

LEONARDO DAVID TUFFI SANTOS

**EFEITO DO GLYPHOSATE NO CRESCIMENTO E NA MORFOANATOMIA DE
EUCALIPTO**

**Tese apresentada à Universidade Federal de
Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia,
para obtenção do título de *Magister Scientiae*.**

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S237e
2004

Santos, Leonardo David Tuffi, 1977-

Efeito do glyphosate no crescimento e na morfoanatomia de eucalipto / Leonardo David Tuffi Santos. – Viçosa : UFV, 2004.
vii, 67f. : il. ; 29cm.

Orientador: Francisco Affonso Ferreira
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia

1. Plantas - Efeito dos herbicidas. 2. Glyphosate. 3. Impacto ambiental. 4. Eucalipto - Anatomia. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 20.ed. 632.954

LEONARDO DAVID TUFFI SANTOS

EFEITO DO GLYPHOSATE NO CRESCIMENTO E NA MORFOANATOMIA
DE EUCALIPTO

Tese apresentada à Universidade Federal de
Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia,
para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 30/07/2004

Prof^a. Renata Maria Strozi Alves Meira
(Conselheira)

Prof. Nairam Félix de Barros
(Conselheiro)

Prof. Lino Roberto Ferreira

Pesquisadora Izabel Cristina dos Santos

Prof. Francisco Affonso Ferreira
(Orientador)

Aos meus pais Antônio dos Santos e Matilde, por me ensinarem as mais verdadeiras lições da vida.

As minhas irmãs, Marcelle e Márcia, pelas quais tenho orgulho e admiração.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) em especial ao Departamento de Fitotecnia e de Biologia Vegetal, pela oportunidade em cursar o mestrado e realizar este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro concedido durante a realização deste curso.

Ao professor Francisco Affonso Ferreira, pela orientação e amizade, sem a qual este trabalho não se concretizaria.

Aos professores do Departamento de Fitotecnia, em especial a Lino Roberto Ferreira e Antônio Alberto, que, juntamente com o professor Francisco, muito me ensinaram sobre a ciência das plantas daninhas.

Aos professores Lino Roberto Ferreira, Nairan Felix de Barros, Renata Maria Strozi Alves Meira e a pesquisadora Izabel Cristina dos Santos, pelas sugestões e pela atenção.

Aos técnicos de laboratório da UFV, em especial a Luiz Henrique, Domingos Sávio, Itamar e a Rosane Cruz pela amizade e pelo valioso apoio.

Aos amigos e companheiros de trabalho, Cleiton, Rafael, Márcia, Aroldo, José Barbosa e Francisco pela valiosa ajuda e apoio durante a realização deste trabalho.

A Tereza Tufi pela valiosa contribuição na revisão do Português.

A todos os colegas dos Laboratórios de Herbicidas na Planta e Anatomia Vegetal, pelo agradável convívio.

Aos amigos Leonardo Magalhães e Klever Márcio, pela convivência saudável durante esta jornada e aos amigos do alojamento 1821 que sempre me receberam de braços abertos.

A CENIBRA – Celulose Nipo-Brasileira e ao IEF – Instituto Estadual de Florestas, pela concessão do material vegetal utilizado.

BIOGRAFIA

Leonardo David Tuffi Santos, filho de Antônio dos Santos e Maria Tuffi Santos, nasceu em Itapecerica - MG, em 15 de setembro de 1977.

Ingressou na Universidade Federal de Viçosa em 1998, graduando-se Engenheiro-Agrônomo em março de 2003. Em março do mesmo ano, iniciou o curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, em nível de Mestrado, pela Universidade Federal de Viçosa, na área de Plantas Daninhas, Alelopatia, Herbicidas e Resíduos, submetendo-se à defesa de tese em julho de 2004.

ÍNDICE

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	01
2. CRESCIMENTO E MORFOANATOMIA FOLIAR DE EUCALIPTO SOB EFEITO DE DERIVA DO GLYPHOSATE	09
2.1 Resumo.....	09
2.2 Abstract.....	10
2.3 Introdução.....	12
2.4 Material e Métodos.....	14
2.5 Resultados e Discussão.....	17
2.6 Conclusões.....	26
2.7 Literatura Citada.....	27
3. TOLERÂNCIA DE CLONES DE EUCALIPTO SUBMETIDOS A DERIVA SIMULADA DO GLYPHOSATE	29
3.1 Resumo.....	29
3.2 Abstract.....	30
3.3 Introdução.....	31
3.4 Material e Métodos.....	33
3.5 Resultados e Discussão.....	34
3.6 Conclusões.....	41
3.7 Literatura Citada.....	43
4. EXSUDAÇÃO RADICULAR DO GLYPHOSATE POR <i>Brachiaria decumbens</i> E SEUS EFEITOS SOBRE PLANTAS DE EUCALIPTO E NA RESPIRAÇÃO MICROBIANA DO SOLO	46
4.1 Resumo.....	46
4.2 Abctract.....	47
4.3 Introdução.....	49
4.4 Material e Métodos.....	51
4.5 Resultados e Discussão.....	57
4.6 Conclusões.....	62
4.7 Literatura Citada.....	63
5. RESUMO E CONCLUSÕES GERAIS	66

RESUMO

TUFFI SANTOS, Leonardo David, M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2004. **Efeito do glyphosate no crescimento e na morfoanatomia de eucalipto.** Orientador: Francisco Affonso Ferreira. Conselheiros: Renata Maria Strozi Alves Meira e Nairam Félix de Barros.

O eucalipto é a essência florestal mais utilizada nos programas de reflorestamento no Brasil, tendo importante papel social e econômico. Diante da importância do uso do glyphosate para o estabelecimento da cultura do eucalipto no campo e da necessidade de conhecer os reais efeitos deste herbicida sobre a cultura e seu agrossistema, foram realizados três experimentos, para avaliar: o crescimento e a morfoanatomia foliar de plantas de eucalipto submetidas à deriva simulada de glyphosate por meio de subdoses (0, 3, 6, 12 e 24% da dose de 1440 g ha⁻¹); a exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos sobre plantas de eucalipto cultivadas em solo e em solução nutritiva; a respiração microbiana, sob diferentes manejos, com o herbicida glyphosate; e a tolerância de diferentes clones de eucalipto à deriva do glyphosate. As injúrias provocadas pela deriva do glyphosate foram proporcionais ao aumento das subdoses, sendo representadas por murcha, clorose progredindo para necrose, enrolamento das folhas e morte dos ponteiros. Nas

plantas tratadas com as maiores subdoses, observou-se, na estrutura anatômica, áreas necrosadas, hiperplasia das células do parênquima clorofiliano e da epiderme, proliferação celular, acúmulo de compostos fenólicos e variação na espessura e na área dos tecidos foliares. Nos experimentos instalados para o estudo da exsudação do glyphosate, não houve sintomas de toxidez nas plantas de eucalipto cultivadas em sistema hidropônico e no solo, não podendo ser comprovada, pela metodologia utilizada, a exsudação do herbicida pelas plantas de braquiária. Entretanto, o uso do glyphosate, no manejo da braquiária, estimulou a atividade microbiana, principalmente no solo arenoso. Houve diferença de tolerância ao glyphosate pelos clones de eucalipto, sendo *E. grandis* mais sensível ao herbicida que *E. urograndis* e *E. urophylla*. Na estrutura anatômica dos diferentes clones, não foi verificada diferença marcante que possa explicar a tolerância diferencial encontrada.

ABSTRACT

TUFFI SANTOS, Leonardo David, M.S., Universidade Federal de Viçosa, July 2004.

Effect of glyphosate on eucalypt growth and morphoanatomy. Advisor: Francisco Affonso Ferreira. Committee members: Renata Maria Strozi Alves Meira and Nairam Félix de Barros.

Eucalypt is the most used forest essence in reforestation programs in Brazil, with an important social and economical role. To establish eucalypt crops in the field, glyphosate and knowledge on the real effects of this herbicide on the crop and its agrosystem are of great importance. Three experiments were therefore carried out to evaluate: leaf growth and morphoanatomy of eucalypt plants subjected to simulated glyphosate drift under subdoses (0, 3, 6, 12, and 24% of a rate of 1440 g ha⁻¹); root exudation of glyphosate by *Brachiaria decumbens* and the effects on eucalypt plants cultivated in soil and in nutritive solution; the microbial respiration under different managements with the herbicide glyphosate; and the tolerance of different eucalypt clones to glyphosate drift. The injuries caused by the drift of the glyphosate were proportional to the increase of the subdoses, expressed by wilting, chlorosis and eventually necrosis, curling up of the leaves and death of the shoot apical. The anatomical structure of the plants treated with the highest subdoses presented necrotic

areas, hyperplasia of the chlorophyllous parenchyma and epidermis cells, cell proliferation, accumulation of phenolic compounds, and variations in thickness and area of leaf tissues. In the experiments set up to study the glyphosate exudation, there were no toxicity symptoms in the eucalypt plants cultivated in hydroponic system and in the soil. No exudation of the herbicide by brachiaria plants was verified by the applied methodology. However, the use of glyphosate in the brachiaria management stimulated the microbial activity, mainly in sandy soil. The eucalypt clones differed in tolerance to glyphosate: *E. grandis* was more sensitive to herbicide than *E. urograndis* and *E. urophylla*. No marked difference that would explain the observed differential tolerance was found in the anatomical structure of the different clones.

1. INTRODUÇÃO

O setor florestal começou a se expandir significativamente a partir dos incentivos fiscais, nas décadas de 70 e 80, que proporcionaram intensos plantios de florestais, cujo objetivo, a priori, era promover redução do desmatamento (Rezende et al., 1996) e criar uma base florestal para o uso industrial. Apesar da extensa área plantada como resultado dos subsídios fiscais, a produtividade foi relativamente baixa em grande parte das situações. Segundo Reis e Reis (1993), ocorreram vários problemas de natureza operacional, como: insuficiência de informação científica na área florestal, erros no planejamento do uso da terra, erro na escolha da espécie ou da procedência, uso de técnicas inadequadas na implantação e manejo, entre outros. Ao decorrer do tempo, com o aperfeiçoamento científico e tecnológico, a produtividade média passou de cerca de 10 m^3 para $30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ (SBS, 2004).

O Brasil vem se tornando grande exportador de produtos florestais, o que se deve à sua grande competitividade neste setor (Silva et al., 1997) em decorrência do melhoramento genético dos materiais cultivados (Ferreira e Santos, 1997), tecnificação da colheita e transporte (Souza et al., 1999), avanço das pesquisas

ligadas ao setor (Stape, 1999), busca de certificação florestal (Lélis, 1999; Nardelli et al., 2000; Suiter Filho, 2001) e do aperfeiçoamento de práticas silviculturais.

O eucalipto é a essência florestal mais utilizada nos programas de reflorestamento no Brasil, em razão de suas características de rápido crescimento, boa adaptação às condições edafoclimáticas existentes no país e multiplicidade de uso industrial. Segundo a Sociedade Brasileira de Silvicultura (2004), o eucalipto é responsável por gerar mais de dois milhões de empregos diretos e indiretos e contribuir com, aproximadamente, 4% do PIB nacional.

Apesar de ser o *Eucalyptus* um gênero que possui espécies de rápido crescimento e de apresentar certa competitividade quanto a seu estabelecimento no campo, isso não o isenta da interferência das plantas daninhas, que tem como consequência o decréscimo quantitativo e qualitativo da sua produção, o que coloca o manejo de plantas daninhas entre as práticas mais importantes no reflorestamento.

Em florestas de eucalipto, a interferência por plantas daninhas deve-se principalmente à competição por recursos do meio, como espaço, luz, nutrientes e água, sendo mais expressiva no primeiro ano de instalação da cultura (Pitelli e Marchi, 1991; Toledo, 1998). Entre outros problemas, pode-se citar a presença de espécies trepadeiras, que prejudicam a qualidade e o desenvolvimento da madeira. Entre as espécies daninhas consideradas problemáticas nos plantios comerciais de *Eucalyptus* spp, as da família Poaceae, representadas por importantes forrageiras como a *Brachiaria decumbens* Stapf e *Panicum maximum* Jacq, se destacam, devido a sua agressividade e a crescente exploração de antigas pastagens pelas empresas de reflorestamento (Toledo, 1996).

Segundo Toledo et al. (2003), o manejo das plantas daninhas em reflorestamentos é baseado praticamente em métodos químicos e mecânicos, isolados ou combinados. No caso das empresas florestais, onde as áreas cultivadas são geralmente extensas, não só a escassez de mão-de-obra, mas a necessidade de atingir elevados índices de produtividade, dentro de padrões econômicos aceitáveis,

tem levado ao aumento do uso da capina química, como alternativa para a diminuição dos custos de produção (Ribeiro et al, 1988).

Entre os herbicidas usados na cultura do eucalipto, o glyphosate se destaca por exercer efetivo controle sobre um grande número de espécies daninhas. É um produto sistêmico, não seletivo e altamente solúvel em água. Seu mecanismo de ação baseia-se na interrupção da rota do ácido shikímico, responsável pela produção dos aminoácidos aromáticos: fenilalanina, tirosina e triptofano, essenciais para a síntese protéica e divisão celular em regiões meristemáticas da planta (Cole et al., 1983; Foley et al., 1983; Hess, 1994). Uma das vantagens deste herbicida é sua baixa toxicidade a mamíferos e à vida aquática, sendo um produto rapidamente inativado no solo (Rodrigues e Almeida, 1998). Os herbicidas à base de glyphosate têm sido utilizados tanto no preparo da área para o plantio quanto na manutenção nos primeiros anos de implantação do eucalipto.

Apesar das várias características favoráveis do glyphosate, esta molécula pode causar intoxicação às plantas “não alvo”, seja pela deriva acidental e ou pela exsudação radicular de sua molécula por plantas tratadas (Rodrigues et al., 1982).

Segundo Hemphill e Montgomery (1981), a deriva é tida como sério problema em muitas áreas. Assim, o herbicida deve ser aplicado de modo a atingir efetivamente a planta daninha a ser controlada, evitando a deriva, que além de reduzir a eficiência da aplicação (Gelmini, 1988), coloca em risco culturas vizinhas susceptíveis. No caso da aplicação dirigida com produtos não seletivos, como aqueles a base do glyphosate, a própria cultura é colocada em risco.

Os efeitos da deriva de formulações herbicidas estão diretamente ligados à quantidade do princípio ativo que chega às culturas e que, por sua vez, está diretamente ligada às doses recomendadas para o controle das plantas daninhas. Segundo Rodrigues e Almeida (1998), há uma grande variação nas doses recomendadas do glyphosate para o controle de plantas daninhas em eucalipto, sendo usadas doses de 360 a 2160 g de e.a.ha⁻¹ para o controle de espécies anuais e perenes.

Existe uma preocupação quanto às doses utilizadas e ao destino final da molécula, pois o glyphosate pode não ficar restrito às plantas daninhas, sendo metabolizado a compostos não-tóxicos e, ou exsudado no solo e inativado (Rodrigues e Almeida, 1998). Linder et al. (1964) verificaram que algumas plantas são capazes de exsudar no solo substâncias aplicadas via caule ou folhas. Segundo Smith (1976), a exsudação de compostos pelas raízes das plantas pode alterar o “pool” de nutrientes e outros compostos no solo, podendo representar significativas mudanças no sistema; além disso, a liberação dessas substâncias pode ser fator inibitório para o desenvolvimento de plantas vizinhas (Linder et al., 1957).

Alguns herbicidas também são capazes de ser exsudados pelo sistema radicular de plantas daninhas e de culturas agrícolas, como o nicosulfuron, que aplicado sobre o capim-massambará (*Sorghum halepense*), pode ser exsudado integralmente e ou na forma de metabólitos tóxicos pelo sistema radicular da planta daninha; estes exsudados podem ser absorvidos pela cultura do milho ou podem modificar a composição aleloquímica desta planta, acentuando a toxicidade sobre a cultura (Gubbiga et al., 1996). Coupland e Caseley (1979) verificaram a exsudação radicular de glyphosate por *Agropyron repens* após acúmulo do herbicida em raízes e rizomas da planta. Acumulação em estruturas da planta, com posterior exsudação, foi constatada por Fites et al. (1964) em plantas de quinquilho (*Datura stramonium*) após seis semanas da aplicação foliar de 2,4-D. Foy e Hurtt (1967) examinaram 31 compostos que podem ser excretados por plantas de feijão, quando da aplicação foliar, estando entre eles: picloram, dicamba e o ácido 2,3,6-triclorobenzóico, os quais podem causar toxicidade em plantas vizinhas à cultura. Rodrigues et al. (1982), trabalhando com exsudação do ¹⁴C-glyphosate, relata que plantas de trigo exsudaram o herbicida pelas raízes e que plantas de milho absorveram ¹⁴C-glyphosate do solo, sendo a molécula herbicida translocada para todas as partes da planta de milho. Segundo Silva et al.(2004), o herbicida imazapyr aplicado sobre plantas de *E. grandis*, foi exsudado e, ou, seus metabólitos, em concentrações capazes de afetar o crescimento de plantas da mesma espécie.

O glyphosate em contato com o solo pode ser adsorvido por seus colóides, biodegradado ou absorvido pelas raízes das plantas, sendo estes fatores altamente dependentes de fatores climáticos, edáficos e bióticos do solo. Uma vez em contato com o eucalipto, seja pela deriva ou pela exsudação radicular de plantas daninhas vizinhas, o glyphosate pode causar danos diretos e indiretos no desenvolvimento da espécie florestal. Segundo Rizzardi et al.(2003), alguns dos efeitos dos herbicidas na planta podem interferir nas reações ao ataque de patógenos; essa interferência pode ser na severidade da doença ou na indução à síntese de fitoalexinas. De acordo com Lévesque e Rahe (1992), subdoses de glyphosate podem influenciar na redução do acúmulo tanto de fitoalexinas quanto de lignina, que são consideradas barreiras físico-fisiológicas da planta, levando a uma maior severidade das doenças. Os efeitos adversos, decorrentes da aplicação de herbicidas, podem ocorrer na comunidade biótica do solo, o que pode prejudicar microrganismos benéficos (Beigel et al., 1999; Paula Junior e Zambolim, 1994) ou mesmo ocasionar desequilíbrios nos processos bioquímicos, tais como decomposição e ciclagem de nutrientes, alterando o equilíbrio dos ecossistemas florestais.

Em razão da importância do uso do glyphosate em cultivos comerciais de eucalipto, o presente trabalho teve, como objetivo geral, estudar o efeito da deriva simulada do glyphosate em *Eucalyptus* spp., bem como avaliar a exsudação do glyphosate por *Brachiaria decumbens* Stapf, tratadas com este herbicida e seus efeitos sobre o *Eucalyptus* spp. e a microbiota do solo.

LITERATURA CITADA

BEIGEL C.; CHARNAY, M.P.; BARRIUSO, E. Degradation of formulated and informulated triticonazole fungicide in soil: effect of application rate. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p.525-534, 1999.

