

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PODE OCORRER HORMESE EM CAPIM-COLONIÃO
USANDO GLYPHOSATE?**

Gianmarco José Tironi Gallardo

Engenheiro Agrônomo

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PODE OCORRER HORMESE EM CAPIM-COLONIÃO
USANDO GLYPHOSATE?**

Gianmarco José Tironi Gallardo

Orientador: Prof. Dr. Pedro Luis da Costa Aguiar Alves

Coorientador: Prof. Dr. Alcebíades Arebouças

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia, Produção Vegetal.

2017

T597p Tironi Gallardo, Gianmarco Jose
Pode ocorrer hormese em capim-colonião usando glyphosate? /
Gianmarco Jose Tironi Gallardo. -- Jaboticabal, 2017
viii, 21 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Pedro Luis da Costa Aguiar Alves
Banca examinadora: Silvano Bianco, Tiago Pereira Salgado
Bibliografia

1. Dose-resposta. 2. Trocas gasosas. 3. Subdose. 4. *Panicum maximum*. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.51:632.954

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: PODE OCORRER HORMESE EM CAPIM-COLONIÃO USANDO GLYPHOSATE?

AUTOR: GIANMARCO JOSE TIRONI GALLARDO

ORIENTADOR: PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES

COORIENTADOR: ALCEBIADES REBOUÇAS SÃO JOSÉ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. SILVANO BIANCO
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Pesquisador Dr. TIAGO PEREIRA SALGADO
Herbae Consultoria e Projetos Agrícolas Ltda. / Jaboticabal/SP

Jaboticabal, 07 de agosto de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GIANMARCO JOSÉ TIRONI GALLARDO: Filho de Ivan Antonio Flávio Guillermo Tironi Elgueta e Moira Angélica Gallardo Campos. Nasceu no município de Providencia, Santiago, no dia 2 de dezembro de 1988. No primeiro semestre de 2010, ingressou no curso de Agronomia pela Universidade Viña del Mar – UVM, Viña del Mar, concluindo o curso de Agronomia em 2014. No ano de 2013, foi bolsista de Aperfeiçoamento Técnico no Laboratório de Plantas Daninhas, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Jaboticabal. No ano de 2014, realizou pesquisa na Empresa Tivar Helicóptero, localizada no município de Quillota, Valparaíso. Em 2015, ingressou no curso de Mestrado em Agronomia, pelo programa de Produção Vegetal na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal, atuando na linha de pesquisa sobre maturadores em gramas, com bolsa financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Nesse período, realizou estágio de desenvolvimento na Universidade do Sudeste da Bahia (UESB), Bahia, Brasil, atuando na linha de hormese vegetal. Também participou na organização de eventos científicos, atuando como organizador e membro da comissão científica e editorial.

Dedico

À meus pais **Ivan e Moira**, pelo presente da vida, minha irmã **Andréa Carolina Tironi Gallardo**, meu irmão **Nicolas Ivan Tironi Gallardo**, por ser parte de toda minha formação como pessoa, com amor e dedicação, fico eternamente grato.

Epígrafes

“Quem tem algo por que viver, pode suportar qualquer como”.

Friedrich Nietzsche

“Devemos aceitar a decepção infinita, mas nunca devemos perder a esperança infinita”.

Martin Luther King

“Você não sabe o quão forte você é até que ser forte seja a única escolha que você têm”.

Bob Marley

SUMARIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	2
Aspectos gerais do capim-colonião.....	2
O herbicida glyphosate.....	3
Mecanismo de ação do glyphosate.....	4
Curva dose-resposta.....	5
Efeito hormetico.....	5
MATERIAL E MÉTODOS.....	7
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	9
CONCLUSÃO.....	16
AGRADECIMENTOS.....	16
REFERÊNCIAS.....	16

PODE OCORRER HORMESE EM CAPIM COLONIÃO USANDO GLYPHOSATE?

RESUMO - *Panicum maximum* está entre as plantas daninhas mais importantes nas culturas tropicais, justificando plenamente a necessidade de controlá-la, o que é feito basicamente com o emprego de herbicidas. Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito de subdoses de glyphosate nas trocas gasosas, crescimento e morfologia de *P. maximum*. O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, sendo as plantas cultivadas em vasos, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos experimentais foram constituídos por uma testemunha (sem aplicação do produto) e nove doses (3,78; 8,10; 16,64; 33,48; 67,70; 135,00; 270,00; 540,00 e 1080,00 g e.a. ha⁻¹). Foram avaliados os parâmetros fisiológicos: fotossíntese líquida, condutância estomática, transpiração, temperatura foliar, concentração interna de CO₂. Também foram avaliados o número de perfilhos e intoxicação das plantas e, ao final do experimento determinou-se o acúmulo de massa seca da parte aérea e área foliar. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando significativos, realizou-se análise de regressão usando os modelos para as curvas de dose-resposta. Os parâmetros fisiológicos avaliados, foram influenciados positivamente pelas subdoses de glyphosate, apresentando maiores valores que a testemunha. A concentração interna de CO₂ foi negativamente afetada, mas houve incremento na temperatura da folha de forma progressiva. Além disso, promoveram aumento na massa seca da parte aérea e da área foliar. Diante disso, concluiu-se que houve efeito hormético nas plantas de *Panicum maximum*, quando submetidas as doses de 3,78 a 270 g e.a ha⁻¹ de glyphosate.

Palavras-chave: Dose-resposta, trocas gasosas, subdose, *Panicum maximum*.

CAN OCCUR HORMESE IN GUINEA GRASS USING GLYPHOSATE?

ABSTRACT – *Panicum maximum* is among most important weed specie in tropical crops, justifying the need to control it, basically with herbicides. Therefore this work aimed to evaluate glyphosate sub dose in the gas exchange, dry mass and morphological in *P.maximum*. The experiment was conducted in a green house, plants were grown in plots, with a casually randomized design, with four replications. The experimental treatments were constituted with one control (without application of the product) and nine doses of glyphoste(3.78: 8.1: 16.64: 33.48: 67.7: 135: 270: 540: 1080 g a.e. ha⁻¹). It was evaluated: Liquid photosintesys, estomatic conductance, transpiration, leaf temperature, intern CO₂ concentration. Besides it was evaluated tillering and intoxication, at the end of the experiment it was determined the aerial dry mass and leaf area. The data obtained was submitted to a variance analysis test and means submitted to a Tukey test at 5 % probability and when significative was used regression using the models for dose response curves. The physiological parameters evaluated where positive influenciated by the glyphosate sub dose showing higher values than the control, furthermore the intern CO₂ concentration was negative influenced, beyond it was observed increment in the leaf temperature progressively, also promote an increment for aerial dry mass accumulation and leaf area besides. Further more, concluding that in the *Panicum maximum* plants submitted to the glyphosate doses of 3,78 to 270 g a.e. ha⁻¹ showed and hormetic effect.

