochloa decumbens* com 4-5 perfilhos em média e as plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 com aproximadamente 30-35 cm de altura. Os ensaios conduzidos com seis repetições. A época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições meteorológicas estão descritas na Tabela 13.

Tabela 13 – Época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições de umidade e temperatura no momento da aplicação do experimento.

Espécies	Época		Estádio da planta			Condição de aplicação	
	Transplante semeadura	Aplicação	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Nº de perfilho	Temperatura (°C)	Umidade (%)
Eucalyptus	05/09/22	24/09/22	30-35	3,5-5	--	27	72
Urochloa	24/09/22	24/10/22	28-31	--	4-5	28	75

As avaliações finais de biomassa seca (parte aérea) foram realizadas aos 28 dias após a aplicação (DAA). Foram realizadas avaliações de altura das plantas, diâmetro do caule do eucalipto e contagem de perfilhos da *Urochloa decumbens* aos 3; 7; 14; 21 e 28 DAA. Além das avaliações visuais de injúria (fitointoxicação) segundo a escala percentual de notas, onde “0” corresponde a nenhuma injúria e “100” significa a morte das plantas, conforme a Sociedade Brasileira da Ciência em plantas Daninhas (1995).

A altura da planta de *E. urograndis* clone I144 foi determinada da base do caule da planta ao ápice da planta, enquanto o diâmetro mensurado com paquímetro digital, à altura de três centímetros do colo da planta. As plantas de *U. decumbens* foram mensuradas (altura) da base da planta até a folha mais longa (ápice da planta).

Para determinar a biomassa seca das plantas, as amostras foram acondicionadas em estufa com circulação forçada de ar, mantendo-se 60 °C constantes por 15 dias, posteriormente pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g.

As avaliações de consumo de água e das variáveis fotossintéticas foram realizadas em parte dos tratamentos (0,98; 3,9 e 31,25 g i.a ha⁻¹), considerando o

tempo necessário para obter essas informações em cada unidade experimental. Foram utilizadas duas unidades analisadores de gás por infravermelho, IRGA LCpro-SD (ADC BioScientific Ltd, UK) equipados com compensadores de luz e com a concentração de CO₂ ambiente. Foram analisadas as seguintes variáveis: i) taxa de assimilação líquida de CO₂ (A, em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$); ii) Transpiração foliar (E, em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$); iii) Concentração interna de CO₂ (Ci, em $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Com base nas três variáveis citadas acima foram determinados, também, os valores de eficiência instantânea de carboxilação (EiC) $((A/C_i), \text{ em } (\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1})$ e eficiência do uso de água (EUA) $((A/E), \text{ em } (\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1})^{-1})$.

A aplicação do herbicida foi realizada com auxílio do simulador de aplicação, com controle de velocidade, pressão e vazão. Sendo utilizada barra de aplicação equipada com quatro pontas de pulverização XR 11002 espaçadas de 50 cm e pressurizada a 2 bar. A velocidade foi de 1 m s^{-1} condicionando volume de aplicação de 200 L ha^{-1} .

Foi utilizada uma ampla faixa de doses com o objetivo de avaliar a ocorrência de hormesis, os efeitos ocorrem em doses muito inferiores às de uso comercial. Tomando como referencial a dose de bula do herbicida (Flumioxazin 500 SC) ($125 \text{ g i.a ha}^{-1}$), identificada como “x”, foram utilizadas as seguintes doses: 4x; 2x; x; x/2; x/4; x/8; x/16; x/32; x/64; x/128 e 0 (tratamento controle sem aplicação). As doses acima da dose comercial contribuíram nos ajustes dos modelos permitindo a estimativa precisa dos valores mínimos previstos para a biomassa.

3.2.2 Procedimentos para a análise dos resultados

Para as curvas dose-resposta, realizadas nos estudos foram ajustados modelos de regressão não-linear apresentados por Brain e Cousens (1989) e Streibig (1980) seguindo o procedimento descrito por Velini et al. (2008). Para estes dados foi utilizado o programa estatístico R e para confecção dos gráficos o programa Sigmaplot 12.5, sendo também calculados o intervalo de confiança ($p=0,05$) da média no software Microsoft Excel, posteriormente adicionados às médias nos gráficos (Equação 1).

$$\text{Equação 1: } Ic = \frac{t*DP}{\sqrt{n}}$$

Onde, Ic = Intervalo de confiança, t = valor de t tabelado a 5%, DP = desvio padrão e $\sqrt{n}$ = raiz quadrada do número de repetições.

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

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

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

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

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

Os modelos acima usam estrutura unificada com coeficiente “b” parametrizado, denotando a inclinação da curva dose-resposta, “c” e “d” representam as assíntotas inferior e superior respectivamente, ou limites da resposta, e o parâmetro “e” é o logaritmo do ponto de inflexão. No modelo de Braian e Cousens (1988) há uma adição do coeficiente “f”, sendo o ponto que o diferencia do modelo de Streibig (1980), desta maneira este parâmetro se refere a taxa de estímulo, o que leva a deduzir o efeito hormético, porém segundo KNEZEVIC; STREIBIG e RITZ (2007) e SCHABENBERGER et al. (1999) esse efeito só se torna verdadeiro quando for diferente de 0 a 5% de probabilidade. Desta maneira as variáveis que apresentaram efeito hormético foram ajustadas dentro do modelo 1.

O ajuste dos dados no modelo de 5 parâmetros só é realizado a partir da análise entre a diferença da soma de quadrado médio da regressão dos dois

modelos. A associação do quadrado médio com a inclusão do coeficiente “f” é testado com grau de liberdade. Assim se o quadrado médio do modelo 1 for maior que o modelo 2 rejeita-se a hipótese de $f=0$, ocorrendo o estímulo de hormesis e assim aplicando o modelo 1. Na ocorrência do valor do quadrado médio não se mostrar significativo, a hipótese $f=0$ foi aceita e assim conclui-se que não havia efeito de hormesis e utilizou-se o modelo 2 (4 parâmetros) (VELINI, 2008).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Altura

O *E. urograndis* clone I144 não apresentou resultados exacerbados no crescimento das plantas, a dose de 0,98 g i.a ha⁻¹ apresentou a maior resposta ao estímulo de flumioxazin, com um incremento de 5 % em relação ao controle, as demais doses não apresentaram efeitos de estímulo e redução de crescimento (Figura 18).

Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão deste item se apresentam expostos nas Tabelas 14 e 15.

Tabela 14 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para altura de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o flumioxazin

<i>E. urograndis</i> clone I144 altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	1,059 ^{ns}	1,317 ^{ns}	1,069 ^{ns}	0,557 ^{ns}	0,656 ^{ns}
Hipótese $f \neq 0$	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	8,63	8,19	8,33	7,65	8,10

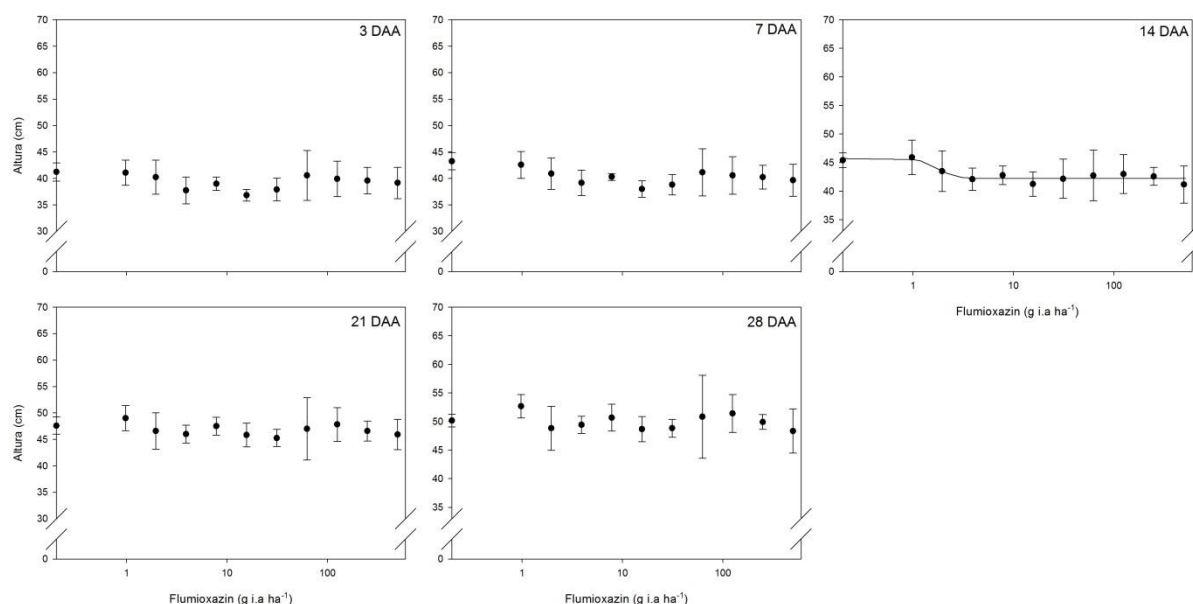
^{ns} não significativo; **, * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f

Tabela 15 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para altura de plantas de *U. decumbens* para o flumioxazin

<i>U. decumbens</i> altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	0,720 ^{ns}	1,596 ^{ns}	0,845 ^{ns}	0,783 ^{ns}	2,362 ^{**}
Hipótese f≠0	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	7,20	7,74	9,02	9,14	12,03

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

Figura 18 – Altura de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de flumioxazin.



O crescimento de *E. urograndis* clone I144 não foi afetado com as aplicações de flumioxazin, as maiores doses apresentaram sintomas de injúria no começo do experimento, mas com o passar dos períodos de avaliação esses sintomas foram se dissipando. O flumioxazin é um herbicida que tem utilização no controle de plantas

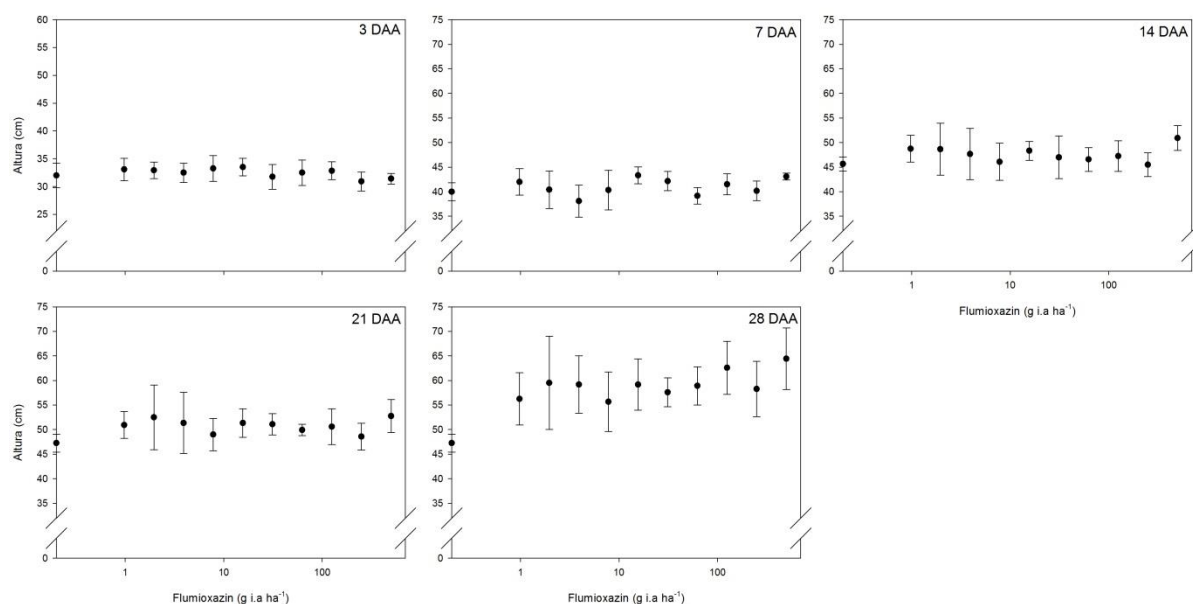
daninhas em áreas florestais, por ser um herbicida de contato os sintomas ocorrem logo após a aplicação, e se mantém restrito a área aplicada, devido a baixa translocação ou translocação nula dependendo da espécie (Reis et al., 2010). Os ramos e folhas jovens se desenvolvem normalmente após a aplicação, o que faz com que não haja efeitos sobre o desenvolvimento da altura da planta.

Aplicações de herbicidas com mecanismo de ação igual o flumioxazin, como é o caso do fomesafen (250 g ha^{-1}) apresentam leves injúrias nas plantas tratadas, porém não há prejuízos sobre o crescimento em altura e diâmetro do caule (Ronchi & Silva, 2004). O sulfentrazone é outro herbicida inibidor da enzima protoporfirinogênio oxidase (PROTOX), quando testado sobre mudas de eucalipto apresentou redução da altura das mudas (34 %) com a aplicação de 1 % da dose recomendada e reduções de 75 % na altura com 10 % da dose recomendada (Takahashi, 2007 e Tiburcio, 2010).

Portanto a resposta da planta aos tratamentos com herbicidas inibidores da PROTOX é modificada de acordo com a dose aplicada, com o herbicida utilizado e com o clone testado.

Os modelos de 4 e 5 parâmetros da curva dose resposta e hormesis não deram ajuste para *U. decumbens*. As plantas de *U. decumbens* apresentaram comportamento diferente aos estímulos de flumioxazin em comparação com *E. urograndis* clone I144, é possível notar que 14 DAA todas as doses estavam com médias de altura acima do tratamento controle com excessão da dose de $250 \text{ g i.a ha}^{-1}$, que apresentava valor igual ao controle, aos 21 DAA era visível a diferença entre os tratamentos, os maiores estímulos de altura foram observados com doses de 3,9; 15,6; 31,3 e $500 \text{ g i.a ha}^{-1}$, com estímulos de 8,5 %, 8,5 %; 8,1 e 11,6 % respectivamente em relação ao controle. As diferenças em relação ao controle se atenuaram com 28 DAA, as doses que apresentaram maiores valores de incremento de altura foram 125 e $500 \text{ g i.a ha}^{-1}$ com 31 e 36 % de acréscimo na altura respectivamente (Figura 19).

Figura 19 – Altura de *U. decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de flumioxazin.



Os efeitos das doses de flumioxazin foram crescentes com o passar do tempo, os efeitos de injúria visual ficaram restritos apenas as folhas que receberam contato com o produto, possivelmente o incremento do crescimento das plantas está relacionado com respostas ao estresse após a aplicação do composto. As respostas geradas podem ser fisiológicas, os herbicidas inibidores da PROTOX afetam também a síntese da clorofila, porém eles podem agir na homoglutationa, levando à formação de metabólitos não tóxicos as plantas (Ritter; Coble, 1981). Desta maneira os estímulos presentes em *U. decumbens* podem estar relacionados com uma tentativa de ajuste fisiológico, que aumenta com o passar do tempo, para que a planta possa se recuperar e se desenvolver normalmente. Provavelmente as folhas novas afetadas sofrem uma redução na fotossíntese, a produção de folhas jovens aumentando o crescimento da planta é uma resposta para compensar os défitis causados pelo herbicida.

3.3.2 Diâmetro (*Eucalyptus urograndis* clone I144)

As plantas de *E. urograndis* clone I144 apresentam pouca ou nenhuma redução do seu diâmetro, a dose de 500 g i.a ha⁻¹ foi responsável por apresentar os

menores valores de diâmetro aos 21 e 28 DAA, com diferenças em relação ao controle de 17 e 14 % de redução respectivamente. Porém as subdoses de flumioxazin de 0,98 e 1,95 g i.a ha⁻¹ apresentaram-se maiores em relação ao controle aos 21 DAA com acréscimos de 16 e 5 % respectivamente, enquanto aos 28 DAA somente a dose de 0,98 g i.a ha⁻¹ apresentou-se maior que o controle, com 6 % de aumento (Figura 20). Houve diferenças em relação ao controle porém não houve ajuste de modelo para esse parâmetro avaliado.

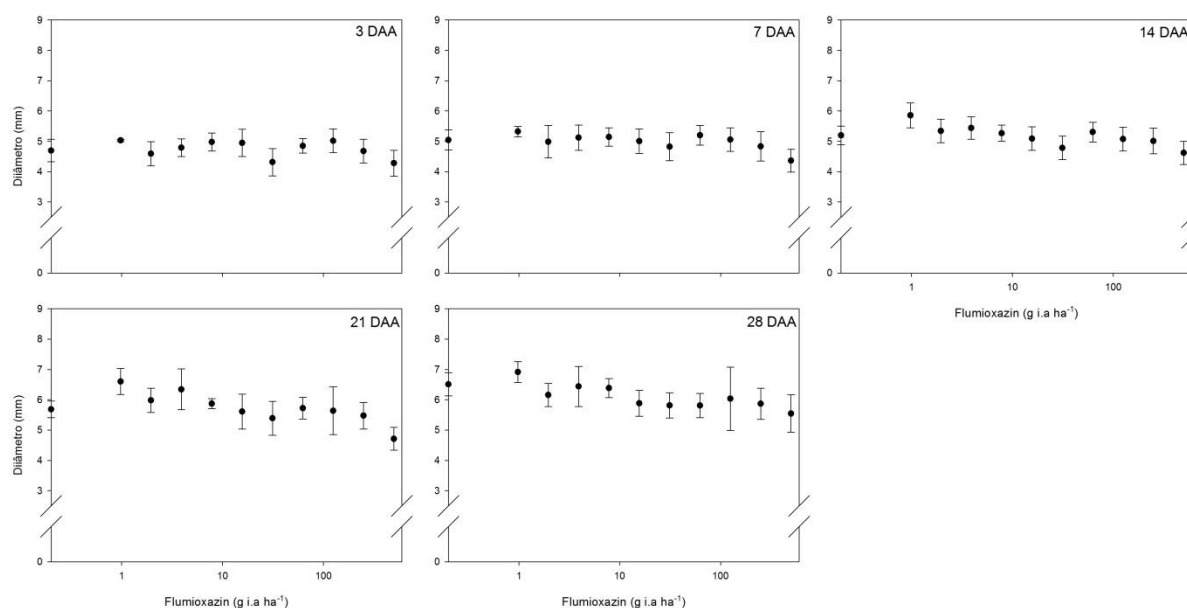
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 16.

Tabela 16 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção para diâmetro de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o flumioxazin

<i>E. urograndis</i> clone I144 altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	2,048**	1,617 ^{ns}	3,078**	3,968**	2,129**
Hipótese f≠0	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R ²	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	9,50	9,85	8,93	10,65	10,99

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

Figura 20 – Diâmetro de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de flumioxazin.



O flumioxazin como já mencionado neste capítulo é um herbicida de contato, atingindo os tecidos de maneira localizada quando a aplicação é realizada como pré-emergente, desta maneira o caule das plantas de *E. urograndis* clone I144 devem receber uma menor quantidade de produto, pois as folhas agem como um protetor, realizando um efeito de “guarda-chuva” sobre as folhas inferiores e sobre o colo da muda, evitando que o caule tenha uma cobertura tão homogênea quanto as folhas, o que possivelmente não irá interferir no crescimento do diâmetro.

Aplicações com flumioxazin (30 g ha^{-1}) causaram leves injúrias, e não diferiram em altura e diâmetro da dose 0 (Ronchi & Silva, 2003). Herbicidas como o carfentrazone-ethyl (inibidor da PPO) quando aplicados em doses de 3,6 e 12 % da dose recomendada não implicam resultados positivos e nem negativos no diâmetro do caule de eucalipto (Tuffi Santos, 2015). O sulfetrazone é um herbicida com mecanismo de ação muito parecido com o flumioxazin, desta maneira pode-se ter alguns sintomas semelhantes, a aplicação de sulfetrazone pode ser responsável por causar necrose generalizada das folhas velhas, além de ser responsável pela quebra da dominância apical (Takahashi et al., 2009). Possivelmente o incremento de diâmetro na menor dose da aplicação de flumioxazin $0,98 \text{ g i.a ha}^{-1}$ foi por causa da quebra da dominância apical, o que forçou a planta a gastar energia em outras

áreas celulares que desenvolvem o crescimento da planta, como brotações laterais e incremento do diâmetro.

3.3.3 Perfilho (*Urochloa decumbens*)

A *U. decumbens* não apresentou acréscimos no número de perfilhos, o controle se manteve maior durante todos os períodos de avaliação (28 DAA). O crescimento de perfilhos ao longo das avaliações permitiu um incremento de 5 perfilhos para o controle dos 3 aos 28 DAA, enquanto os demais tratamentos tiveram uma média entre 2 e 3 perfilhos de incremento.

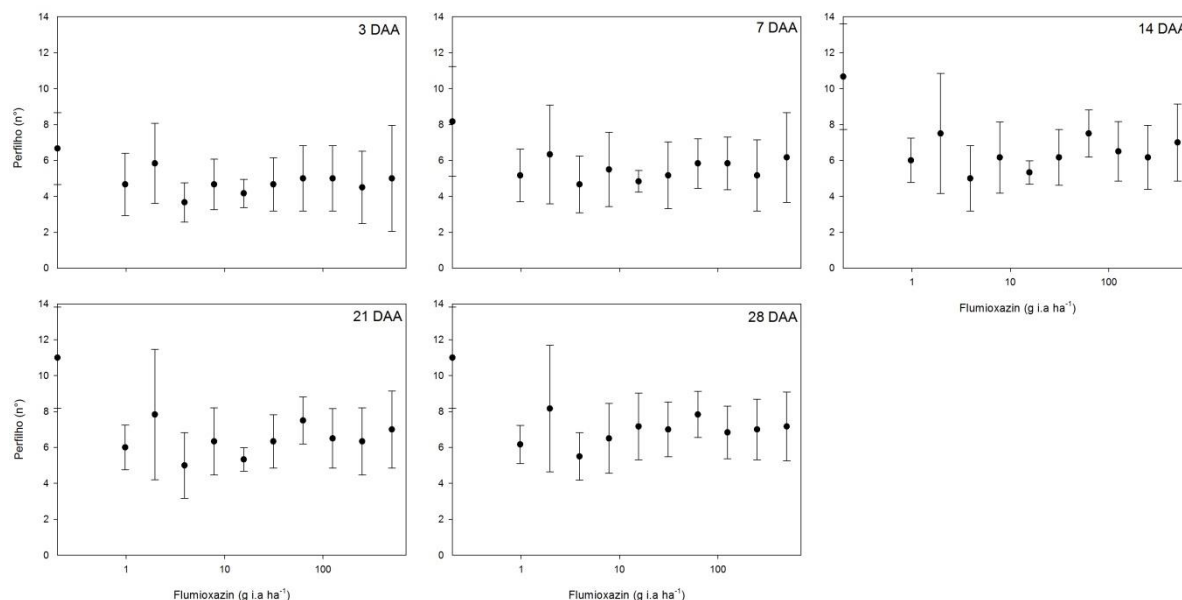
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 17.