COLE, D.J., CASELEY, J.C., DODGE, A.D. Influence of glyphosate on selected plant process. **Weed Research**, Oxford, v.23, p. 173-183, 1983.

COUPLAND, D. e CASELEY, J.C. Presence of ^{14}C activity in root exudates and guttation fluid from *Agropyron repens* treated with ^{14}C -labelled glyphosate. **New Phytologist**, v.83, n.1, p.17-22, 1979.

FERREIRA, M. e SANTOS, P.E.T. Melhoramento genético florestal dos *Eucalyptus* no Brasil: breve histórico e perspectivas. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPT, Salvador, 1997. **Proceedings...** Colombo: EMBRAPA/CNPQ, 1997. 4v. v.1, p.14-34.

FITES, R.C.; SLIFE, F.W.; HANSON, J.B. Translocation and metabolism of radioactive 2,4-D in jimsonweed. **Weeds**, v.12, n.3, p.180-183, 1964.

FOLEY, M.E., NAFZIGER, E.D., SLIFE, F.W., WAX, L.M. Effect of glyphosate on protein and nucleic acid synthesis and ATP levels in common cocklebur (*Xanthium pensylvanicum*) root tissue. **Weed Science**, Champaign, v. 31, p. 76-80, 1983.

FOY, C.L. e HURTT, W. Further studies on root exudation of exogenous growth regulators in *Phaseolus vulgaris* (L.). **Weed Society American**, p.40, 1967. (Abstract).

GELMINI, G.A. **Herbicidas**: indicações básicas. Campinas, Fundação Cargil, 1998. 334p.

GUBBIGA, N.G.; WORSHAM, A.D.; CORBIN, F.T. Root/rhizome exudation of nicosulfuron from treated johnsongrass (*Sorghum halepense*) and possible implications for corn (*Zea mays*). **Weed Science**, v.44, n.3, p.455-460, 1996.

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

HESS, F.D. Mechanism of action of inhibitors of amino acid biosynthesis. In: **Herbicide action**: an intensive course on the activity, selectivity, behavior and fate of herbicides in plants and soil. West Lafayette, Indiana: Purdue University, 1994. p. 344-365.

LÉLIS, V.G.S. Certificação florestal. **Folha Florestal**, Viçosa, MG, n.92, p.23-24,1999.

- LÉVESQUE, C.A.; RAHE, J.E. Herbicide interaction with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. **Annual Review Phytopathology**, v.30, p.579-602, 1992.
- LINDER, P.J.; CRAIG JR, J.C.; WALTON, T.R. Movement of ¹⁴C-tagged alpha-methoxyphenylacetic acid out of roots. **Plant Physiology**, v.32, n.6, p.572- 575, 1957.
- LINDER, P.J.; MITCHELL, J.W.; FREEMAN, G.D. Persistence and translocation of exogenous regulating compounds that exude from roots. **Journal Agricultural Food Chemical**, v.12, n.5, p.437-438, 1964.
- NARDELLI, A.M.B.; NASCIMENTO, A.R.; GRIFFITH, J.J. et al. Certificação florestal: uma realidade também no Brasil. **Folha Florestal**, Viçosa, MG, v.96, p.7-9, 2000.
- PAULA JUNIOR, T.Z.; ZAMBOLIM, L. Efeito de fungicidas e de herbicidas sobre a micorrização de *Eucalyptus grandis* por *Glomus etunicatum*. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, n.2, p.173-177, 1994.
- PITELLI, R.A.; MARCHI, S.R. Interferência das plantas invasoras nas áreas de reflorestamento. In: SEMINÁRIO TÉCNICO SOBRE PLANTAS DANINHAS E O USO DE HERBICIDAS EM REFLORESTAMENTOS, 3. Belo Horizonte, 1991. **Anais**. Belo Horizonte; SIF, 1991, p. 01-11.
- REIS, M.G.F. e REIS, G.G. A contribuição da pesquisa florestal para a redução de impactos ambientais dos reflorestamentos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA FLORESTAL, 1, 1993, Belo Horizonte. **Anais...** Viçosa: SIF, 1993. p.119-135.
- REZENDE, J.L.P.; LIMA JR, V.B.; SILVA, M.L. O setor florestal brasileiro. **Informe Agropecuário**, v.18, n.185, p.7-14, 1996.
- RIBEIRO, G.T. Uso de herbicidas pré-emergentes em *Eucalyptus* sp. na região do cerrado. In: Seminário Técnico Sobre Plantas Daninhas e o Uso de Herbicidas em Reflorestamento, 1988, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBS/ABRACAVE/SIF, 1988. p. ir.
- RIZZARD, M.A.; FLECK, N.G.; AGOSTINETO, D.; BALBINOT JR, A.A. Ação dos herbicidas sobre o mecanismo de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p. 957-965, 2003.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 4. RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. (Eds): Londrina, 1998. 331p.
- RODRIGUES, J.J.V.; WORSHAM, A.D.; CORBIN, F.T. Exudation of glyphosate from wheat (*Triticum aestivum*) plants and its effects on interplanted corn (*Zea mays*) and soybeans (*Glycine max*). **Weed Science**, v. 30, p. 316-320, 1982.

SBS (Sociedade Brasileira de Silvicultura). **Dados estatísticos sobre a produção nacional de eucalipto**. Sociedade Brasileira de Silvicultura. Acesso em: 25 maio de 2004. <http://www.sbs.org.br/secure/estatisticas.htm>>.

SILVA, M.L.; VALVERDE, S.R.; PASSOS, C.A.M. et al. Viabilidade econômica do reflorestamento do eucalipto consorciado com a cultura do feijão: um estudo de caso. **Revista Árvore**, v.21, n.4, p.527-35, 1997.

SILVA, C.M.M.; FERREIRA, L.R.; FERREIRA, F.A.; MIRANDA, G.V. Root exudation of imazapyr by eucalypt cultivated in soil. **Planta Daninha**, v. 22, n.1, p.109-116, 2004.

SMITH, W.H. Character and significance of Forest tree root exudates. **Ecology**, v.57, n.2, p.324-331, 1976.

SOUZA, A.P.; MACHADO, C.C.; MINETTI, L.J. et al. Pesquisa na área de colheita e transporte florestal. *In*: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA FLORESTAL, 3, 1999, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIF, p.43-89, 1999.

STAPE, J.L. O papel da pesquisa florestal na sustentabilidade e estabilidade de sistemas silviculturais “momentaneamente” otimizados. *In*: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA FLORESTAL, 3, 1999, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIF, p.1-18, 1999.

SUITER FILHO, W. Comprovadamente correto: o avanço da certificação florestal conforme o FSC incentiva o manejo responsável na extração florestal. **Agroanalysis**, v.21, n.1, p.17-20, 2001.

TOLEDO, R.E.B.; ALVES, P.L.C.A.; VALLE, C.F.; ALVARENGA, S.F. Comparação dos custos de quatro métodos de manejo de *Brachiaria decumbens* Stapf em área de implantação de *Eucalyptus grandis* W.Hill Ex Malden. N. **Revista Árvore**, v.20, n.3, p.319-330, 1996.

TOLEDO, R.E.B. Efeitos da faixa de controle e dos períodos de controle e de convivência de *Brachiaria decumbens* Stapf no desenvolvimento inicial de plantas de *Eucalyptus urograndis*. (Tese de Mestrado), Piracicaba, ESALQ. 77p., 1998.

TOLEDO, R.E.B.; VICTORIA FILHO, R.; ALVES, P.L.C.A.; PITELLI, R.A.; LOPES, M.A.F. Faixas de controle de plantas daninhas e seus reflexos no crescimento de plantas de eucalipto. **Scientia Forestalis**, v.64, p.78-92, 2003.

2. CRESCIMENTO E MORFOANATOMIA FOLIAR DE EUCALIPTO SOB EFEITO DE DERIVA DO GLYPHOSATE

Leaf growth and morphoanatomy of eucalypt under the effect of glyphosate drift

2.1 RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da deriva simulada do glyphosate no crescimento e na morfoanatomia foliar do clone 15-CENIBRA (*Eucalyptus grandis* X *E. urophylla*). Utilizou-se delineamento em blocos casualizados com quatro repetições, sendo a parcela experimental constituída de uma planta cultivada em vaso com 10 litros de solo. Os tratamentos foram 0, 43.2, 86.4, 172.8 e 345.6 g ha⁻¹ de e.a. de glyphosate, aplicados aos 40 dias após o plantio das mudas, com pulverizador de precisão, de modo a não atingir o terço superior das plantas. Foram descritas as alterações morfológicas na parte aérea das plantas. Aos 7, 15 e 30 dias após a aplicação (DAA), avaliou-se a porcentagem de intoxicação em relação à testemunha. Aos 7 e 15 DAA, folhas coletadas no terceiro nó do primeiro ramo basal das plantas foram fixadas em FAA₅₀ e estocadas em

etanol 70%. Cortes transversais da região mediana foram corados com azul de astra e fucsina básica e montados em lâminas permanentes. No laminário preparado foram mensuradas as espessuras do limbo, do parênquima paliçádico (PPA) e lacunoso (PLA), da epiderme das faces adaxial (EAD) e abaxial (EAB), e a proporção percentual da área de cada tecido, utilizando-se o software “Image-Pro Plus”. A partir do 5º DAA, observou-se murcha, clorose e enrolamento das folhas nos ápices das plantas pulverizadas com 172.8 e 345.6 g ha⁻¹ de glyphosate. As plantas submetidas a 345.6 g ha⁻¹ de glyphosate alcançaram 58,75% de intoxicação aos 30 DAA, apresentando brotações anormais, o que não foi verificado nas concentrações menores. Aos 7 e 15 DAA, com 172.8 e 345.6 g ha⁻¹ de glyphosate, observaram-se áreas necrosadas, hiperplasia das células do parênquima clorofiliano e da epiderme. Em resposta à injúria, verificou-se a proliferação celular, formando um tecido de cicatrização homogêneo, além de acúmulo de compostos fenólicos nas áreas afetadas. Aos 7 DAA, verificou-se aumento na espessura do limbo e do PPA, submetidos à 345.6 g ha⁻¹ de glyphosate, enquanto que o PLA e a EAD demonstraram acréscimo na espessura somente aos 15 DAA, sob a mesma dosagem. As doses de 172.8 e 345.6 g ha⁻¹ de glyphosate promoveram aumento na espessura do limbo e do PPA aos 15 DAA. O aumento na espessura do limbo é resultante da expansão das células do parênquima paliçádico, o que pode estar relacionado a uma resposta das plantas à perda de área foliar específica, bem como na síntese de compostos secundários, como celulasas, provocados pela ação do glyphosate.

Palavras-chave: *Eucalyptus* spp., anatomia, deriva simulada

2.2 ABSTRACT: Objective of this study was to evaluate the effects of simulated drift of glyphosate on leaf growth and morphoanatomy of the clone 15-CENIBRA (*Eucalyptus grandis* X *E. urophylla*). The randomized block design was used with four replications. Every experimental plot was represented by one plant cultivated in a 10 liter pot with soil. The treatments were 0, 3, 6, 12, and 24% of 1.440 g.ha⁻¹ a.e glyphosate, applied 40 days after seedling planting with a precision sprayer, so

that the upper third of the plants was unaffected. The morphological alterations in the plant shoot were described. Seven, 15, and 30 days after the application (DAA), the percentage of intoxication in relation to the control was evaluated. Seven and 15 DAA, leaves were collected from the third node of the first basal branch of the plants, fixed in FAA₅₀ and stored in 70% ethanol. Cross section of the intermediate region were stained with astra blue and basic fuchsin and installed on permanent slides to measure: blade thickness, of the palisade (PPA) and spongy parenchyma (PLA), of the epidermis of the adaxial (EAD) and abaxial sides (EAB), and the proportion in percent of each tissue area using software "Image-Pro Plus". From the 5th DAA, leaf wilt, chlorosis and curling were observed in the plant apices sprayed with 12 and 24% of the rate. The plants subjected to 24% of the rate attained 58.75% toxicity 30 DAA, presenting abnormal branch, which was not observed under lower concentrations. Twelve and 24% of the rate caused necrotic area, hyperplasia of the chlorophyllous parenchyma and epidermis cells, seven and 15 DAA. In response to the injuries, cell proliferation forming a homogenous scar tissue, besides the accumulation of phenolic compounds in the affected areas was verified. Seven DAA, the blade thickness and of the PPA subjected to the 24% subdose had increased, while PLA and EAD demonstrated increase in the thickness only 15 DAA under the same rate. Fifteen DAA, the subdoses of 12 and 24% led to an increase in the blade thickness and the PPA. The increase in the blade thickness is result of the cell expansion of the palisade parenchyma, which may be related to a specific response of the plants to the leaf area loss, as well as to the synthesis of secondary compounds, such as cellulases, provoked by the action of the glyphosate.

Key words: *Eucalyptus* spp., anatomy, simulated drift

2.3 INTRODUÇÃO

O eucalipto é a essência florestal mais utilizada nos programas de reflorestamento no Brasil, em razão de suas características de rápido crescimento e boa adaptação às condições edafoclimáticas existentes no país. Segundo a Sociedade Brasileira de Silvicultura (2004), o eucalipto é responsável por gerar mais de dois milhões de empregos diretos e indiretos e contribuir com aproximadamente 4% do PIB nacional.

Apesar do gênero *Eucalyptus* apresentar espécies de rápido crescimento e de boa competitividade quanto a seu estabelecimento no campo, isso não o isenta da interferência das plantas daninhas, que tem como consequência o decréscimo quantitativo e qualitativo da sua produção. Tal fato coloca as plantas daninhas como um grande problema para implantação e manutenção de florestas de eucalipto, o que tem fomentado o interesse de vários pesquisadores nas últimas décadas.

Segundo Toledo et al. (2003), o manejo das plantas daninhas em reflorestamentos é baseado praticamente em métodos químicos e mecânicos, isolados ou combinados. No caso das empresas florestais, que geralmente cultivam extensas áreas, não só a escassez de mão-de-obra, mas a necessidade de atingir elevados índices de produtividade, dentro de padrões econômicos aceitáveis, tem levado ao aumento do uso da capina química como alternativa para redução dos custos de produção (Ribeiro, 1988). O uso de herbicidas como ferramenta para o manejo de plantas daninhas, deve ser sempre aliado à preocupação com o risco de ocorrência de danos a organismos não alvos e à saúde humana. Logo, na escolha do produto, deve-se levar em conta os benefícios do seu uso, os fatores econômicos, a forma de aplicação e o possível risco da deriva (Gelmini, 1988).

O glyphosate é o herbicida mais usado no controle de plantas daninhas na cultura do eucalipto. Seu uso tem se destacado nos cultivos comerciais por exercer efetivo controle de grande número de espécies daninhas mono e dicotiledôneas, perenes e anuais, sem ser ambientalmente agressivo, sendo considerado o herbicida

mais conhecido no mundo (Malik et al., 1989). Herbicidas à base de glyphosate têm sido utilizados tanto no preparo da área quanto no plantio, replantio e manutenção de reflorestamentos de eucalipto.

Apesar das várias características favoráveis do glyphosate, entre elas a pressão de vapor praticamente nula do sal de isopropilamina (Ahrens, 1994), o maior problema do uso deste herbicida em eucalipto é a deriva accidental. A ocorrência de deriva compromete o controle das plantas daninhas e leva ao aumento compensatório da dosagem, elevando os gastos e causando prejuízos às espécies não-alvo e ao meio ambiente (Hemphill Júnior e Montgomery, 1981). Em reflorestamentos de eucalipto, é comum o uso de aplicações dirigidas com glyphosate, visando o controle de plantas daninhas nas entrelinhas de cultivo. Por outro lado, em talhões destinados à implantação ou à reforma do eucaliptal é freqüente o uso da dessecação com glyphosate por meio de aeronaves. Bode (1984) relata deposição de produtos devido à deriva entre 5 e 9% da dose aplicada com equipamentos terrestres, sob condições climáticas ideais para aplicação. Este risco é maior em pulverizações aéreas que produzem faixas de pulverização pouco precisas, devido ao menor volume de calda aplicada e maior altura em relação ao alvo (Yates, 1978).

O efeito da deriva de formulações herbicidas está diretamente ligado à quantidade do princípio ativo que chega às culturas, que por sua vez está diretamente associado às doses recomendadas para o controle das plantas daninhas. Segundo Rodrigues e Almeida (1998), as doses recomendadas do glyphosate para o eucalipto variam muito, sendo usadas de 360 a 2160 g e.a.ha⁻¹ para o controle de espécies anuais e perenes.

Mudas ou brotações de plantas de eucalipto, em áreas onde o glyphosate tem sido utilizado no controle de plantas daninhas, têm apresentado sintomas de intoxicação na parte aérea. A iminente possibilidade da ocorrência de injúrias, devido à deposição de herbicidas provindos da deriva, tem levado a várias pesquisas, envolvendo o conceito de “deriva simulada”. Quanto à determinação dos

tratamentos a serem utilizados em estudos de deriva simulada, há uma grande variação nas subdoses adotadas pelos autores para os diversos herbicidas e culturas. De acordo com Hemphill Júnior e Montgomery (1981), os efeitos de doses letais de herbicidas sobre as folhas das plantas são conhecidos, o contrário sendo observado sobre os efeitos da exposição a doses não-letais, devido à deriva. Apesar da importância do glyphosate para a cultura do eucalipto, na literatura não existem trabalhos que visem elucidar os efeitos diretos e indiretos da molécula herbicida nesta espécie florestal.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito da deriva simulada de glyphosate, por meio de subdoses, no crescimento e na morfoanatomia foliar de plantas do clone 15-CENIBRA, híbrido *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake x *E. grandis* W. Hill ex Maiden.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, entre os meses de outubro de 2003 a janeiro de 2004, com temperaturas médias máximas e mínimas de 26, 63 e 14,73°C respectivamente, sendo a irrigação dos vasos por micro-aspersão.

Mudas padronizadas do clone 15- CENIBRA, híbrido *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*, com aproximadamente 30 cm de altura e 3 meses de idade, foram plantadas em vasos com 10 L de solo argiloso, adubados com 216,6 g de N-P-K (6-30-6) e 12 g de calcário, cuja proporção Ca/Mg era de 4:1 equivalentes. A adubação de cobertura foi feita com 12 g/vaso de N-P-K (20-5-20), parcelado em duas vezes. Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados com quatro repetições sendo cada vaso considerado como parcela experimental.

Os tratamentos consistiram das subdoses 0; 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, correspondentes a 0, 3, 6, 12 e 24% da dose de 1440 g ha⁻¹ de

glyphosate na forma do sal de isopropilamina. Os tratamentos foram aplicados 40 dias após o plantio das mudas, quando as plantas de eucalipto apresentavam cerca de 60 cm de altura, de modo a não atingir o terço superior das plantas (Figura 1). Para aplicação, utilizou-se pulverizador costal de precisão, munido de barra com dois bicos tipo leque TT110.02, espaçados de 0,5 m, operando a 250 kPa de pressão, volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹, umidade relativa do ar de 80% e 25°C de temperatura.