Keywords: Dose-response, gas exchange, low doses, *Panicum maximum*.

1. INTRODUÇÃO

O capim-colonião (*Panicum maximum*) é considerado uma importante espécie em áreas de pastagem em várias regiões do Brasil. Contudo, quando não em pastagens, essa espécie é considerada agressiva e prejudicial, principalmente em associação com às culturas agrícolas, tais como citros, cana-de-açúcar, café, entre outras. Nessas áreas, ele é reconhecido como planta daninha, por interferir negativamente no potencial produtivo das culturas (DURIGAN, 1992).

Dentre os métodos de manejo dessa planta daninha, o controle químico é o mais utilizado, por ser de rápido controle, apresentar alto nível de eficiência e menor custo (ALVINO, 2011).

A primeira referência para o conceito agora conhecido como hormesis pode ser encontrada nos trabalhos de Paracelsus (1529), que afirmou que “todas as substâncias são venenos, não existe nada que não seja veneno, somente a dose correta diferencia o veneno do remédio”. Porém algumas espécies, quando recebem uma determinada dose de um produto, como o glyphosate, podem ser afetadas de maneira contrária, causando incremento de várias características. Esse fenômeno é chamado de hormese. O termo “hormesis” é de origem relativamente recente. Segundo Luckey (1991) hormesis foi usado pela primeira vez em 1942 para descrever o estímulo de crescimento de fungos por baixas concentrações de uma substância antibiótica, que naturalmente foi encontrado em casca de árvore, e que em concentrações mais elevadas diminuiu o crescimento do fungo. O efeito hormesis pode provocar diferentes respostas estimulatórias, dependendo do produto químico que está sendo aplicado, da planta que está recebendo esse composto, e como ele age na morfologia e na fisiologia dessa planta. Trabalhos na literatura constataram o efeito de hormesis de glyphosate por meio do crescimento de plantas, promovido por aplicações em baixas concentrações do herbicida glyphosate. Este efeito pode ser descrito como uma resposta adaptativa, caracterizada por uma curva de dose resposta bifásica, que induz diferentes processos biológicos compensatórios seguidos de uma quebra na homeostase, levando a uma resposta adaptativa dos organismos (CALIBRESE é BALDWIN, 2002). Contudo, os mecanismos de ação da hormese ainda são pouco conhecidos.

O glyphosate é um herbicida sistêmico, utilizado no controle de plantas daninhas, na dessecação, apresenta largo espectro de ação, o que possibilita um excelente controle de plantas daninhas sendo um herbicida não seletivo. O glyphosate inibe a ação da enzima EPSPs (5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase), associada à rota do ácido chiquimico, gerando um efeito em cadeia impedindo a produção de aminoácidos essenciais como fenilalanina, tirosina e triptofano. Baixas doses de glyphosate pode estimular o crescimento de uma variedade de espécies de plantas e o efeito da hormese provavelmente está relacionado com o sítio de ação do glyphosate (VELINI et al., 2008).

Considerada a importância do capim-colonião e a necessidade de controlá-lo, a hipótese levantada neste trabalho foi que, com a redução nas doses do glyphosate, ocorram mudanças fisiológicas que afetam negativamente os processos fisiológicos e morfológicos.

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

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi analisar os efeitos de subdoses de glyphosate em aspectos fisiológicos e morfológicos do capim-colonião, visando encontrar doses que possam causar hormese na espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais do capim-colonião

O *Panicum maximum* é uma gramínea considerada uma das primeiras espécies forrageiras introduzidas no Brasil, bem difundida e muito importante, principalmente em áreas com solos mais férteis (ARONOVICH, 1995). O cultivar mombaça foi introduzido no Brasil na década de 80 pela EMBRAPA como o cv. BRA-006645 (JANK, 1995). O hábito de crescimento do cv. Mombaça é ereto, cespitoso e com altura média de 1,65 m. A largura média das lâminas foliares é de

3,0 cm, sem cerosidade e poucos pêlos. Jank (1995) relatou que as produções de massa verde do cv. mombaça foi 32% maior do cv. Colonião. Dentre as espécies de plantas forrageiras mais utilizados no pastejo de bovinos, destaca-se *P.maximun*, cujos cultivares têm significativo valor em nossas pastagens e, nos últimos anos, têm tido uso crescente na pecuária nacional (GOMES, 2001). O capim mombaça (*Panicum maximum*) é considerado uma das forrageiras tropicais mais produtivas à disposição dos pecuaristas. Dados da literatura, relatam que pastagens em situações de baixa fertilidade, a produção é reduzida, caracterizando a exigência do capim mombaça em fertilidade do solo (FREITAS, 2007)

A grama mombaça é um cultivar de *Panicum maximum* capaz de produzir altos níveis de forragem de boa qualidade (JANK 1994). No entanto, para converter esse potencial em produção, é necessário compreender os aspectos morfofisiológicos e ecológicos das plantas que determinam a produção de forragem e o desempenho animal das pastagens. Estudos descreveram aspectos da ecofisiologia desta espécie (MACHADO et al., 2010; SANTOS, 1997; CARVALHO et al., 2013). Em geral, os resultados indicam altas taxas de acumulação de ervas, particularmente no verão e durante o desenvolvimento reprodutivo no outono, normalmente associado a um aumento considerável na massa e altura de pós-pastejo em gramas sucessivas (HERLING et al., 1998)

Em pastagens com uso racional de adubos e corretivos, a resposta dessa forrageira é bastante acentuada, porém, em situações de baixa fertilidade a produção é reduzida, caracterizando-se como uma forrageira exigente em fertilidade do solo (SILVA, 1995).