Tabela 17 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para perfilho de plantas de *Urochloa decumbens* para o flumioxazin

<i>E. urograndis</i> clone I144 altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	0,724 ^{ns}	0,910 ^{ns}	2,244**	2,457**	1,996 ^{ns}
Hipótese f≠0	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	47,07	43,71	37,05	36,87	33,84

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

Figura 21 – Perfilho de *U. decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de flumioxazin.



Trabalhar com espécies vegetais se torna complicado quando precisamos posicionar a distribuição dos tratamentos, no caso da *U. decumbens* a distribuição entre os tratamentos foi homogênea para a altura, porém houve uma grande variação do número de perfilhos entre os tratamentos. Desta maneira vemos que o tratamento controle já possuía um maior número de perfilhos em relação aos demais. Porém se fizermos a subtração dos 3 DAA aos 28 DAA teremos o incremento de perfilhos ao longo do tempo, e como comentado acima, o tratamento controle proporcionou um acréscimo no lançamento de novos perfilhos em comparação com as subdoses de flumioxazin. A redução do número de perfilhos de trigo após a aplicação de flumioxazin também foi observada por Santos, 2021.

Possivelmente as plantas de *U. decumbens* desprenderam suas energias e reservas para responder ao estresse das doses de flumioxazin no crescimento em altura.

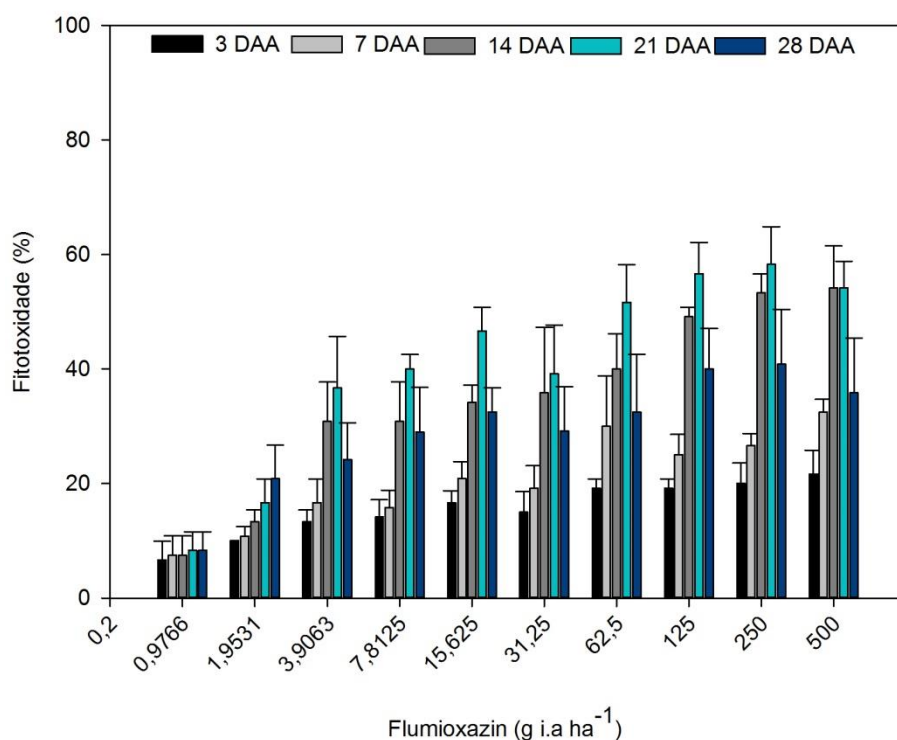
3.3.4 Fitotoxicidade

O *E. urograndis* clone I144 apresentou sintomas de fitotoxicidade crescente ao longo dos 28 DAA. Todas as doses responderam com injúrias a partir dos 3 DAA de

flumioxazin, com injúrias máximas de 21 % na maior dose testada (500 g i.a ha⁻¹) e 6 % na menor subdose (0,98 g i.a ha⁻¹). Entre os períodos avaliados os 21 DAA demonstrou os maiores níveis de fitotoxidade, com excessão das doses de 0,98 e 1,95 g i.a ha⁻¹, pois aos 28 DAA houve uma redução da intoxicação das plantas. Como exemplo temos as doses de 3,9; 15,6; 62,5; 250 g i.a ha⁻¹, que apresentaram uma recuperação da fitointoxicação causada pelo flumioxazin de 12; 14; 19 e 18 % respectivamente de 21 para 28 DAA (Figura 22).

A fitointoxicação ou as notas de injúria visual são ótimas para acompanhar o nível de fitotoxidade causada após o tratamento das plantas com as doses do herbicida, a curva-de-dose resposta normalmente se mostra crescente quando as plantas tratadas não são extremamente sensíveis ou muito tolerantes a exposição dos defensivos.

Figura 22 – Fitointoxicação de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de flumioxazin.

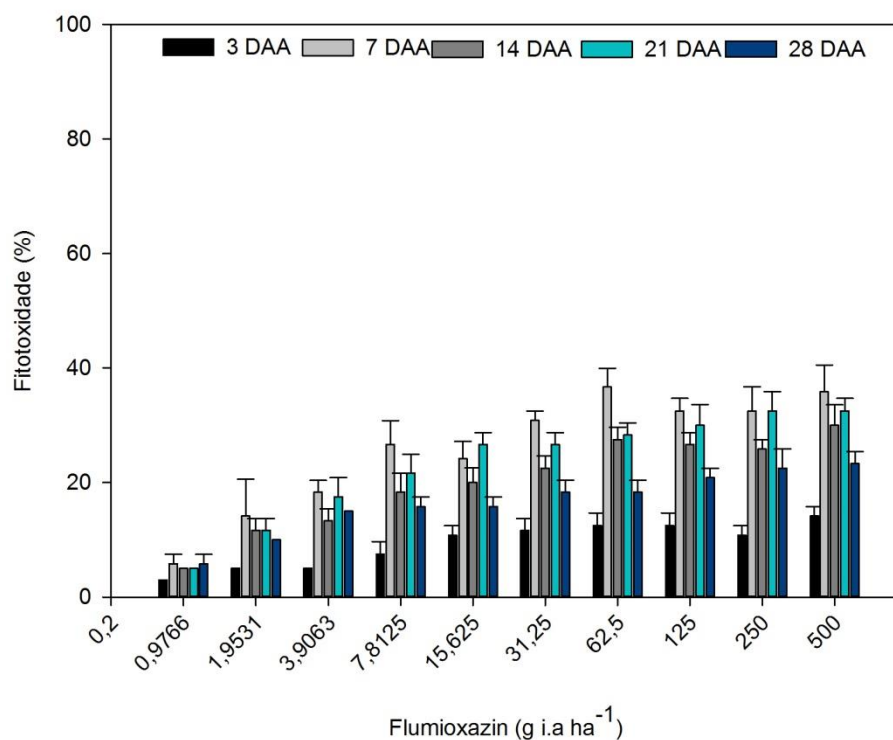


Os níveis de injúria para flumioxazin é crescente até os 21 DAA, após esse momento a recuperação é evidente. Caso o acompanhamento das injúrias se estende-se no experimento possivelmente haveria maiores níveis de recuperação para *E. urograndis* clone I144. A recuperação após o tratamento de flumioxazin é explicada através dos sintomas de injúria que permanecem estáticos no local atingido no momento da aplicação, com o passar do tempo as folhas jovens aparecem junto com os ramos laterais, além do crescimento da planta em altura, o que faz com que a planta diminua os sintomas. Caso o experimento fosse conduzido por um longo período as folhas atingidas iriam entrar em uma senescência natural, havendo uma abscisão das folhas do caule e dos ramos, o que causaria uma recuperação de 100 % da planta em função do tempo.

O oxyfluorfen é um herbicida inibidor da PROTOX seletivo à cultura de eucalipto quando utilizado em doses até 1680 g i.a ha⁻¹, com sintoma de injúria de 3,6 % aos 28 DAA (Agostinetto et al., 2010). Misturas de glyphosate + flumioxazin em aplicações sobre a cultura de eucalipto causaram intoxicação de 59 % aos 3 DAA nas maiores doses testadas por Golçalves, 2014.

Os níveis de injúria visual para *U. decumbens* foram abaixo de 35 %, possuindo o mesmo comportamento do *E. urograndis* clone I144, as doses responderam com injúrias crescentes até os 14 DAA, porém desse período de avaliação até os 28 DAA houve uma queda na fitotoxicidade do flumioxazin. Como exemplo podemos utilizar a menor dose (0,98 g i.a ha⁻¹) a dose intermediária (15,6 g i.a ha⁻¹) e a maior dose (500 g i.a ha⁻¹), com recuperações de injúria de 0,1; 5 e 7 % dos 21 aos 28 DAA, respectivamente (Figura 23).

Figura 23 – Fitointoxicação de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de flumioxazin.



A *U. decumbens* apresentou um comportamento muito parecido com o *E. urograndis* clone I144, mas com taxas de fitointoxicação menores. Provavelmente a resposta da planta ao estresse causado pelo flumioxazin em *U. decumbens* é a mesma para o eucalipto, onde a planta investiu em outros mecanismos como o incremento de altura para se manter e sair do estresse causado pelos tratamentos.

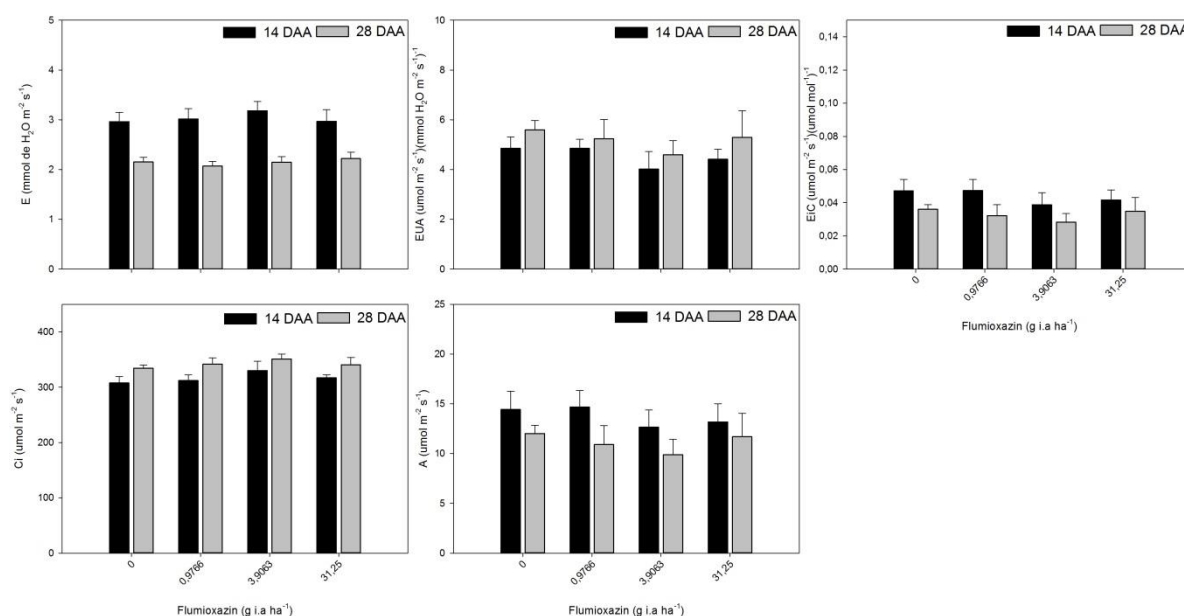
O trabalho tem como objetivo estudar os efeitos horméticos causados pelos herbicidas em diferentes mecanismos de ação, desta maneira a aplicação de flumioxazin como pós-emergente se mostrava mais viável que a aplicação em pré-emergência. Quando aplicado em pré-emergência estudos mostram controle de diferentes espécies em diferentes doses estudadas. O flumioxazin foi responsável por controlar *Sida sp.* Com doses de 71 g ha⁻¹ (Burke et al., 2002) e a 87 g ha⁻¹ controlou *Chenopodium album* e *Ipomoea hederacea* (Burke et al., 2002; Scott et al., 2001). A aplicação de 60 g.ha⁻¹ de flumioxazin em latossolo roxo distrófico promoveu controle de *Commelina benghalensis* (Oliveira et al., 1999). A aplicação da dose de flumioxazin (75 g.ha⁻¹) mantém controle considerável sobre *Digitaria*

sanguinalis e *Echinochloa crus-gali* (Han et al., 2002). Outros autores observaram que doses de 70 g ha⁻¹ promove excelente controle de *Chenopodium album* e *Amaranthus retroflexus* (Wilson et al., 2002). As espécies *Alternanthera tenella*, *Digitaria horizontalis*, *Digitaria insularis*, *Desmodium tortuosum*, *Euphorbia heterophylla*, *Nicandra physaloides* e *Spermacoce latifolia* são mais sensíveis à aplicação de flumioxazin (25 e 40 g.ha⁻¹) (Jaremtchuk et al., 2009).

3.3.5 Análises fisiológicas

As análises fisiológicas são importantes para o acompanhamento da resposta das plantas sobre o estresse de herbicidas, neste caso sobre a aplicação de subdoses de flumioxazin. Aos 14 DAA não houve nenhuma alteração nas taxas analisadas para *E. urograndis* clone I144, o tratamento controle e as demais doses se mantiveram praticamente iguais em todas as avaliações, as avaliações de 28 DAA seguiram o mesmo comportamento das avaliações de 14 DAA (Figura 24).

Figura 24 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *Eucalyptus urograndis* clone I144 aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de flumioxazin.



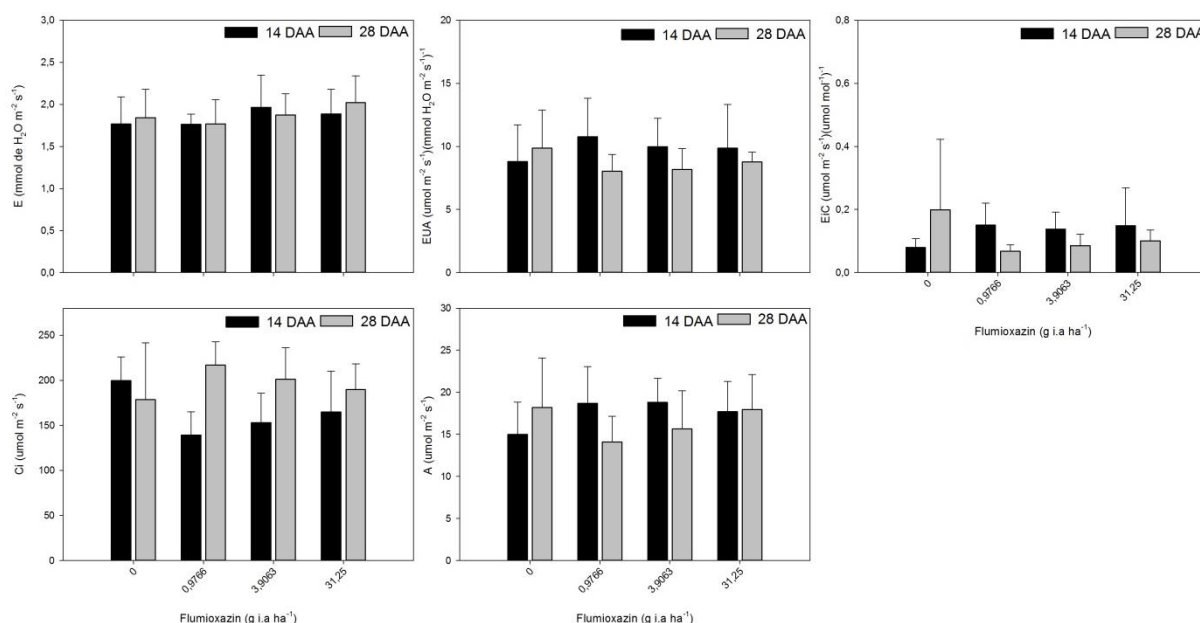
As plantas de *E. urograndis* clone I144 não apresentaram diferenças nas taxas avaliadas em cada período. A diferença entre as avaliações (períodos) é difícil de ser feita, pois em um intervalo tão grande de avaliações quanto este há muitos fatores que podem ser alterados e mostrar respostas diferentes entre os períodos, desta maneira a comparação correta a ser feita é entre as doses dentro de cada período avaliado. A recuperação do estresse gerado através da aplicação de subdoses de flumioxazin foi rapidamente superado pela planta, abaixando os níveis de fitointoxicação. Possivelmente as alterações fisiológicas mais expressivas poderiam ser observadas em períodos iniciais. As avaliações foram feitas em dois períodos (14 e 28 DAA), para que se possa ter melhores conclusões seria necessário haver avaliações nos períodos de 3 e 7 DAA, pois aos 3 DAA já era possível notar efeitos da aplicação do flumioxazin sobre as plantas de *E. urograndis* clone I144. Neste período inicial a planta possivelmente estava aumentando a sua taxa de assimilação de CO_2 , e com isso ocorrendo uma maior perda de água por transpiração, essas respostas ao estresse seriam tentativas de aumentar a taxa fotossintética para aumentar sua reserva de energia, assim desprendendo-a para outras funções, portanto seria uma resposta fisiológica para a planta não comprometer seu desenvolvimento, porém nos períodos avaliados não foi possível tirar conclusões concretas.

A análise de alguns parâmetros fisiológicos para *U. decumbens* se mostraram pertinentes, como o aumento da assimilação de CO_2 , as doses de 0,98 e 3,9 g i.a ha^{-1} obtiveram um incremento de 24 e 25 % respectivamente em comparação com o controle, enquanto o carbono interno teve um decréscimo de 30 e 23 % respectivamente nas mesmas doses citadas acima. Essas duas variáveis acarretaram em um aumento da eficiência intrínseca de carboxilação de 114 e 85 % nas doses mencionadas a cima respectivamente aos 14 DAA, neste mesmo período devido ao aumento da assimilação de CO_2 por meio do tratamento de subdoses de flumioxazin ocasionou um aumento da eficiência do uso da água em 21 e 12 % em relação ao controle nas mesmas doses e no mesmo período respectivamente.

Aos 28 DAA a assimilação de CO_2 foi atenuada em relação ao controle, obtendo taxas menores que aos 14 DAA, decréscimos de 22 e 13 % nas doses de 0,98 e 3,9 g i.a ha^{-1} respectivamente. A queda da assimilação e o aumento do carbono interno (incremento de 21 e 12 % nas doses de 0,98 e 3,9 g i.a ha^{-1} respectivamente) juntamente com a estabilização da transpiração, reduziram a

eficiência do uso da água e da eficiência intrínseca de carboxilação após a aplicação das subdoses de flumioxazin (Figura 25).

Figura 25 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *U. decumbens* aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de flumioxazin.



Como comentado para o *E. urograndis* clone I144, as avaliações fisiológicas poderiam ser feitas em períodos mais iniciais, ampliando a diferença das taxas em relação ao controle. Porém aos 14 DAA ainda foi possível observar algumas diferenças fisiológicas em *U. decumbens*. Aplicações com sulfetrazone (inibidor da PROTOX) agem diretamente no aparato fotossintético das plantas, indiretamente atuam na síntese de clorofila, principalmente em plantas sensíveis (Torres, 2012). Com relação a eficiência do uso da água, houve um aumento aos 14 DAA e um decréscimo aos 28 DAA, a eficiência do uso da água está relacionada com a quantidade de água transpirada por uma determinada cultura e a produção de matéria seca (Silva et al., 2007). As culturas mais eficientes em uso da água podem produzir uma maior quantidade de matéria seca, porém a *U. decumbens* teve uma redução aos 28 DAA, o que pode contribuir para a baixa porcentagem de matéria

seca produzida aos 28 DAA. Experimento realizado por Silva et al. (2007) demonstra queda da assimilação, o que também ocorreu neste experimento. Possivelmente a redução da fotossíntese das espécies ocorreu devido a menor síntese de clorofilas onde o flumioxazin atingiu os tecidos da planta, essas proteínas apresentam funções vitais, pois são responsáveis por captar energia luminosa, a qual é convertida em poder redutor para o processo de fixação e assimilação do CO₂ no ciclo de Calvin (Carretero, 2008).

A atuação do CO₂ pode ser comprometido pelos herbicidas inibidores da enzima PROTOX, esse fator pode acarretar na formação de óxido nítrico, e assim estimula a síntese da atividade do ácido abscísico (ABA), hormônio responsável por regular a abertura estomática (Mata & Lamattina, 2001).

3.3.6 Biomassa seca

As doses mais altas do produto apresentaram maiores níveis de intoxicação (500; 250; 125; e 62,5 g i.a ha⁻¹) porém para as duas espécies ocorreu recuperação das plantas ao longo do tempo. Os autores Tiburcio et al., (2012), também observaram significativa recuperação de plantas de eucalipto, aos 30 DAA do herbicida, as plantas apresentavam menos de 10% de injúria, o que também demonstra a recuperação da espécie.