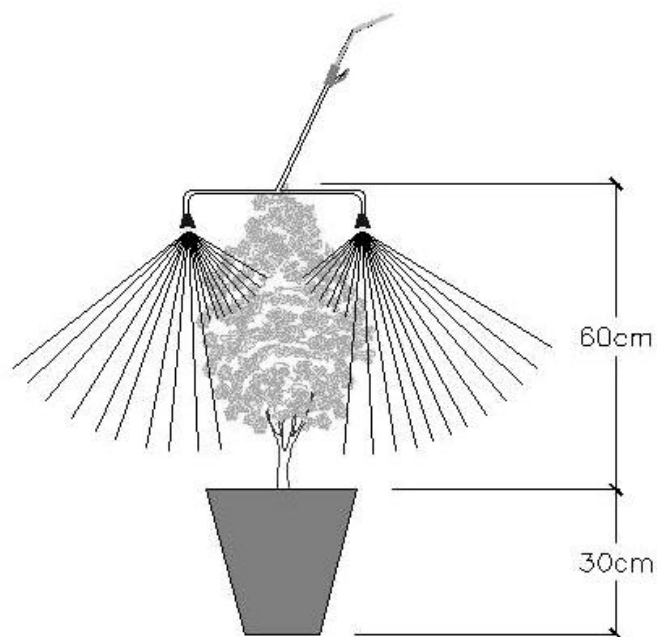


Figura 1: Esquema da pulverização do glyphosate simulando a deriva nas plantas de eucalipto, de forma a não atingir o terço superior das plantas.

Após a aplicação do herbicida, foram observadas, periodicamente, alterações morfológicas na parte aérea das plantas, visíveis a vista desarmada, e aos 7, 15 e 30 dias após a aplicação (DAA) determinou-se a porcentagem de intoxicação em relação à testemunha, onde 0% corresponde à ausência de sintomas visíveis e 100% à morte das plantas (Frans, 1972).

Aos 7 e 15 DAA, foram coletadas folhas do terceiro nó do primeiro ramo basal das plantas de eucalipto. O material coletado foi fixado em FAA₅₀, por 24 horas, dentro de frascos colocados em dessecador submetido a vácuo e, posteriormente, estocado em etanol 70% (Johansen, 1940). Do material estocado, retiraram-se amostras da porção mediana das folhas, que foram incluídas e emblocadas em parafina, utilizando-se álcool butílico terciário para a desidratação (Johansen, 1940). Dos blocos foram obtidos, em micrótomo rotativo de avanço automático (LEICA RM2155), cortes transversais com 12 μ m de espessura, que posteriormente foram corados com azul de astra e fucsina básica (Gerlach, 1984) para montagem em lâminas com bálsamo do Canadá. Para observação da epiderme, amostras das folhas foram diafanizadas com hipoclorito de sódio (Sass, 1951) e coradas com fucsina básica.

No laminário histológico preparado, foram observados os efeitos do glyphosate sobre a estrutura anatômica da folha. Nos cortes transversais, foram mensuradas as espessuras do limbo, do parênquima paliçádico (PPA), do parênquima lacunoso (PLA) e da epiderme das faces adaxial (EAD) e abaxial (EAB), assim como a área dos referidos tecidos em porcentagem da área total da seção transversal da folha. Os dados de espessura e área foram obtidos com auxílio do software “Image-Pro Plus”, perfazendo um total de 27 e 9 observações/repetição para espessura e área, respectivamente, para cada estrutura avaliada.

As observações e ilustrações foram obtidas em fotomicroscópio (Olympus AX 70) com sistema U – Photo, pertencente ao Laboratório de Anatomia do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa.

Aos 50 DAA, obtiveram-se dados sobre a altura das plantas (região entre o colo e o ápice das plantas) e o diâmetro do caule a 1 cm do solo. A parte aérea das plantas foi colhida e acondicionada em sacos de papel, mantidos em estufa com circulação de ar ($65 \pm 3^{\circ}\text{C}$) até atingir peso constante para obtenção da biomassa seca.

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; os dados referentes à porcentagem de intoxicação foram transformados em arcoseno $(x + 0,05)/100$, sendo ajustadas equações de regressão.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do 5º dia após aplicação do glyphosate (DAA), observaram-se murcha, clorose e enrolamento das folhas dos ápices das plantas pulverizadas com calda contendo 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate (Figura 2A e 2C), e, em menor intensidade, com 86,4 g ha⁻¹. Tuffi Santos et al. (2004) relatam sintomas foliares semelhantes em espécies de plantas daninhas do gênero *Commelina*. A mudança na coloração da folha pode estar relacionada à degeneração dos cloroplastos verificada por Campbell et al. (1976) em plantas tratadas com este herbicida ou aos efeitos do herbicida sobre a inibição da formação de clorofila (Cole et al., 1983).

As porcentagens de intoxicação variaram entre as diferentes doses testadas ($p < 0,01$) aos 7, 15 e 30 DAA. A intoxicação nas plantas foi maior com o aumento das doses de glyphosate, sendo ajustadas curvas sigmóides com alto ajuste aos dados para as três épocas de avaliação (Figura 3).

Aos 15 DAA, as plantas de eucalipto que receberam a dose 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate apresentavam folhas coreáceas, deformadas, necroses bem desenvolvidas nos bordos das folhas e pontos necróticos pelo limbo foliar, que podem ser confundidos com sintomas semelhantes aos observados em plantas tratadas com herbicidas de contato (Figura 2D a 2F). As doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate provocaram a morte dos ápices das plantas aos 15 DAA, alcançando, respectivamente, 16,5% e 58,75% de intoxicação aos 30 DAA (Figura 3). Entretanto, apenas as plantas tratadas com a maior dose apresentaram brotações anormais, senescência foliar acentuada e sintomas semelhantes à deficiência por nutrientes. Dantas et al. (2001), trabalhando com glyphosate no controle da rebrota

de cepas em diferentes clones de eucalipto, relata o surgimento de brotações com sintomas de intoxicação e também o efeito do herbicida na parte aérea das plantas tratadas, que, segundo o autor, apresentavam folhas amarronzadas aos 14 DAA, semelhante ao impacto causado pelo calor do fogo, que deixa as plantas com aspecto de “sapecadas”.

Magalhães et al. (2001a), trabalhando com simulação de deriva do glyphosate na cultura de milho, relatam que os prejuízos são diretamente proporcionais ao aumento da subdose do herbicida; a partir de 8% da dose de 1440 g ha⁻¹ de glyphosate, as plantas tratadas apresentaram necroses na parte aérea e comprometimento na produtividade apresentando 53% de intoxicação com 12% da dose. Dados semelhantes foram obtidos para a cultura do sorgo, sob as mesmas condições experimentais (Magalhães et al., 2001b).

A altura e matéria seca das plantas variaram entre as diferentes doses testadas ($p < 0,01$), o que não foi verificado no diâmetro dos caules ($p > 0,05$). As médias referentes à altura, diâmetro e matéria seca das plantas e seus respectivos testes de médias encontram-se na Tabela 1.

Plantas submetidas a 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate apresentaram menor altura e matéria seca, enquanto as plantas dos demais tratamentos não diferiram entre si nestes parâmetros, não havendo variação quanto ao diâmetro dos caules (Tabela 1). A morte do ápice das plantas tratadas com a maior dose, juntamente com injúrias severas, presença de brotações não viáveis (anormais) e senescência das folhas, explicam a menor altura e matéria seca observadas nas plantas. Entretanto, plantas submetidas a 172,8 g ha⁻¹ de glyphosate obtiveram maior altura, apesar de não diferirem estatisticamente das plantas tratadas com as doses menores. Essa dose também provocou a morte do ápice das plantas aos 15 DAA; entretanto, suas injúrias foram menos expressivas, não levando a senescência foliar e possibilitando a formação de brotações normais que assumiram a dominância apical das plantas, que retomaram seu crescimento normal.

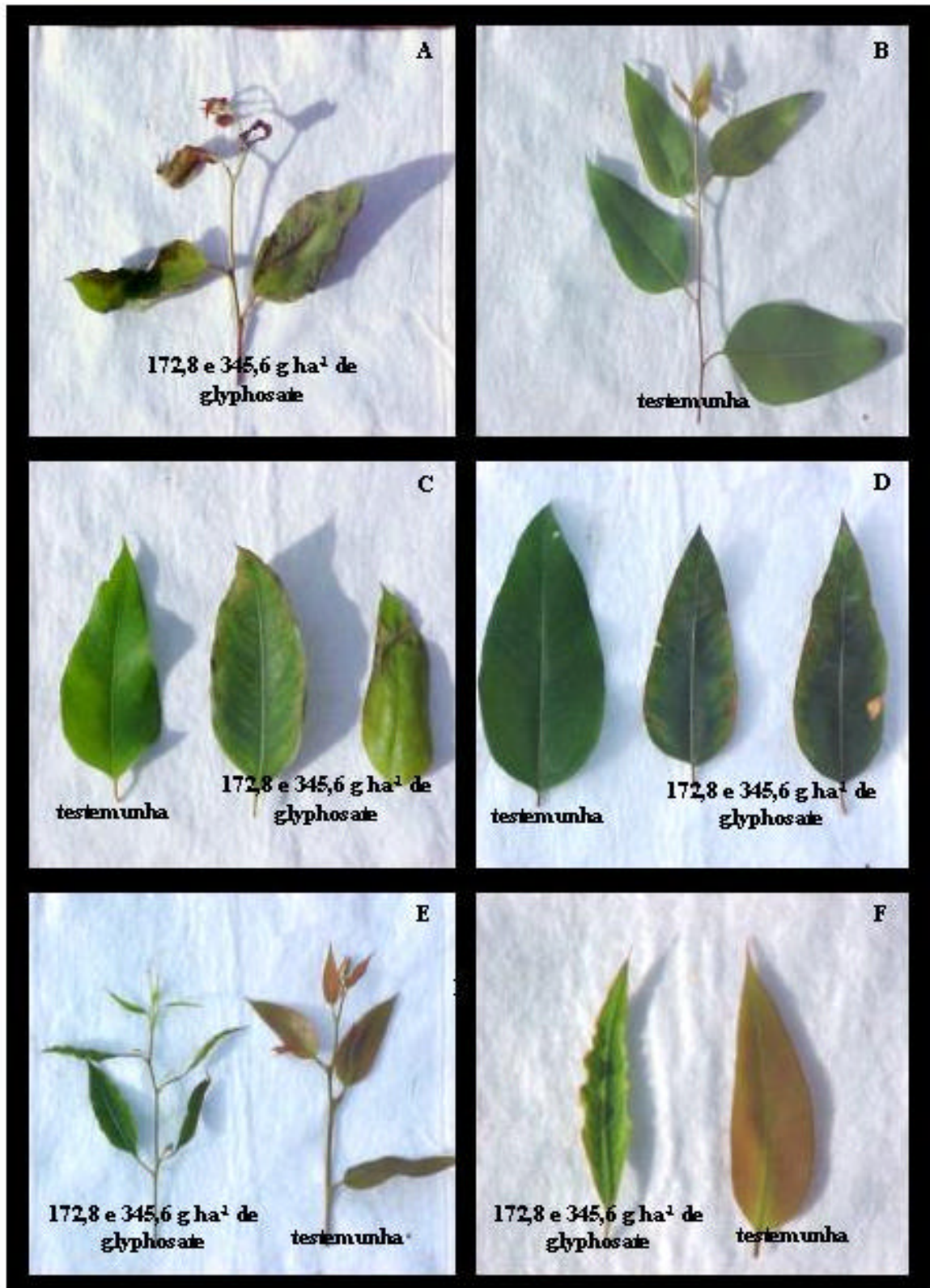


Figura 2: Aspecto de folhas e ramos de plantas de eucalipto submetidas à deriva simulada de glyphosate aos 7 dias após aplicação (DAA) do herbicida em A, B e C, e aos 15 DAA em D E e F.

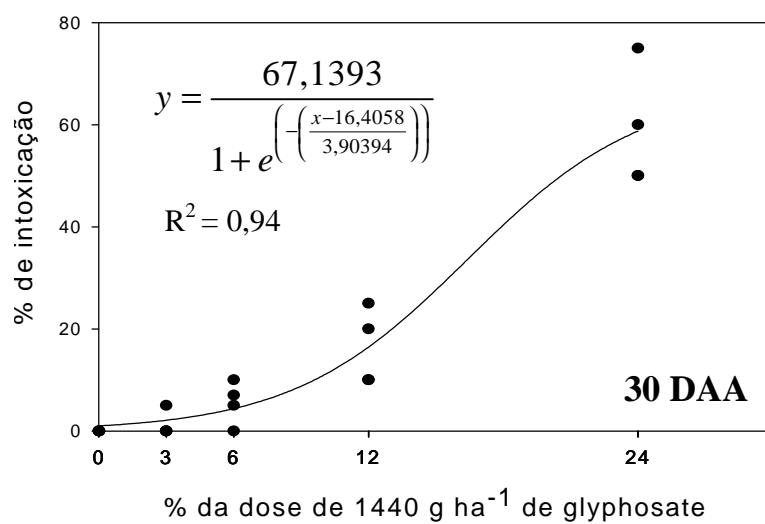
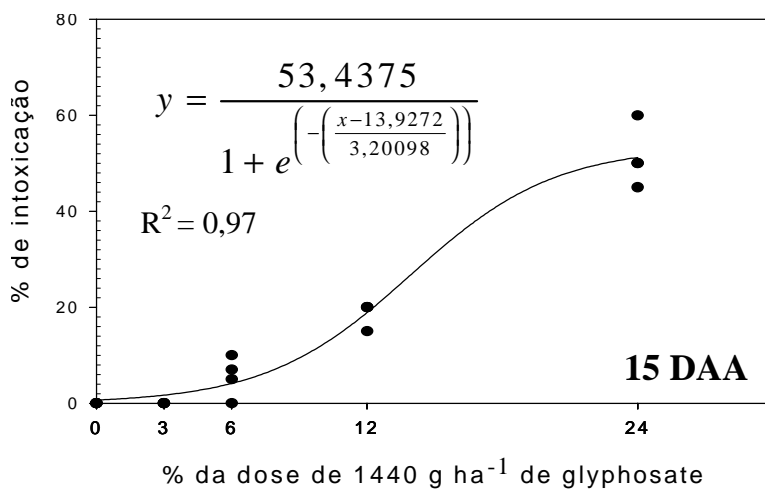
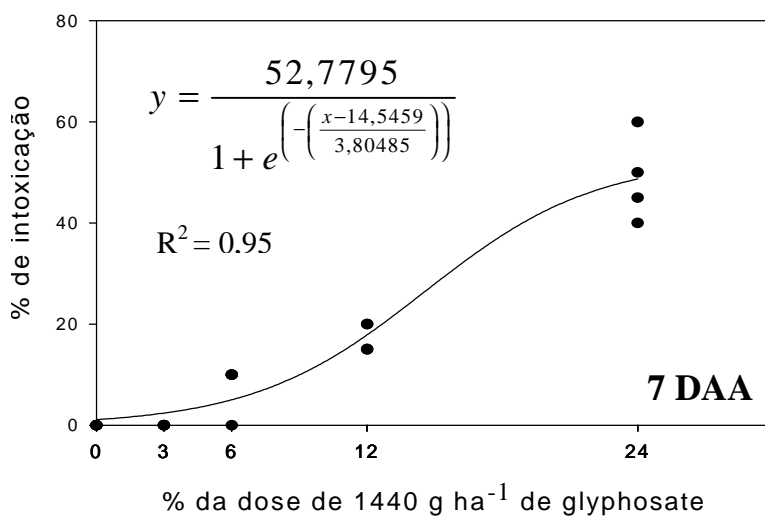


Figura 3: Porcentagem de intoxicação de plantas de eucalipto submetidas às doses de 0; 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, aos 7, 15 e 30 dias após aplicação (DAA).

Tabela 1: Valores médios (\pm desvio padrão) dos dados de crescimento de plantas de eucalipto submetidas às doses de 0; 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, aos 50 dias após aplicação

Doses (g ha ⁻¹)	Altura (cm)	Diâmetro (cm)	Matéria Seca (g)
Testemunha	118,00 a \pm 04,96	1,60 a \pm 0,14	154,82 a \pm 30,08
43.2	121,25 a \pm 18,20	1,59 a \pm 0,09	158,24 a \pm 53,94
86.4	118,50 a \pm 06,65	1,57 a \pm 0,11	169,97 a \pm 40,12
172.8	124,00 a \pm 14,21	1,52 a \pm 0,06	140,75 a \pm 09,55
345.6	98,02 b \pm 03,36	1,08 a \pm 0,08	70,12 b \pm 32,12
CV(%)	7,05	6,08	22,31

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No laminário histológico, foram observadas regiões necrosadas, com 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate aos 7 e 15 DAA. Nestas áreas, observou-se hiperplasia das células do parênquima clorofiliano e da epiderme, levando ao colapso destes tecidos (Figura 4E e 4F). Em resposta à injúria, verificou-se proliferação celular, formando um tecido de cicatrização homogêneo, isolando as áreas necrosadas dos tecidos não afetados, bem como maior intensidade de células coradas pela fucsina básica, provavelmente pelo acúmulo de compostos fenólicos, comuns no gênero *Eucalyptus* (Figura 4C, 4D, 4E e 5F). Nas plantas tratadas com doses acima de 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate, puderam ser observadas, com frequência, tanto nos cortes transversais (Figura 4B) como no material diafanizado (Figuras 5B a 5E), células da face adaxial da epiderme, mortas pela ação do herbicida.

Segundo Rizzardi (2003), o glyphosate pode interferir nas reações das plantas ao ataque de patógenos, já que subdoses do herbicida podem causar redução do acúmulo tanto de fitoalexinas quanto de lignina (Lévesque e Rahe, 1992), que são consideradas barreiras físico-fisiológicas da planta, levando a uma maior severidade

das doenças. A presença de células mortas na epiderme pode constituir uma via facilitadora da entrada de patógenos em plantas expostas à deriva, o que enfatiza os problemas da deriva do glyphosate como fator agravante no controle de doenças no eucalipto.