2.2. Herbicida glyphosate

O herbicida glyphosate foi introduzido no mercado em forma de sal de isopropilamina, conhecido como herbicida de amplo espectro de controle, não seletivo e de pós emergência, (DUKE, 2008). Tornou-se o herbicida mais utilizado no mundo, por aspectos relacionados à segurança ambiental, redução de custos, modo de ação, eficácia, e por isso é a principal opção para o controle de plantas daninhas em diversos sistemas de produção agrícola (HALTER, 2009). Entre os herbicidas

utilizados para seu controle, o glyphosate (ácido N-fosfono-metil-glicina) é considerado um dos mais eficientes. Esse produto é aplicado via foliar, a penetração de glyphosate nas células é mediada por proteínas transportadoras de fosfatos, presentes na membrana plasmática (MERVOSH e BALKE, 1991). É translocado nas plantas até os tecidos de demanda, através do floema, onde é distribuído simplásticamente, embora também ocorra movimento apoplástico. Este composto aparentemente tem dificuldade de penetrar no floema, uma vez ali localizado é altamente móvel (DILL, 2005) que atua na inibição da enzima EPSPS em doses que viabilizem o uso comercial (MOLDES et al., 2008; REDDY et al., 2008). De acordo com Durigan (1992), a eficiência desse produto pode ser influenciada pelos estádios de desenvolvimento em que a planta se encontra no momento da aplicação, já que plantas com tecidos mais lignificados, tem uma tolerância maior ao herbicida.

2.3. Mecanismo de ação do glyphosate

Primeiramente para que o herbicida exerça um controle preciso é necessário que ocorra contato com algum órgão verde da planta daninha, assim a penetração (via apoplástica), absorção (via simplasto), translocação (entre órgãos, tecidos células e organelas), atinja a interação com o sítio de ação até a paralisação do seu crescimento ou à morte (VELINI et al., 2009), uma vez no sítio de ação, inibe a enzima EPSPs (5-enolpiruvilchicamato-3-fosfato sintase), a qual é responsável pela catalisação a reação do chícamato-3-fosfato e fosfoenolpiruvato (PEP) formando um composto enolpiruvatochicamato-3-fosfato fosfatado (KNAGGS, 2003; ARMHEIN et al., 1980), o enolpiruvilchicamato-3-fosfato é precursor do ácido corísmico do qual irá produzir os aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano, provocando uma redução na síntese dos aminoácidos essenciais na rota do ácido chiquímico, alterando a produção de proteínas e também é precursora de vários outros compostos aromáticos importantes como vitaminas (K e E), hormônios (auxina, etileno), alcalóides, lignina, antocinanina, taninos, flavonoides, entre outros compostos fenólicos. O ácido salicílico que é extremante importante no mecanismo de defesa contra patógenos resulta do ácido chiquímico e a lignina que também é resultado desta rota (KOGAN; PÉREZ, 2003; TAIZ; ZEIGER, 2013). Além disto, em baixas

doses tem sido estudado que glyphosate, gera inibição na síntese de lignina, fazendo as paredes celulares mais elásticas por um período mais longo, resultando em um maior crescimento longitudinal (DUKE et al., 2006)

2.4. Curva de dose-resposta

A eficácia de um herbicida é medida por meio de bioensaios, como experimentos de curva de dose-resposta. Esse tipo de experimento é conduzido para estimar o potencial de um herbicida após sua aplicação em algum organismo vivo.

Os resultados da relação entre a dose do herbicida e a resposta do organismo é fundamental para o entendimento da sua eficácia no controle. Compreender essa relação é essencial para o planejamento e interpretação dos trabalhos feitos nesta área de conhecimento (SOUZA, 2000).

As plantas apresentam diversas respostas das variáveis avaliadas pela curva de dose-resposta, essas respostas podem promover modificações morfológicas ou fisiológicas. Geralmente o maior problema na avaliação desse tipo de experimento é a correta utilização dos modelos para curvas de dose-resposta não-lineares.

Quando a massa seca das plantas é plotada graficamente contra as doses do herbicida, apresentam normalmente conformação sigmoideal, tendo como limite a maior dose do herbicida e como limite inferior a testemunha. Ocasionalmente, plantas tratadas com sub-doses apresentam crescimento que excedem à testemunha, fenômeno conhecido como hormesis (LACERDA e VICTORIA, 2004)

2.5. Efeito da hormesis

Existem substâncias, embora tóxicas em doses altas que podem ser estimulantes ou mesmo benéficas em doses baixas. Como os agrotóxicos que são normalmente utilizados como substâncias tóxicas para plantas daninhas, pragas e doenças, porém em doses reduzidas vão causar um efeito estimulante chamado hormesis. O primeiro conceito de hormesis foi descrito por Paracelsus (1529) que afirmou que “nada é veneno, tudo é veneno, a diferença esta na dose”.

Pesquisas têm sido realizadas no sentido de avaliar possíveis efeitos horméticos em plantas, principalmente com o uso de herbicidas. A resposta estimulatória é medida em diferentes parâmetros, crescimento, massa, área foliar, número de perfilhos ou mudanças fisiológicas, teor de clorofila, acumulação de CO₂, transpiração, fotossíntese, condutância estomática. O efeito hormesis pode provocar diferentes respostas estimulatórias, que depende do produto, da planta que está recebendo esse químico, e como ele age na morfologia e na fisiológica dessa planta. Os mecanismos que são ativados pela hormesis pode representar tentativas de sobrevivência para a planta, procurando compensar o estresse químico (WIELDMAN; APPLEBY, 1972)

Tratar uma cultura com subdoses de um herbicida para uma mudança fenotípica desejável pode ser valioso (DUKE et al., 2006) quando o glyphosate em subdoses é aplicado para estimular o acúmulo de sacarose e evitar o florescimento em cana-de-açúcar (VELINI, 2009; ARALDI, 2010). Em trabalhos realizados em cafeeiros por Carvalho et al. (2013), os autores observaram incremento de 18% no diâmetro do caule, 31% na massa de matéria seca das folhas e 27 % na massa de matéria seca total, atribuindo tais resultados à ocorrência de hormesis.