Plantas de *E. urograndis* sofreram com a perda de biomassa seca começando na dose de 8 g i.a ha⁻¹ até quatro vezes acima da dose recomendada comercialmente, as maiores doses do herbicida não afetaram significativamente a biomassa seca de *U. decumbens*, isto ocorreu devido a baixa translocação do herbicida e a alta capacidade de recuperação que as duas espécies apresentaram.

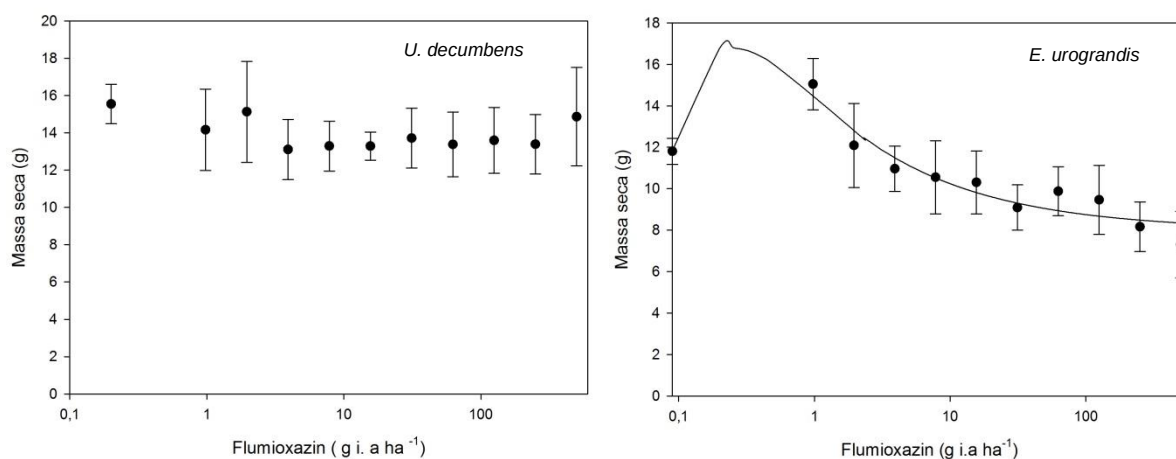
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regressão deste item se apresentam expostos na Tabela 18.

Tabela 18 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para biomassa seca de plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *U. decumbens* para o flumioxazin

Valor de F	<i>E. urograndis</i> clone I144	<i>U. decumbens</i>
Doses	8,490**	0,842 ^{ns}
Hipótese f=0	13,30	--
Modelo	1	--
Regressão	19,23**	--
R^2	0,91	--
Constantes		
b	1.47162	--
c	7.99623	--
d	11.83557	--
e	0.21289	--
f	64.73576	--
CV (%)	16,97	16,27

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

Figura 26 – Biomassa seca de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *Urochloa decumbens* 28 dias após a aplicação de diferentes doses de Flumioxazin.



O *E. urograndis* sofreu efeito hormético do herbicida posicionado, compreendendo uma faixa de estímulo de 0,01 à 2,3 g i.a ha⁻¹, o que demonstra que baixas quantidades do produto podem causar esse efeito, ou seja, em casos de deriva pode ocorrer ausência de sintomas e perdas de biomassa, levando a planta a efeitos estimulatórios. A dose máxima responsável por causar o maior estímulo na

planta é de 0,3 g i.a ha⁻¹, o que confirma que pequenas doses são o bastante para causar esses efeitos, percebe-se que a dose responsável por causar efeito é uma dose muito baixa dessa maneira estudos futuros deveriam focar em uma faixa de dose mais ampla, com doses abaixo da testada neste trabalho. Aos 28 DAA do tratamento o estímulo máximo referente a dose que causou o maior estímulo é de 29,7% em função do tratamento controle (dose 0) (Figura 26). Em trabalho realizado por Tiburcio (2010) o autor concluiu que o flumioxazin é seletivo a plantas de eucalipto nas doses de 75; 100 e 125 g ha⁻¹, ainda que algumas injúrias tenham afetado a planta a mesma se recuperou com o passar do tempo. Efeitos horméticos proporcionando aumento de massa seca com a utilização de vários herbicidas já foram citados por Duke et al., (2006). As plantas de *U. decumbens* não sofreram nenhum prejuízo, desta forma nenhum dos dois modelos citados acima (modelo 1 e modelo 2) se ajustaram.

3.4 CONCLUSÃO

As espécies *E. urograndis* clone I144 e *U. decumbens* respondem de maneira diferente aos estímulos causados por subdoses de flumioxazin. As doses a cima da dose recomendada 125 g i.a ha⁻¹ afetam menos a *U. decumbens* do que o eucalipto. Porém o herbicida mostra-se seletivo para as duas espécies, quando apresentaram injúrias houve recuperação com o passar dos períodos.

As plantas de *U. decumbens* responderam positivamente em estímulo de altura, porém a redução do número de perfilhos foi evidente, enquanto as plantas de *E. urograndis* clone I144 não responderam a estímulos de altura, mas apresentou acréscimo de diâmetro na menor dose testada 0,98 g i.a ha⁻¹.

Os estímulos fisiológicos acentuaram-se mais na espécie *U. decumbens* no período de 14 DAA, as variáveis avaliadas para estímulo fisiológico teriam que ser avaliadas mais cedo, possivelmente facilitando o entendimento das resposta ao estresse gerado pelo tratamento das plantas com flumioxazin.

A biomassa seca apresentou hormesis para *E. urograndis* clone I144, mesmo o herbicida sendo seletivo para o eucalipto são doses muito baixas que apresentam estímulo, sendo necessário utilizar uma faixa de doses com doses ainda menores que as testadas neste experimento.

Manejos de *E. urograndis* clone I144 com flumioxazin em aplicações após o estabelecimento das mudas podem gerar injúrias nas mudas, porém está irão se recuperar com o passar do tempo. Os devidos cuidados no controle das plantas daninhas é essencial para o sucesso da cultura de interesse, pois no caso de aplicação em pós-emergência o flumioxazin não irá proporcionar controle de *U.decumbens*.

3.5 REFERÊNCIAS

AGOSTINETTO, D.; TAROUCO, C. P.; MARKUS, C.; OLIVEIRA, E.; SILVA, J. M. B. V.; TIRONI, S. T. Seletividade de genótipos de eucalipto a doses de herbicidas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 585-598, jul./set. 2010.

BRENDOLAN, Rodrigo Alves; PELLEGRINI, Marcello Tadeu; DA COSTA AGUIAR ALVES, Pedro Luís. Efeitos da nutrição mineral na competição inter e intraespecífica de *Eucalyptus grandis* e *Brachiaria decumbens*: 1-crescimento. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, p. 49-57, 2000.

BURKE, I. C.; ASKEW, S. D.; WILCUT, J. W. Flumioxazin systems for weed management in North Carolina Peanut (*Arachis hypogaea*). **Weed Technology**, Champaign, v. 16, n. 4, p. 743-748, 2002.

CARRETERO, D. M. **Efeitos da inibição da protoporfirinogênio IX oxidase sobre as trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em plantas de soja (*Glycine max* L. Merrill)** 2008. 57 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

DA CUNHA, João Paulo Arantes Rodrigues. Simulação da deriva de agrotóxicos em diferentes métodos de aplicação. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 4, p. 487-493, 2008.

HAN, J. et al. Weed control in summer-sown soybeans with flumioxazin plus acetochlor and flumiclorac-pentyl plus clethodim. **Weed Biology and Management**, Fukui, v. 2, n. 2, p. 120-122, 2002.

HEMPHILL JR., D. D.; MONTGOMERY, M. L. Response of vegetable crops to sub lethal application of 2,4-D. **Weed Sci.**, v. 29, n. 6, p. 632-635, 1981.

JAREMTCHUK, C. C. et al. Efeito residual de Flumioxazin sobre a emergência de plantas daninhas em solos de texturas distintas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 191-196, 2009.

MATA, C. G.; LAMATTINA, L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. **Plant physiol.**, v. 126, n. 3, p. 1196-1204, 2001.

OLIVEIRA, M. F. et al. Lixiviação de flumioxazin e metribuzin em dois solos em condições de laboratório. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 17, n. 2, p. 207-214, 1999.

REIS, W. F. et al. Eficiência do Flumioxazin no controle de plantas daninhas no eucalipto. In: **IN: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**. 2010. p. 2956-2960.

RITTER, R. L.; COBLE, H. D. Penetration, translocation, and metabolism of acifluorfen in soybean (*Glycine max*), common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*), and common cocklebur (*Xanthium pensylvanicum*). **Weed Science**, v. 29, p. 474-80, 1981.

RONCHI, C.P. e SILVA, A.A. Weed control in young coffee plantations through post-emergence herbicide application on to total area. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 22, n. 4, p. 607-615, 2004.

RONCHI, C.P.; SILVA, A.A. Tolerância de mudas de café a herbicidas aplicados em pós-emergência. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.21, n.3, p.421-426, 2003.

Dos SANTOS, E. G. **Efeito residual do herbicida Flumioxazina, no desenvolvimento e produtividade do Trigo (*Triticum aestivum*)**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2021.

SCOTT, G. H.; SHAWN, D. A.; WILCUT, J. W. Economic evaluation of diclosulam and flumioxazin systems in peanut (*Arachis hypogaea*). **Weed Technology**, Champaign, v. 15, n. 2, p. 360-364, 2001.

SILVA, A. A. et al. Competição entre plantas daninhas e culturas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Ed.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas** Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 17-61.

TAKAHASHI, E. N.; ALVES, P. L. C.; SALGADO, T. P.; FARIAS, P. L.; BIAGGIONI, B. T. Consequências da deriva de clomazone e sulfentrazone em clones de e. Grandis x e. Urophylla. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 675-683, jul./ago. 2009.

TAKAHASHI, E. N.; **Efeito de subdoses dos herbicidas clomazone e sulfentrazone em clones de E. grandis x E. urophylla**. Jaboticabal, 2007. 50 f. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp. Jaboticabal, 2007.

TIBURCIO, R. A. S.. **Seletividade de herbicidas para o eucalipto visando extensão de uso para sistemas agrossilviculturais**. 2010.

TORRES, L. G. et al. Alterações nas características fisiológicas de cultivares de cana-de-açúcar submetida à aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, v. 30, p. 581-587, 2012.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sob efeito de deriva do glyphosate. **Planta daninha**, v. 23, p. 133-142, 2005.

VELINI, E. D. Hormesis: efeito de subdoses nas aplicações fitossanitárias. In: **Anais do Congresso Brasileiro de Fitossanidade**. 2019.

WILSON, D. E.; NISSEN, S. J.; THOMPSON, A. Potato (*Solanum tuberosum*) variety and weed response to sulfentrazone and flumioxazin. **Weed Technology**, Champaign, v. 16, n. 3, p. 567-574, 2002.

CAPÍTULO 4

APLICAÇÃO DE SUBDOSES DE ISOXAFLUTOLE EM *Eucalyptus urograndis* E *Urochloa decumbens* com potencial hormético

4.1 INTRODUÇÃO

A utilização de produtos químicos como pesticidas e herbicidas é um campo que sempre criou discussões e repercussões desde quando apresentou-se ao mercado. As preocupações com o seu devido uso são crescentes, tanto das partes que regulam o seu uso quanto do agricultor que quer eficiência e eficácia dentro da agricultura, assim como a segurança do aplicador, para que não haja contaminação e prejuízos à saúde humana, animal e às culturas não-alvo. O efeito conhecido como deriva ocasiona danos nas produções devido a perda de produto, esta perda ocasiona riscos à saúde animal e humana, além de afetar culturas vizinhas que não são o alvo da aplicação, no caso de culturas sensíveis esse efeito mostra-se ainda mais danoso. A produção de subdoses do produto geradas por fatores de deriva, má aplicação, fatores climáticos, recochetingamento da barra de pulverização entre outros fatores podem tanto contaminar quanto estimular uma série de componentes do sistema florestal e agrícola, o entendimento dessa variável é complexa e multifacetada. O conceito que emergiu para responder às subdoses que proporcionam estímulos que podem ser proporcionados por deriva é a hormesis, a qual descreve um fenômeno que exposições a baixas concentrações de um agente que é tóxico em altas concentrações, desencadeia uma série de respostas morfológicas, fisiológicas e adaptativa sobre os seres vivos.

O herbicida isoxaflutole é muito utilizado na agricultura e em florestas plantadas, como é o caso do eucalipto, devido ao controle proporcionado em plantas daninhas e à seletividade que apresenta na cultura. O isoxaflutole é classificado no Grupo 27 (WSSA) e no Grupo F2 (HRAC), responsável por inibir a enzima 4-hidroxifenil-piruvato dioxigenase (4-HPPD), esta enzima age na síntese de plastoquinonas e sua inibição causa efeito de branqueamento dos tecidos, com maior evidência em tecidos jovens (Oliveira Junior, 2011). Esses sintomas são resultado da inibição indireta da síntese de carotenoides. Os inibidores de carotenoides agem na fotoxidação da molécula de clorofila, a formação de radicais

tóxicos quando em excesso no citoplasma celular destroem a membrana plasmática das plantas daninhas o que causa a morte através do estresse oxidativo (Vidal, R. A; Merotto JR., A. et al., 2014).

A grande maioria dos estudos realizados com hormesis estão ligados ao glyphosate, porém uma pequena porcentagem se distribui entre os demais herbicidas, fato que torna muito relevante o estudo de hormesis com vários mecanismos de ação. A exposição de subdoses de um produto pode desencadear estímulos da planta, mas também pode acarretar em outras respostas ao estresse gerado, funcionando como mecanismo de defesa da planta, ativando mecanismos antioxidantes o que ajudará na resposta da planta a estresses abióticos, como seca, salinidade e resistência a patógenos. A via da síntese de carotenóides está associada a via de resistência das plantas a pragas, doenças e controle de plantas daninhas, alterações no crescimento da planta, alterações hormonais e tolerância a estresses ambientais (Velini et al., 2010).

A compreensão dos efeitos das subdoses de isoxaflutole é fundamental para otimização do uso do produto em áreas florestais e agrícolas. A identificação das sinalizações expressas pelo tratamento do herbicida é relevante para compreensão do seu efeito em espécies suscetíveis e resistentes, pois fornecem insights importantes para o manejo de plantas daninhas e ajuste de novas estratégias em seu controle, minimizando efeitos não desejáveis.

Portanto o objetivo deste capítulo é fornecer uma visão dos efeitos causados por aplicações de subdoses de isoxaflutole, abordando efeitos benéficos e de controle, com respostas morfológicas e fisiológicas sobre as plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *Urochloa decumbens*.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Avaliação da ocorrência de hormesis em *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *Urochloa decumbens* após aplicação de subdoses de isoxaflutole

Os estudos foram conduzidos em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente ao Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, campus de Botucatu, SP.

As unidades experimentais foram compostas por vasos de 1,7 litros, preenchidos com substrato Carolina Soil[®] composto por turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada, com pH 5,7 ($\pm 0,5$). As condições de semeadura, desbaste, transplante das mudas e condução foram ajustadas para cada espécie. As plantas foram mantidas em bancadas sob condição de plena luz antes e após a aplicação. As aplicações foram realizadas sobre *Urochloa decumbens* com 4-5 perfilhos em média e as plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 com aproximadamente 30-35 cm de altura. Os ensaios conduzidos com seis repetições. A época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições meteorológicas estão descritas na Tabela 19.

Tabela 19 – Época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições de umidade e temperatura no momento da aplicação do experimento.

Espécies	Época		Estádio da planta			Condição de aplicação	
	Transplante semeadura	Aplicação	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Nº de perfilho	Temperatura (°C)	Umidade (%)
Eucalyptus	05/09/22	24/09/22	30-35	3,5-5	--	27	72
Urochloa	24/09/22	24/10/22	28-31	--	4-5	28	75

As avaliações finais de biomassa seca (parte aérea) foram realizadas aos 28 dias após a aplicação (DAA). Foram realizadas avaliações de altura das plantas, diâmetro do caule do eucalipto e contagem de perfilhos da *Urochloa decumbens* aos 3; 7; 14; 21 e 28 DAA. Além das avaliações visuais de injúria (fitointoxicação) segundo a escala percentual de notas, onde “0” corresponde a nenhuma injúria e “100” significa a morte das plantas, conforme a Sociedade Brasileira da Ciência em plantas Daninhas (1995).

A altura da planta de *E. urograndis* clone I144 foi determinada da base do caule da planta ao ápice da planta, enquanto o diâmetro mensurado com paquímetro digital, à altura de três centímetros do colo da planta. As plantas de *U. decumbens* foram mensuradas (altura) da base da planta até a folha mais longa (ápice da planta).

Para determinar a biomassa seca das espécies, as amostras foram acondicionadas em estufa com circulação forçada de ar, mantendo-se 60 °C constantes por 15 dias, posteriormente pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g.

As avaliações de consumo de água e das variáveis fotossintéticas foram realizadas em parte dos tratamentos (1,17; 4,68; 37,5 e 600 g i. a ha⁻¹), considerando o tempo necessário para obter essas informações em cada unidade experimental. Foram utilizadas duas unidades analisadores de gás por infravermelho, IRGA LCpro-SD (ADC BioScientific Ltd, UK) equipados com compensadores de luz e com a concentração de CO₂ ambiente. Foram analisadas as seguintes variáveis: i) taxa de assimilação líquida de CO₂ (A, em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$); ii) Transpiração foliar (E, em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$); iii) Concentração interna de CO₂ (Ci, em $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Com base nas três variáveis citadas acima foram determinados, também, os valores de eficiência instantânea de carboxilação (EiC) ((A/Ci), em $(\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$) e eficiência do uso de água (EUA) ((A/E), em $(\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1})^{-1}$).

A aplicação do herbicida foi realizada com auxílio do simulador de aplicação de defensivos, com controle de velocidade, pressão e vazão. Sendo utilizada barra de aplicação equipada com quatro pontas de pulverização XR 11002 espaçadas de 50 cm e pressurizada a 2 bar. A velocidade foi de 1 m s⁻¹ condicionando volume de aplicação de 200 L ha⁻¹.

Foi utilizada uma ampla faixa de doses com o objetivo de avaliar a ocorrência de hormesis, os efeitos ocorrem em doses muito inferiores às de uso comercial. Tomando como referencial a dose de bula do herbicida (Fordor 750 WG) (150 g i. a ha⁻¹), identificada como “x”, foram utilizadas as seguintes doses: 4x; 2x; x; x/2; x/4; x/8; x/16; x/32; x/64; x/128 e 0 (tratamento controle sem aplicação). As doses acima da dose comercial contribuíram nos ajustes dos modelos permitindo a estimativa precisa dos valores mínimos previstos para a biomassa.

4.2.2 Procedimentos para a análise dos resultados

Para as curvas dose-resposta, realizadas nos estudos foram ajustados modelos de regressão não-linear apresentados por Brain e Cousens (1989) e Streibig (1980) seguindo o procedimento descrito por Velini et al. (2008). Para estes dados foi utilizado o programa estatístico R e para confecção dos gráficos o programa Sigmaplot 12.5, sendo também calculados o intervalo de confiança (p=0,05) da média no software Microsoft Excel, posteriormente adicionados às médias nos gráficos (Equação 1).

$$\text{Equação 1: } Ic = \frac{t * DP}{\sqrt{n}}$$

Onde, Ic = Intervalo de confiança, t = valor de t tabelado a 5%, DP = desvio padrão e $\sqrt{n}$ = raiz quadrada do número de repetições.

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

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

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

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

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

Os modelos acima usam estrutura unificada com coeficiente “b” parametrizado, denotando a inclinação da curva dose-resposta, “c” e “d” representam as assíntotas inferior e superior respectivamente, ou limites da resposta, e o parâmetro “e” é o logaritmo do ponto de inflexão. No modelo de Braian e Cousens (1988) há uma adição do coeficiente “f”, sendo o ponto que o diferencia do modelo de Streibig (1980), desta maneira este parâmetro se refere a taxa de estímulo, o que leva a deduzir o efeito hormético, porém segundo KNEZEVIC; STREIBIG e RITZ (2007) e SCHABENBERGER et al. (1999) esse efeito só se torna verdadeiro quando for diferente de 0 a 5% de probabilidade. Desta maneira as variáveis que apresentaram efeito hormético foram ajustadas dentro do modelo 1.

O ajuste dos dados no modelo de 5 parâmetros só é realizado a partir da análise entre a diferença da soma de quadrado médio da regressão dos dois

modelos. A associação do quadrado médio com a inclusão do coeficiente “f” é testado com grau de liberdade. Assim se o quadrado médio do modelo 1 for maior que o modelo 2 rejeita-se a hipótese de $f=0$, ocorrendo o estímulo de hormesis e assim aplicando o modelo 1. Na ocorrência do valor do quadrado médio não se mostrar significativo, a hipótese $f=0$ foi aceita e assim conclui-se que não havia efeito de hormesis e utilizou-se o modelo 2 (4 parâmetros) (VELINI, 2008).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Altura

As plantas de *E. urograndis* clone I144 aos 28 DAA na dose de 18,75 g i.a ha⁻¹ apresentou um acréscimo na altura de 7 %, os demais tratamentos não apresentaram diferenças em relação as doses de isoxaflutole (Figura 27).

As plantas de *E. urograndis* clone I144 e *U. decumbens* apresentaram comportamentos diferentes a aplicação de subdoses e doses acima do recomendado para o isoxaflutole. O eucalipto apresenta-se mais tolerantes as doses aplicadas que a *U. decumbens*.

Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos nas Tabelas 20 e 21.