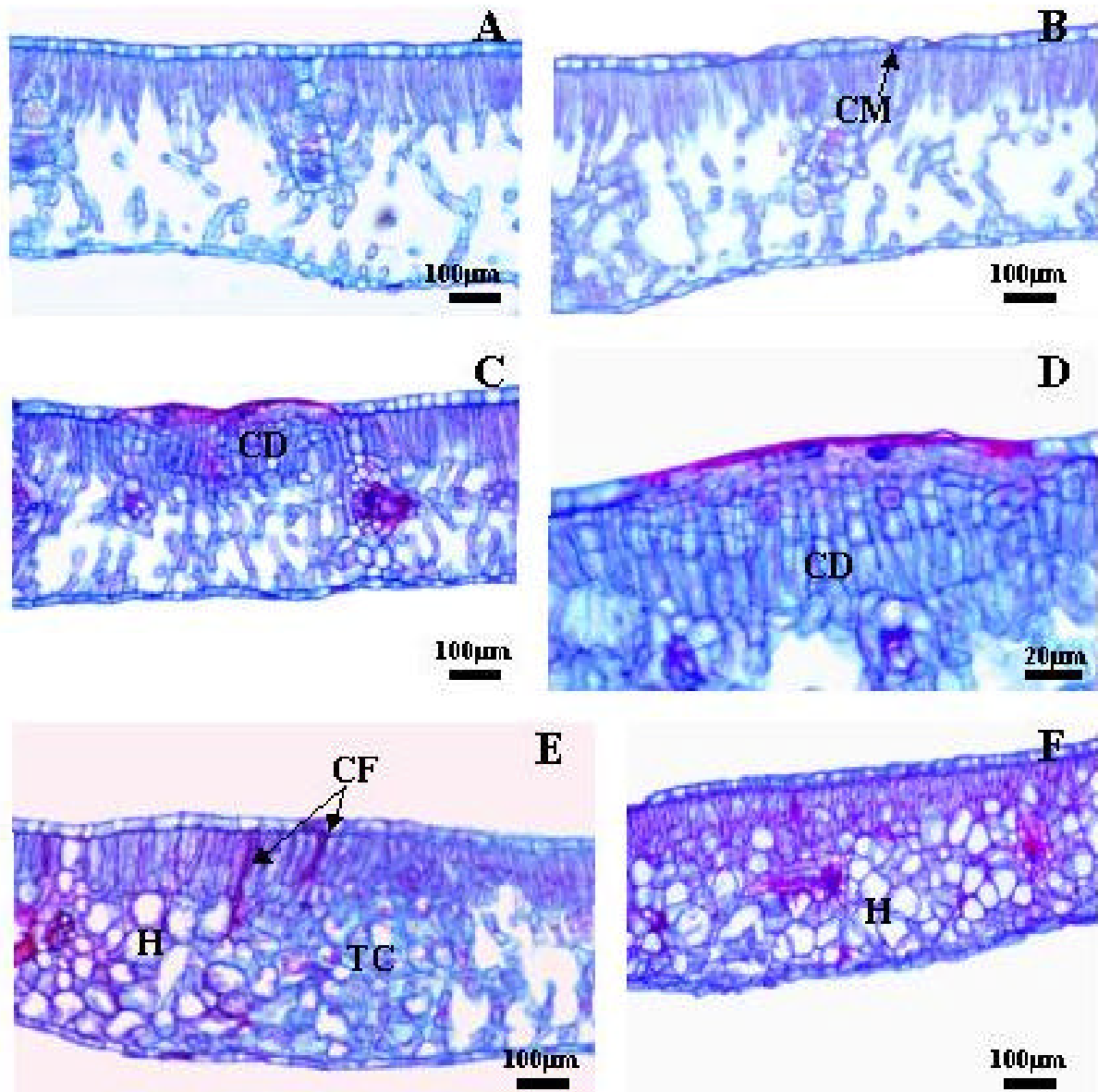


Figura 4: Efeito de subdoses de glyphosate na anatomia foliar de *Eucalyptus urograndis* vistos em cortes histológicos. A = Testemunha, B = 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate, C a F = 172,8 g ha⁻¹ de glyphosate. CD = células em divisão; CM = células mortas; CF = compostos fenólicos, H = hiperplasia celular, TC = tecido de cicatrização.

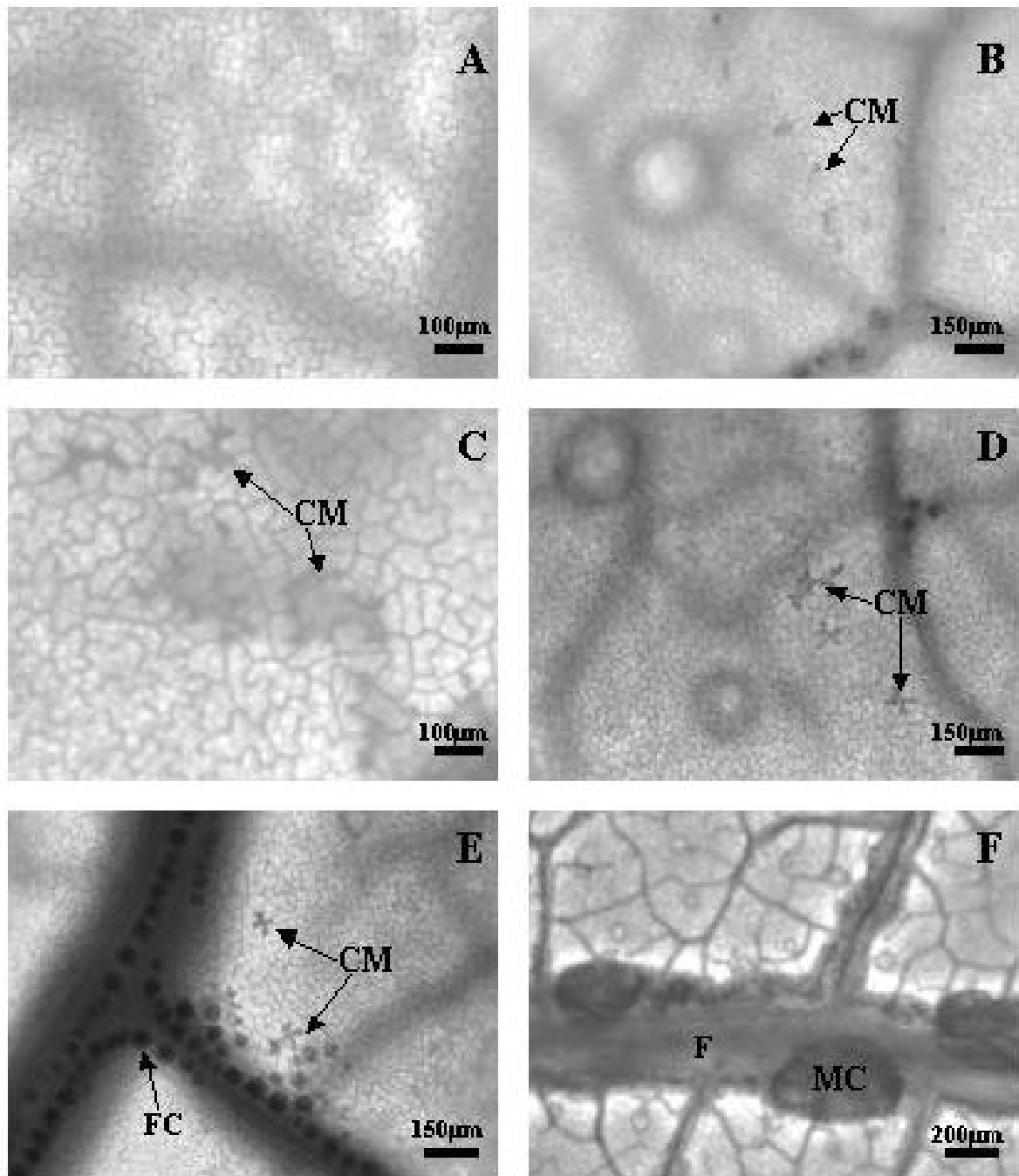


Figura 5: Efeito de subdoses de glyphosate na anatomia foliar de *Eucalyptus urograndis* vistos em material diafanizado. A = Testemunha, B a F = doses 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate. CM = células mortas da epiderme adaxial; F = feixe vascular, FC = feixe vascular com drusas; MC = massa de células.

Observou-se estímulo da divisão celular de diferentes tecidos foliares em eucalipto, o que pode ser visualizado nos cortes transversais de folhas pulverizadas com 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate e no material diafanizado de plantas tratadas com 345,6 g ha⁻¹ (Figuras 4C, 4D e 5F). Vários são os efeitos secundários deste herbicida na planta, entre eles o aumento dos níveis endógenos de etileno (Cole, 1982) e decréscimo no movimento do AIA, relatado por Baur (1979) em trabalho realizado com coleóptilos de milho. O desbalanço hormonal pode ser a possível causa das divisões celulares freqüentes nos tecidos expostos às maiores doses do herbicida.

As espessuras do limbo e do parênquima paliçádico (PPA) variaram entre as diferentes doses testadas, aos 7 e 15 DAA e do parênquima lacunoso (PLA) e da epiderme da face adaxial (EAD) somente aos 15 DAA (p<0,01), o que não foi verificado para epiderme da face abaxial (EAB) (p>0,05). As médias referentes à espessura do PPA, PLA, EAD e EAB e seus respectivos testes de médias e desvio padrão encontram-se na Tabela 2.

Aos 7 DAA, verificou-se aumento na espessura do limbo e do PPA, submetidos à dose de 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate, enquanto que o PLA e a EAD demonstraram acréscimo na espessura somente aos 15 DAA, sob o mesmo tratamento. O aumento da espessura do limbo e do PPA também foi observado em plantas tratadas com 172,8 g ha⁻¹ de glyphosate aos 15 DAA (Tabela 2). Os dados relativos à proporção de tecidos foliares mostram uma tendência de aumento do PPA, com o aumento das doses aplicadas aos 7 e 15 DAA. O aumento na espessura e na área proporcional do PPA pode ser uma resposta das plantas para compensar a perda de área fotossintética, devido a senescência foliar e necroses causadas pela ação do glyphosate. Segundo Abu-Irmaileh et al. (1979), há um aumento na produção de celulases e etileno em plantas de feijão tratadas com glyphosate. O aumento dessas enzimas nos tecidos foliares do eucalipto pode afrouxar a estrutura da parede celular das células do mesofilo, possibilitando a expansão destas células.

Entretanto, o etileno inibe a expansão celular (Burg, 1973), sendo necessário um estudo bioquímico dos efeitos das doses do glyphosate em eucalipto para elucidar os processos envolvidos.

Tabela 2: Valores médios (\pm desvio padrão) da espessura do limbo e de tecidos foliares (m), da área percentual de cada tecido foliar de plantas de eucalipto submetidas às doses de 0; 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, aos 7 e 15 dias após aplicação (DAA)

Tecidos	doses de glyphosate (g ha ⁻¹)					
	0	43,2	86,4	172,6	345,2	
7 DAA	Limbo (m)	277,58 ab	265,23 b	276,09 ab	277,57 ab	318,91 a
	PPA (m)	87,43 b	82,25 b	90,59 b	83,95 b	114,92 a
	PLA (m)	158,50 a	139,12 a	158,38 a	161,33 a	172,63 a
	EAD (m)	16,23 a	13,53 a	13,76 a	14,72 a	14,74 a
	EAB (m)	14,23 a	13,54 a	13,66 a	14,83 a	14,14 a
	% PPA	25,04 \pm 3,11	25,81 \pm 2,74	25,12 \pm 3,15	24,01 \pm 7,24	28,26 \pm 7,01
	% PLA	61,15 \pm 3,53	58,96 \pm 3,96	61,39 \pm 3,18	61,45 \pm 8,01	57,86 \pm 12,1
	% EAD	7,33 \pm 0,88	8,50 \pm 1,27	7,42 \pm 1,72	7,19 \pm 1,17	10,13 \pm 0,89
	% EAB	6,49 \pm 0,91	6,70 \pm 0,59	5,85 \pm 1,08	6,42 \pm 1,54	4,14 \pm 1,11
	15 DAA	Limbo (m)	272,91 c	278,77 bc	275,90 bc	333,20 ab
PPA (m)		87,90 bc	80,21 c	82,02 bc	102,90 ab	125,12 a
PLA (m)		151,86 b	168,28 ab	170,56 ab	196,55 ab	201,42 a
EAD (m)		15,42 b	14,93 b	14,36 b	15,24 b	18,52 a
EAB (m)		13,53 a	12,79 a	11,29 a	11,67 a	13,01 a
% PPA		15,02 \pm 4,90	14,21 \pm 3,95	17,14 \pm 1,17	16,51 \pm 4,65	20,10 \pm 7,51
% PLA		76,46 \pm 6,91	78,53 \pm 6,52	75,08 \pm 9,63	74,66 \pm 17,79	71,26 \pm 7,48
% EAD		4,67 \pm 1,41	3,62 \pm 1,21	4,01 \pm 0,80	4,20 \pm 2,11	4,54 \pm 1,12
% EAB		3,85 \pm 0,67	3,64 \pm 0,55	3,78 \pm 0,38	4,63 \pm 1,00	4,10 \pm 1,55

Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. PPA = parênquima paliçádico, PLA = parênquima lacunoso, EAD = epiderme adaxial e EAB = epiderme abaxial.

2.6 CONCLUSÕES

Os sintomas da deriva do glyphosate em plantas de eucalipto podem ser verificados a partir do 5º dia após aplicação do herbicida, sendo caracterizados por murcha, clorose e enrolamento foliar, e, no caso de maiores doses, por necroses, senescência foliar e morte dos ponteiros.

Plantas submetidas às doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate tiveram injúrias severas na parte aérea; entretanto, apenas a maior concentração afetou o desenvolvimento das plantas que, aos 50 dias após aplicação, apresentaram menor altura e menor matéria seca.

As doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate provocaram a hiperplasia celular, culminando com o colapso das células do mesofilo e da epiderme. Nas áreas afetadas, há acúmulo de compostos fenólicos e presença de grupos de células em divisão.

Na epiderme de plantas tratadas com doses a partir de 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate, são comuns células mortas, podendo ser consideradas como via de entrada para patógenos.

Com as maiores concentrações do glyphosate, há um aumento da espessura do limbo foliar, que pode ser confirmado pelo aspecto coreáceo das folhas. As maiores mudanças nas dimensões dos tecidos foliares foram do parênquima paliçádico.

2.7 LITERATURA CITADA

- ABU-IRMAILEH, B.F.; JORDAN, L.S.; KUMAMOTO, J. Enhancement of CO₂ and ethylene production and cellulase activity by glyphosate in *Phaseolus vulgaris*. **Weed Science**, v.27, n.1, p. 103-106, 1979.
- AHRENS, W.H. Glyphosate. In: **Herbicide Handbook** (ed. W.H. Ahrens), Weed Science Society of America, Champaign, IL, USA. p.149-152, 1994.
- BAUR, J.R. Effect of glyphosate on auxin transport in corn and cotton. **Plant Physiology**, v. 63, p.882-886, 1979.
- BODE, L.E. Downwind drift deposits by ground applications. Proceedings of Pesticide Drift Management Symposium. South Dakota State University, Brookings SD. p. 50. 1984.
- BURG, S.P. Ethylene in plant growth. **Proc. Nature Academic Science**, v. 70, p. 591-597, 1973.
- CAMPBELL, W.F.; EVANS, J.O. & REED, F.C. Effect of glyphosate on chloroplast ultrastructure of quack grass mesophyll cell. **Weed Science**, v.24, p. 22-25, 1976.
- COLE, D.J.; CASELEY, J.C.; DODGE, A.D. Influence of glyphosate on selected plant process. **Weed Research**, v.23, p. 173-183, 1982.
- DANTAS, F.W.F.; SOUZA, A.J.; CIERO, A.D. Controle da rebrota de eucalipto em área de reflorestamento. In: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE HERBICIDAS E TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO EM FLORESTAS, 2001, Viçosa-MG. **Anais...** Viçosa: SBS/ SIF, p.29-44. 2001.
- FRANS, R.E. Measuring plant responses. In: Wilkinson, R. E. (Ed.) **Research Methods in Weed Science**. (s.l.): Southern Weed Science Society, 1972. p.28-41.
- GERLACH, D. **Botanische Mikrotechnik**. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1984. 311 p.
- GELMINI, G.A. **Herbicidas: indicações básicas**. Campinas, Fundação Cargil, 1998. 334p.
- HEMPHILL JR., D.D.; MONTGOMERY, M.L. Response of vegetable crops to sub lethal application of 2,4-D. **Weed Science**, v.29, n.6, p. 632-635, 1981.
- JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: Mcgraw-Hill Book Co., 1940. 523 p.
- LÉVESQUE, C.A.; RAHE, J.E. Herbicide interaction with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. **Annual Review Phytopathology**, v.30, p.579-602, 1992.

- MAGALHÃES, P.C.; SILVA, J.B.; DURÃES, F.O.M.; KARAM, D.; RIBEIRO, L.S. Efeito de doses reduzidas de glyphosate e paraquat simulando deriva na cultura do milho. **Planta Daninha**, v.19, n.2, p.247-253, 2001a.
- MAGALHÃES, P.C.; SILVA, J.B.; DURÃES, F.O.M.; KARAM, D.; RIBEIRO, L.S. Efeito de doses reduzidas de glyphosate e paraquat simulando deriva na cultura do sorgo. **Planta Daninha**, v.19, n.2, p.255-262, 2001b.
- MALIK, J.; BARRY, G.; KISHORE, G. The Herbicide Glyphosate. **Biofactores**, v. 2, p.17-25, 1989.
- RIBEIRO, G.T. Uso de herbicidas pré-emergentes em *Eucalyptus* sp. na região do cerrado. In: SEMINÁRIO TÉCNICO SOBRE PLANTAS DANINHAS E O USO DE HERBICIDAS EM REFLORESTAMENTO, 1988, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBS/ABRACAVE/SIF, 1988.
- RIZZARD, M.A.; FLECK, N.G.; AGOSTINETO, D.; BALBINOT JUNIOR., A.A. Ação dos herbicidas sobre o mecanismo de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p. 957-965, 2003.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 4. RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. (Eds): Londrina, 1998. 331p.
- SASS, J.E. **Botanical microtechnique**. 3. State Press, Iowa. 1951.
- SBS (Sociedade Brasileira de Silvicultura). **Dados estatísticos sobre a produção nacional de eucalipto**. Sociedade Brasileira de Silvicultura. Acesso em: 25 maio de 2004. <http://www.sbs.org.br/secure/estatisticas.htm>.
- TOLEDO, R.E.B.; VICTORIA FILHO, R.; ALVES, P.L.C.A.; PITELLI, R.A.; LOPES, M.A.F. Faixas de controle de plantas daninhas e seus reflexos no crescimento de plantas de eucalipto. **Scientia Forestalis**, v.64, p.78-92, 2003.
- TUFFI SANTOS, L.D.; MEIRA, R.M.S.A.; SANTOS, I.C.; FERREIRA, F.A. Efeito do glyphosate sobre a morfoanatomia das folhas e do caule de *Commelina diffusa* e *C. benghalensis*. **Planta Daninha**, v.22, n. 1, p. 101-107, 2004.
- YATES, W. E.; AKESSON, N. B. and BAYER, D. E. Drift of glyphosate sprays applied with aerial and ground equipment. **Weed Science**, v. 26, n. 6, p. 597-604, 1978.