De acordo com Carvalho (2011), a fotossíntese não é o sitio de ação primária do glyphosate, mas o herbicida atua lentamente nos processos fotossintéticos. Aproximadamente 20% do carbono fixado por plantas verdes é encaminhado através da rota do ácido chiquímico com um grande número de produtos finais significativos como resultado, como vitaminas, ligninas, alcalóides entre outros compostos secundários já mencionados (KRUSE et al. 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013)

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

Informações de que ocorrem alterações fotossintéticas, de forma indireta ou direta, como a análise de clorofila, também se torna uma ferramenta importante para o diagnóstico nutricional e fotossintético das plantas (MACHADO et al., 2010; CEDERGREEN; OLESEN, 2010). Assim, métodos de quantificação e de estimativa

de tais pigmentos são utilizados como ferramentas para detectar os efeitos do glyphosate em plantas. Uma redução no teor de clorofila pode ser resultado da menor síntese ou da maior degradação da clorofila pelo glyphosate (CARVALHO, 2011).

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

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, com temperatura média de 33 °C, com uso de H₂O deionizada e uma irrigação de 200ml dia parcelado em uma aplicação de manhã e outra a tarde, até atingir os 25 dias após aplicação, depois foi duplicada a quantidade de água por vaso. A espécie vegetal utilizada no presente estudo foi o capim-colonião cv. Mombaça (*Panicum maximum*), proveniente das sementes Rancharia. A semeadura foi realizada no dia 18 de janeiro de 2016, em bandejas de polipropileno preenchidas com substrato agrícola. A emergência das plântulas ocorreu 6 dias após a semeadura. Três plântulas foram transplantadas em vasos com capacidade de 2 L, contendo terra retirado da camada-arável de um solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo Álico, de acordo com o sistema brasileiro de classificação de solos (EMBRAPA, 2013). Foram realizadas adubações pré transplante com quantidades equivalentes a 48 kg de KCl ha⁻¹, 40 kg de superfosfato simples ha⁻¹ e 100 kg de uréia ha⁻¹.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições. Os tratamentos experimentais foram compostos por nove doses de glyphosate (Crusial® - 3,78; 8,10; 16,64; 33,48; 67,70; 135,00; 270,00; 540,00; 1080,00 g e.a. ha⁻¹), glyphosato com dois sais, isopropilamina e potássica gerando 540 g. e.a.) e uma testemunha (sem aplicação do glyphosate). A aplicação do herbicida foi realizada no dia 08 de março de 2016, quando as plantas apresentavam de duas a três folhas completamente expandidas, com altura inferior a 10 cm. A

aplicação foi feita com auxílio de um pulverizador costal pressurizado a CO₂ (2 kgf. cm⁻²) e acoplado a uma barra contendo quatro pontas de jato plano 110-02, espaçadas a 0,5 m com um volume de aplicação de 220 L/ha⁻¹. No momento da aplicação, o solo encontrava-se úmido com temperatura e umidade relativa do ar em 28°C e 56.5%, respectivamente.

Decorridas 24 horas após aplicação (HAA) do herbicida por meio do IRGA (Infrared gás analyser), determinou-se a fotossíntese, transpiração, temperatura foliar e concentração interna de CO₂ na segunda folha totalmente expandida, no sentido basípeta, com medida do comprimento mínimo de 2,5 cm. Foi utilizada uma câmara para folhas dicotiledôneas adaptada para monocotiledôneas, aplicada a um analisador de gases infravermelho, em sistema aberto, modelo LC-pro (ADC, EUC). Para as leituras, foi utilizada uma fonte de luz dicróica na parte superior da câmara, (temperatura do ar 25°C, umidade relativa do ar 30% e concentração de CO₂ de 400 μmol m⁻²s⁻¹, utilizando intensidade de luz equivalente a 1200 μmol m⁻² s⁻¹) (Evans e Santiago, 2014). Para a fotossíntese, transpiração, temperatura foliar e concentração interna de CO₂, os resultados foram expressos em μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, mmol H₂O m⁻² s⁻¹, °C e mmol CO₂ m⁻² s⁻¹, respectivamente segundo Evans e Santiago (2014)

Avaliou-se a intoxicação e o número de perfilhos por plantas aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após aplicação (DAA) do glyphosate. Para avaliar a intoxicação, utilizou-se escala visual proposta pela SBCPD (1995), em que 0% correspondeu à ausência de injúrias e 100% à morte das plantas. Ao final do experimento (49 DAA), foram avaliadas a área e o comprimento foliar e determinou-se a massa seca das folhas e do caule. O comprimento foliar foi medido na folha mais jovem totalmente expandida no sentido basípeta, proveniente do meristema apical. A área foliar foi determinada após coleta de todas as folhas das plantas avaliadas, utilizando um integralizador de área, modelo LI-3100 (LI-COR, USA). Para determinação da massa seca, o material vegetal foi acondicionado em estufa de circulação de ar forçada à temperatura de 65°C, por 96 horas.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância pelo teste F, as médias comparadas pelo teste de Tukey p>0.05 de probabilidade, por meio do software AgroStat 1.1. Para a interpretação do fator quantitativo relacionado à dose,

realizou-se uma análise de regressão por meio do software OriginsPro 8.5, utilizando a equação proposta por Brain e Cousens (1988).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando os parâmetros fotossintéticos, constatou-se que a fotossíntese líquida (A) a partir da dose 8,1 até 270 g e.a./ha, apresentou valor máximo de 35% na atividade fotossintética (Figura 1). Esse aumento na atividade fotossintética pode estar relacionado com aumento nos teores de ácido chiquímico. Estudos realizados por Velini et al. (2008) em soja e milho constataram aumento do ácido chiquímico em função da progressão das subdoses de glyphosate. Segundo Cedergreen e Olegen, (2010), o aumento nos teores de ácido chiquímico é responsável por cerca de 20% da fixação do carbono total nas plantas. Com base nos resultados evidenciou-se, que a abertura estomática (G_s) para a dose de 270 g e.a. ha⁻¹ aumentou cerca de 44% (Figura 2). Houve incremento de 53% no acúmulo de H₂O na folha, demonstrando maior atividade transpiratória (Figura 3). Além disso, a quantidade interna de carbono (CO₂) foi reduzida em 28% (Figura 4), sendo essa, influenciada diretamente pela fixação de carbono durante a fotossíntese.

Quando as plantas de *P. maximum* foram expostas às maiores doses (540 e 1080 g e.a. ha⁻¹) de glyphosate, houve maiores acúmulos de CO₂ em relação às subdoses testadas (Figura 4), apresentando diminuição na abertura dos estômatos de até 61% (Figura 2), o qual induziu o aumento da temperatura foliar (Figura 5), reduziu a taxa transpiratória em 18% (Figura 3) e a atividade fotossintética em 47% (Figura 1).