Tabela 20 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para altura de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o isoxaflutole

<i>E. urograndis</i> clone I144 altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	1,264 ^{ns}	1,194 ^{ns}	1,330 ^{ns}	1,354 ^{ns}	1,459 ^{ns}
Hipótese $f \neq 0$	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	11,09	10,83	9,58	8,21	8,95

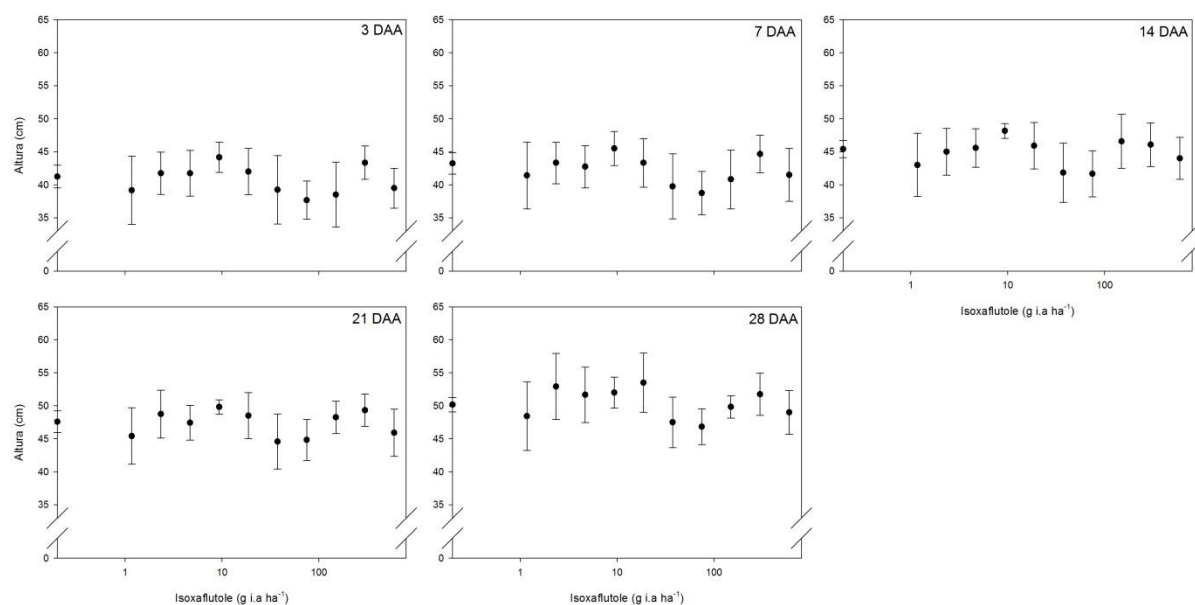
^{ns} não significativo; **, * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f

Tabela 21 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para altura de plantas de *U. Decumbens* para o isoxaflutole

<i>U. decumbens</i> altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	2,072**	2,601**	5,924**	7,275**	3,629**
Hipótese $f \neq 0$	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	6,56	7,97	8,82	8,35	11,37

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

Figura 27 – Altura de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de isoxaflutole.

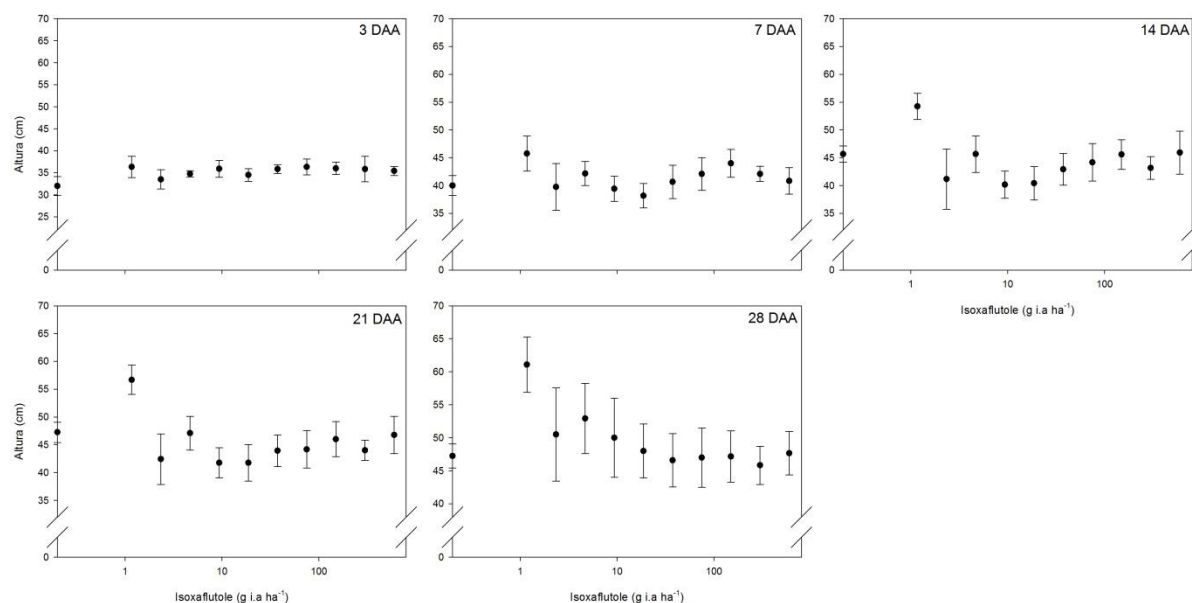


O herbicida isoxaflutole é utilizado no controle de pré-emergência de plantas daninhas monocotiledôneas e algumas dicotiledôneas (Silva & Silva, 2007). É um herbicida sistêmico baseando-se na inibição da síntese de carotenoides, com registro para culturas florestais, como pinus e eucalipto. Estudos com *Eucalyptus grandis* demonstram a seletividade do eucalipto ao isoxaflutole (Adoryan et al., 2002).

Possivelmente o grande responsável para que o eucalipto não seja afetado negativamente e também não sofra estímulos do herbicida isoxaflutole é a sua seletividade, mostrando-se tolerante, assim como o milho e cana-de-açúcar, pois são plantas que tem a capacidade de metabolizar rapidamente o isoxaflutole para diquetonitrila e a partir deste momento há uma rápida transformação da diquetonitrila em ácido benzoico, que não possui ação herbicida na planta, sendo transformado no final do processo em gás carbônico (Pallet et al., 1998; Sprague et al., 1999).

Apesar da planta *U. decumbens* ser uma planta mais suscetível aos estímulos negativos causados após a aplicação de isoxaflutole houve estímulo em doses abaixo da concentração recomendada ($150 \text{ g i.a ha}^{-1}$). O estímulo em incremento de altura para *U. decumbens* mostra-se presente na menor subdose testada ($1,17 \text{ g i.a ha}^{-1}$), o incremento de altura começa a se diferenciar do controle a partir dos 14 DAA, com aumento de 19 % em relação ao controle e com 21 e 28 DAA com incremento na taxa de altura em relação ao controle de 19,7 e 29 % respectivamente, as demais doses não tiveram redução de altura e nem acréscimos, mesmo ocorrendo sintomas de fitointoxicação (Figura 28).

Figura 28 – Altura de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de isoxaflutole.



É possível notar que mesmo sendo uma cultura mais sensível a tratamentos com inibidores de carotenoides do que o eucalipto a mesma não apresentou uma redução na altura, possivelmente este fato se deve a aplicação realizada em pré-emergência, pois aplicações em pós-emergência acabam controlando a brachiaria. O residual deixado no solo pelo isoxaflutole quando aplicado em pré-emergência controla plantas de *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum* (Marchiori Junior. et al., 2005).

Espécies sensíveis ao isoxaflutole possivelmente tem uma metabolização mais lenta, o que permite a inibição enzimática pelo diquetonitrila. Porém plantas tolerantes e sensíveis não apresentam diferença na absorção e na translocação do diquetonitrila, pela rota apoplástica sendo translocáveis através de toda a planta para as folhas jovens, onde é possível observar sintomas de fitointoxicação em plantas sensíveis ao inibidor de carotenoide (Pallet et al., 1998).

4.3.2 Diâmetro (*Eucalyptus urograndis* clone I144)

A análise do diâmetro das plantas de *E. urograndis* clone I144 não apresentou diferenças em seu incremento e também não houve uma paralização ou redução em relação ao tratamento controle (Figura 29).

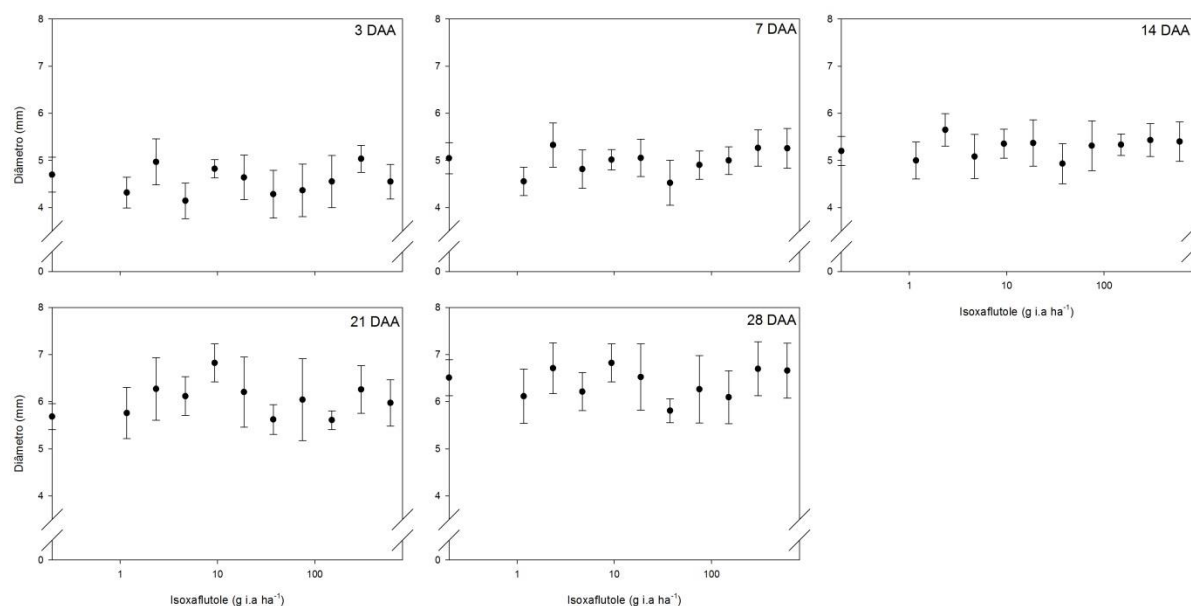
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão deste item se apresentam expostos na Tabela 22.

Tabela 22 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para diâmetro de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o isoxaflutole

<i>U. decumbens</i> altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	1,776 ^{ns}	1,971 ^{ns}	1,065 ^{ns}	1,793 ^{ns}	1,390 ^{ns}
Hipótese f≠0	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	11,55	9,36	9,40	11,01	10,44

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

Figura 29 – Diâmetro de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de isoxaflutole.



O isoxaflutole tende a apresentar os sintomas nas folhas mais jovens, porém como comentado no item anterior (4.3.1) sobre altura, as plantas dicotiledôneas tolerantes a este herbicida não apresentam sintomas devido a metabolização do herbicida. O que faz com que essas plantas também não apresentem resultados nas avaliações de diâmetro.

4.3.3 Perfilho (*Urochloa decumbens*)

Ao realizarmos a conta de incremento do número de perfilhos dos 3 DAA para os 28 DAA percebemos que o número de perfilhos foi afetado pelo isoxaflutole. Pois dos 3 aos 28 DAA o controle teve um incremento de 5 perfilhos, enquanto as doses testadas de isoxaflutole tiveram em média incrementos de 2 perfilhos por tratamento. Para exemplo podemos observar a menor dose testada de 1,17 g i.a. ha⁻¹ a dose intermediária de 18,75 g i.a. ha⁻¹ e a dose máxima de 600 g i.a. ha⁻¹, que obtiveram um acréscimo de 1; 2 e 2 perfilhos respectivamente (Figura 30).

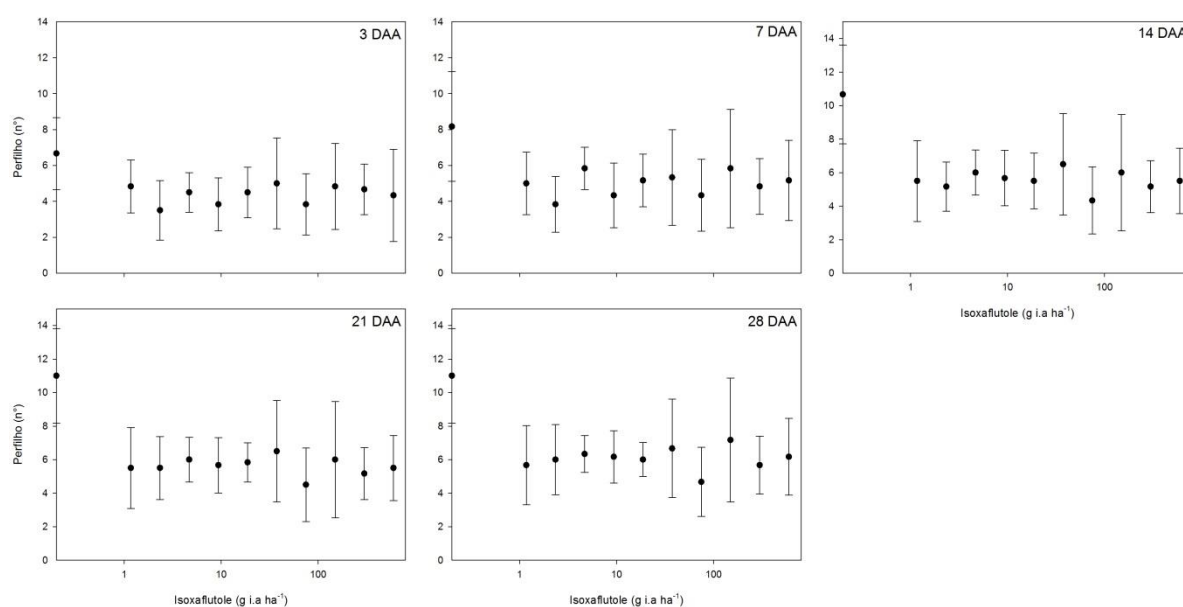
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão deste item se apresentam expostos na Tabela 23.

Tabela 23 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para perfilho de plantas de *Urochloa decumbens* para o isoxaflutole

<i>U. decumbens</i> altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	0,783 ^{ns}	1,089 ^{ns}	2,068 ^{**}	2,210 ^{**}	1,935 ^{ns}
Hipótese f≠0	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	50,52	51,15	46,69	45,93	43,87

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

Figura 30 – Perfilho de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de isoxaflutole.



A redução no números de perfilhos em relação ao tratamento controle pode ser por conta do efeito do isoxaflutole nas plantas, onde as mesma estão sobre estresse. A despigmentação (descoloração) das plantas pode reduzir a taxa

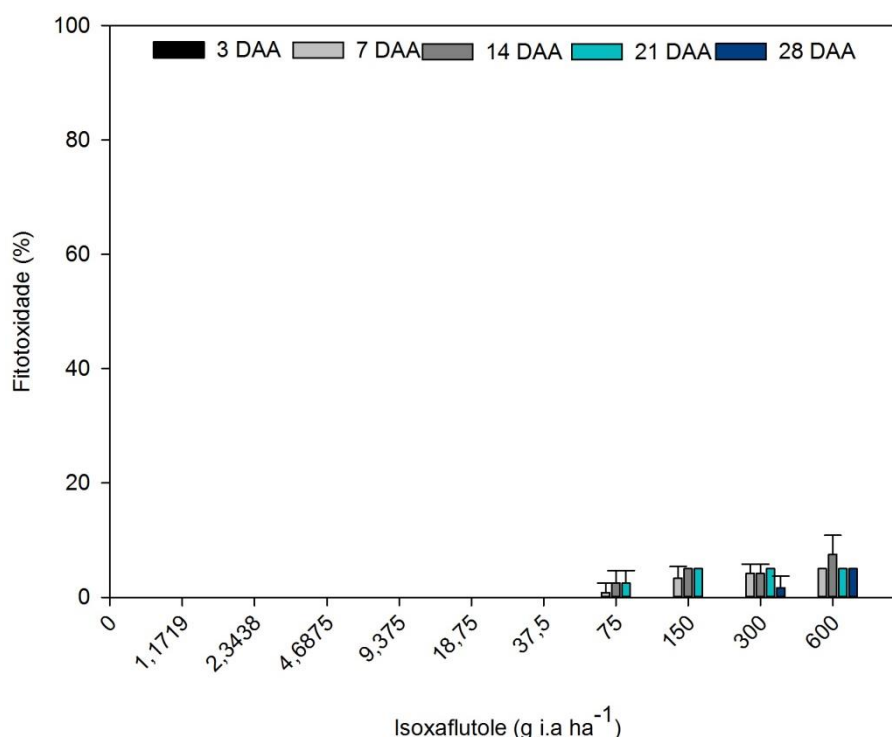
fotossintética e diminuir a produção de energia da planta para que possa haver desenvolvimento. Outro motivo pode ser que as plantas estavam de alguma maneira realizando uma metabolização lenta do herbicida e despreendendo sua energia a essa resposta (Hendrey et al., 1987; Pallet et al., 1998). Além da resposta que a planta apresenta ao estresse ocasionado pelos tratamentos com isoxaflutole, o fato do herbicida ser sistêmico faz com que ela seja transportado na planta chegando em outros tecidos, como colmo e raízes, o que afeta diretamente a produção de perfilhos na planta (Silva & Silva, 2007).

A organização das plantas para aplicação dos tratamentos é muito complexa quando estamos avaliando mais de um parâmetro ao mesmo tempo. A distribuição entre as repetições para evitar ao máximo as variações e para que os tratamentos fiquem mais homogêneos possíveis, é muito complicada a partir do momento em que estamos avaliando altura e número de perfilhos da planta.

4.3.4 Fitotoxicidade

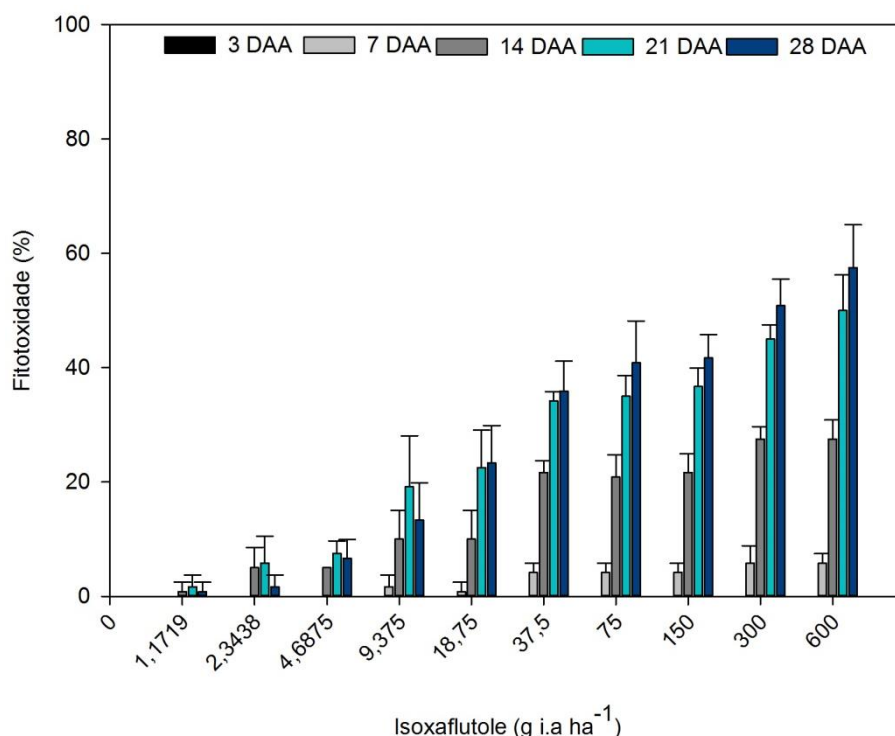
A espécie *E. urograndis* clone I144 se mostrou tolerante as doses testadas de isoxaflutole. Os sintomas de fitointoxicação apresentam-se a partir da dose de 37,5 g i.a ha⁻¹, as subdoses abaixo não apresentaram nenhuma injúria. Os maiores níveis de injúria foram observados aos 14 DAA na dose de 600 g i.a ha⁻¹ com taxa de intoxicação de 7,5 %, o que demonstra que mesmo a maior dose não é responsável por causar danos consideráveis ao eucalipto, aos 28 DAA esse sintoma se atenuou para 5 % de injúria, o que mostra que provavelmente se o experimento fosse conduzido por mais tempo a planta não apresentaria nenhum sintoma de injúria. A dose normal do isoxaflutole recomendada de 150 g i.a ha⁻¹ não obteve fitointoxicação maior que 5 %, podendo ser comparada a maior dose(Figura 31).

Figura 31 – Fitointoxicação de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de isoxaflutole.



As plantas de *U. decumbens* não apresentaram sintomas de injúria aos 3 DAA, aos 7 DAA houve injúrias de 5 % na dose de 600 g i.a ha⁻¹, nesta mesma dose o máximo de fitointoxicação observado foi de 57 % aos 28 DAA. As subdoses menores que 4,68 g i.a ha⁻¹ apresentaram intoxicações leves em todos os períodos, abaixo de 10 %. A *U. decumbens* não apresentou sinais de recuperação até o final do experimento para as doses maiores que 18,75 g i.a ha⁻¹, porém não teve sintomas de injúria maiores que 60 %, o que possivelmente pode fazer com que a planta tenha respostas ao estresse causado e consiga se recuperar com o passar do tempo. As subdoses abaixo de 18,75 g i.a ha⁻¹ apresentam sinais de recuperação das injúrias entre os 21 e 28 DAA (Figura 32).

Figura 32 – Fitointoxicação de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de isoxaflutole



Nos tratamentos com isoxaflutole na espécie *U. decumbens* houve a perda da coloração da planta e posteriores manchas seguidas de necrose, os tecidos novos que surgiram já se apresentavam sem pigmento no início do seu desenvolvimento. As plantas de *E. urograndis* clone I144 não apresentaram muitos dos sintomas citados acima, apenas uma leve perda de pigmentação (5 à 10 % de injúria) nas doses de 150; 300 e 600 g i. a ha⁻¹. Os autores Agostinetto et al. (2010) trataram a cultura de eucalipto com doses de isoxaflutole e oxyfluorfen, os herbicidas se mostraram seletivos à cultura nas doses de 150 e 1680 g i. a ha⁻¹.