3. TOLERÂNCIA DE CLONES DE EUCALIPTO SUBMETIDOS A DERIVA SIMULADA DO GLYPHOSATE

Tolerance of eucalypt clones subjected to simulated glyphosate drift

3.1 RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da deriva simulada de glyphosate, por meio de subdoses, no crescimento e na morfoanatomia foliar de clones de *Eucalyptus urophylla*, *E. grandis* e *E. urograndis*. Utilizou-se o esquema fatorial, sendo três clones (*Eucalyptus urophylla*, *E. grandis* e *E. urograndis*) e cinco subdoses (0, 43,2, 86,4, 172,8 e 345,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate) no delineamento blocos casualizados com quatro repetições. A aplicação foi feita sobre as plantas de modo a não atingir o terço superior, 23 dias após o plantio das mudas. Aos 15 dias após aplicação (DAA) do glyphosate, folhas coletadas no primeiro ramo basal das plantas foram fixadas em FAA₅₀ e estocadas em etanol 70%, para preparação do laminário histológico. Os efeitos da deriva do glyphosate foram proporcionais as doses testadas, sendo *E. urophylla* mais tolerante ao herbicida que *E. grandis* e *E. urograndis*. Os sintomas do glyphosate foram os mesmos para os diferentes clones testados, sendo caracterizados por murcha, clorose e enrolamento foliar, e no caso de maiores doses por necroses, senescência foliar e morte das plantas de eucalipto. Plantas submetidas a 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate sofreram injúrias severas na parte aérea, o que afetou o seu desenvolvimento, proporcionando menor altura, menor diâmetro do caule e menor matéria seca aos 50 dias após aplicação do herbicida. Na estrutura anatômica, as

doses de 86,4; 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate provocaram hiperplasia celular, culminando com o colapso das células do mesófilo e da epiderme. Nas áreas afetadas, houve acúmulo de compostos fenólicos e presença de células em divisão. Os resultados indicam a necessidade de estudos estruturais da superfície foliar e da constituição de ceras e cutícula de *Eucalyptus* spp. que possam contribuir para elucidar os mecanismos de tolerância diferencial entre espécies e clones de eucalipto ao glyphosate.

Palavras-chave: *Eucalyptus* spp., anatomia, herbicida

3.2 ABSTRACT: The present study aimed at an evaluation of the effects of simulated glyphosate drift on the leaf growth and morphoanatomy of *Eucalyptus urophylla*, *E. grandis*, and *E. urograndis* clones under subdoses of the herbicide. Three clones (*Eucalyptus urophylla*, *E. grandis*, and *E. urograndis*) were used in a factorial scheme, and five subdoses (0, 3, 6, 12, and 24% of the rate of 1.440 g.ha⁻¹ of a.e glyphosate) in a randomized block design with four replications. The application was feita on as plants so that the upper third was not affected, 23 days after planting the seedlings. Fifteen days after application (DAA) of the glyphosate leaves collected in the first ramo basal of the plants, were fixed in FAA₅₀ and stored in 70% ethanol for the preparation of the histological laminário. The glyphosate drift effects were proportional to the tested subdoses. *E. urophylla* was more herbicide-tolerant than *E. grandis* and *E. urograndis*. The glyphosate symptoms were the same for the different tested clones, characterized by wilt, chlorosis, and leaf curling, and under the higher rates by necroses, leaf senescence, and death of the eucalypt plants. Plants subjected to 12 and 24% of the recommended rate suffered severe shoot injuries. This affected the development, resulting in reduced height, smaller diameter of the stem and lower dry matter 50 days after herbicide application. In the anatomical structure, the subdoses of 6, 12, and 24% caused cellular hyperplasia, culminating in the collapse of the mesophyll and epidermis cells. In the affected areas, there was an accumulation of phenolic compounds and presence of cells in division. Results point to the need for structural studies of the leaf surface and wax and cuticle constitution in *Eucalyptus* spp. that could enlighten the differential glyphosate tolerance mechanisms among eucalypt species and clones.

Key words: *Eucalyptus* spp., anatomy, herbicide

3.3 INTRODUÇÃO

O Eucalipto é a essência florestal mais cultivada no país e a expansão do seu cultivo se deve a princípios ecológicos, sociais e econômicos contra o desmatamento de florestas nativas e o combate ao desemprego. As florestas de eucalipto ocupam uma área de aproximadamente três milhões de hectares e desempenha importante papel na economia brasileira, sendo responsável pela geração de divisas (4% do produto interno bruto) e cerca de 1,2 milhões de empregos diretos e indiretos (SBS, 2004; Toledo et al., 2003). Para garantir sua sustentabilidade e competitividade, o setor depende, dentre outros fatores, de uma base florestal que atenda a padrões cada vez mais exigentes em qualidade e produtividade, gerando investimentos em pesquisa e adoção de práticas silviculturais adequadas (Brito, 1995).

Dentre as práticas silviculturais, está o manejo de plantas daninhas, que, segundo Toledo (2003), praticamente se resume ao controle químico e mecânico, isolados ou combinados. Nas últimas décadas, vários são os trabalhos que tratam da interferência de plantas daninhas e dos métodos de controle sobre a cultura do eucalipto. Dois herbicidas são mais usados no manejo de plantas daninhas em reflorestamentos de eucalipto: oxyfluorfen e glyphosate. Entretanto, o glyphosate tem se destacado, pois é aplicado na fase de pós-emergência das plantas daninhas, o que favorece operações em áreas de cultivo mínimo (Toledo, 1998); além disso, exerce efetivo controle de grande número de espécies daninhas mono e dicotiledôneas, perenes e anuais, sendo um herbicida de curto período residual e rapidamente inativado no solo (Malik et al., 1989; Rodrigues e Almeida, 1998).

Em áreas onde o controle químico é adotado no manejo de plantas daninhas, é comum o contato da molécula herbicida com organismos não alvo, o que caracteriza o problema da deriva. No caso das aplicações dirigidas de produtos não seletivos, como os herbicidas à base de glyphosate, a própria cultura pode sofrer os efeitos da deriva.

O efeito da deriva de herbicidas é diretamente ligado à quantidade do princípio ativo que chega às culturas, que, por sua vez, está diretamente ligada às doses recomendadas para o controle das plantas daninhas. Segundo Rodrigues e Almeida (1998), há uma grande variação nas doses recomendadas do glyphosate para o eucalipto, sendo usadas doses de 360 a 2160 g de e.a. ha⁻¹ para o controle de espécies anuais e perenes.

Na literatura, a deriva é abordada pelos efeitos de moléculas herbicidas sobre a produtividade e morfologia de culturas não alvo. Estes trabalhos envolvem o conceito de “deriva simulada” das diferentes formulações herbicidas sobre as mais diversas culturas (Bailey e Kapusta, 1993), havendo uma grande variação nas subdoses utilizadas pelos autores para definição dos tratamentos. Vários parâmetros foliares podem ser utilizados para qualificar e quantificar a influência de substâncias tóxicas sobre as plantas, entre eles lesões foliares, crescimento (Prado-Filho, 1993), alterações causadas na micromorfologia foliar (Mazzoni-Viveiros, 1996), aspectos anatômicos e ultra-estruturais (Azevedo, 1995; Hara, 2000).

Nos reflorestamentos de eucalipto, onde o glyphosate tem sido utilizado para o controle de plantas daninhas, vem sendo observada a ocorrência de intoxicação na parte aérea das plantas, principalmente em mudas e na rebrota do eucalipto. Na prática, pouco se sabe sobre o comportamento dos diferentes materiais genéticos cultivados, quando expostos à deriva do glyphosate, e quais os efeitos diretos e indiretos desta molécula herbicida sobre o eucalipto.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da deriva simulada de glyphosate, por meio de subdoses, no crescimento e na morfoanatomia foliar de clones de *Eucalyptus urophylla*, *E. grandis* e *E. urograndis*, visando fornecer subsídios para caracterização da sensibilidade desses clones ao herbicida.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em ambiente desprotegido em área pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de 12 de abril a 15 de junho de 2004. As temperaturas médias máximas e mínimas do período foram de 23 e 13,25° C respectivamente, com umidade relativa média de 65%.

Para o ensaio, foram utilizados os clones: 15 - híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* (*E. urograndis*), 72 - *E. urophylla*, ambos cedidos pela Celulose Nipo-Brasileira SA (CENIBRA), e um clone de *E. grandis*, fornecido pelo Instituto Estadual de Florestas (IEF). Foram utilizadas mudas com três meses de idade e aproximadamente 30 cm de altura, plantadas em vasos com 10 L de solo argiloso, adubados com 216,6 g de N-P-K (6-30-6) e 12 g de calcário na proporção de Ca : Mg = 4:1 equivalentes, sendo utilizada na adubação de cobertura 6 g/vaso de N-P-K (20-5-20) aos 15 dias após o plantio das mudas (DAP), e três aplicações de 4 g/vaso de (NH₄)₂SO₄ aos 40, 60 e 80 DAP. Utilizou-se o esquema fatorial, sendo três clones e cinco tratamentos no delineamento de blocos casualizados com quatro repetições, onde cada vaso representava a parcela experimental. Os tratamentos consistiram das doses de 0; 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, correspondentes a 0, 3, 6, 12 e 24% da dose de 1.440 g. e.a. ha⁻¹ de glyphosate, na forma do sal de isopropilamina do produto comercial “Roundup CS”, aplicados sobre as plantas, de modo a não atingir o terço superior, 23 dias após o plantio das mudas de eucalipto, que apresentavam cerca de 35 cm de altura. Para aplicação, utilizou-se pulverizador costal, munido de barra com dois bicos tipo leque TT110.02 espaçados de 0,5 m, operando a 250 kPa de pressão, volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹, umidade relativa do ar de 85% e 21° C de temperatura.

Após a aplicação do herbicida, foram observadas, diariamente, possíveis alterações morfológicas na parte aérea das plantas, e aos 7, 15, 30 e 45 dias após a aplicação (DAA), determinou-se a porcentagem de intoxicação em relação à

testemunha, onde 0% corresponde à ausência de sintomas visíveis e 100% à morte das plantas (Frans, 1972).

Para a caracterização anatômica dos efeitos provocadas pelo glyphosate, foram coletadas folhas do terceiro nó do primeiro ramo basal das plantas de eucalipto aos 15 DAA. As amostras foram fixadas em FAA₅₀ e armazenadas em etanol 70% (Johansen, 1940). Amostras da porção mediana das folhas foram desidratadas em série etílica/butílica e incluídas em parafina histológica (Johansen, 1940). Cortes transversais, com 13 μ m de espessura, foram obtidos com o auxílio de um micrótomo rotativo de avanço automático (modelo Leica RM2155). Posteriormente, as lâminas foram coradas com fucsina básica e azul de astra (Gerlach, 1984) e montadas em bálsamo do Canadá sintético. Para observação da epiderme ao microscópio de luz, foram utilizadas técnicas de diafanização com hipoclorito de sódio (Sass, 1951). Após observação dos efeitos da deriva do glyphosate sobre as estruturas anatômicas das folhas do eucalipto, foi feita documentação fotográfica, utilizando-se microscópio fotônico (modelo Olympus AX70TRF) com sistema U-Photo.

Aos 50 DAA obteve-se a altura das plantas (região entre o colo e o ápice das plantas) e o diâmetro do caule a 1 cm do solo. A parte aérea das plantas foi colhida e mantida em estufa com ventilação forçada ($65 \pm 3^{\circ}\text{C}$), até atingirem peso constante, para obtenção da biomassa seca.

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância pelo Teste F, sendo ajustadas equações de regressão quando cabível.

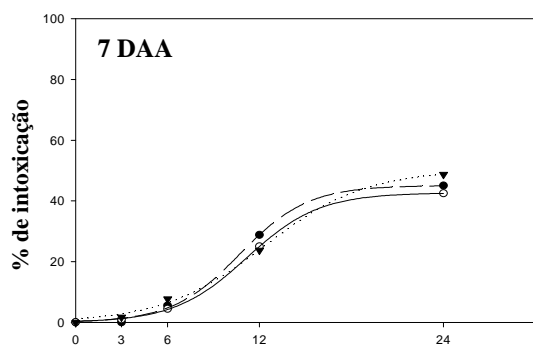
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve variação na intoxicação das plantas pelo efeito das diferentes doses testadas ($p < 0,01$) aos 7, 15, 30 e 45 dias após aplicação (DAA). A intoxicação nas plantas foi tanto maior quanto maiores as doses de glyphosate (Figura 1).

Os primeiros sintomas de intoxicação foram observados aos 4 DAA, nos três clones de eucalipto, sendo caracterizados, aos 7 DAA, por murcha, clorose e enrolamento das folhas dos ápices das plantas pulverizadas com calda contendo concentrações superiores a 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate; além de necroses observadas, em maior intensidade, em plantas de *E. grandis* e *E. urograndis* tratadas com 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate (Figura 2). Plantas de *E. grandis* pulverizadas com dose de 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate apresentavam, aos 15 DAA, praticamente toda a área foliar necrosada (Figura 2 I). Nesta mesma época, leves sintomas de intoxicação eram visíveis nos três clones tratados com 43,2 g ha⁻¹ de glyphosate, mais intensamente em *E. grandis*. Entretanto, estes sintomas desaparecem aos 45 DAA, indicando uma total recuperação das plantas.

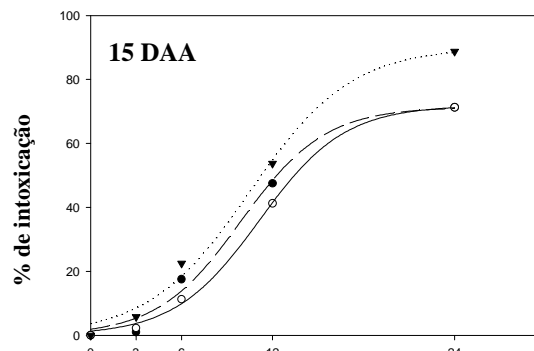
Tuffi Santos et al. (2004a) relatam sintomas foliares semelhantes em plantas de *Eucalyptus urograndis*, pulverizadas com 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate. A clorose pode ser resultado da degeneração dos cloroplastos (Campbell et al., 1976) ou a inibição da formação de clorofila (Cole et al., 1983) em plantas tratadas com glyphosate.

A espécie *E. grandis* foi mais susceptível ao glyphosate, apresentando morte de 75% das plantas tratadas com 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate aos 30 DAA, enquanto *E. urophylla* e o híbrido *E. urograndis* apresentavam, respectivamente, 15 e 0% das plantas mortas. Essa diferença foi bem visível aos 45 DAA quando a dose de 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate causou intoxicação de 96,3% em *E. grandis*, comparadas com 87,5 e 77,5% em *E. urograndis* e *E. urophylla*, respectivamente (Figura 1).



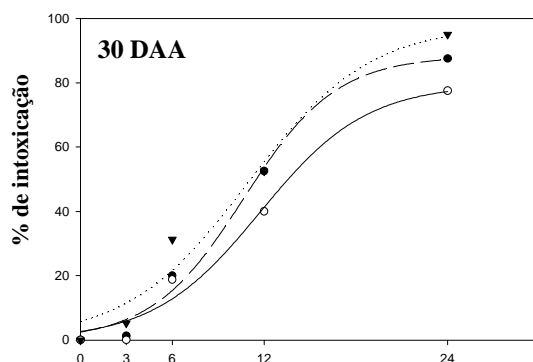
% da dose de 1440 g ha⁻¹ de glyphosate

-- $y = 45,08/(1 + \exp(-(x-10,72)/2,22))$ $R^2 = 0,99$
 y = $42,67/(1 + \exp(-(x-11,17)/2,36))$ $R^2 = 0,99$
 $y = 50,11/(1 + \exp(-(x-12,28)/3,30))$ $R^2 = 0,99$



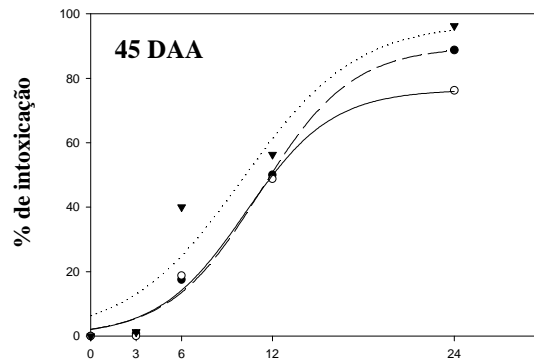
% da dose de 1440 g ha⁻¹ de glyphosate

-- $y = 71,35/(1 + \exp(-(x-9,93)/2,78))$ $R^2 = 0,98$
 y = $71,90/(1 + \exp(-(x-11,13)/2,80))$ $R^2 = 0,99$
 $y = 89,97/(1 + \exp(-(x-10,51)/3,33))$ $R^2 = 0,98$



% da dose de 1440 g ha⁻¹ de glyphosate

-- $y = 88,29/(1 + \exp(-(x-10,69)/3,02))$ $R^2 = 0,98$
 y = $79,55/(1 + \exp(-(x-11,73)/3,48))$ $R^2 = 0,96$
 $y = 97,86/(1 + \exp(-(x-10,96)/3,94))$ $R^2 = 0,94$



% da dose de 1440 g ha⁻¹ de glyphosate

-- $y = 88,68/(1 + \exp(-(x-9,72)/3,34))$ $R^2 = 0,99$
 y = $76,49/(1 + \exp(-(x-10,21)/2,84))$ $R^2 = 0,97$
 $y = 97,24/(1 + \exp(-(x-10,00)/3,75))$ $R^2 = 0,87$

Figura 1: Porcentagem de intoxicação de plantas de eucalipto submetidas à deriva do glyphosate, aos 7, 15, 30 e 45 dias após aplicação (DAA) (..... *E. grandis*, ---- *E. urograndis*, — *E. urophylla*).