Foi possível observar que com 7 DAA a intoxicação das plantas se iniciou a partir da dose de 135 g e.a./ha, provocando 35% de toxicidade em relação a testemunha e chegando até 47% na maior dose (1080 g e.a ha⁻¹) (Tabela 1). Aos 14 DAA, nota-se que a partir da dose de 67,7 g e.a ha⁻¹ houve intoxicação nas plantas tratadas, o que manteve-se aos 35 DAA. Contudo, a partir dos 21 DAA, a redução dos sintomas nas plantas levaram a uma recuperação total dos níveis de intoxicação 42 DAA, exceto para a maior dose (1080 g e.a ha⁻¹), estes foram reduzidos a uma média de 65% (Tabela 1).

Quanto ao perfilhamento aos 7 DAA (Tabela 2), houve redução de 75% no número de perfilhos quando o *P. maximum* foi exposto a maior dosagem (1080 g e.a ha⁻¹) em relação a testemunha. Aos 14 DAA, nota-se que na dose de 135 g e.a ha⁻¹ houve aumento de 38%, em comparação com a testemunha (Tabela 2). A partir dos 21 DAA, observou-se que a maior dose (1080 g e.a ha⁻¹) do glyphosate estimulou o perfilhamento, fato que foi mantido ao longo das avaliações, demonstrando incremento de 116% (28 DAA), 117% (35 DAA) e 56% (42 DAA) (Tabela 2). Silva et al. (2015) trabalhando com picão preto e trapoeraba, verificaram que as plantas submetidas às maiores dosagens 1.8 a 2.7 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate apresentaram abscisão foliar precoce, e emissão de novos tecidos foliares (brotações) a partir dos 20 e 30 DAA, corroborando os resultados do presente estudo que encontraram novas brotações a partir dos 21 DAA.

Em relação à massa seca do caule, a dose de 8,1 g e.a ha⁻¹ apresentou maior acúmulo de massa (26%) em relação a testemunha (Figura 6). Esses resultados estão de acordo com a massa seca foliar (26%) (Figura 7) e área foliar (47%) (Figura 8). Segundo Sharkey et al. (2007) o aumento da área foliar deve-se ao aumento na atividade da rubisco, possibilitando maior fixação de carbono. A intensa atividade da ribulose-bifosfato carboxilase-oxigenase diminui a inibição do “feedback” de açúcares na atividade da carboxilação. Esse aumento provavelmente está relacionado à atividade enzimática ou pelo aumento no número de estômatos abertos que incrementou a absorção de luz e, conseqüentemente, assimilação fotossintética de CO₂. Esses dados corroboram os de Velini et al. (2008) que avaliaram resposta em estudos com cana-de-açúcar e eucalipto e constataram aumento na massa seca das plantas submetidas às doses de 10 a 20 g e.a ha⁻¹ de glyphosate. Por outro lado, observou-se que o tratamento submetido a maior dose (1080 g e.a ha⁻¹) apresentou diminuição na massa seca do caule (11%) (Figura 6), massa seca foliar (11%) (Figura 7) e área foliar (7%) (Figura 8). Ferreira et al. (2006) ao estudar a deriva simulada de glyphosate em arroz observou aumento progressivo na área foliar em relação às diferentes subdoses de glyphosate.

Estudos em plantas tratadas com subdoses de glyphosate, apresentaram elevação na fixação de carbono e condutância estomática em resposta a um aumento na quantidade de estômatos abertos no mesofilo foliar (SILVA, 2012). A

elevação no número de estômatos na epiderme é regulada primariamente por hormônios vegetais responsáveis pelo crescimento das plantas, sendo esta uma possível explicação para o aumento no crescimento (FLEXAS, 2008).

Os parâmetros fisiológicos avaliados foram influenciados positivamente pelas subdoses de glyphosate apresentando valores maiores que a testemunha, além disso, a concentração interna de CO₂ foi negativamente afetada pelo uso de subdoses de glyphosate.

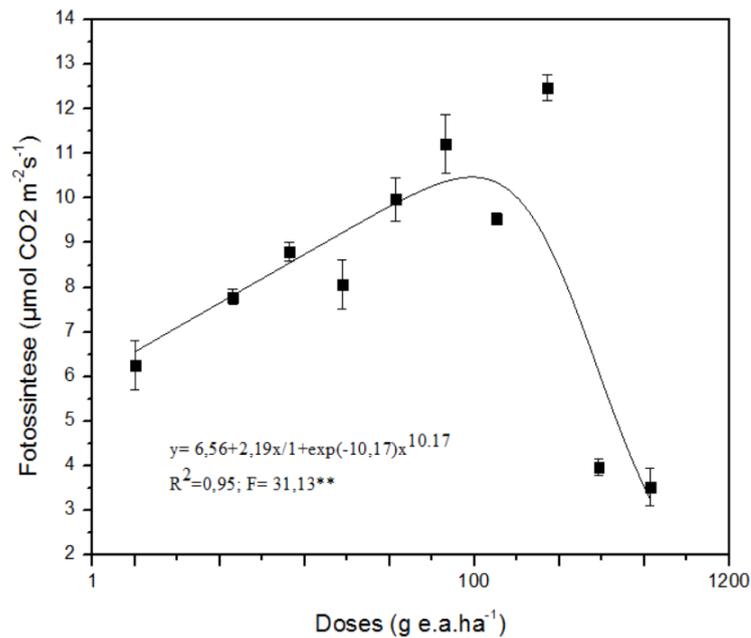


Figura 1. Fotossíntese líquida de *Panicum maximum* 24 horas após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