O sintoma característico causado pelos herbicidas inibidores de carotenoides é causado devido à perda da pigmentação, pois o herbicida age na fitoeno desaturase, uma enzima precursora incolor dos carotenoides, porém essa enzima é catalisada antes da conversão do fitoeno. Desta maneira os sintomas estão associados com o acúmulo do fitoeno, no entanto nem o isoxaflutole nem o diquetonitrila inibem a atividade desta enzima. O diquetonitrila inibe a 4-hidroxifenil-piruvato dioxidase (HPPD) com degradação do aminoácido tirosida que inibe

indiretamente o fitoeno desaturase resultado da depleção da plastioquinona (Pallet et al., 1998; Viviani et al., 1998).

A bioativação do herbicida pode estar ligada a susceptibilidade da planta tratada. Em comparação com o isoxaflutole temos o clomazone, quando aplicado em plantas de arroz tolerantes metabolizaram menos o herbicida (64 %) do que a espécie *Echinochloa phyllopogon* (84%) (Tenbrook; Tjeerdema, 2006). Através do resultado tem-se outro fator, onde a maior metabolização do herbicida pode aumentar a produção de metabólitos fitotóxicos. No caso da *Echinochloa phyllopogon* ela não teve tantas injúrias quanto outras plantas sensíveis, esse fato possivelmente se deve ao fato da espécie metabolizar menos o herbicida em metabólitos fitotóxicos, causando um menor nível de intoxicação (Yasuor et al., 2010).

Outros resultados de baixos níveis de intoxicação podem ser vistos em *Myracrodruon urundeuva* (aroeira), com dose normal de isoxaflutole de 150 g i. a há⁻¹, não havendo efeito fitotóxico até os 28 DAA (Duarte et al., 2006). Na cultura do eucalipto foi registrado seletividade do herbicida após aplicações de isoxaflutole, com níveis de injúria de 3 %, resultado que corrobora com este trabalho (Agostinetto et al., 2010).

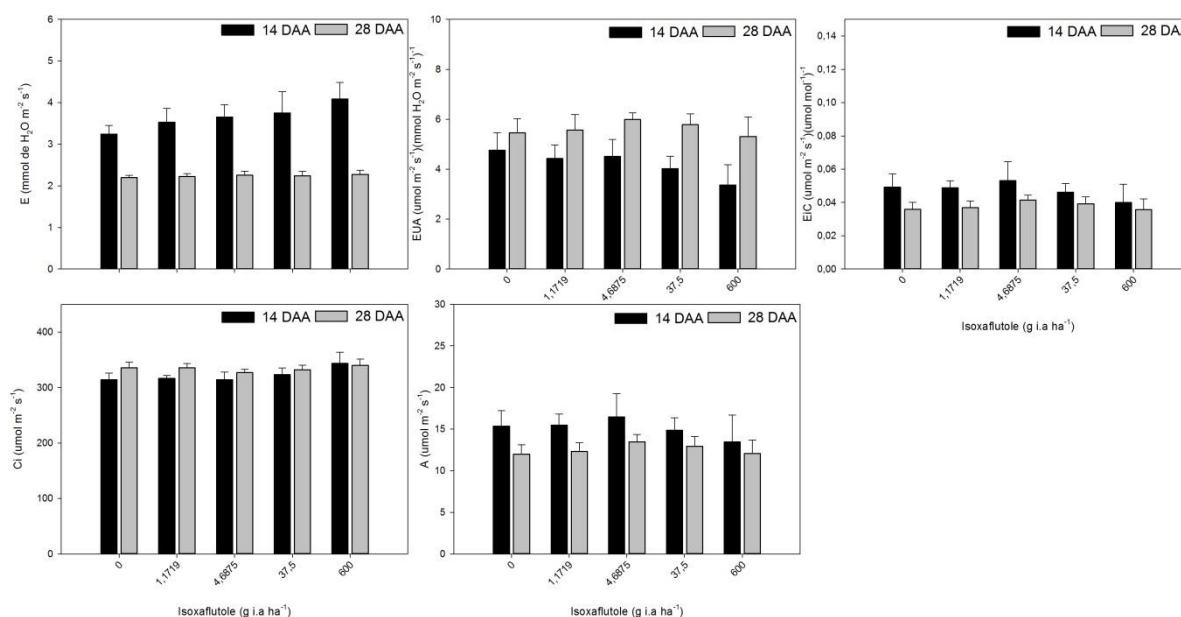
4.3.5 Análises fisiológicas

As respostas fisiológicas apresentadas por *E. urograndis* clone I144 estão diretamente ligadas com o mecanismo de ação do herbicida isoxaflutole. Aos 14 DAA o eucalipto aumentou sua transpiração gradativamente com o aumento das doses, em comparação com o tratamento controle houve um aumento de 8,5; 12,5; 15 e 30 % para as respectivas doses 1,17; 4,68; 37,5 e 600 g i.a ha⁻¹, porém a taxa de assimilação de CO₂ diminuiu, o que fez com que a eficiência do uso da água não apresentasse diferença nas menores doses, porém é possível observar uma queda na maior dose 600 g i.a ha⁻¹ de 29 %. A taxa de eficiência intrínseca de carboxilação não apresentou alteração aos 14 e 28 DAA, o que se deve a homogenidade do carbono interno entre os tratamentos (Figura 33).

A maior diferença nos resultados é possível ser observada aos 14 DAA, pois aos 28 DAA os tratamentos se igualaram ao controle, fato este que pode ser

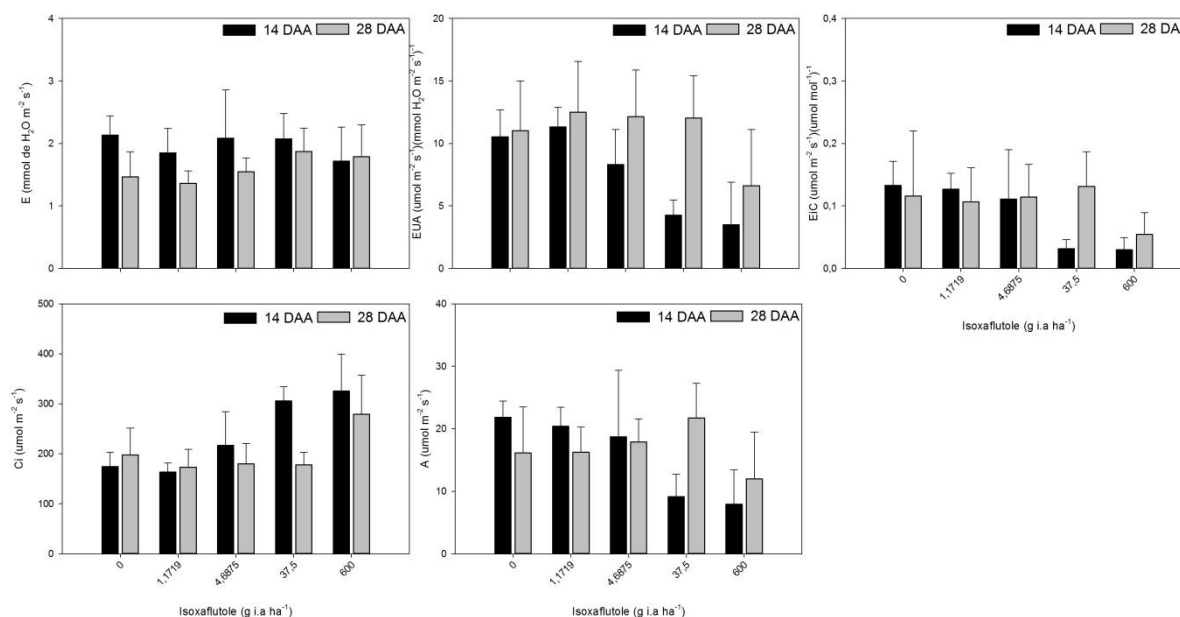
explicado pela rápida metabolização da planta dicotiledônea mais tolerante ao herbicida aplicado em pós-emergência (*E. urograndis* clone I144).

Figura 33 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *E. urograndis* clone I144 aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de isoxaflutole.



A *U. decumbens* é uma planta mais sensível ao isoxaflutole que as plantas de *E. urograndis* clone I144. A taxa de assimilação de CO₂ aos 14 DAA decresceu em função das doses aplicadas, este comportamento pode ser observado com maior evidência nas doses de 4,68; 37,5 e 600 g i.a ha⁻¹ com redução de 14; 58 e 63 % em relação ao controle respectivamente, no mesmo período e nas doses citadas acima houve um acréscimo no carbono interno de 24; 75 e 86 % respectivamente. O aumento do carbono interno e a redução da assimilação causou uma queda na eficiência intrínseca de carboxilação de 15; 76 e 84 % em relação ao controle respectivamente. A queda da assimilação em conjunto com a estabilização da transpiração da planta ocasionou queda na eficiência do uso da água, com reduções em porcentagem do controle de 20; 60 e 67 % nas doses 4,68; 37,5 e 600 g i.a ha⁻¹, respectivamente (Figura 34).

Figura 34 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *U. decumbens* aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de isoxaflutole.



O eucalipto apresenta menos respostas as variáveis fisiológicas, principalmente nas subdoses do isoxaflutole, este fato se deve a rápida metabolização do herbicida. Herbicidas inibidores de carotenoides apresentam poucos danos aos carotenoides pré-existentes, desta maneira a resposta ao herbicida é vista com maior facilidade em células mais jovens, porém devido a essa rápida metabolização, a formação de tecidos jovens não é afetada no *E. urograndis* clone I144 (Vidal, 1997; Oliveira Junior; Constantin, 2001).

A *U. decumbens* apresenta uma maior taxa de carbono interno nas maiores doses, porém houve a redução de assimilação, provavelmente isto se deve a abertura de estômatos na fase inicial da planta. A transpiração estabilizou pois a planta estava absorvendo carbono devido a abertura dos estômatos, mas este carbono não estava sendo assimilado, pois os processos do ciclo de Calvin ficam comprometidos com o uso de inibidores de carotenoides (Carretero, 2008).

Devido ao mecanismo de ação dos inibidores de carotenoides a fotossíntese da planta é afetada, pois com os carotenoides comprometidos há uma redução na

captação do espectro de luz do qual a energia é capturada. Com os carotenoides comprometidos a planta não consegue se autorregular no excesso de energia capturada para o processo de fotossíntese, havendo um acúmulo de energia (Ross; Childs, 1996). A ausência dos carotenóides faz com que a energia em excesso seja transferida para o oxigênio, resultando na forma excitada de oxigênio, o qual é mais reativo, responsável por causar danos foto-oxidativos as plantas, o que ocasiona a morte celular dos tecidos (Demmig-Adams; Adams III, 2000).

4.3.6 Biomassa seca

O *E. urograndis* clone I144 se mostrou linear nas variáveis estudadas. Seu crescimento não foi afetado, nem seu desenvolvimento em relação a diâmetro do caule, desta maneira a biomassa dos tratamentos se assemelham ao controle (dose 0). A diferença em relação ao controle é observada nas doses de 2,35 e 300 g i.a ha⁻¹, com incremento da biomassa seca de 20 e 17 % em relação ao controle respectivamente (Figura 35).

As plantas de *U. decumbens* não sofreram efeitos horméticos em tratamentos com isoxaflutole para biomassa seca, porém foi ajustado o modelo de quatro parâmetros para curva de dose-resposta (Streibig, 1980). As doses utilizadas reduziram gradativamente a biomassa da espécie. Com 150 g i.a ha⁻¹ houve uma redução de 53% em relação a testemunha, enquanto a dose de 600 g i.a ha⁻¹ teve redução de biomassa de 58%, não havendo incremento de biomassa em nenhuma dose testada (Figura 35).

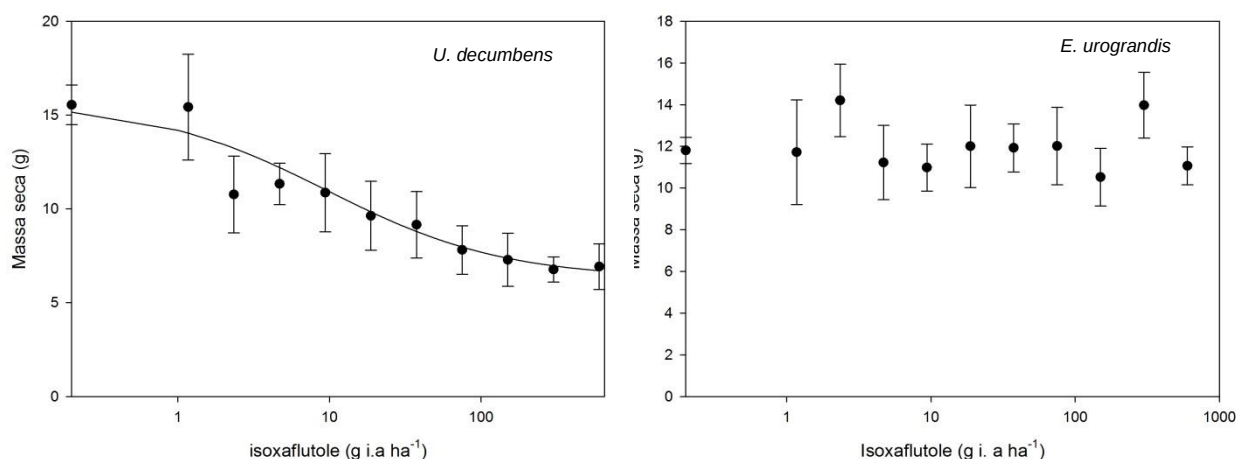
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 24.

Tabela 24 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para biomassa seca de plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *U. decumbens* para o isoxaflutole

Valor de F	<i>E. urograndis</i> clone I144	<i>U. decumbens</i>
Doses	2,04**	13,11**
Hipótese $f \neq 0$	--	0,12
Modelo	--	2
Regressão	--	39,57**
R^2	--	0,91
Constantes		
b	--	0,74
c	--	6,29
d	--	15,66
e	--	9,70
f	--	--
CV (%)	16,7	20,68

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

Figura 35 - Biomassa seca de *U. decumbens* e *E. urograndis* clone I144 28 dias após a aplicação de diferentes doses de isoxaflutole.



As razões para os resultados de biomassa podem ser justificados pelos resultados dos itens anteriores. O *E. urograndis* clone I144 não apresentou diferenças relevantes na altura, assim como não teve alteração em seu diâmetro do caule, não havendo redução de biomassa pois não houve paralização do crescimento das mudas devido a intoxicação. As plantas de *U. decumbens* por serem mais sensíveis aos tratamentos com isoxaflutole apresentaram redução da

biomassa nas doses mais altas, fato que provavelmente se deve ao baixo perfilhamento da espécie após o tratamento com isoxaflutole, e as injúrias sofridas pela planta após aplicação.

4.4 CONCLUSÃO

As plantas de *E. urograndis* clone I144 são tolerantes ao herbicida isoxaflutole, o comportamento das plantas dispostas no controle são muito semelhantes com os tratamentos de subdoses e superdosagens do herbicida. Não interferindo em crescimento (altura), diâmetro e biomassa seca, além de não apresentar sintomas de injúrias. A metabolização do herbicida pelas plantas de eucalipto tratadas com isoxaflutole é rápida, o que justifica a baixa porcentagem de injúria visual e os efeitos fisiológicos apresentados.

As plantas de *U. decumbens* são espécies mais sensíveis ao contato com o isoxaflutole, porém não foi observado uma redução de altura, e sim uma redução no número de perfilhos, o que pode ter afetado diretamente a biomassa seca da espécie. As respostas fisiológicas acontecem devido ao campo de ação do herbicida, agindo na taxa fotossintética da planta.

As duas espécies não apresentaram efeitos horméticos para as subdoses de isoxaflutole, porém os resultados são interessantes na questão do manejo, sabendo que o isoxaflutole é um dos poucos herbicidas seletivos e registrados para o uso em florestas. Porém nota-se que ao final do experimento a *U. decumbens* apresentava uma recuperação gradativa, mas para que essa afirmação seja consolidada é necessário estudos com maiores períodos de avaliação, assim como estudos sobre a ação deste herbicida em aplicações de pré-emergente em outras espécies, sabendo que cada espécie irá responder de maneira diferente ao estresse submetido.

4.5 REFERÊNCIAS

- ADORYAN, M. L.; BENDECK, O. B.; GELMINI, G. A. Eficácia e seletividade do herbicida isoxaflutole na cultura de *Eucalyptus grandis*. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS**, 23., 2002, Gramado. Resumos... Gramado: Pallotti, 2002. p. 576.
- AGOSTINETTO, Dirceu et al. Seletividade de genótipos de eucalipto a doses de herbicidas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 585-598, 2010.
- CARRETERO, D. M. **Efeitos da inibição da protoporfirinogênio IX oxidase sobre as trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em plantas de soja (*Glycine max* L. Merrill)** 2008. 57 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.
- DUARTE, N.F. et al. Selectivity of Herbicides upon *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira). **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 24, n. 2, p. 329-337, 2006.
- MARCHIORI JUNIOR, O.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; INOUE, M. H.; PIVETTA, J. P.; CAVALIERI, S. D. Efeito residual de isoxaflutole após diferentes períodos de seca. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 3, p. 491-499, 2005.
- OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo. Guaíba: Agropecuária**, 2001. 362 p.
- OLIVEIRA JUNIOR, R.S. Mecanismos de ação de herbicidas. In.: OLIVEIRA JUNIOR, R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H., editores. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax; 2011.
- PALLET, K. E.; LITTLE, J. P.; SHEEKEY, M.; VEERASEKARAN, P. The mode of action of isoxaflutole. I. Physiological effects, metabolism, and selectivity. **Pesticide Biochemistry Physiology, Duluth**, v. 62, n. 2, p. 113-124, 1998.
- SILVA, A.A.; SILVA, J.F. Tópicos em Manejo de Plantas Daninhas. Viçosa, MG. Editora UFV. 2007. 367p.
- SPRAGUE, C. L.; PENNER, D.; KELLS, J. J. Physiological basis for tolerance of four *Zea mays* hybrids to RPA 201772. **Weed Science**, Lawrence, v. 47, n. 4, p. 375-382, 1999.
- TENBROOK, P. L.; TJEERDEMA, R. S. Biotransformation of clomazone in rice (*Oryza sativa*) and early watergrass (*Echinochloa oryzoides*). **Pest Biochem Physiol**, v. 85, p. 38-45, 2006.
- 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.
- VIDAL, R. A. Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas. Porto Alegre, 1997. 165 p.
- VIVIANI, F.; LITTLE, J. P.; PALLET, K. E. The mode of action of isoxaflutole. II. Characterization of the inhibition of carrot 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase by

the diketonitrile derivative of isoxaflutole. **Pesticide Biochemistry Physiology**, **Duluth**, v. 62, n. 2, p. 125-134, 1998.

YASUOR, H. et al. Differential oxidative metabolism and 5-ketoclomazone accumulation are involved in *Echinochloa phyllopogon* resistance to clomazone. **Plant Physiology**, v. 153, p. 319–26, 2010.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS EFEITOS HORMÉTICOS EM *Eucalyptus urograndis* E *Urochloa decumbens* APÓS A APLICAÇÃO DO HERBICIDA GLUFOSINATE

5.1 INTRODUÇÃO

O uso de herbicidas é um assunto polêmico, porém em muitas culturas ou em lugares de difícil controle de plantas daninhas o uso de moléculas que causem estresse e morte de plantas indesejadas é essencial para que o desenvolvimento da cultura de interesse ocorra sem grandes danos. Devido ao difícil controle de plantas daninhas e do uso excessivo de moléculas antigas e já conhecidas, como é o caso do glyphosate, existem plantas daninhas que se tornam resistentes (Heap, 2020). Devido a este fato muitos herbicidas são lançados no mercado tentando tampar a lacuna deixada por herbicidas que antigamente controlavam grande parte das plantas.

O herbicida glufosinato é não seletivo e amplamente utilizado no controle de plantas daninhas, principalmente para dessecar o terreno antes do plantio, pois sua atividade é de um amplo espectro de controle. Este herbicida é inibidor da glutamina sintetase (GS). A enzima presente no herbicida é responsável pela assimilação do nitrogênio nas plantas (Matos-Nogueira et al., 2005). O glufosinato é responsável por promover o aumento e a acumulação de níveis de amônio na planta o que gera efeitos fitotóxicos. Esse incremento de amônio causa a interrupção da fotossíntese, ruptura da estrutura do cloroplasto e formação de vesículas no estroma, bloqueando a reassimilação do amônio durante a fotorrespiração (Manderscheid, 2005). Porém segundo Masclaux-Daubresse et al. (2006) há dúvidas que somente a acumulação de amônio esteja relacionada à drástica toxicidade de plantas.

Devido ao potencial de uso deste herbicida na agricultura e até mesmo em áreas florestais, é necessário entender o seu comportamento nas plantas, no solo, na água e até mesmo na interação com microorganismos. Um fato em potencial que pode ocorrer durante a aplicação é a formação de subdoses do produto, devido a erros de pulverização, recochietamento de barras de aplicação e causas ambientais. Esses efeitos que proporcionam subdoses de produtos (herbicidas), e podem causar estímulos em plantas não desejadas, como é o caso das plantas daninhas que

margeiam ou que estão no local de produção agrícola ou florestal, é conhecido como hormesis.

O efeito hormético pode ser explicado como um fenômeno que baixas doses de um agente extressor causa efeitos benéficos na planta tratada, desta maneira verifica-se o comportamento bifásico da curva dose-resposta, havendo estímulo ou inibição em diferentes doses (Bukowski; Lewis, 2000; Calabrese, 2004; Mattson, 1997; Murado; Vásquez, 2010). Este efeito caracterizado como hormesis é comprovado e estudado em várias culturas, porém o seu efeito em plantas daninhas ainda é pouco estudado e bastante limitado (Abbas et al., 2016). Para plantas daninhas resistentes a herbicidas é possível que a dose responsável por causar hormesis aumenta em função da dose necessária para realizar o controle, o que remete a frase de Paracelso, onde ele diz “a dose faz o veneno”.