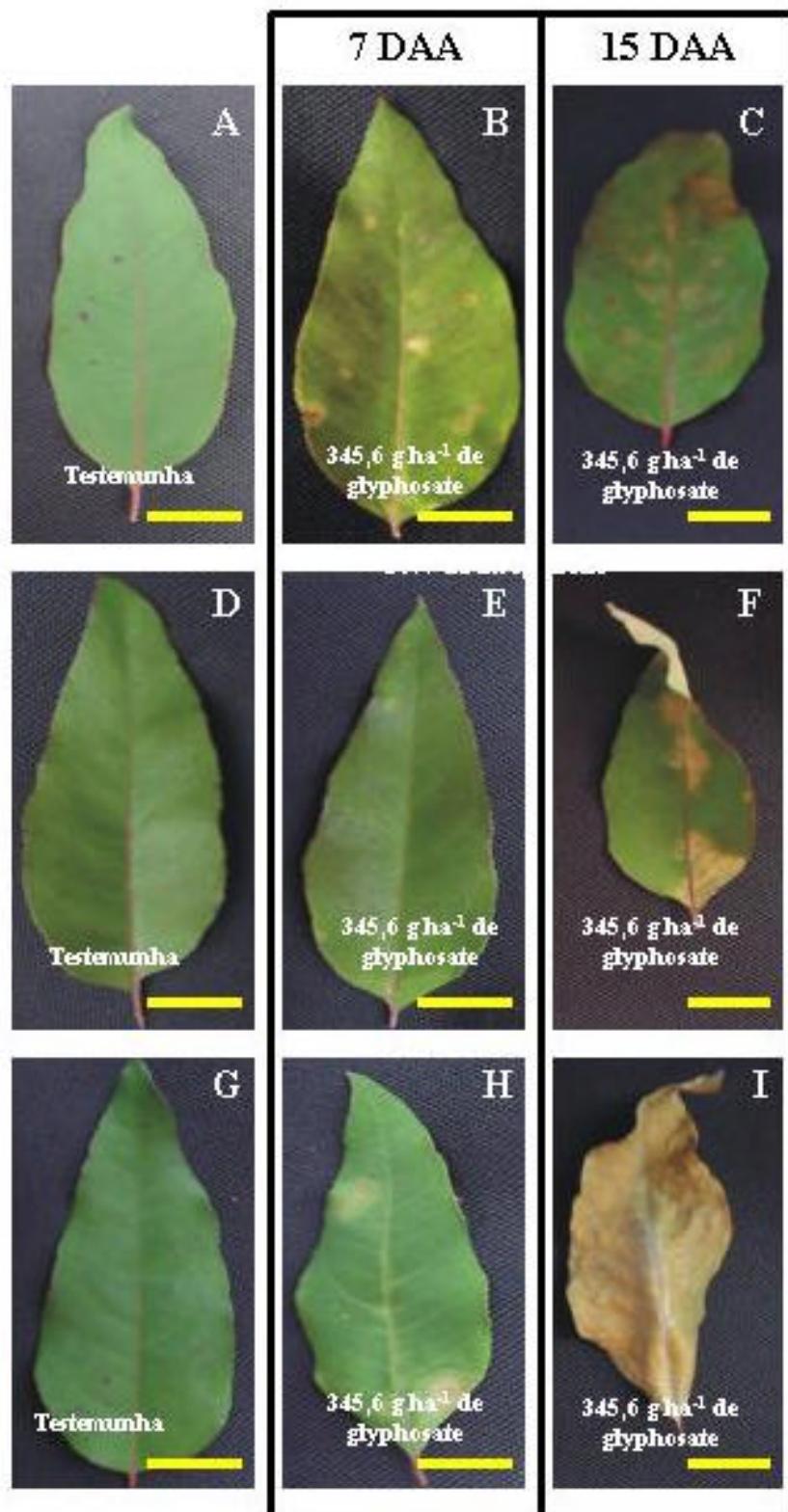


Figura 2: Aspecto de folhas de eucalipto submetidas à deriva de glyphosate. A – C = *E. urograndis*, D – F = *E. urophylla*, G – I = *E. grandis*. DAA = dias após aplicação (Barras de 2 cm).

Plantas submetidas a 172,8 g ha⁻¹ de glyphosate emitiram novas brotações, porém, com sintomas de intoxicação em *E. urophylla*, e, em menor intensidade, em *E. urograndis*. Quando submetidos a 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate, esses dois materiais não emitiram brotações. Plantas de *E. grandis* não emitiram brotações quando tratadas com 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate.

Dantas (2001), trabalhando com glyphosate no controle da rebrota em diferentes clones de eucalipto, relata o surgimento de brotações com sintomas de intoxicação. Tuffi Santos et al. (2004b) também descreveram a emissão de brotações normais e com sintomas de intoxicação em plantas de eucalipto submetidas as doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate. Magalhães et al. (2001a e 2001b), trabalhando com simulação de deriva do glyphosate nas culturas de milho e sorgo, observaram queda na produção e necroses na parte aérea das plantas tratadas com doses superiores a 8% da dose de 1440 g ha⁻¹ e que a subdose de 12% causou 53% de intoxicação nas plantas.

A altura, diâmetro e matéria seca das plantas variaram entre as diferentes doses testadas ($p < 0,01$), havendo variação entre os clones para o diâmetro e a matéria seca das plantas ($p < 0,01$) o que não foi verificado na altura das plantas ($p > 0,05$). Na Figura 3 estão representadas as equações de regressão para as características altura, diâmetro e matéria seca das plantas.

Plantas submetidas a 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate apresentaram menores altura, diâmetro e matéria seca, enquanto as plantas dos demais tratamentos não diferiram entre si, nestas características. As injúrias severas, a paralisação no crescimento e a senescência das folhas explicam a diminuição da altura, diâmetro e matéria seca observadas nas plantas tratadas com as maiores doses.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram maior severidade das injúrias em plantas mais jovens (25 dias após o transplante) tratadas com doses de glyphosate do que os obtidos por Tuffi Santos et al. (2004) em plantas com

maior tempo de cultivo (45 dias após o transplante) sob tratamentos semelhantes.

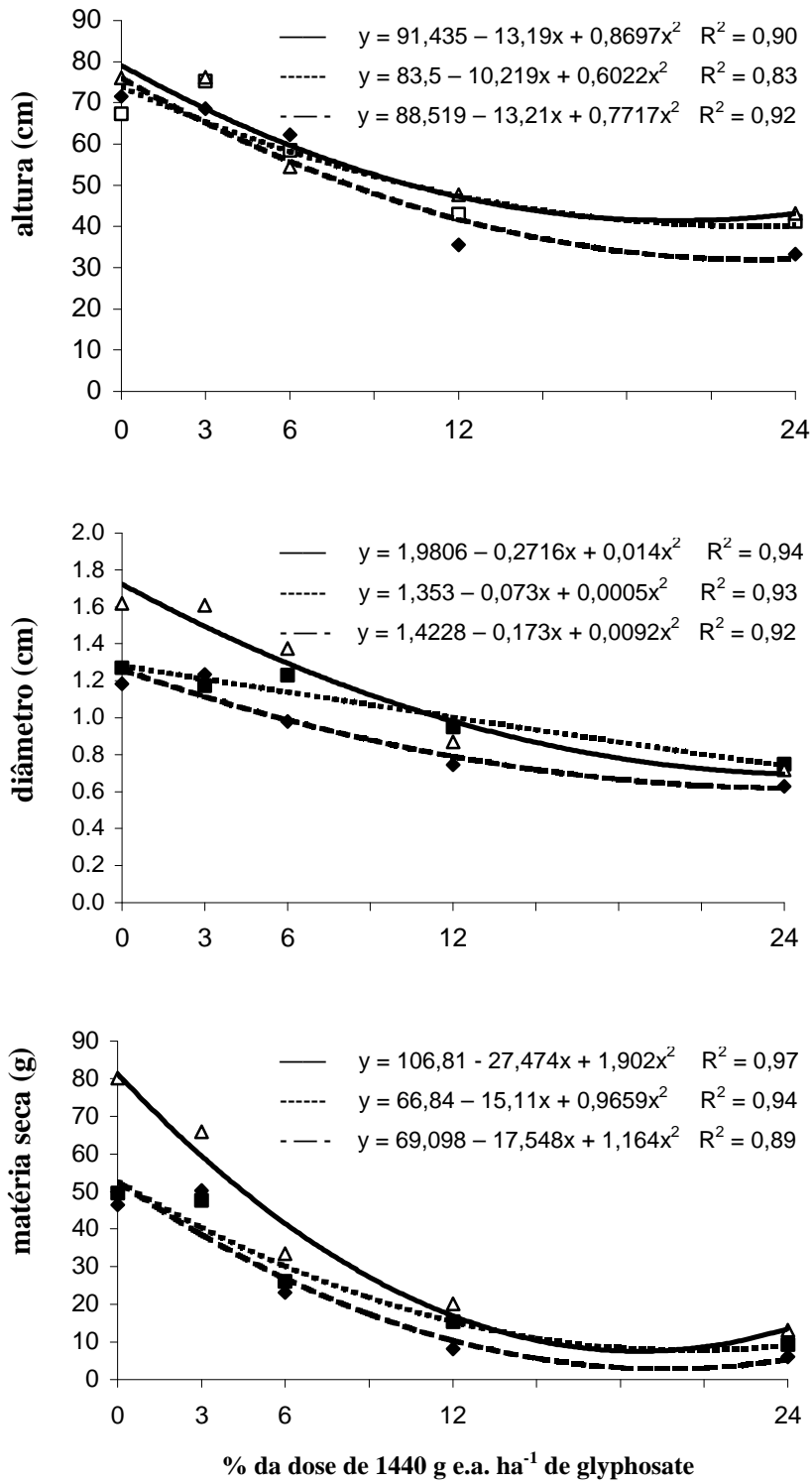


Figura 3: Altura de plantas, diâmetro do caule e matéria seca de plantas de três clones de eucalipto submetidos à deriva simulada do glyphosate, aos 50 dias após aplicação (— *E. grandis*, *E. urograndis* e — — *E. urophylla*).

Com 86,4; 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate, nos três clones avaliados, observou-se hiperplasia das células do parênquima clorofiliano e da epiderme, levando ao colapso destes tecidos (Figuras 4F, 4P e 4Q), visto morfológicamente por áreas necrosadas (Figura 2). Como resposta à injúria, houve proliferação celular, diminuição dos espaços intercelulares do parênquima lacunoso, formação de tecido de cicatrização, isolando as áreas necrosadas dos tecidos não afetados e acúmulo de compostos fenólicos (Figuras 4D, 4E, 4L, 4O e 4Q). Os compostos fenólicos são comuns no gênero *Eucalyptus*, podendo ser evidenciados pela maior intensidade de coloração avermelhada, dada pela fucsina básica (Figuras 4C, 4D e 4I). Na epiderme de plantas dos três clones tratados com doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate foram encontradas células mortas pela ação do glyphosate (Figura 4J).

Rizzardi (2003) relata que o glyphosate pode facilitar o ataque de patógenos em plantas, já que subdoses do herbicida podem causar redução do acúmulo tanto de fitoalexinas quanto de lignina (Lévesque e Rahe, 1992), que são consideradas barreiras físico-fisiológicas da planta. Segundo Tuffi Santos et al.(2004b), células mortas na epiderme podem se constituir em uma via facilitadora da entrada de patógenos em plantas expostas à deriva.

O glyphosate estimula o aumento dos níveis endógenos de etileno (Cole et al, 1983) e decréscimo no movimento do AIA, relatado por Baur (1979) em trabalho realizado com coleóptilos de milho. O desbalanço hormonal, somado a estímulos fisiológicos da planta em resposta às injúrias, pode ser a possível causa das divisões celulares, freqüentes nos tecidos expostos às maiores doses do herbicida.

Nas observações anatômicas, não foram encontradas diferenças marcantes que expliquem a diferença de tolerância entre os clones. Existem na literatura trabalhos que demonstram que a tolerância de plantas ao glyphosate é devido a uma penetração ou translocação diferencial (Sandberg et al., 1980; D'Anieri et al., 1990;

Satichivi et al., 2000; Monquero, 2003). As taxas de absorção foliar de herbicidas e, conseqüentemente, sua eficácia estão diretamente ligadas aos tipos de estruturas encontradas na folha e à permeabilidade das cutículas (Baker, 1982), que, por sua vez, dependem da constituição e da polaridade da cutícula.

Assim, faz-se necessário um estudo da micromorfologia foliar de *Eucalyptus* spp., bem como da constituição de ceras e cutícula que possa fornecer subsídios que expliquem a tolerância diferencial entre *E. grandis*, *E. urograndis* e *E. urophylla* ao glyphosate.

3.6 CONCLUSÕES

Os efeitos da deriva do glyphosate foram proporcionais às doses testadas, sendo *E. urophylla* mais tolerante ao herbicida que *E. grandis* e *E. urograndis*.

Os sintomas do glyphosate foram os mesmos para os diferentes clones testados, sendo caracterizados por murcha, clorose e enrolamento foliar, e, no caso de maiores doses, por necroses, senescência foliar e morte dos ponteiros.

As doses de 43,6 e 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate causaram leves sintomas de intoxicação nas plantas dos três clones, havendo com o tempo uma total recuperação das plantas tratadas com 43,6 g ha⁻¹.

Plantas submetidas a 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate tiveram injúrias severas na parte aérea, o que afetou o desenvolvimento das plantas que apresentaram menor altura, menor diâmetro do caule e menor matéria seca.

As doses de 86,4; 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate provocaram a hiperplasia celular culminando com o colapso das células do mesofilo e da epiderme. Nas áreas afetadas, há acúmulo de compostos fenólicos e presença de células em divisão.

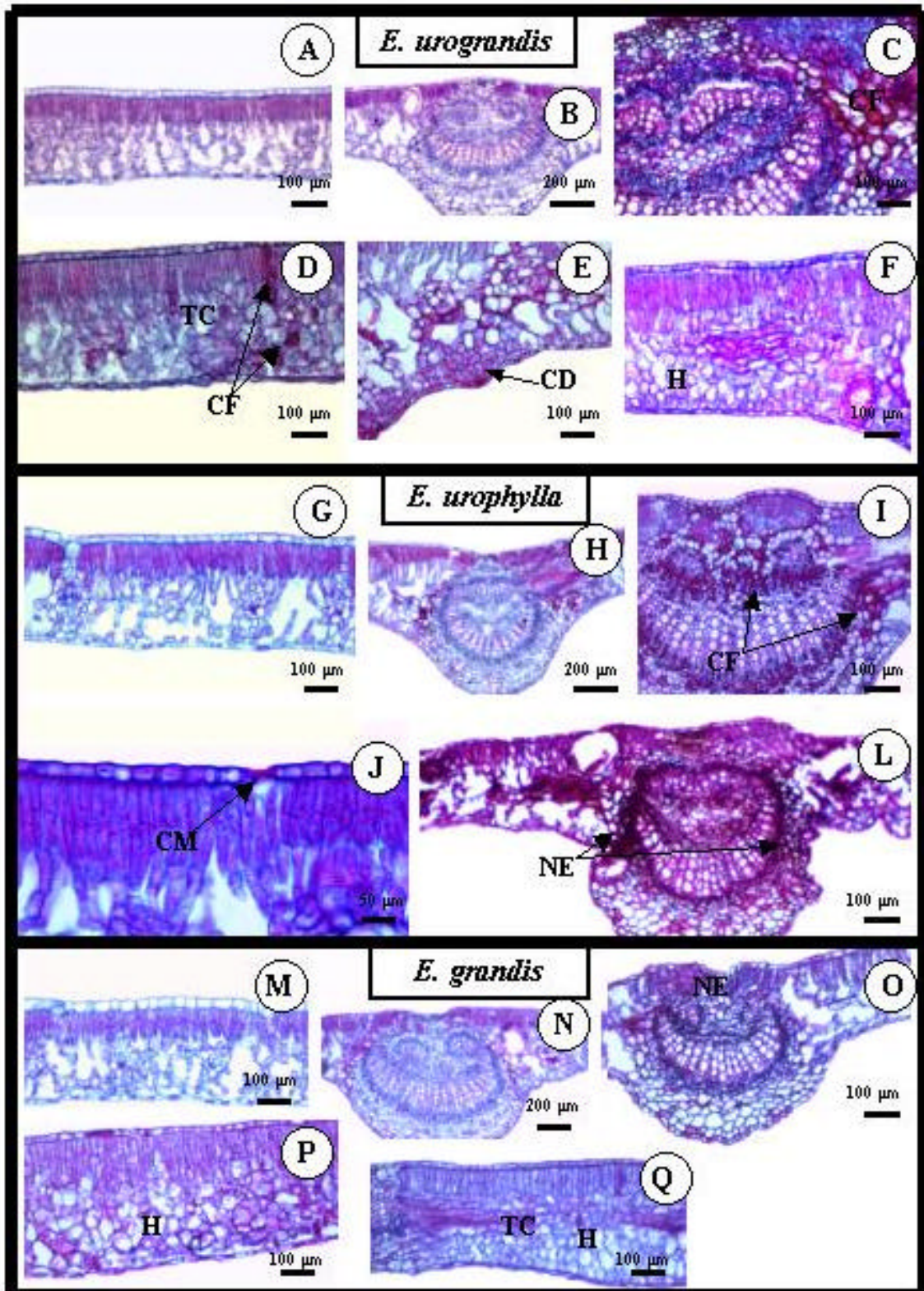


Figura 4: Efeitos de subdoses de glyphosate na anatomia foliar de *Eucalyptus* spp. Fotos A, B, G, H, M e N = testemunha; demais fotos referentes a subdoses superiores a 6%. CD = células em divisão; CF = compostos fenólicos; CM = célula morta; H = hiperplasia; NE = necrose; TC = tecido de cicatrizaço.

3.7 LITERATURA CITADA

- AZEVEDO, A.A.. **Ação do flúor, em chuva simulada, sobre a estrutura foliar de *Glycine max* (L.) Merrill.** (Tese de Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo. 95p, 1995.
- BAILEY, J.A., KAPUSTA, G. Soybean (*Glycine max*) tolerance to simulated drift of nicosulfuron and primisulfuron. **Weed Technology**, v.7, n.3, p.740-745, 1993.
- BAKER, E.A. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. *In*: CUTLER, D.F.; ALVIN, K.L.; PRICE, C.E. (Ed.). **The plant cuticle**. London: Academic Press, 1982. p. 140-161.
- BAUR, J.R. Effect of glyphosate on auxin transport in corn and cotton. **Plant Physiology**, v.63, p.882-886, 1979.
- BRITO, M.A.R. Manejo de plantas daninhas em área de reflorestamento. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 20, Florianópolis, 1995. **Resumos**, p. 92-95.
- CAMPBELL, W.F.; EVANS, J.O. & REED, F.C. Effect of glyphosate on chloroplast ultrastructure of quack grass mesophyll cell. **Weed Science**, v.24, p. 22-25, 1976.
- COLE, D.J.; CASELEY, J.C.; DODGE, A.D. Influence of glyphosate on selected plant process. **Weed Research**. Oxford, v.23, p. 173-183, 1983.
- D'ANIERI, P.; ZEDAKER, S.M.; SEILER, J.R.; KREH, R.E. Glyphosate translocation and efficacy relationships in red maple, sweetgum and loblolly pine seedlings. **Forestry Science**, v.36, p. 438-447, 1990.
- DANTAS, F.W.F.; SOUZA, A.J.; CIERO, A.D. Controle da rebrota de eucalipto em área de reflorestamento. *In*: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE HERBICIDAS E TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO EM FLORESTAS, Viçosa-MG. **Anais...** Viçosa: SBS/ SIF, p.29-44. 2001.
- FRANS, R.E. Measuring plant responses. *In*: Wilkinson, R. E. (Ed.) **Research Methods in Weed Science**. (s.l.): Southern Weed Science Society, 1972. p.28-41.
- GERLACH, D. **Botanische Mikrotechnik**. Stuttgart. Georg Thieme Verlag, 1984. 311 p.
- HARA, S. **Alterações estruturais em folhas de *Panicum maximum* jacq. submetidas à chuva simulada com flúor.** (Tese de Mestrado), Viçosa, UFV. 48p. 2000.
- JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: Mcgraw-Hill Book Co., 1940. 523 p.