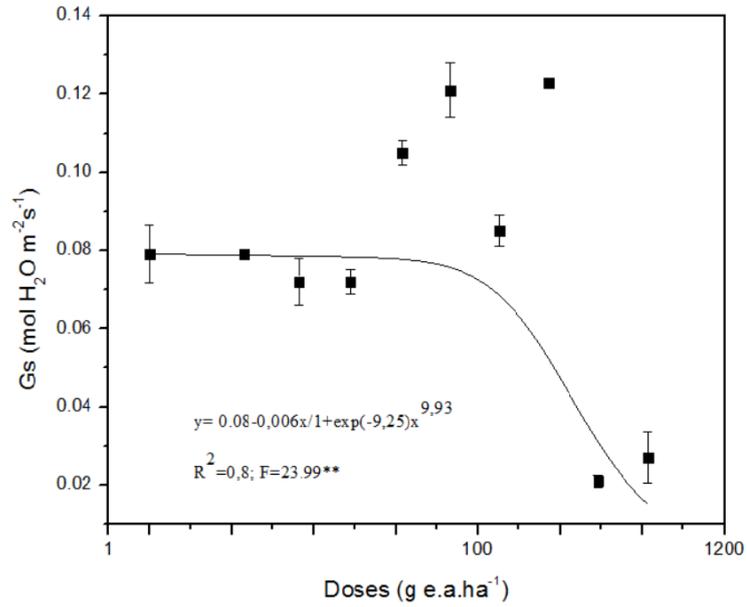


Figura 2. Condutância estomática (Gs) de *Panicum maximum* 24 horas após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

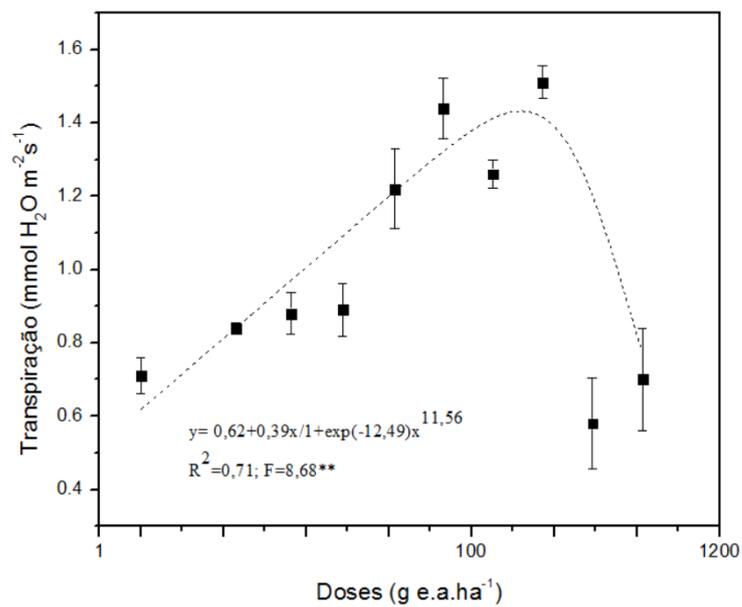


Figura 3. Transpiração de *Panicum maximum* 24 horas após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

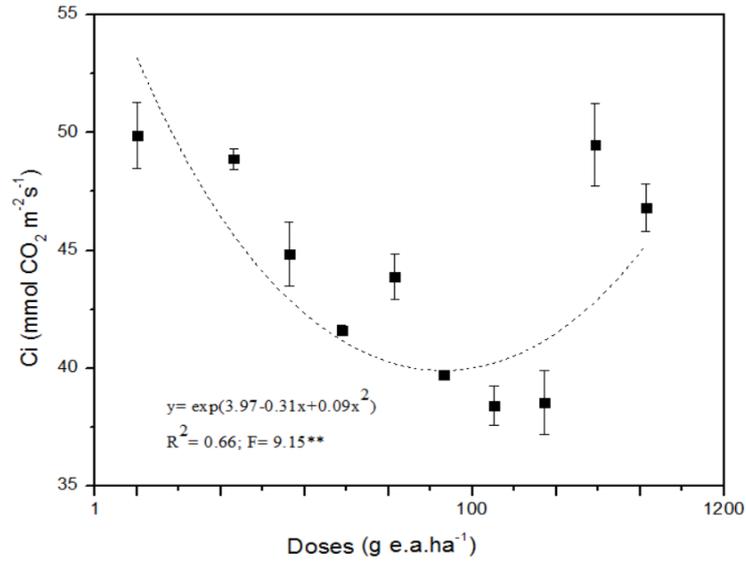


Figura 4. Concentração interna de CO₂ de *Panicum maximum* 24 horas após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

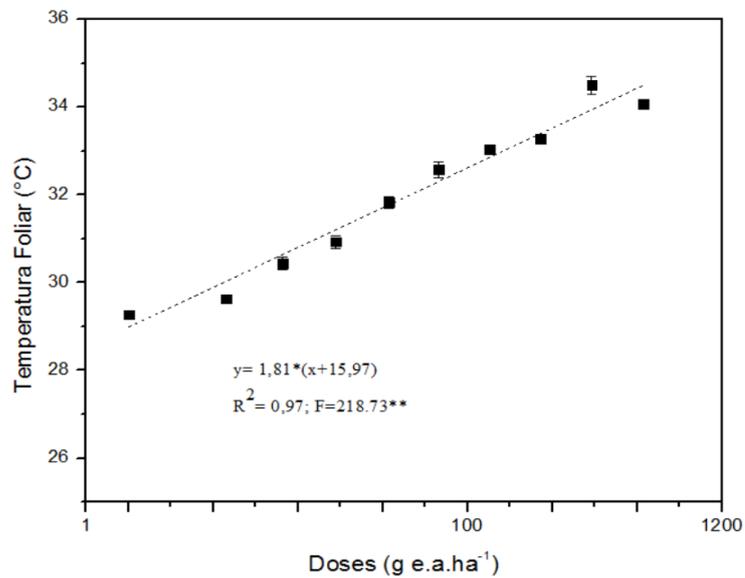


Figura 5. Temperatura foliar de *Panicum maximum* 24 horas após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

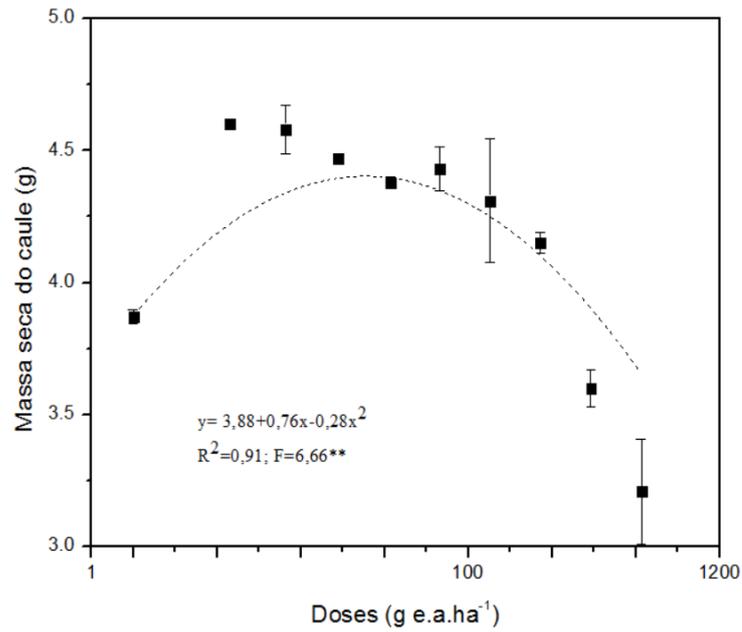


Figura 6. Massa seca do caule de *Panicum maximum* 49 dias após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