A compreensão dos danos e dos estímulos causados por subdoses de glufosinate ajuda a fornecer informações valiosas para o desenvolvimento de estratégias de manejo de plantas daninhas, tornando-o mais eficaz e eficiente. Portanto o objetivo deste estudo é investigar os efeitos horméticos causados por subdoses de glufosinate em plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *Urochloa decumbens*, e quais são os efeitos do produto sobre a morfologia e fisiologia das plantas tratadas com o herbicida.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Avaliação da ocorrência de hormesis de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *U. decumbens* após aplicação de subdoses de glufosinate

Os estudos foram conduzidos em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente ao Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, campus de Botucatu, SP.

As unidades experimentais foram compostas por vasos de 1,7 litros, preenchidos com substrato Carolina Soil® composto por turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada, com pH 5,7 ($\pm 0,5$). As condições de semeadura, desbaste, transplante das mudas e condução foram ajustadas para cada espécie. As plantas foram mantidas em bancadas sob condição de plena luz antes e após a

aplicação. As aplicações foram realizadas sobre *Urochloa decumbens* com 4-5 perfilhos em média, e as plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 com aproximadamente 30-35 cm de altura. Os ensaios conduzidos com seis repetições. A época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições meteorológicas estão descritas na Tabela 25.

Tabela 25 – Época de transplante e aplicação, estágio da planta e condições de umidade e temperatura no momento da aplicação do experimento.

Espécies	Época		Estádio da planta			Condição de aplicação	
	Transplante semeadura	Aplicação	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Nº de perfilho	Temperatura (°C)	Umidade (%)
Eucalyptus	05/09/22	24/09/22	30-35	3,5-5	--	27	72
Urochloa	24/09/22	24/10/22	28-31	--	4-5	28	75

As avaliações finais de biomassa seca (parte aérea) foram realizadas aos 28 dias após a aplicação (DAA). Foram realizadas avaliações de altura das plantas, diâmetro do caule do eucalipto e contagem de perfilhos da *Urochloa decumbens* aos 3; 7; 14; 21 e 28 DAA. Além das avaliações visuais de injúria (fitointoxicação) segundo a escala percentual de notas, onde “0” corresponde a nenhuma injúria e “100” significa a morte das plantas, conforme a Sociedade Brasileira da Ciência em plantas Daninhas (1995).

A altura da planta de *E. urograndis* clone I144 foi determinada da base do caule da planta ao ápice da planta, enquanto o diâmetro mensurado com paquímetro digital, à altura de três centímetros do colo da planta. As plantas de *U. decumbens* foram mensuradas (altura) da base da planta até a folha mais longa (ápice da planta).

Para determinar a biomassa seca das espécies, as amostras foram acondicionadas em estufa com circulação forçada de ar, mantendo-se 60 °C constantes por 15 dias, posteriormente pesadas em balança analítica com precisão de 0,001 g.

As avaliações de consumo de água e das variáveis fotossintéticas foram realizadas em parte dos tratamentos (6,25; 25 e 200 g i. a ha⁻¹ para *E. urograndis* clone I144 e 6,25; 25 g i. a ha⁻¹ para *U. decumbens*), considerando o tempo necessário para obter essas informações em cada unidade experimental. Foram utilizadas duas unidades analisadores de gás por infravermelho, IRGA LCpro-SD

(ADC BioScientific Ltd, UK) equipados com compensadores de luz e com a concentração de CO₂ ambiente. Foram analisadas as seguintes variáveis: i) taxa de assimilação líquida de CO₂ (A, em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$); ii) Transpiração foliar (E, em $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$); iii) Concentração interna de CO₂ (Ci, em $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Com base nas três variáveis citadas acima foram determinados, também, os valores de eficiência instantânea de carboxilação (EiC) ((A/Ci), em $(\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$) e eficiência do uso de água (EUA) ((A/E), em $(\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) (\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1})^{-1}$).

A aplicação do herbicida foi realizada com auxílio do simulador de aplicação, com controle de velocidade, pressão e vazão. Sendo utilizada barra de aplicação equipada com quatro pontas de pulverização XR 11002 espaçadas de 50 cm e pressurizada a 2 bar. A velocidade foi de 1 m s^{-1} condicionando volume de aplicação de 200 L ha^{-1} .

Foi utilizada uma ampla faixa de doses com o objetivo de avaliar a ocorrência de hormesis, os efeitos ocorrem em doses muito inferiores às de uso comercial. Tomando como referencial a dose de bula do herbicida (Finale) ($800 \text{ g i. a ha}^{-1}$), identificada como “x”, foram utilizadas as seguintes doses: 4x; 2x; x; x/2; x/4; x/8; x/16; x/32; x/64; x/128 e 0 (tratamento controle sem aplicação). As doses acima da dose comercial contribuíram nos ajustes dos modelos permitindo a estimativa precisa dos valores mínimos previstos para a biomassa.

5.2.2 Procedimentos para a análise dos resultados

Para as curvas dose-resposta, realizadas nos estudos foram ajustados modelos de regressão não-linear apresentados por Brain e Cousens (1989) e Streibig (1980) seguindo o procedimento descrito por Velini et al. (2008). Para estes dados foi utilizado o programa estatístico R e para confecção dos gráficos o programa Sigmaplot 12.5, sendo também calculados o intervalo de confiança ($p=0,05$) da média no software Microsoft Excel, posteriormente adicionados às médias nos gráficos (Equação 1).

$$\text{Equação 1: } Ic = \frac{t*DP}{\sqrt{n}}$$

Onde, Ic = Intervalo de confiança, t = valor de t tabelado a 5%, DP = desvio padrão e $\sqrt{n}$ = raiz quadrada do número de repetições.

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

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

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

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

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

Os modelos acima usam estrutura unificada com coeficiente “b” parametrizado, denotando a inclinação da curva dose-resposta, “c” e “d” representam as assíntotas inferior e superior respectivamente, ou limites da resposta, e o parâmetro “e” é o logaritmo do ponto de inflexão. No modelo de Braian e Cousens (1988) há uma adição do coeficiente “f”, sendo o ponto que o diferencia do modelo de Streibig (1980), desta maneira este parâmetro se refere a taxa de estímulo, o que leva a deduzir o efeito hormético, porém segundo KNEZEVIC; STREIBIG e RITZ (2007) e SCHABENBERGER et al. (1999) esse efeito só se torna verdadeiro quando for diferente de 0 a 5% de probabilidade. Desta maneira as variáveis que apresentaram efeito hormético foram ajustadas dentro do modelo 1.

O ajuste dos dados no modelo de 5 parâmetros só é realizado a partir da análise entre a diferença da soma de quadrado médio da regressão dos dois

modelos. A associação do quadrado médio com a inclusão do coeficiente “f” é testado com grau de liberdade. Assim se o quadrado médio do modelo 1 for maior que o modelo 2 rejeita-se a hipótese de $f=0$, ocorrendo o estímulo de hormesis e assim aplicando o modelo 1. Na ocorrência do valor do quadrado médio não se mostrar significativo, a hipótese $f=0$ foi aceita e assim conclui-se que não havia efeito de hormesis e utilizou-se o modelo 2 (4 parâmetros) (VELINI, 2008).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Altura

As plantas de *E. urograndis* clone I144 não apresentaram estímulo aos tratamentos de subdoses de glufosinate. Porém o modelo de 4 parâmetros foi ajustado para a espécie aos 28 DAA. A dose normal recomendada para uso do herbicida apresentou queda de altura em relação ao controle (28 DAA), assim como as demais doses que apresentam-se acima desta. Desta maneira as doses de 800; 1600 e 3200 g i.a ha⁻¹ obtiveram reduções de altura em 18; 17 e 15 % respectivamente em relação ao controle, havendo uma estabilidade a partir da dose recomendada. As menores subdoses testadas se encontraram com valores próximos ao controle (Figura 36).

Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão deste item se apresentam expostos nas Tabelas 26 e 27.

Tabela 26 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para altura de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o glufosinate

<i>E. urograndis</i> clone I144 altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	0,615 ^{ns}	0,687 ^{ns}	1,303 ^{ns}	3,166**	4,746**
Hipótese f≠0	--	--	--	--	0,228
Modelo	--	--	--	--	2
Regressão	--	--	--	--	14,45
R^2	--	--	--	--	0,91
Constantes					
b	--	--	--	--	8.68756
c	--	--	--	--	41.43348
d	--	--	--	--	49.75016
e	--	--	--	--	497.13326
f	--	--	--	--	--
CV (%)	8,86	8,91	8,22	8,40	9,47

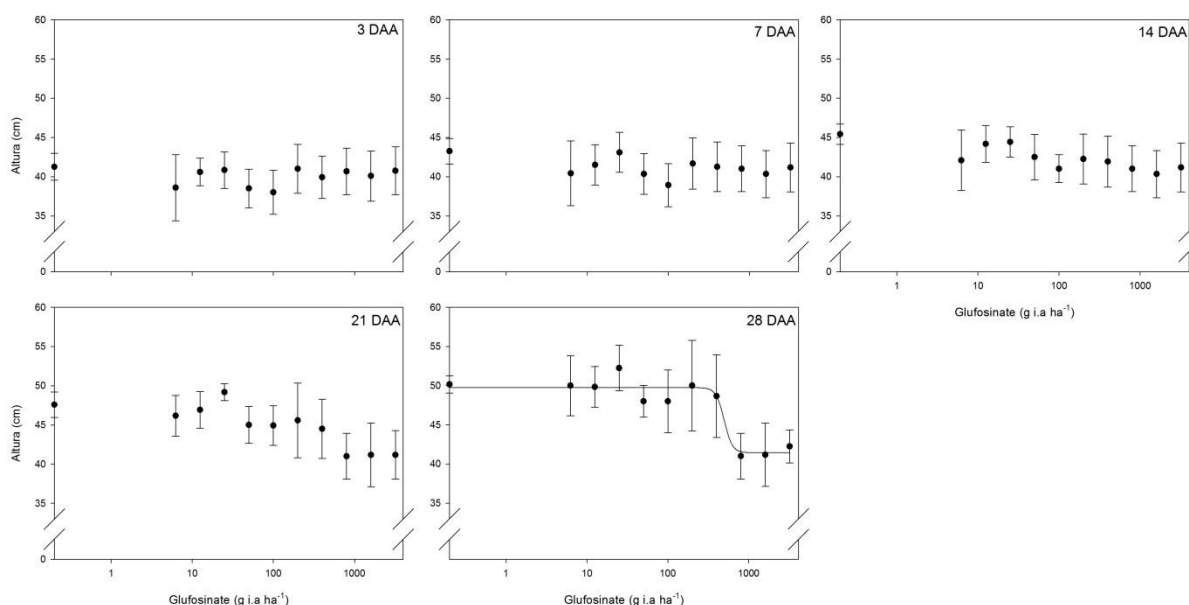
^{ns} não significativo; **, * Significativo a 1 e 5%, respectivamente, de probabilidade pelo teste f

Tabela 27 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção para altura de plantas de *U. Decumbens* para o glufosinate

<i>U. decumbens</i> altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	4,771**	26,817 **	32,753**	45,505 **	61,062**
Hipótese f≠0	--	6,775	5,871	14,062	33,777
Modelo	--	1	1	1	1
Regressão	--	65,99	80,60	112,76	146,18
R^2	--	0,98	0,98	0,99	0,96
Constantes					
b	--	2.22173	2.67452	2.65772	2.60985
c	--	29.56494	29.87209	29.83787	29.38709
d	--	40.9531	47.04626	48.3727	52.18934
e	--	58.05481	81.58134	76.59655	66.47348
f	--	0.23585	0.18169	0.27358	0.57375
CV (%)	6,80	8,00	9,80	9,09	10,05

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

Figura 36 – Altura de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glufosinate.

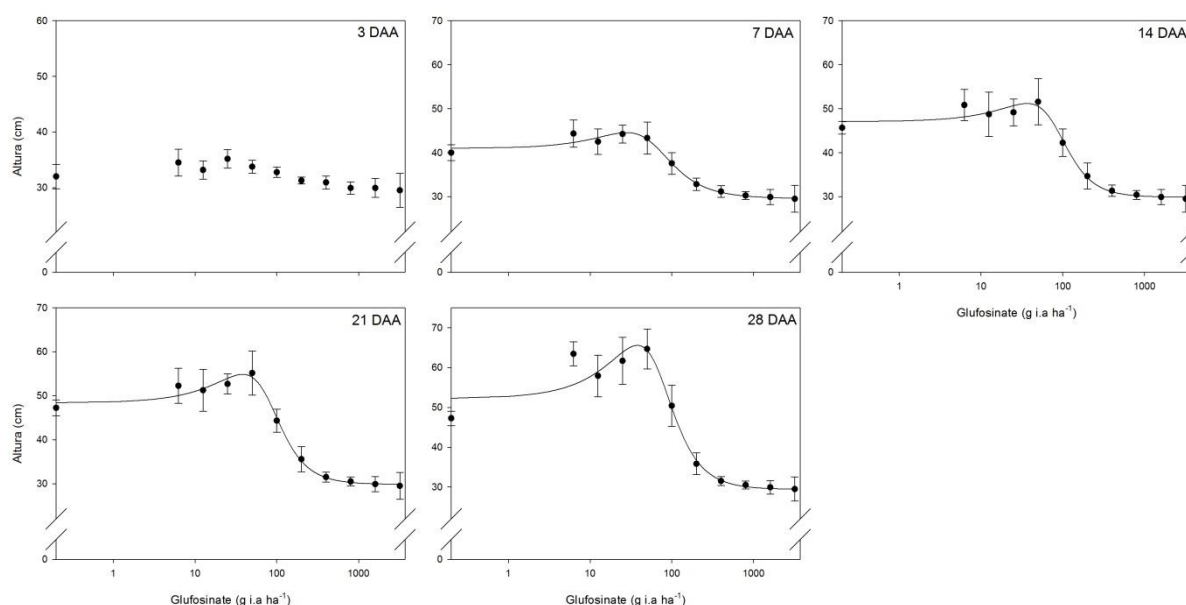


O glufosinate é um herbicida pouco seletivo (Brunharo et al., 2014). Os efeitos de reduções de altura para as espécies *E. urograndis* clone I144 e *U. decumbens* podem estar relacionadas aos mesmos fatores para ambas as espécies. Possivelmente devido aos efeitos que o glufosinate causa nas plantas, este herbicida pode afetar a síntese de aminoácidos (Tachibana et al., 1986). O glufosinate inibe a enzima glutamina sintetase, que desempenha um papel fundamental na síntese de glutamina (Hess, 2000). A glutamina ou glutamato é um aminoácido fundamental que atua na síntese de clorofila da planta, e atua na fotossíntese, aumentando a reserva de carboidratos, o que interfere diretamente nos processos metabólicos da planta. Portanto a redução dessa via metabólica resulta na redução da disponibilidade da glutamina e de outros aminoácidos, afetando o crescimento celular e a alongação dos tecidos vegetais.

A aplicação de subdoses de glufosinate sobre as plantas de *U. decumbens* responderam de maneira positiva a estímulos de crescimento das plantas. A partir dos 7 DAA é possível notar um leve incremento na altura, na dose de 25 g i.a ha⁻¹ com 9 % 3m relação ao controle, porém esses efeitos de estímulo foram se atenuando com o passar dos períodos de avaliação. Os maiores efeitos foram encontrados aos 28

DAA com uma faixa de estímulo (maior que 5 %) nas doses de 4,2 à 83 g i.a ha⁻¹, a dose responsável por causar o estímulo máximo foi 37 g i.a ha⁻¹ com incremento de 25 % em relação a dose 0 (Figura 37).

Figura 37 – Altura de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glufosinate.



Provavelmente o estímulo observado em altura de *U. decumbens* é devido a resposta fisiológica da planta a subdoses de glufosinate, o que é refletido na morfologia da planta. Há poucas especulações sobre os efeitos do glufosinate no estímulo de plantas daninhas.

5.3.2 Diâmetro (*Eucalyptus urograndis* clone I144)

O diâmetro das plantas de *E. urograndis* clone I144 acompanharam o mesmo comportamento da altura das plantas descrita no item anterior. Isso demonstra o crescimento constante da planta e muito próxima ao controle nas subdoses de glufosinate, porém acima da dose recomendada para o uso do glufosinate (800 g i.a ha⁻¹) aos 28 DAA a queda do diâmetro em relação ao controle é de 3 %. Como comentado as subdoses se mantêm lineares em relação ao controle não apresentando efeitos horméticos (Figura 38).

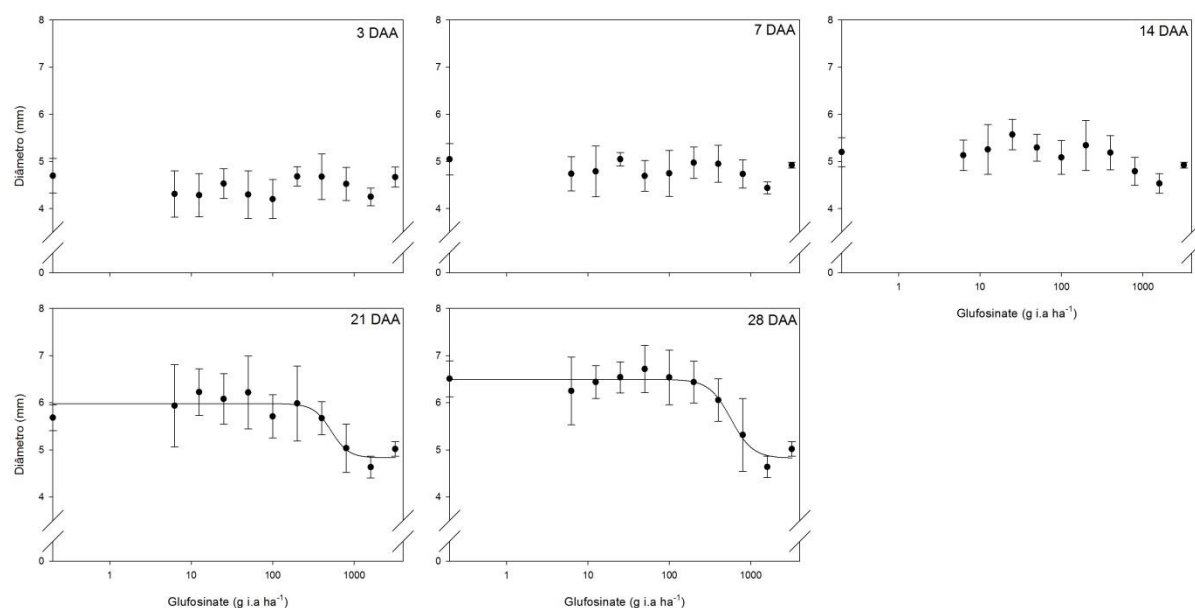
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão deste item se apresentam expostos na Tabela 28.

Tabela 28 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para diâmetro de plantas de *E. urograndis* clone I144 para o glufosinate

<i>U. decumbens</i> altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	1,043 ^{ns}	1,116 ^{ns}	2,528**	3,687 **	8,374**
Hipótese f#0	--	--	--	2,849	5,121
Modelo	--	--	--	2	2
Regressão	--	--	--	10,69	26,71
R^2	--	--	--	0,87	0,96
Constantes					
b	--	--	--	4.01758	3.23678
c	--	--	--	4.83059	4.82226
d	--	--	--	5.97877	6.49457
e	--	--	--	520.42264	570.22064
f	--	--	--	--	--
CV (%)	10,67	8,81	8,54	12,05	9,98

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

Figura 38 – Diâmetro de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glufosinate.



O que pode explicar um efeito menos acentuado da curva dose resposta nas menores doses é a tolerância do *E. urograndis* clone I144 a subdoses de glufosinate, sendo menos afetado que culturas sensíveis, porém é necessário que sejam realizados mais estudos para que se possa afirmar este fato. A dose recomendada para aplicação ($800 \text{ g i.a ha}^{-1}$), a metade da dose ($400 \text{ g i.a ha}^{-1}$) e as duas doses superiores (1600 e $3200 \text{ g i.a ha}^{-1}$), causam efeitos de perda de incremento das variáveis, pois o composto afeta diretamente o desenvolvimento das plantas.

É importante estudar a seletividade sobre cultivos transgênicos e clones, afim de entender os mecanismos de fitointoxicação. A seletividade do glufosinate é garantida para cultivos tolerantes, pelos fabricantes, em doses de bula (de 500 a 700 g ia ha^{-1}). A utilização do produto de forma contínua e repetitiva contribui para que apareçam biótipos resistentes aos herbicidas (Albrecht et al., 2013; Albrecht et al., 2018).

O glufosinate não possui registro não agrícola (NA), desta maneira os trabalhos realizados com este composto em áreas florestais ou espécies florestais são escassos. O comportamento de hormesis com glufosinate também é pouco estudado, o que demonstra a importância deste estudo inicial.

5.3.3 Perfilho (*Urochloa decumbens*)

Para que os resultados de perfilho fiquem mais evidentes é possível realizar a subtração da primeira avaliação (3 DAA) com a última (28 DAA), desta maneira consegue-se ter a porcentagem de incremento ao longo do tempo, com os dados em porcentagem do controle tem-se o incremento de 5 perfilhos no tratamento sem aplicação, enquanto as subdoses que apresentaram estímulo em altura $6,25$; $12,5$; 25 e 50 g i.a ha^{-1} apresentam incremento de 4; 3; 3 e 2 perfilhos, que em porcentagem do controle equivale a redução de 20; 40; 40 e 60 % respectivamente. A dose normal de uso recomendada ($800 \text{ g i.a ha}^{-1}$) e as duas doses acima desta não apresentaram nenhum acréscimo de perfilho ao longo dos períodos (Figura 39).