- LÉVESQUE, C.A.; RAHE, J.E. Herbicide interaction with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. **Annual Review Phytopathology**, v.30, p.579-602, 1992.
- MAGALHÃES, P.C.; SILVA, J.B.; DURÃES, F.O.M.; KARAM, D.; RIBEIRO, L.S. Efeito de doses reduzidas de glyphosate e paraquat simulando deriva na cultura do milho. **Planta Daninha**, v.19, n.2, p.247-253, 2001a.
- MAGALHÃES, P.C.; SILVA, J.B.; DURÃES, F.O.M.; KARAM, D.; RIBEIRO, L.S. Efeito de doses reduzidas de glyphosate e paraquat simulando deriva na cultura do sorgo. **Planta Daninha**, v.19, n.2, p.255-262, 2001b.
- MALIK, J.; BARRY, G.; KISHORE, G. The Herbicide Glyphosate. **Biofactores**, v. 2, p.17-25, 1989.
- MAZZONI-VIVEIROS, S.C.. **Aspectos estruturais de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) sob o impacto de poluentes atmosféricos provenientes do complexo industrial de Cubatão, SP-Brasil.** (Tese de Doutorado). Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.
- MONQUERO, P.A.. **Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate.** Tese de Doutorado. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiros” – ESALQ/USP. 99 p., 2003.
- PRADO-FILHO, J.F.. Uso de bioindicadores para monitoramento do ar. **Ambiente** v.7, n.1, p.57-64, 1993.
- RIZZARD, M.A.; FLECK, N.G.; AGOSTINETO, D.; BALBINOT JR, A.A. Ação dos herbicidas sobre o mecanismo de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p. 957-965, 2003.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 4. RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. (Eds): Londrina, 1998. 331p.
- SBS (Sociedade Brasileira de Silvicultura). **Dados estatísticos sobre a produção nacional de eucalipto.** Sociedade Brasileira de Silvicultura. Acesso em: 25 maio de 2004. <http://www.sbs.org.br/secure/estatisticas.htm>.
- SANDBERG, C.L.; MEGGITT, W.F.; PENNER, D. Absorption, translocation and metabolism of ¹⁴C-glyphosate in several weed species. **Weed Research**, v.20, p.195-200, 1980.
- SASS, J.E. **Botanical microtechnique**. 3ed. State Press, Iowa. 1951.
- SATICHIVI, N.M.; WAX, L.M.; STOLLER, E.W.; BRISKIN, D.P. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Science**, v.48, p.675-679, 2000.
- TOLEDO, R.E.B. **Efeitos da faixa de controle e dos períodos de controle e de convivência de *Brachiaria decumbens* Stapf no desenvolvimento inicial de**

plantas de *Eucalyptus urograndis*. (Tese de Mestrado), Piracicaba, ESALQ. 77p., 1998.

TOLEDO, R.E.B; VICTORIA FILHO, R.; ALVES, P.L.C.A.; PITELLI, R.A.; LOPES, M.A.F. Faixas de controle de plantas daninhas e seus reflexos no crescimento de plantas de eucalipto. **Scientia Forestalis**, v.64, p.78-92, 2003.

TUFFI SANTOS, L.D; FERREIRA, F.A.; BARROS, N.F.; FERREIRA, L.R.; SIQUEIRA, C.H.; MACHADO, A.F.L. Simulação de deriva do glyphosate em eucalipto. 24^o CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS (24^o: 2004: São Pedro, SP). **Resumos Expandidos...** São Pedro, SP: SBCPD, 2004a.

TUFFI SANTOS, L.D; MEIRA, R.M.S.A.; FERREIRA, F.A.; SIQUEIRA, C.H.; BARROS, N.F.; FERREIRA, L.R.; MACHADO, A.F.L. Efeito de subdoses de glyphosate na morfoanatomia foliar de eucalipto. 55^o CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. (55^o: 2004: Viçosa, MG). **Resumos...** Viçosa, MG: SBB, 2004b.

4. EXSUDAÇÃO RADICULAR DO GLYPHOSATE POR *Brachiaria decumbens* E SEUS EFEITOS EM PLANTAS DE EUCALIPTO E NA RESPIRAÇÃO MICROBIANA DO SOLO

Root exudation of glyphosate by *Brachiaria decumbens* and the effects on eucalypt plants and microbial soil respiration

4.1 RESUMO: Este trabalho teve como objetivos: avaliar a sua exsudação radicular por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos sobre eucalipto cultivado em solo e em solução nutritiva; quantificar a respiração microbiana no solo em diferentes manejos com o herbicida glyphosate. Vasos com 8,0 L de solução nutritiva de Clark modificada, com tampas contendo cinco perfurações, receberam uma muda de *Eucalyptus grandis* e quatro mudas de *Brachiaria decumbens*. Utilizou-se o delineamento blocos casualizados, com seis repetições, sendo cada vaso considerado como parcela experimental. As plantas de eucalipto e braquiária permaneceram em consórcio na solução hidropônica por 30 dias, sendo as plantas de braquiária podadas aos 15 dias após o transplante, visando estimular o perfilhamento. Após

este período, foram aplicados os tratamentos correspondentes a 0, 720, 1440, 2160 e 2880 g ha⁻¹ e. a. de glyphosate sobre as plantas de braquiária. No experimento em solo, mudas de *E. urograndis* foram plantadas em 72 vasos de 10 L, 36 contendo solo arenoso e 36, solo argiloso. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com seis repetições, montado em esquema fatorial 2 x 6 (dois tipos de solo e seis combinações de manejo). Após o plantio das mudas de eucalipto, 48 vasos (24 de cada solo) receberam cinco mudas/vaso de *Brachiaria decumbens*, sendo estas cultivadas em consórcio com a muda de eucalipto. O restante dos vasos de eucalipto foram cultivados em monocultivo. Os tratamentos testados foram: 1- Eucalipto consorciado com braquiária (testemunha); 2- Eucalipto sem braquiária + 1440 g ha⁻¹ de glyphosate aplicado no solo; 3- eucalipto com braquiária cortada após pulverização com 1440 g ha⁻¹ de glyphosate; 4, 5 e 6- Eucalipto consorciado com braquiária pulverizada respectivamente com 720, 1440 e 2880 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate. A aplicação foi feita sobre as plantas de braquiária nos tratamentos 4, 5 e 6, protegendo a planta de eucalipto do contato com o herbicida. O tratamento 2 recebeu a aplicação do glyphosate diretamente no solo. No tratamento 3, os vasos de eucalipto receberam a parte aérea de plantas de braquiária cortada, sete dias após as mesmas terem sido pulverizadas com 1440 g ha⁻¹ de glyphosate. Nos dois ensaios houve controle acima de 95% da gramínea por todas as doses testadas, não sendo verificado sintomas de intoxicação nas plantas de eucalipto. A atividade microbiana foi maior no solo arenoso, principalmente com o aumento das doses de glyphosate aplicadas nas plantas de braquiária.

Palavras-chave: herbicida, *Eucalyptus* spp., atividade microbiana, biodegradação

4.2 ABSTRACT: This study aimed at: an evaluation of the root exudation of the herbicide glyphosate by *Brachiaria decumbens* and its effects on eucalypt cultivated in soil and in nutritive solution; and a quantification of the microbial respiration in the soil under different managements. One *Eucalyptus grandis* and four *Brachiaria*

decumbens seedlings were planted in pots with lids with five holes holding 8.0 L of the modified nutritive Clark solution. A randomized block design in six replications was used, considering each pot an experimental plot. The eucalypt and brachiaria plants were grown in intercrop in the hydroponic solution for 30 days. Fifteen days after the transplant, the brachiaria plants were pruned, in order to stimulate tillering. After this period, treatments of 0, 720, 1440, 2160, and 2880 g ha⁻¹ a.e of glyphosate were applied to the brachiaria plants. In the experiment in soil, *E. urograndis* seedlings were planted in 72 10-liter pots, half of them containing sandy and the other half clayey soil. The experiment was set up in a randomized block design with six replications, in a 2 x 6 factorial scheme (two soil types and six management combinations). After the eucalypt seedlings, five *Brachiaria decumbens* seedlings per pot were planted in 48 pots (24 of each soil), and grown in intercrop with a eucalypt seedling. The remaining eucalypt pots were cultivated in monoculture. The tested treatments were: 1- Eucalypt-brachiaria intercrop (control); 2- Eucalypt without brachiaria + 1440 g ha⁻¹ of glyphosate applied in the soil; 3- Eucalypt with brachiaria cut after pulverization with 1440 g ha⁻¹ glyphosate; 4, 5 and 6- Intercrop of eucalypt with sprayed brachiaria with 720, 1440, and 2880 g a.e ha⁻¹ glyphosate, respectively. In the treatments 4, 5, and 6, the eucalypt plants were protected from the contact with the herbicide applied to the brachiaria plants. In treatment 2, glyphosate was applied directly to the soil. The eucalypt plants in treatment 3 were treated with cut shoots of the brachiaria plants, seven days after these had been sprayed with 1440 g ha⁻¹ glyphosate. All tested rates controlled over 95% of the grass species in both assays, and no toxicity symptoms were verified in the eucalypt plants. The microbial activity was greater in the sandy soil, mainly with the increase of the glyphosate rates applied to the brachiaria plants.

Key words: Herbicide, *Eucalyptus* spp., microbial active, biodegradation.

4.3 INTRODUÇÃO

O Brasil vem se tornando grande exportador de produtos florestais, o que se deve à melhoria tecnológica nas diversas partes da cadeia deste agronegócio e ao aprimoramento de práticas silviculturais, entre elas o manejo de plantas daninhas.

Em florestas de eucalipto, a interferência por plantas daninhas deve-se, principalmente, à competição por recursos do meio, sendo mais expressiva no primeiro ano de implantação da cultura. O setor florestal tem se expandido em áreas anteriormente ocupadas com pastagem, especialmente a *Brachiaria decumbens* Stapf e *Panicum maximum* Jacq.

Nas empresas florestais, há um predomínio do uso da capina química, e o herbicida glyphosate se destaca por exercer efetivo controle sobre um grande número de espécies daninhas (Toledo et al., 2003). O glyphosate é um herbicida sistêmico, não seletivo e altamente solúvel em água. Seu mecanismo de ação baseia-se na interrupção da rota do ácido shikímico, responsável pela produção dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, essenciais para a síntese protéica e divisão celular em regiões meristemáticas da planta (Cole et al., 1983; Foley et al., 1983; Hess, 1994). Uma das vantagens deste herbicida é sua baixa toxicidade a mamíferos e à vida aquática, sendo, ainda, um produto rapidamente inativado no solo (Rodrigues e Almeida, 1998).

Entretanto, existe preocupação quanto às doses utilizadas e ao destino final da molécula, pois o glyphosate pode não ficar restrito às plantas daninhas, sendo metabolizado a compostos não-tóxicos e, ou exsudado no solo e inativado (Splankle et al., 1975; Rodrigues e Almeida, 1998). Linder et al. (1964) verificaram que algumas plantas são capazes de exsudar no solo substâncias aplicadas via parte aérea. Segundo Smith (1976), a exsudação de compostos pelas raízes das plantas pode alterar o “pool” de nutrientes e outros compostos no solo, podendo representar significativas mudanças no sistema. Além disso, a liberação dessas substâncias pode ser fator inibitório para o desenvolvimento de plantas vizinhas (Linder et al., 1957).

Alguns herbicidas também são capazes de ser exsudados pelo sistema radicular de plantas daninhas e de culturas agrícolas. O nicosulfuron, quando aplicado sobre o capim-massambará (*Sorghum halepense*), pode ser exsudado integralmente e, ou, na forma de metabólitos tóxicos pelo sistema radicular da planta daninha. Esses exsudados podem ser absorvidos pela cultura do milho, ou podem modificar a composição aleloquímica desta planta, acentuando a toxicidade sobre a cultura (Gubbiga et al., 1996). Coupland e Caseley (1979) verificaram a exsudação radicular de glyphosate por *Agropyron repens* após acúmulo do herbicida em raízes e rizomas da planta. Acumulação em estruturas da planta, com posterior exsudação, foi constatada por Fites et al. (1964) em plantas de quinquilho (*Datura stramonium*) após seis semanas da aplicação foliar de 2,4-D. Segundo Silva (2002), o herbicida imazapyr, usado no controle de rebrota de eucalipto, é exsudado pelas raízes, podendo afetar o crescimento e estabelecimento de plantas da mesma espécie no caso da reforma do reflorestamento.

Na cultura do eucalipto, o glyphosate é utilizado para o controle de plantas daninhas nas entrelinhas, podendo entrar em contato com o mesmo via deriva. Existe ainda a possibilidade de contato via exsudação radicular pelas plantas daninhas tratadas. No campo, é difícil determinar a maneira como o glyphosate entra em contato com as plantas de eucalipto; entretanto, seus efeitos sobre a cultura são visíveis. Uma vez em contato com o eucalipto, o glyphosate pode causar danos diretos ou indiretos, como aumentar a susceptibilidade a doenças. Segundo Rizzardi (2003), alguns dos efeitos dos herbicidas podem interferir nas reações das plantas ao ataque de patógenos; essa interferência pode ser quanto à severidade da doença ou na indução à síntese de fitoalexinas. De acordo com Lévesque e Rahe (1992), subdoses de glyphosate podem influenciar na redução do acúmulo tanto de fitoalexinas quanto de lignina, consideradas barreiras físico-fisiológicas da planta, levando a uma maior severidade de doenças.

O glyphosate, em contato com o solo, via pulverização, ou exsudado pelas plantas daninhas, pode ser adsorvido às partículas de solo, biodegradado pelos

microrganismos do solo (Rodrigues e Almeida, 1998; Rueppel et al., 1977) ou ser absorvido pelas raízes do eucalipto, principalmente aquelas muito próximas a raízes de plantas daninhas tratadas com o herbicida.

Os microrganismos têm um papel fundamental no comportamento dos herbicidas no ambiente, pois possuem a capacidade de metabolizar estes compostos, através de suas enzimas, e transformá-los em energia e nutrientes para a sua sobrevivência. A taxa de degradação de pesticidas é influenciada pela biomassa microbiana ativa e disponibilidade do composto para a biodegradação (Beigel et al., 1999), sendo a degradação conhecida como a transformação destes produtos em compostos menos tóxicos, CO₂ e água. A degradação microbiana do glyphosate leva à formação do seu principal metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA) e finalmente CO₂ (Rodrigues e Almeida, 1998). Os efeitos adversos decorrentes da aplicação de herbicidas podem ocorrer na comunidade biótica do solo, com prejuízos aos microrganismos benéficos, ou pode ocasionar desequilíbrios em processos bioquímicos, tais como decomposição da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (Ghini et al., 1997).

A quantidade de CO₂, desprendida do solo, determinada por métodos respirométricos, tem sido usada para estimação da atividade microbiana no solo, do tamanho da biomassa e do metabolismo do carbono disponível no solo.

Diante da importância e dos riscos do uso do glyphosate nos agrossistemas florestais, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a possível exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto, cultivadas em solo e em solução nutritiva, e quantificar a respiração microbiana, em diferentes manejos, com o glyphosate.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.

Ensaio em solução nutritiva

O ensaio em solução nutritiva foi realizado entre os meses de fevereiro e abril de 2004, utilizando-se a solução de Clark (Clark, 1975) modificada.

Foram utilizadas mudas de *Eucalyptus grandis* com aproximadamente dois meses de idade e 12 cm de altura, cultivadas em sacolas plásticas contendo solo argiloso, cedidas pelo Instituto Estadual de Florestas (IEF). Plantas de braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf) foram cultivadas em caixas de isopor com células, contendo substrato orgânico até atingirem 10 cm de altura. Após este período, as mudas de braquiária e de eucalipto tiveram seu sistema radicular lavado cuidadosamente, visando retirar todo substrato. Posteriormente à lavagem, as mudas foram aclimatadas, durante uma semana, em bandejas de polietileno, com capacidade para 30 L, contendo a solução proposta a 50% de sua concentração.

Após aclimação, as mudas foram transferidas para vasos plásticos com 8,0 L de solução, com tampas contendo cinco perfurações de 2,0 cm e uma de 1,0 cm de diâmetro. Nas perfurações de 2,0 cm, foram colocadas uma muda de eucalipto e quatro mudas de braquiária. A perfuração menor foi destinada ao tubo de arejamento da solução. O volume da solução dos vasos foi completado diariamente com água desionizada e o pH ajustado para $5,8 \pm 0,3$ com NaOH ou HCl. As trocas da solução nutritiva foram efetuadas quando a condutividade elétrica da solução era reduzida em 30% em relação ao seu valor original.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com seis repetições, e cada vaso considerado como uma parcela experimental. As plantas de eucalipto e braquiária permaneceram em consórcio na solução hidropônica por 30

dias, sendo as plantas de braquiária podadas aos 15 dias após o transplante, visando estimular o perfilhamento. Após este período, as plantas de braquiária apresentavam, em média, 2842,24 cm² de índice de área foliar e 12,25 cm³ de volume radicular por planta, e as mudas de eucalipto, 4,5 cm³ de volume de raiz e cerca de 30 cm de altura. Nesta época, foram aplicados os tratamentos correspondentes a 0; 720; 1.440; 2.160 e 2.880 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate na forma do sal de isopropilamina. A aplicação foi realizada sobre as plantas de braquiária, utilizando pulverizador costal de precisão, propelido a gás carbônico, munido de barra com dois bicos tipo leque TT110.02, operando a 250 KPa de pressão e volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹. No momento da aplicação, as mudas de eucalipto e o recipiente com a solução nutritiva foram totalmente protegidos com plástico, evitando, assim, o contato com a calda herbicida pulverizada. Após a aplicação do glyphosate, a parte aérea das mudas de eucalipto permaneceu por 10 horas isolada da parte aérea das plantas de braquiária por meio de uma tela de nylon branca. A partir desta época, não mais se efetuou a troca da solução nutritiva, completando-se apenas o volume com água e ajustando-se o pH.

Aos 7 e 14 dias após a aplicação (DAA) do glyphosate, foi avaliada, visualmente, a eficácia do herbicida na braquiária, através da avaliação visual da porcentagem de controle em relação à testemunha, onde 0% corresponde à ausência de sintomas visíveis e 100% à morte das plantas (Frans, 1972).

Para comprovação da exsudação radicular do glyphosate pelas plantas de braquiária pulverizadas, foi avaliada a intoxicação no eucalipto, após a aplicação do herbicida na braquiária, onde 0 % representa a ausência de sintomas e 100%, a morte das plantas.