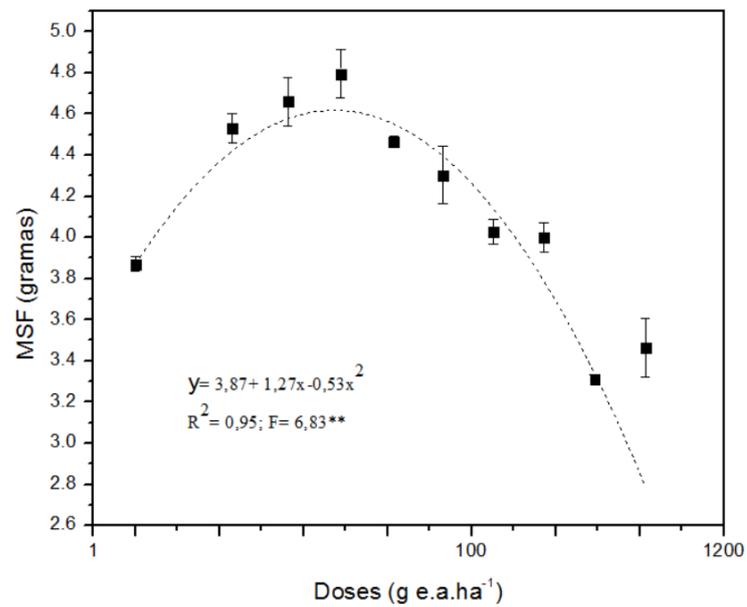


Figura 7. Massa seca foliar (g) de *Panicum maximum* 49 dias após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

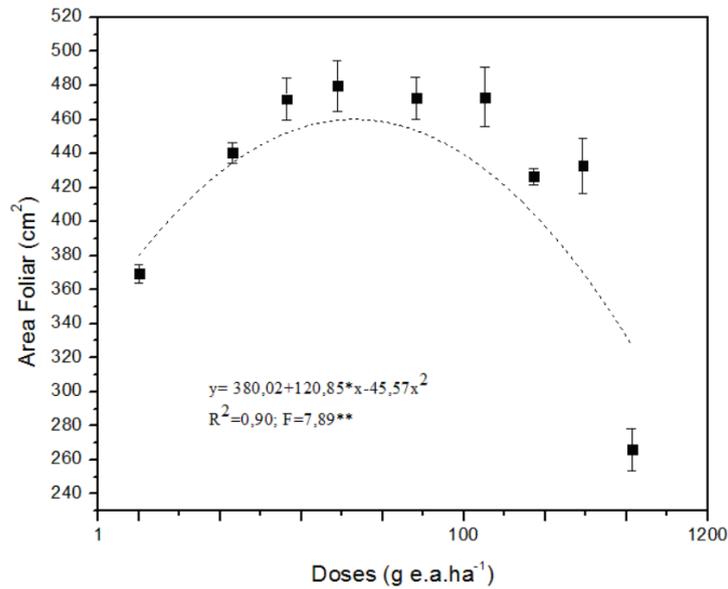


Figura 8. Área foliar (cm²) de *Panicum maximum* 49 dias após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

Tabela 1. Notas de fitointoxicação de *Panicum maximum*, avaliada aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após aplicação (DAA) de glyphosate.

Doses (g e.a. ha ⁻¹)	Fitointoxicação (%)					
	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA	35 DAA	42 DAA
0,00	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b
3,78	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b
8,10	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b
16,64	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b
33,48	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 b	0,00 b	0,00 b
67,70	0,00 d	10,45 bc	3,33 c	8,61 b	0,00 b	0,00 b
135,00	35,22 b	19,31 b	7,33 c	3,33 b	7,63 ab	0,00 b
270,00	22,79 c	14,76 b	0,00 c	0,00 b	4,31 ab	0,00 b
540,00	43,08 a	55,82 a	5,00 a	31,07 a	5,48 ab	0,00 b
1080,00	46,92 a	64,70 a	33,33 b	28,78 a	14,76 a	8,61 a
F	352,77**	106,84**	110,00**	42,49**	3,66**	4,00**
C.V. (%)	15,25	12,84	6,39	13,45	10,31	8,69

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey. $p > 0,05$ de probabilidade, $p < 0,01$ de probabilidade.

Tabela 2. Número de perfilhos em plantas de *Panicum maximum* avaliada aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após aplicação (DAA) de glyphosate.

Doses (g e.a. ha ⁻¹)	Número de perfilhos					
	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA	35 DAA	42 DAA
0,00	2,00 a	2,67 bcd	4,33 b	4,00 b	4,67 ab	6,33 b
3,78	2,00 a	3,00 bc	4,67 b	4,50 b	4,83 ab	6,33 b
8,10	1,50 ab	3,33 ab	3,33 b	4,33 b	4,00 b	6,50 b
16,64	1,33 ab	3,33 ab	4,00 b	4,67 b	4,50 b	6,17 b
33,48	1,67 a	3,17 abc	3,67 b	4,33 b	4,83 ab	6,67 b
67,70	1,00 ab	3,00 bc	2,67 b	5,83 b	5,83 ab	6,00 b
135,00	1,33 ab	4,33 a	4,50 b	5,67 b	5,00 ab	6,00 b
270,00	1,67 a	3,00 bc	3,67 b	4,83 b	5,00 ab	6,33 b
540,00	1,17 ab	1,67 d	4,67 b	8,67 a	5,67 ab	6,00 b
1080,00	0,50 b	2,00 cd	9,33 a	8,67 a	7,33 a	9,83 a
F	4,48**	8,15**	17,53**	10,80**	2,78*	3,79**
C.V. (%)	26,56	15,16	16,79	16,53	18,62	15,49

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey. p>0,05 de probabilidade, p< 0,01 de probabilidade.