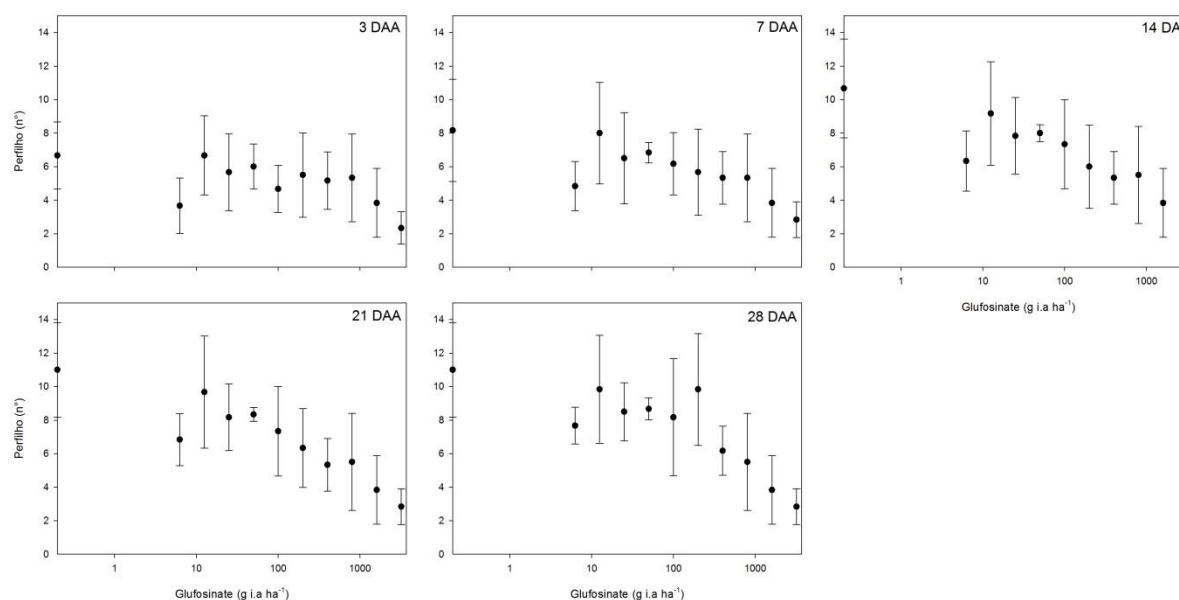
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 29.

Tabela 29 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R^2) e constantes da equação de regressão para perfilho de plantas de *U. decumbens* para o glufosinate

<i>U. decumbens</i> altura					
Valor de F	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
Doses	1,759 ^{ns}	2,084 ^{**}	3,916 ^{**}	4,517 ^{**}	4,558 ^{**}
Hipótese f=0	--	--	--	--	--
Modelo	--	--	--	--	--
Regressão	--	--	--	--	--
R^2	--	--	--	--	--
Constantes					
b	--	--	--	--	--
c	--	--	--	--	--
d	--	--	--	--	--
e	--	--	--	--	--
f	--	--	--	--	--
CV (%)	48,73	47,56	42,73	40,70	39,82

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

Figura 39 – Perfilho de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glufosinate.



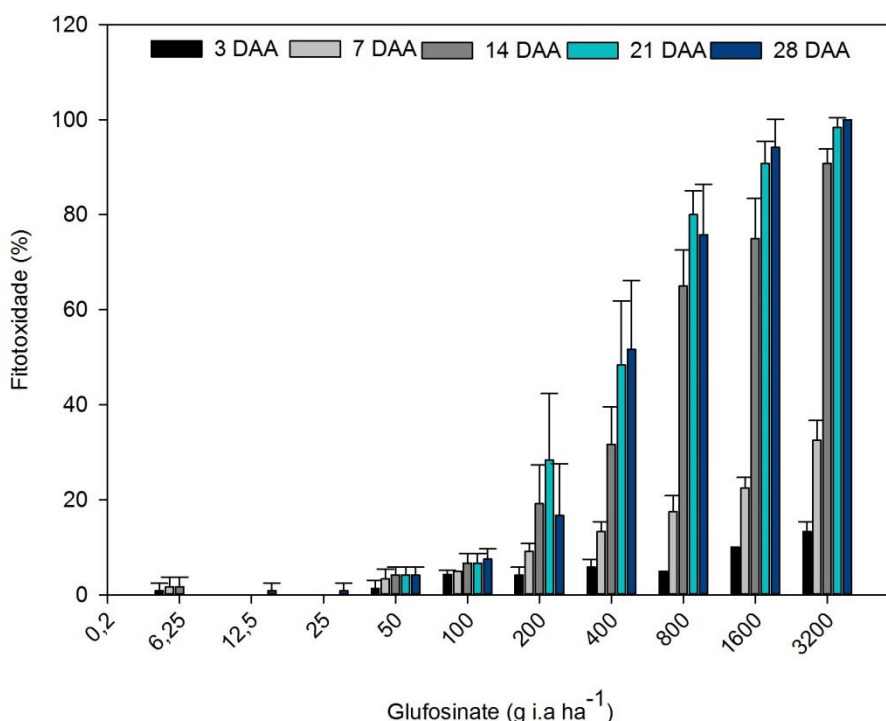
A falta de estímulos de perfilhos novos na aplicação com glufosinate provavelmente se deve a planta estar respondendo o agente extressor de outra maneira, no caso da *U. decumbens*, a planta estava respondendo o estresse gerado

atravéz do incremento em altura. Trabalhos realizados com arroz mostram que a planta também não respondeu a estímulos de perfilhos após a aplicação de subdoses de 0; 15; 30; 60; e 100 g ia ha⁻¹ (Ferrari et al., 2021).

5.3.4 Fitotoxidade

Os níveis de injúria para as aplicações de glufosinate refletem os dados observados. De maneira que a redução da altura e do diâmetro para *Eucalyptus urograndis* clone I144 foram observadas nas doses que apresentaram os maiores níveis de intoxicação. As subdoses até 200 g ia ha⁻¹ apresentam fitointoxicação aos 28 DAA de 16 %, enquanto as doses responsáveis por diminuir os outros parâmetros avaliados foram de 51; 75; 94 e 100 para 400; 800; 1600 e 3200 g ia ha⁻¹ respectivamente (Figura 40).

Figura 40 – Fitointoxicação de *Eucalyptus urograndis* clone I144, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glufosinate.



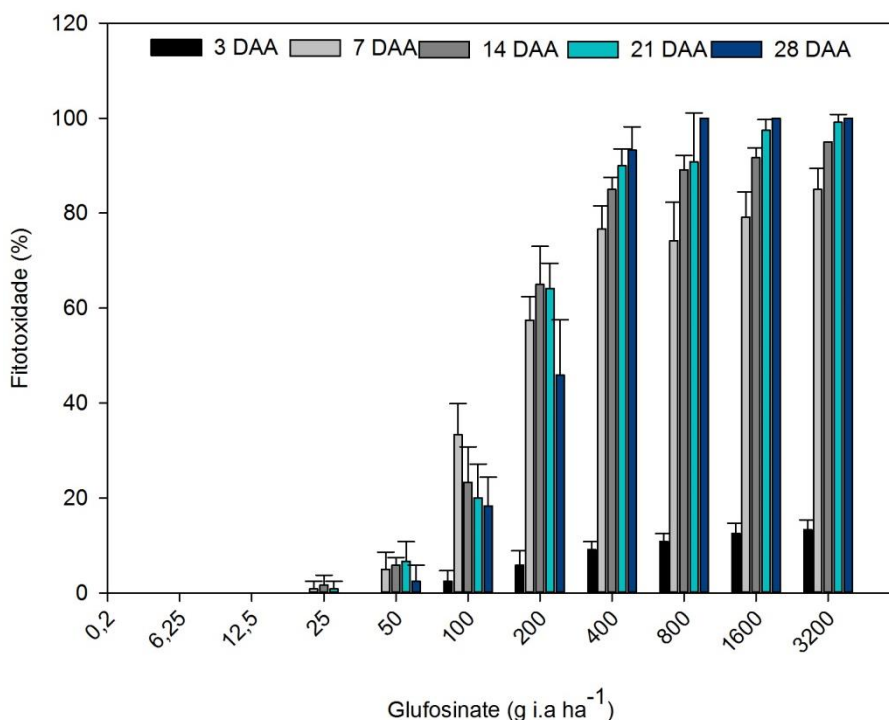
Os sintomas após a aplicação do glufosinate se manifesta rapidamente para ambas as culturas (*Eucalyptus urograndis* clone I144 e *Urochloa decumbens*). Os

primeiros sinais da intoxicação pelo herbicida é o murchamento das folhas e a clorose, ocorrendo entre 3 e 5 dias após a aplicação, em seguida ocorre a necrose do tecido foliar, que pode durar até duas semanas após os sintomas iniciais. Porém para acelerar os efeitos causados pelo glufosinate é necessário incidência de luz e a umidade do solo e do ar elevada (Vidal et al., 2014).

Um dos fatores responsáveis da fitointoxicação das plantas é o acúmulo de amônia na planta, dentro de poucas horas após o tratamento a amônia na planta tratada pode chegar a 10 vezes maior que em plantas sem o tratamento (Hess, 2000; Krenchinski et al., 2018).

A *U. decumbens* como visto no item anterior (5.3.1) apresentou uma faixa de estímulo aos 28 DAA de 4,2 a 83 g ia ha⁻¹, em comparação com os níveis de fitointoxicação essa faixa apresenta injúrias de 0; 0; 2,5 18 e 45 % para as subdoses de glufosinate de 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 g ia ha⁻¹ respectivamente. Desta maneira observa-se que a dose até 50 g ia ha⁻¹ apresenta valores reduzidos de intoxicação, que provavelmente com avaliações futuras com períodos mais longos haveria recuperação das plantas. A dose de referência testada (dose normal recomendada de 800 g ia ha⁻¹) apresentou 75 % de intoxicação da cultura, aumentando os níveis para 94 e 100 % nas doses acima da recomendada (1600 e 3200 g ia ha⁻¹ respectivamente) (Figura 41).

Figura 41 – Fitointoxicação de *Urochloa decumbens*, 3; 7; 14; 21 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glufosinate.



Como mencionado as menores doses de glufosinate causaram uma baixa intoxicação, essas doses foram responsáveis pelo incremento de altura, e de biomassa seca de *U. decumbens*. Porém as doses acima de 100 g i.a ha⁻¹ apresentam maior nível de intoxicação. O controle de plantas daninhas com a utilização do glufosinate é muito comum, devido a sua eficácia. Trabalhos relatam o controle de plantas daninhas após a aplicação do glufosinate no campo e em teste na casa de vegetação, demonstrando vários graus de sensibilidade das plantas aos tratamentos e a diferentes doses (Mersey et al., 1990; Neto et al., 2000; Ridley; McNally, 1985; Steckel et al., 1997). O controle em *Abutilon theophrast* Medik, ambrósia comum (*Ambrosia artemisiifolia* L.), *Setaria faberi* Herrm, caruru (*Amaranthus rudis* Sauer) e corda-de-viola (*Ipomoea* spp. L.) passaram de 85 % com glufosinate aplicado isolado em doses de 290 e 400 g i.a.ha⁻¹. Quando os autores aplicaram glufosinate sobre a cultura de milho resistente houve controle superior a 82 % em corda-de-viola (*Ipomoea hederacea* L.), capim massambará (*Sorghum halepense* L.), *P. fasciculatum* Sw., *Cucumis melo* L., *P.*, *Panicum texanum* Buckl e

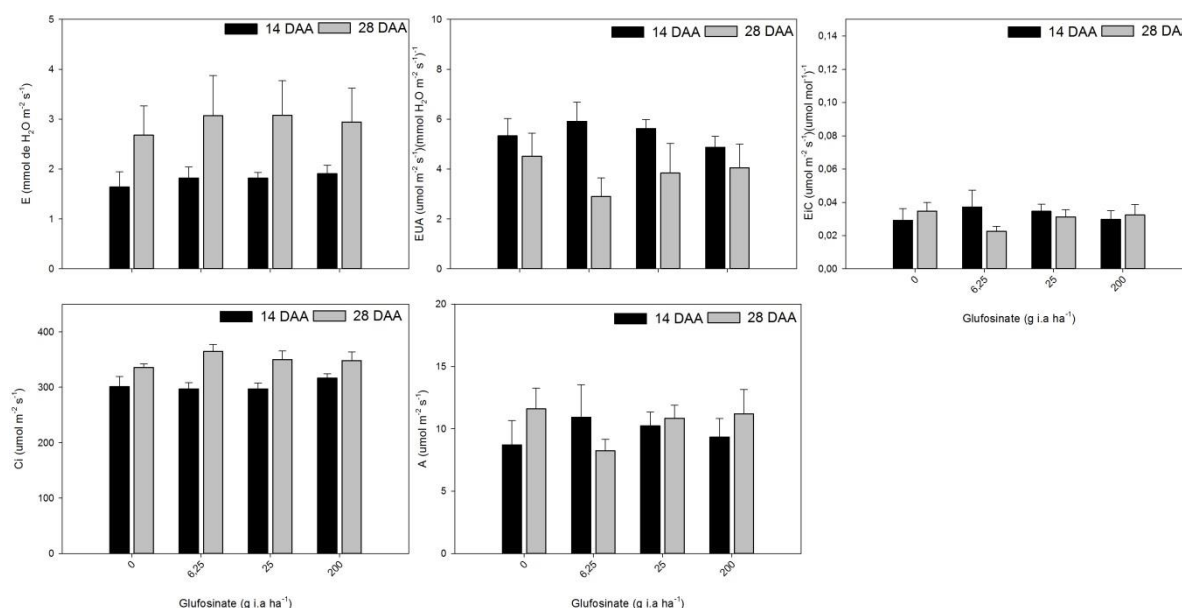
leiteiro (*Euphorbia dentata* Michx.) utilizando dose de 300 g i.a.ha⁻¹. (Beyers et al., 2002).

Doses superiores a 100 g i.a.ha⁻¹ de glufosinate de amônio afetam o rendimento quântico do fotossistema II e a matéria seca das plantas daninhas crucíferas. As doses maiores que a utilizada como referência neste capítulo (800 g i.a.ha⁻¹) resulta em uma rápida diminuição dos parâmetros (Merkel et al., 2004).

5.3.5 Análises fisiológicas

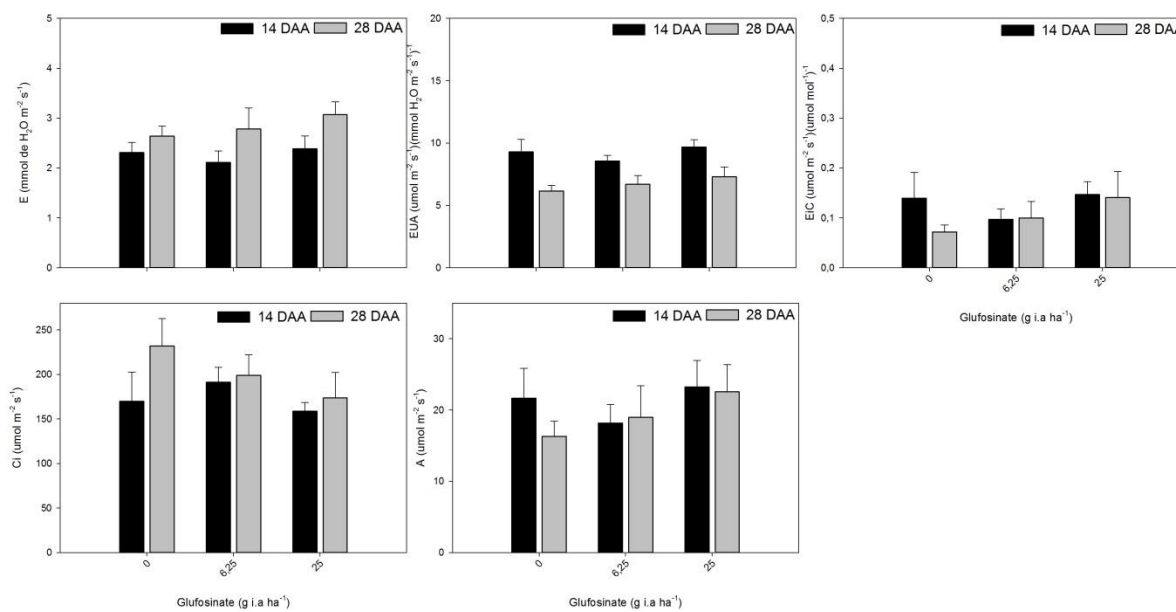
As análises fisiológicas realizadas em *E. urograndis* clone I144 aos 14 DAA não se diferenciaram entre si em comparação com o tratamento controle. Aos 28 DAA observa-se um aumento na taxa de transpiração (14 % para o tratamento de 6,25 g i.a.ha⁻¹), com maior transpiração os estômatos estão abertos e realizando trocas gasosas, o que acarreta em um maior nível de carbono interno na planta (9 % para 6,25 g i.a.ha⁻¹). Porém as plantas tratadas com 6,25 g i.a.ha⁻¹ estavam assimilando menos CO₂ (28 %), diminuindo a eficiência do uso da água (35 %) e a eficiência intrínseca de carboxilação (33 %) (Figura 42).

Figura 42 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *Eucalyptus urograndis* clone I144 aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glufosinate.



As plantas de *U. decumbens* apresentaram melhores resultados quanto a estímulo nas duas subdoses testadas (6,25 e 25 g i.a.ha⁻¹) aos 28 DAA, aos 14 DAA não houve diferenças entre o tratamento controle e as plantas tratadas com glufosinate. Aos 28 DAA as duas subdoses apresentam redução do carbono interno (14 e 25 % respectivamente, em relação ao controle) mesmo havendo um aumento na taxa de transpiração (7 e 17 % respectivamente, em relação ao controle) , este fato pode estar relacionado com o aumento da assimilação de CO₂ (16 e 38 % respectivamente, em relação ao controle). O aumento da assimilação de CO₂ nas doses de 6,25 e 25 g i.a.ha⁻¹ é responsável pelo aumento da eficiência do uso da água (10 e 18 % respectivamente, em relação ao controle), já que há uma relação direta entre os dois produtos (A/E), assim como o aumento da eficiência intrínseca de carboxilação ((A/Ci) 42 e 100 % respectivamente em relação ao controle) (Figura 43).

Figura 43 – Análises fisiológicas de Transpiração (E); Eficiência do uso da água (EUA); Eficiência intrínseca de carboxilação (EiC); Carbono Interno (Ci) e Assimilação (A) de *Urochloa decumbens* aos 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glufosinate.



Vários são os processos que podem tentar explicar as alterações fisiológicas das plantas. O acúmulo de amônia acontece em resposta a inibição da enzima GS, o que normalmente é comparado com o início da fitotoxicidade do herbicida glufosinate. Porém alguns estudos mostram que não é somente o acúmulo de amônia e a inibição da assimilação de carbono causado pelo glufosinate que é tóxico à planta, mas sim, a produção de espécies reativas de oxigênio, o que leva a peroxidação de lipídeos das membranas celulares e à rápida morte celular na planta (Costa, 2011).

As aplicações de glufosinate podem ser responsáveis por uma série de fatores que acabam diminuindo as taxas fotossintéticas das plantas, como exemplo o herbicida pode ser responsável por afetar a clorofila e aumentar do teor de N no tecido da planta em doses de até 80 g ha⁻¹ (Fleck et al., 2001).

Como comentado o herbicida causa a morte da planta devido à ação que promove na enzima glutamina sintetase (Chompoo e Pornprom, 2008). Porém existem outros fatores que acabam ocasionando a morte da planta, como exemplo o

esgotamento dos esqueletos de carbono, como a glutamina, o que causa a inibição direta da fotossíntese, devido a inibição causada na ribulose-1,5-bifosfato carboxilase.

A assimilação de CO₂ juntamente com a assimilação de nitrogênio, constitui a principal função de uma célula. Trabalhos demonstram que a principal rota de assimilação do NH₄⁺ produzido nos tecidos foliares é a conversão deste em glutamina, seguida pela formação de glutamato (Lam et al. 1995). Desta maneira a biossíntese dos aminoácidos em plantas estão diretamente ligados aos processos fotossintéticos (Huppe; Turpin, 1994).

O acúmulo de amônio é utilizado como um indicador do desempenho do glufosinate e também auxilia como indicador de tolerância ao glufosinate (Petersen et al. 2000; Pornprom et al. 2000). O aumento desse composto ocasiona o deslocamento no espectro de aminoácidos (Lea et al. 1984; Sauer et al. 1987). Desta maneira a reação de fotorrespiração é bloqueada, e a reação da luz da fotossíntese é reduzida (Sauer et al. 1987; Wild et al. 1987; Lacuesta et al. 1992). A redução da taxa fotossintética é descrita através do aumento da condutância estomática duas horas após a aplicação do glufosinate (Coetzer e Al-Khatib, 2001).

5.3.6 Biomassa seca

Os sintomas apresentados na aplicação do glufosinato pode ser visto com maior evidência nas plantas tratadas com maiores doses (200; 400; 800; 1600 e 3200 g i.a ha⁻¹), apresentando murchamento das folhas e clorose. As injúrias ficaram aparentes a partir dos três dias após a aplicação, ocasionando a morte das plantas aos 28 DAA nas doses de 1600 e 3200 g i.a ha⁻¹ para *E. urograndis* e 400; 800; 1600 e 3200 g i.a ha⁻¹ para *U. decumbens*.

A faixa de dose responsável por causar estímulo na biomassa seca de *U. decumbens* é de 7 à 55 g i.a ha⁻¹. Em trabalho realizado por Valente et al. (2020) o glufosinato de amônio ocasionou maior fitotoxicidade nas doses 0; 30; 60; 90 e 120 ml ha⁻¹, porém a sua biomassa seca final se apresentou maior em comparação com a testemunha em espécies de *Urochloa brizantha* cv. *Mandaru* e *Urochloa ruziziensis*. A dose máxima que causou os maiores estímulos de biomassa seca foi 31 g i.a ha⁻¹, ocasionando um estímulo máximo de 12,3% em relação a testemunha (Figura 44).