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados avaliados, as sub doses de glyphosate promoveram aumento na massa seca da parte aérea e da área foliar, nos parâmetros fisiológicos tais como fotossíntese, transpiração e temperatura da folha. Diante disso, pode-se concluir que houve efeito hormético nas plantas de *Panicum maximum*, quando submetidas as doses de 3,78 a 270 e.a ha⁻¹.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Laboratório de Plantas Daninhas da UNESP de Jaboticabal em parceria com a UESB pelo desenvolvimento do projeto de pesquisa.

7. REFERÊNCIAS

- ALVINO, C. A.; GRICIO, L. H.; SAMPAIO, F. A.; GIROTTO, M.; FELIPE, A. L. S.; JUNIOT, C. E. I.; BUENO, C. E. M. S.; BOSQUE, G. G.; LIMA, F. C. C. Interferência e controle de plantas daninhas nas culturas agrícolas. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**. 2011; 10:20.
- AMRHEIN, N.; DEUS B.; GEHRKE P.; STEINRUCKEN H. C. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate II. Interference of glyphosate with chorismate formation *in vivo* and *in vitro*. **Plant Physiology**. 1980; 66: 830-834.
- ARALDI, R. Florescimento em cana-de-açúcar. **Ciência Rural**. 2010; 40: 674-702.
- ARONOVICH, S. O capim colonião e outros cultivares de *Panicum maximum* Jacq. Introdução e evolução do uso no Brasil. SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12.**Anais**. 1995. Piracicaba FEALQ p. 1-20.
- BRAIN, P.; COUSENS, R. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses. **Weed Res.** 1988; 29: 93-96.
- CALÍBRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Defining hormesis. **Hum Exp Toxicol**. 2002; 21: 91-97.
- CARVALHO, L. B.; ALVES, P.L.C. Efeitos do glyphosate na fotossíntese do cafeeiro. In: **Simpósio internacional sobre glyphosate, Anais**. 2011; 86-89.
- CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A.; DUKE, S. O. Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. 2013; 85: 813-822,
- CEDERGREEN, N.; OLESEN, C. F. Can glyphosate stimulate photosynthesis? **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 2010; 96: 140-148.

DUKE, S. O; CEDERGREEN. N; VELINI, E.; BELZ, R. Hormesis: Is it an important factor in Herbicide use and Allelopathy? **Outlook on Pest Management**. 2006; 17: 29-33.

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

DURIGAN, J. C. **Efeito de surfactantes e aditivos na eficácia de herbicidas aplicados em pós-emergência das plantas daninhas**. Ed FAVJ-UNESP. 1992. 36.

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

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa. 2013; 353 p.

EVANS, J. R.; SANTIAGO, L. S. PrometheusWiki Gold Leaf Protocol: gas exchange using LI-COR 6400. **Functional Plant Biology**. 2014; 41: 223-226.

FERREIRA, F. B.; PINTO, J. J.; ROMAN, E. S.; GALON, L.; REZENDE, A. L.; PROCÓPIO, S. O. Conseqüências da deriva simulada do herbicida glyphosate sobre a cultura do arroz irrigado (*Oryza sativa* L.). **Revista Brasileira de Agrociência**. 2006; 12: 309-312.

FLEXAS, J. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. **Plant, cell and Environment**. 2008; 31: 602-621.

FREITAS, K. R.; ROSA B.; RUGGIERO J. A. Avaliação da composição química-bromatológica do capim mombaça (*Panicum maximum*) submetidos a diferentes doses de nitrogênio. **Bioscience Journal**, 2007. Uberlândia. V.23, n.3,pl -10.

GOMES, M. A. **Efeitos de intensidade de pastejo e períodos de ocupação da pastagem na massa de forragem e nas perdas de valor nutritivo da matéria**

seca do capim Mombaça (*Panicum maximum* Jacq. Cv Mombaça). São Paulo. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, 2001. 112p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- USP.

HERLING, V.R.; PIAZZA, C.; JANTALIA, C.P.; SUDA, C.H.; LUZ, P.H.C; LIMA, C.G. Efeito do período de descanso e da matéria seca residual no capim mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) Perdas de matéria seca. **Anais**. 1998: 321-323.

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

KOGAN M., PÉREZ J. **Herbicidas fundamentos fisiológicos y bioquímicos del modo de acción.** Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago. 2003. 333.

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

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

LUCKEY, T.D. **Radiation Hormesis.** CRC. 1991

MACHADO, 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**.2010; 28: 319-327.

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

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

PARACELSO T. **Vom Holz Guiaico.** 1529

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

JANK, L. Melhoramento e seleção de variedade de *Panicum maximun*. Simpósio sobre manejo da pastagem. **Anais.** 1995. PIRACICABA FEALQ.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O.; NANDULA, V. K. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** 2008; 56: 2125- 2130.

SHARKEY, T. D.; BERNACCHI, C. J.; FARQUHAR, G. G.; SINGSAAS, E. L. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C₃ leaves. **Plant, Cell & Environment.** 2007; 30: 1035-1040.

SILVA, S. C. Condições edafo-climáticas para a produção de *Panicum* sp. In: **Simpósio sobre manejo da pastagem** Piracicaba. Anais... Piracicaba: Fealq. 1995: 129- 146.

SILVA, R.; SYLVANA, M.; LUAN, S. O.; MIRLENE, N. O.; JOSUÉ, N. F. Interferência de subdoses de glyphosate nas trocas gasosas em picão-preto. **Global Science and Technology.** 2015; 8: 31-39.

SILVA, R.; SYLVANA, M.; GREICE, M. B.; RAFAEL, Q. C.; MIRLENE, N. O. Aplicação de subdoses de glyphosate na fase de estabelecimento da cultura da soja e do milho. **Enciclopédia Biosfera.** 2012; 8: 140-149.

S.B.C.P.D. Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina - PR: S.B.C.P.D.,1995: 42.

SOUZA, A. P. Uso da equação logística no estudo de dose-resposta de glyphosate e imazapyr por meio de bioensaios. **Planta Daninha**. 2000 ;18:17-28.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Artmed. 2013.

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

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

WIELDMAN, S. J., Appleby A. P. Plant growth stimulation by sublethal concentrations of herbicides. **Weed Research**. 1972: 12: 65-74.