As plantas de *E. urograndis* clone I144 não apresentaram hormesis para o modelo de Brian e Coussens (1989), sendo ajustado o modelo de quatro parâmetros. A redução significativa de biomassa aparece a partir da dose de 93 g i.a ha⁻¹.

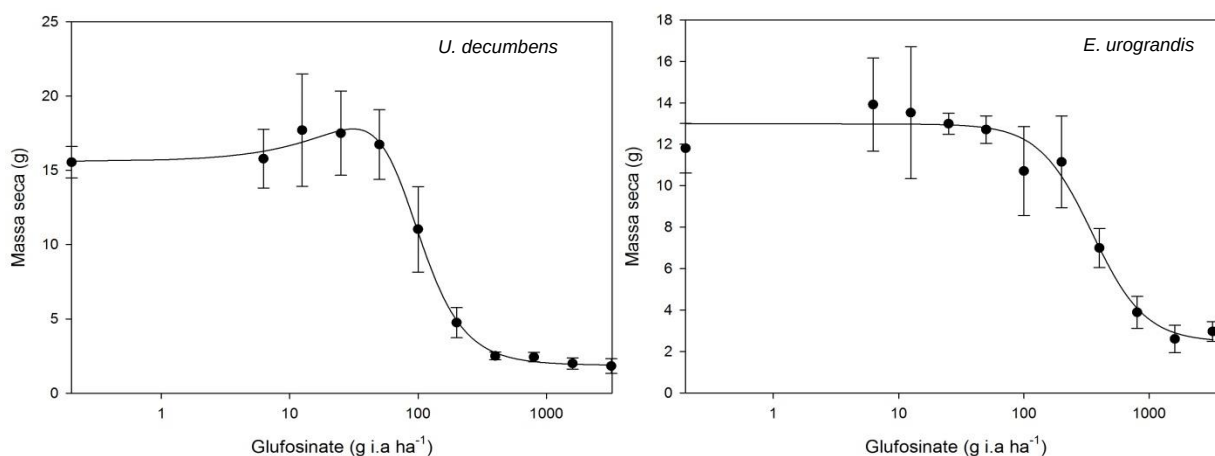
Os valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção deste item se apresentam expostos na Tabela 30.

Tabela 30 – Valores de F, coeficiente de variação (CV), coeficiente de determinação (R²) e constantes da equação de regreção para biomassa seca de plantas de *Eucalyptus urograndis* clone I144 e *U. decumbens* para o glufosinate

Valor de F	<i>E. urograndis</i> clone I144	<i>U. decumbens</i>
Doses	29,60**	49,38**
Hipótese f≠0	1,10	3,92
Modelo	2	1
Regressão	95,81**	123,15**
R ²	0,97	1,00
Constantes		
b	2,05	2,62
c	2,5	1,88
d	12,99	15,60
e	350,05	80,02
f	--	0,11
CV (%)	21,21	25,09

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

Figura 44 - Biomassa seca de *U. decumbens* e *E. urograndis* clone I144 28 dias após a aplicação de diferentes doses de glufosinate.



5.4 CONCLUSÃO

A *U. decumbens* apresentou estímulos horméticos após tratamento com subdoses de glufosinate. As plantas de *E. urograndis* clone I144 não responderam com estímulos positivos as subdoses do produto, porém nas menores doses também não apresentaram perdas significativas.

A *U. decumbens* apresentou incremento na altura das plantas na faixa de dose de 4,2 à 83 g i.a ha⁻¹, porém na biomassa a faixa de dose estreitou-se de 7 à 55 g i.a ha⁻¹, os perfilhos da planta apresentaram uma paralização do crescimento, porém não afetou a biomassa seca. Quando houve efeitos de intoxicação nas subdoses que apresentaram estímulo estes foram relativamente baixos. Enquanto as plantas de *E. urograndis* clone I144 não apresentou respostas as subdoses do produto.

5.5 REFERÊNCIAS

- ABBAS, T. et al. Low doses of fenoxaprop-p-ethyl cause hormesis in littleseed canarygrass and wild oat. **Planta daninha**, v. 527, p. 533-34, 2016.
- ALBRECHT, L.P. et al. Teores de óleo, proteínas e produtividade de soja em função da antecipação da semeadura na região oeste do Paraná. *Bragantia*, v. 67, p. 865-873, 2008.
- ALBRECHT, L.P.; ALBRECHT, A.J.P.; VICTORIA FILHO, R. Soja RR e o glyphosate. In: ALBRECHT, L.P.; MISSIO, R.F. (Eds.). **Manejo de cultivos transgênicos**. Curitiba: UFPR, 2013. p.25-45.
- BEYERS, J. T.; SMEDA, R. J.; JOHNSON, W. G. Weed management programs in glufosinate-resistant soybean (*Glycine max*). **Weed Technol.** v.16, p. 267–273, 2002.
- BRUNHARO C. A. C. G.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M. Aspectos do mecanismo de ação do amônio glufosinato: culturas resistentes e resistência de plantas daninhas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 13, n. 2, p. 163-177, 2014.
- BUKOWSKI, J. A.; LEWIS, R.J. Hormesis and health: a little of what you fancy may be good for you. *South Med J* **93**:371-374 (2000).
- CALABRESE, E. J.; BLAIN, R. The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. **Toxicol Appl Pharm** 202:289-301 (2005).
- COETZER, E.; AL-KHATIB, K.; LOUGHIN, T. M. Glufosinate efficacy, absorption and translocation in amaranth as affected by relative humidity and temperature. **Weed Sci.**, v. 49, p. 8–13, 2001.
- COSTA, M. D-B. L.. **Estudo do transcriptoma associado ao déficit hídrico e desenvolvimento de imunoprecipitação de cromatina em cana de açúcar para estudos de redes regulatórias transcricionais**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- DE MATOS NOGUEIRA, E. et al. Characterization of glutamine synthetase genes in sugarcane genotypes with different rates of biological nitrogen fixation. **Plant Science**, v. 169, n. 5, p. 819-832, 2005.
- FLECK, N. G. et al. Ação dos herbicidas atrazine e glufosinate de amônio no aproveitamento de nitrogênio pelas plantas de milho. **Planta Daninha**, v. 19, p. 235-245, 2001.
- HEAP I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds, 2020. Disponível em: [Disponível em:<http://www.weedscience.org/>](http://www.weedscience.org/) Acessado em janeiro de 2023.
- HESS, F. D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, v. 48, p. 160-170, 2000.

HUPPE, H.C.; TURPIN, D.H. Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v. 45, p. 577-607, 1994.

KRENCHINSKI, F. H. et al. Glufosinate resistance level is proportional to phosphinothricin acetyltransferase gene expression in glufosinate-resistant maize. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 48, p. 12641-12650, 2018.

LACUESTA, M; MUNOZ-RUEDA, A.; GONZALEZ-MURUA, C.; SIVAK, M.N. Effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis and chlorophyll fluorescence by barley leaves illuminated under photorespiratory and non-photorespiratory conditions. *J. Exp. Bot.*, v. 43, p. 159–165, 1992.

LAM, H. M. et al. Use of Arabidopsis mutants and genes to study amide amino acid biosynthesis. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, p. 887-898, 1995.

LEA, P. J. et al. The action of 2-amino-4 (methylphosphinyl)-butanoic acid (phosphinothricin) and its 2-oxo-derivative on the metabolism of cyanobacteria and higher plants. **Phytochemistry**, Oxford, v. 23, p. 1-6, 1984.

MANDERSCHIED, R. et al. Glufosinate treatment of weeds results in ammonia emission by plants. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 109, n. 1-2, 2005.

MASCLAUX-DAUBRESSE, C. et al. Glutamine synthetase-glutamate synthase pathway and glutamate dehydrogenase play distinct roles in the sink-source nitrogen cycle in tobacco. **Plant physiology**, v. 140, n. 2, p. 444-456, 2006.

MATTSON, M. P.; GOODMAN, Y.; LUO, H.; FU, W.; FURUKAWA, K. Activation of NF-kappaB protects hippocampal neurons against oxidative stress-induced apoptosis: evidence for induction of manganese superoxide dismutase and suppression of peroxynitrite production and protein tyrosine nitration. **J Neurosci Res** 49:681-697 (1997).

MERKEL, U.; RATHKE, G.W; SCHUSTER, C.; WARNSTORFF, K.; DIEPENBROCK, W. Use of glufosinate-ammonium to control cruciferous weed species in glufosinate-resistant winter oilseed rape. **Field Crop Researcher**, v. 85, p. 237-249, 2004.

MERSEY, B, G. et al. Factors affecting the herbicidal activity of glufosinate-ammonium: adsorption, translocation, and metabolism in barley and green foxtail. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 37, p. 90-98, 1990.

MURADO, M. A.; VÁZQUEZ, J. A. Biphasic toxicodynamic features of some antimicrobial agents on microbial growth: A dynamic mathematical model and its implications on hormesis. **BMC microbiol** 10:220-234 (2010).

NETO, F. S.; COBLE, H. D.; CORBIN, F. T. Absorption, translocation, and metabolism of ¹⁴C-glufosinate in *Xanthium strumarium*, *Commelina diffusa*, and *Ipomoea purpurea*. **Weed Sci.** v. 48, p.171–175, 2000.

PETERSEN, J.; HURLE, K. Einsatz von Liberty zur Klettenlabkrautbekaämpfung in glufosinat resistentem Winterraps. *Z PflKrankh PflSchutz, Sonderh*, v. 17, p. 389-396, 2000

PORNPROM, T.; SURAWATTANANON, S.; SRINIVES, P. Ammonia accumulation as an index of glufosinate-tolerant soybean cell lines, **Pestic. Biochem. Physiol.**, v. 68, p. 102–106, 2000.

RIDLEY, S. M.; MCNALLY, S. F. Effects of phosphinothricin on the isoenzymes of glutamine synthetase isolated from plant species which exhibit varying degrees of susceptibility to the herbicide. **Plant Sci.** V. 39, p. 31–36, 1985.

Ferrari, S.; Mettifogo, O. S.; Cunha, M. L. O.; dos Santos Cordeiro, L. F.; Bastos, S. A. C.; Carara, L. G. D.; de Oliveira, L. C. A. (2021). O herbicida glufosinato de amônio tem potencial para induzir o efeito hormese in upland rice?, **Journal of Environmental Science and Health**, Part B, 56:11, 969-976

SEELYE, J.F.; BORST, W.M.; KING, G.A.; HANNAN, P.J.; MADDOCKS, D. Glutamine synthetase activity ammonium accumulation and growth of callus cultures of *Asparagus officinalis* L. exposed to high ammonium or phosphinothricin, **J. Plant Physiol.**, v. 146, p. 686–692, 1995.

STECKEL, G. J. et al. Glufosinate efficacy on annual weeds as influenced by rate and growth stage. **Weed Technology**, Lawrence, v. 11, p. 484-488, 1997.

VIDAL, R. A. et al. Mecanismos de ação dos herbicidas. **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**, v. 10, p. 235-256, 2014.

WILD, A., SAUER, H., RUHLE, W. The effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis. I. Inhibition of photosynthesis and accumulation of ammonia. **Z. Naturforsch.**, v. 42C, p. 263–269, 1987.

VALENTE, A. et al. **Efeito de subdoses de herbicidas na supressão de *Urochloa* sp. em consórcio com a cultura do milho.** 2020.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos afirmar que os efeitos horméticos são de extrema importância para o campo florestal e agrônomo. As respostas de estímulos a diferentes mecanismos de ação ainda é pouco estudada, pois a resposta encontrada em hormesis acaba desafiando a noção tradicional e cultural das pessoas sobre toxicidade.

A resposta referente a hormesis pode ser observada em vários aspectos na planta, como crescimento, fotossíntese, síntese de compostos de defesa e tolerância que a própria planta apresenta ao agente extressor.

É importante ressaltar que a hormesis não é um efeito universal, pois caso o fosse, seria possível observar os efeitos em todos os herbicidas e em todas as espécies da mesma maneira, com respostas similares, porém sabemos que é muito pelo contrário. Este fato torna o fenômeno hormético complexo e ao mesmo tempo fascinante.

Em resumos os efeitos horméticos aparecem em diferentes componestes da planta, as respostas são observadas tanto na parte morfológica quanto fisiológica, porém nem sempre a resposta de uma variável que apresentou estímulo irá responder igualmente para outra, como exemplo temos altura e biomassa, onde, nem sempre o estímulo em altura irá ser representado na biomassa ou vice-versa. Desta maneira podemos afirmar que estudos adicionais serão necessários para esclarecer certas dúvidas e compreender certas respostas. Este trabalho tem como objetivo fornecer diretrizes para novos estudos.

REFERÊNCIAS

- MINARIK, C. E.; READY, D.; NORMAN, A. G.; THOMPSON, H. E.; OWINGS Jr, J. R. New growth-regulating compounds II. Substituted benzoic acids. *Bot Gaz* **113**:125-147 (1951).
- Riepma, P. The application of herbicides in winter rye and wheat with special reference to the yield-stimulating effect of DNC. Proc. 2nd Br. **Weed Control Conf** 425-432 (1954).
- MILLER, M. D.; MIKKELSEN, D. S.; HUFFAKER, R. C. Effects of stimulatory and inhibitory levels of 2,4-D and iron on growth and yield of field beans. **Crop Sci** 2:114-116 (1962).
- Ascheman, R.E.; Growth stimulation from amiben. *Hormolog* 4:17-19 (1963).
- RIES, S. K.; CHMIEL, H.; DILLEY, D. R.; FILNER, P. Increase in nitrate reductase activity and protein content of plants treated with simazine. **Proc Natl Acad Sci USA** 58:526-532(1967).
- WIEDMAN, S. J.; APPLEBY, A. P. Plant growth stimulation by sublethal concentrations of herbicides. **Weed Res** 12:65-74 (1972).
- BUKOWSKI, J. A.; LEWIS, R.J. Hormesis and health: a little of what you fancy may be good for you. **South Med J** 93:371-374 (2000).
- CALABRESE, E. J. Hormesis: a revolution in toxicology, risk assessment and medicine. *EMBO J* 5:37-40 (2004).
- MATTSON, M. P.; GOODMAN, Y.; LUO, H.; FU, W.; FURUKAWA, K. Activation of NF-kappaB protects hippocampal neurons against oxidative stress-induced apoptosis: evidence for induction of manganese superoxide dismutase and suppression of peroxynitrite production and protein tyrosine nitration. **J Neurosci Res** 49:681-697 (1997).
- MURADO, M. A.; VÁZQUEZ, J. A. Biphasic toxicodynamic features of some antimicrobial agents on microbial growth: A dynamic mathematical model and its implications on hormesis. **BMC microbiol** 10:220-234 (2010).
- VELINI, E. D., CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B.; GOMES, G. L. G. C.; ANTUNIASI, U.R. Pesticide Dose: Effects on the Environment and Target and Non-Target Organisms. 1, 47-60 (2017).
- VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A.; GOMES, G. L. G. C.; TROPALDI, L. Perspectivas na evolução de novos casos de resistência no Brasil: Novos conceitos sobre a resistência de plantas daninhas a herbicidas. In: **Aspectos de Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas**, 4th ed.; Christoffoleti, P.J., Nicolai, M., Eds.; HRAC-BR: Piracicaba, SP, 2016; pp 251-262.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annu Rev Plant Biol** 61:317-347 (2010).

VILA-AIUB, M. M.; GHERSA, C. M. Building up resistance by recurrently exposing target plants to sublethal doses of herbicide. **Eur J Agron** 22:195-207 (2005).

SPEELMAN, L.; JANSEN, J.-W., The effect of spray-boom movements on the liquid distribution of fieldcrop sprayers. **J Agric Eng Res** 19:117-129 (1974).

NATION, H.J. The dynamic behaviour of field sprayer booms. **J Agric Eng Res** 27:61-70 (1982).

LANGENAKENS, J. J.; CLIJMANS, L.; RAMON, H.; DE BAERDEMAKER, J. The effects of vertical sprayer boom movements on the uniformity of spray distribution. **J Agric Eng Res** 74:281-291 (1999).

OOMS, D.; RUTER, R.; LEBEAU, F.; DESTAIN, M. F. Impact of the horizontal movements of a sprayer boom on the longitudinal spray distribution in field conditions. **J Crop Prot** 22:813-820 (2003).

TOKURA, L. K. **Effect of nozzles types and of pearl millet mulch on the spraying deposition of application solution in initial postemergence of weeds**. Ph.D. Thesis, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brazil, 2006.

SILVA, M. A. S. **Herbicide deposition in soil and in plants of *Cyperus rotundus* L. as affected by the application technology**, Ph.D. Thesis, Faculdade de Ciências Agronômicas / Universidade Estadual Paulista / Brazil, Botucatu, SP, 2000.

GAZZIERO, D. L. P.; MACIEL, C. D. G.; SOUZA, R. T.; VELINI, E. D.; PRETE, C. E. C.; OLIVEIRA NETO, W. Glyphosate deposition for weed control in transgenic soybean. **Planta Daninha** 24:173-181 (2006).

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

MATOS, A. K. A. **Uniformidade na deposição e dinâmica de formulações de diuron e sulfentrazone em solo, palha e plantas de cana-de-açúcar**. 2018. 63f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu (2018).

CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D.; BOSCHEIRO, M.; VALERIO, W. Avaliação da deriva em aplicações de herbicidas em cana-de-açúcar. In: **V Simpósio Internacional de Tecnologia de Aplicação de Agrotóxicos**, Cuiabá. *Anais...* Botucatu: FEPAF (2011).

VELINI E.D.; TRINDADE, M. L. B.; BARBERIS, L. R. M, DUKE, S. O. Growth regulation and other secondary effects of herbicides. **Weed Sci** 58:351-354 (2010).

CALABRESE, E. J.; other 57 investigators: Biological stress response terminology: Integrating the concepts of adaptive response and preconditioning stress within a hormetic dose-response framework. **Toxicol Appl Pharm** 222:122-128 (2007).

CALABRESE, E. J.; AGATHOKLEOUS, E. Theodosius Dobzhansky's view on biology and evolution vol 2.0: "Nothing in biology makes sense except in light of evolution and evolution's dependence on hormesis-mediated acquired resilience that optimizes biological performance and numerous diverse short and longer term protective strategies" *Environ Res* 186 (2020).

AGATHOKLEOUS, E.; KITAO, M.; CALABRESE, E.J. Hormesis: Highly Generalizable and Beyond Laboratory. **Trends Plant Sci.** 2020 11:1076-1086 (2020).

CALABRESE, E. J.; BLAIN, R. The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. **Toxicol Appl Pharm** 202:289-301 (2005).

CALABRESE, E. J. Hormesis is central to toxicology, pharmacology and risk assessment. **Hum Exp Toxicol** 29:249-261 (2010).

CALABRESE, E. J. Hormesis: why it is important to toxicology and toxicologists. **Environ Toxicol Chem** 27:1451-1474 (2008).

CEDERGREEN, N.; RITZ, C.; STREIBIG, J.C. Improved empirical models describing hormesis. **Environ Toxicol Chem** 24:3166-3172 (2005).

NASCENTES, R. F. **Hormesis de glyphosate em cana-de-açúcar e eucalipto.** 2016. 63f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu (2016).

VELINI, E.D.; ALVES, E.; GODOY, M.C.; MESCHÉDE, D.K.; SOUZA, R.T.; DUKE, S.O. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pest Manag Sci** 64:489-496 (2008).

QUEIROZ, J. R. G. SILVA JUNIOR, A. C.; RODRIGUES, A. C. P.; MARTINS, D. Eficiência da aplicação da mistura de glyphosate com saflufenacil sobre plantas de *Brachiaria decumbens*. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2014.

BIANCO, S.; TONHÃO, M.A.R.; PITELLI, R. A. Crescimento e nutrição mineral de capim-braquiária. **Planta Daninha**. 23:423-428, (2005).

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

SOUZA, L. S.; VELINI, E. D.; MAIOMONI-RODELLA, R. C. S. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no

desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta Daninha** 21:343-354 (2003).

SOUZA, L. S.; VELINI, E. D.; MARTINS, D.; ROSOLEM, C. A. Efeito alelopático de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha** 24:657-668 (2006).

TIMOSSI, P. C.; DURIGAN, J. C.; LEITE, G. J. Eficácia de glyphosate em plantas de cobertura. **Planta Daninha** 24:475-480 (2006).

KOBAYASHI, A.; KATO-NOGUCHI, H. Phytotoxic Substance with Allelopathic Activity in *Brachiaria decumbens*. **Nat Prod Commun** (2015).

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

GOULART, J. C.; MORETO, A. L.; DAVIDE, L. C.; SOUZA SOBRINHO, F.; TORRES, G. A. Número cromossômico de acessos de *Brachiaria*. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 4., 2006, São Lourenço. Resumo... Lavras: UFLA, 2007. 1 CD-ROM.

GOMES, G. L. G. C. **Caracterização bioquímica e morfofisiológica de populações de buva (*Conyza spp.*) resistentes ao glyphosate**. 2014. 112f. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) – FCA/UNESP (2014).

ANUNCIATO, V.M. **Efeitos do glyphosate no crescimento e reprodução de biótipos de *Digitaria insularis* resistente ou suscetível a este herbicida**. 2018, 67 f. *Dissertação* (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) - FCA/UNESP.

CESCO, V. J. S. **Hormesis de glyphosate no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo de biótipos de *Conyza spp.*** 2018, 85 f. *Dissertação* (Mestrado em Agronomia/Agricultura) – FCA/UNESP.

MOLLAEE, M.; MATLOOB, A.; MOBLI, A.; THOMPSON, M.; CHAUHAN, B. S. Response of glyphosate-resistant and susceptible biotypes of *Echinochloa colona* to low doses of glyphosate in different soil moisture conditions. *PLoS ONE* 15(5): e0233428 (2020).