Avaliações referentes à altura das plantas (região entre o colo e o ápice da planta), diâmetro do caule a 1 cm do coleto e biomassa seca da parte aérea e raiz foram realizadas aos 28 DAA, sendo os dados submetidos à análise estatística.

Ensaio no solo

O ensaio foi realizado entre os meses de fevereiro e abril de 2004, utilizando-se mudas de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* (Clone 1213 da CENIBRA), com aproximadamente três meses de idade, cultivadas em tubetes de polipropileno de 55 cm³ de capacidade, com substrato composto de vermiculita e casca de arroz carbonizada. As mudas foram plantadas em 72 vasos de 10 L, 36, contendo solo franco-argilo-arenoso e 36 solo argiloso, cujas características físicas e químicas estão apresentadas na Tabela 1. O solo de cada vaso recebeu 216,6 g da formulação 6-30-6 (N-P-K) e 12 g de calcário, com relação Ca : Mg = 4:1 equivalentes. Durante o crescimento das mudas, efetuaram-se duas adubações de cobertura, aplicando-se 6 g/vaso da formulação 20-5-20 (N-P-K). Simultaneamente ao plantio das mudas de eucalipto foram semeados 10 vasos (cinco para cada tipo de solo) com *Brachiaria decumbens* de forma a obter seis plantas/vaso após o desbaste.

Após o plantio das mudas de eucalipto, 48 vasos (24 de cada solo) receberam o transplante de 5 mudas/vaso de *Brachiaria decumbens*, com aproximadamente 10 cm de altura, previamente cultivadas em bandejas de polipropileno com substrato de vermiculita e casca de arroz. As plantas de braquiária foram cultivadas em consórcio com a muda de eucalipto, procedendo-se duas podas aos 20 cm de altura das plantas de braquiária, aos 15 e 30 dias após o transplante, visando o perfilhamento da gramínea. Os outros 24 vasos permaneceram com mudas de eucalipto em monocultivo.

Tabela 1: Características físicas e químicas dos solos usados para o plantio do eucalipto.

Classe textural dos solos	Areia	Silte	Argila	pH (H ₂ O)	MO	H + Al	T	V
	dag/kg				dag/kg	cmol _c /dm ³		%
Franco-argilo-arenoso	75	4	21	6,12	1,38	2,3	4,40	47,8
Argiloso	38	10	52	5,73	2,76	3,6	7,00	48,6

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com seis repetições, sendo cada vaso considerado como uma parcela experimental. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 2 x 6 (dois tipos de solo e seis combinações eucalipto – braquiária - glyphosate).

Os tratamentos testados foram: 1- Eucalipto consorciado com braquiária (testemunha); 2- Eucalipto em monocultivo, com 1440 g ha⁻¹ de glyphosate aplicado no solo; 3- eucalipto com palha de braquiaria, pulverizada com 1440 g ha⁻¹ de glyphosate; 4- Eucalipto consorciado com braquiária, que recebeu 720 g ha⁻¹ de glyphosate; 5- Eucalipto consorciado com braquiária, que recebeu 1440 g ha⁻¹ de glyphosate; 6- Eucalipto consorciado com braquiária, que recebeu 2880 g ha⁻¹ de glyphosate.

A formulação de glyphosate utilizada foi o Roundup CS (sal de isopropilamina), que foi aplicado sobre as plantas de braquiária, nos tratamentos 4, 5 e 6. O tratamento 2 recebeu a aplicação do glyphosate diretamente no solo. Para aplicação, utilizou-se pulverizador costal de precisão, propelido a gás carbônico, munido de barra com dois bicos tipo leque TT110.02, operando a 250 KPa de pressão e volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹, sendo a muda de eucalipto totalmente protegida com um plástico, evitando, assim, o seu contato com a calda herbicida pulverizada. Após a aplicação do glyphosate, as partes aéreas das mudas de eucalipto permaneceram, por 10 horas, isoladas das plantas de braquiária, por meio de uma tela de nylon branca. No tratamento 3, plantas de braquiária, cultivadas em vasos por 30 dias, receberam a pulverização de calda com 1440 g ha⁻¹ de glyphosate. Aos 7 DAA, a parte aérea das plantas de braquiária foram cortadas rentes ao solo e colocadas sobre os vasos de eucalipto, no mesmo dia da aplicação dos demais tratamentos. Na época da aplicação dos tratamentos, as plantas de eucalipto apresentavam aproximadamente 50 cm de altura.

Aos 7 e 14 dias após a aplicação (DAA), foi avaliada visualmente a eficácia do herbicida no controle da braquiária, avaliando a intoxicação em relação à

testemunha, onde 0% corresponde à ausência de sintomas visíveis e 100% à morte das plantas (Frans, 1972). Avaliações referentes à altura das plantas (região entre o colo e o ápice da planta), diâmetro do caule a 1 cm de altura do solo e biomassa seca da parte aérea foram realizadas aos 18 DAA. Nesta mesma data, foram feitas coletas de solo na camada de 1 a 10 cm de profundidade de cada vaso, sendo as amostras acondicionadas em sacos plásticos, fechados frouxamente para possibilitar a respiração dos microrganismos, mantidos à temperatura de 4°C por 15 dias.

Para quantificação da respiração microbiana, as amostras foram deixadas sob a temperatura ambiente, sendo, em seguida, peneiradas em malha de 2 mm, determinando-se, posteriormente, o peso seco e a capacidade de campo. De cada amostra, 100 g tiveram sua umidade ajustada para 60% da capacidade de campo, sendo colocadas em potes de plástico, de capacidade de 2 L, com tampa. Os potes foram acrescidos de um copo plástico (50 mL capacidade,) contendo 20 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1,0 mol L⁻¹, sendo a tampa posteriormente fechada, evitando a troca de ar entre o pote e o ambiente.

O dióxido de carbono desprendido foi amostrado aos 1, 3, 6, 10, 15 e 30 dias após a incubação do solo, substituindo o copo com a solução de NaOH por outro, com 20 mL da mesma solução. Do NaOH retirado, tomaram-se duas alíquotas de 5 mL, adicionadas em erlenmeyer de 125 mL, contendo 5 mL de cloreto de bário (BaCl₂) 0,5 mol L⁻¹ para precipitar todo CO₂ reagido com o NaOH, e três gotas de fenolftaleína, como indicador, sendo a mistura titulada com HCl 0,5 mol L⁻¹ até a viragem, anotando-se o volume gasto.

O mesmo procedimento descrito acima foi utilizado para testemunha sem adição de solo (branco) para determinar a quantidade de CO₂, desprendido devido à atividade microbiana, calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{mg CO}_2/100 \text{ g de solo} = [(\text{mL HCl}_{\text{gasto}} \text{ branco}) - (\text{mL HCl}_{\text{gasto}} \text{ tratamento})] \times M \times 22 \times 4;$$

Os dados coletados foram submetidos à análise estatística pelo programa SAEG, sendo ajustadas curvas de regressão do CO₂, liberado em função dos dias após a incubação do solo.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio em solução nutritiva

Aos sete dias após aplicação (DAA) do glyphosate, todos os tratamentos com o herbicida proporcionaram controle muito bom (acima de 85%) da braquiária. Aos 15 DAA, o glyphosate apresentou controle acima de 95% nas plantas de braquiária que apresentavam raízes com coloração amarronzada, indicando a necrose dos tecidos.

Não houve variação na altura, diâmetro e matéria seca da raiz e parte aérea das plantas de eucalipto ($p > 0,05$). Visualmente, não foi constatado nenhum sintoma de intoxicação nas mudas de eucalipto durante a condução do experimento, o que não confirma se houve ou não exsudação do glyphosate pela braquiária. Esses resultados sugerem que as quantidades do herbicida liberadas na solução nutritiva, via exsudação, podem ter sido muito baixas para provocarem injúrias no eucalipto, ou que a braquiária não libera o glyphosate via exsudação radicular.

Os resultados permitem afirmar que o herbicida possivelmente exsudado pelas raízes de plantas daninhas tratadas não é a causa das injúrias observadas no campo, em plantas de eucalipto. Provavelmente, as injúrias observadas em áreas onde o glyphosate é usado para o controle de plantas daninhas em eucalipto sejam causadas, em sua grande maioria, pela deriva. Segundo Tuffi Santos et al. 2004, plantas de eucalipto, expostas à deriva simulada com doses a 86,4 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, apresentam alterações morfoanatomicas e redução no crescimento.

Ensaio no solo

Assim como na solução nutritiva, aos 7 DAA do glyphosate, todos os tratamentos com herbicida proporcionaram controle acima de 85% de intoxicação, chegando aos 15 DAA, com a morte da braquiária.

Visualmente, não foi constatada a presença de sintomas de intoxicação nas mudas de eucalipto, durante a condução do experimento. Os resultados observados são esperados, uma vez que o glyphosate é rapidamente adsorvido pelos colóides do solo (Rodrigues e Almeida, 1995), não ficando disponível na solução do solo, para absorção pelas plantas. No dois solos, o glyphosate pode ter sido exsudado pelas raízes de braquiária e absorvido pelas plantas de eucalipto, mas em quantidades inferiores às necessárias para causar injúrias na planta.

Rodrigues et al. (1982), trabalhando com exsudação radicular do glyphosate em dois solos arenosos, 86 e 56 % de areia, comprovou a exsudação radicular de ^{14}C - glyphosate por plantas de trigo tratadas com este herbicida. No mesmo experimento, o autor descreve a absorção do ^{14}C - glyphosate pelas raízes de milho cultivadas ao lado das plantas de trigo, sendo que o herbicida absorvido foi translocado para todas as partes da planta, apesar das maiores concentrações serem encontradas nas raízes. Entretanto, o ^{14}C - glyphosate absorvido não causou nenhum sintoma de intoxicação nas plantas de milho, não afetando a altura das plantas e nem a matéria seca. Os resultados dos ensaios com deriva do glyphosate em eucalipto (Tuffi Santos et al., 2004) confirmam que esta espécie é mais tolerante ao glyphosate que a cultura do milho (Magalhães et al., 2001).

A matéria seca e diâmetro da parte aérea das plantas de eucalipto diferiram estatisticamente entre os tratamentos pelo Teste F ($p < 0,05$), não sendo observada diferença na altura das plantas. Não houve diferença pelo Teste F ($p < 0,05$) para as características avaliadas entre os dois solos, e para interação solo*manejos. Tanto no solo arenoso quanto no argiloso, os tratamentos compostos de plantas de eucaliptos, cultivadas isoladamente, obtiveram os maiores valores de diâmetro do caule e matéria seca (Tabela 2), o que pode ser explicado pela competição que é imposta

pelas plantas de braquiária nos demais tratamentos, em consórcio braquiária + eucalipto.

As análises dos resultados da respiração microbiana indicaram diferença estatística entre as variáveis solo e época de avaliação pelo Teste F ($p < 0,05$), não sendo significativas para os manejos empregados e nas interações ($p > 0,05$). Na Figura 1, encontram-se as regressões para os diferentes tratamentos, nos dois solos, da quantidade de CO_2 liberada ($\text{mg CO}_2 / 100 \text{ g de solo}$), em função da época de avaliação (dias).

Tabela 2: Valores médios do crescimento de plantas de eucalipto submetidas a diferentes manejos com herbicida glyphosate.

Solo	Manejo	Altura (cm)	Diâmetro (cm)	Matéria Seca (g)
Arenoso	Eucalipto consorciado com braquiária	90,83 a	1,00 b	44,15 b
	Eucalipto monocultivo + 1440 g ha ⁻¹ de glyphosate no solo	87,83 a	1,28 a	73,53 a
	Eucalipto + palha de braquiária tratada com 1440 g ha ⁻¹ de glyphosate	85,00 a	1,31 a	58,53 ab
	Eucalipto consorciado com braquiária + 720 g ha ⁻¹ de glyphosate	86,00 a	1,07 b	45,60 b
	Eucalipto consorciado com braquiária + 1440 g ha ⁻¹ de glyphosate	86,02 a	1,10 b	45,82 b
	Eucalipto consorciado com braquiária + 2880 g ha ⁻¹ de glyphosate	90,16 a	1,09 b	44,18 b
CV(%)		6,51	10,38	18,21
Argiloso	Eucalipto consorciado com braquiária	87,17 a	1,09 bc	51,25 b
	Eucalipto sem braquiária + 1440 g ha ⁻¹ de glyphosate no solo	91,67 a	1,27 ab	84,78 a
	Eucalipto + palha de braquiária tratada com 1440 g ha ⁻¹ de glyphosate	93,17 a	1,33 a	79,10 a
	Eucalipto consorciado com braquiária + 720 g ha ⁻¹ de glyphosate	81,68 a	1,08 c	43,42 b
	Eucalipto consorciado com braquiária + 1440 g ha ⁻¹ de glyphosate	85,50 a	1,13 bc	51,37 b
	Eucalipto consorciado com braquiária + 2880 g ha ⁻¹ de glyphosate	87,67 a	1,14 bc	53,15 b
CV(%)		7,59	8,92	12,83

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Após a incubação, em geral, houve uma maior respiração microbiana no solo arenoso quando comparado ao argiloso. Solos arenosos apresentam maior porcentagem de macroporos, o que leva a maior aeração, favorecendo a atividade da biota aeróbica destes solos. Souza (1999), trabalhando com solo argiloso e arenoso, relata maior respiração microbiana no solo arenoso, principalmente com 100% de umidade do solo. Segundo Pivetz e Steenhuis (1995), os macroporos podem facilitar a degradação microbiana, devido a maior disponibilidade de oxigênio, nutrientes, substratos orgânicos e maiores populações de microrganismos.

Assis Júnior et al. (2003), trabalhando com atividade microbiana no solo em diferentes sistemas de uso da terra, relatam maior atividade da microbiota, ao 20º dia após a incubação, nos sistemas mata nativa e pastagem em monocultura e consorciada com eucalipto, quando comparado com áreas desmatadas, eucalipto solteiro, eucalipto com sub-bosque, eucalipto em consorcio com milho, eucalipto em consorcio com soja e com os monocultivos de soja e milho. Della Bruna et al. (1991) encontraram maior atividade sob a mata nativa do que em reflorestamento com eucalipto, observando que solos sob eucalipto apresentam menor teor de bases e maior relação carbono/nitrogênio, o que contribui para menor atividade microbiana nestes sistemas.

Os tratamentos que receberam a aplicação do glyphosate diretamente no solo ou na braquiária, apesar de não diferirem estatisticamente entre si, nota-se uma maior atividade microbiana em valores absolutos com o aumento das doses do herbicida, principalmente no solo arenoso. Esse resultado indica a utilização do glyphosate como fonte de carbono pelos microrganismos do solo, o que corrobora com os resultados de Sprankle et al. (1975) e Souza et al. (1999). Sprankle et al. (1975) consideram a ação dos microrganismos como o principal fator responsável pela degradação do glyphosate no solo. Segundo Heinonen-Tanski (1998) e Wardle et al. (1994), a degradação esta diretamente relacionada ao CO₂ liberado do solo.

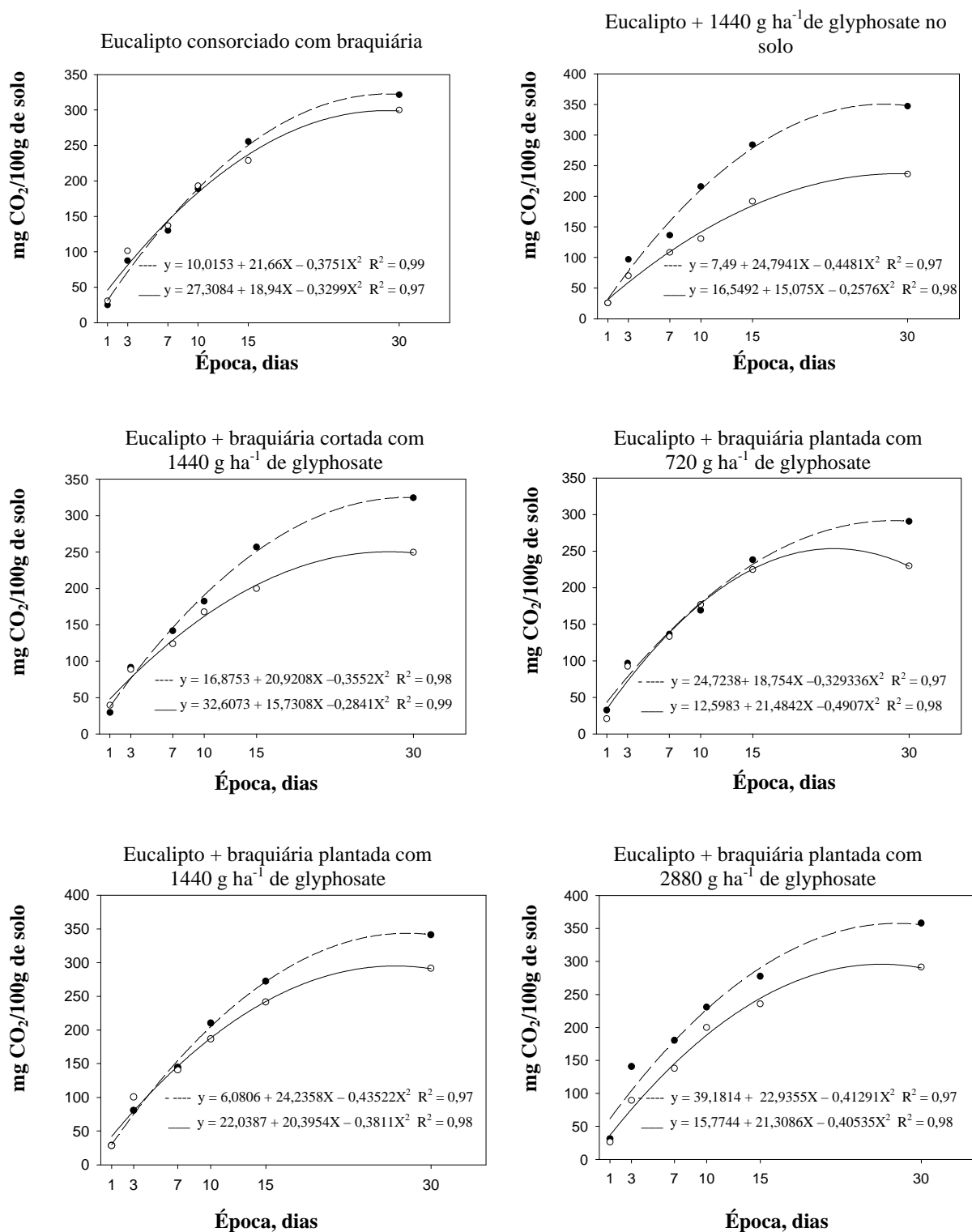


Figura 1: Quantidade de CO₂ liberado pela atividade microbiana nos solos arenoso e argiloso nas diferentes combinações de manejo com glyphosate, na cultura do eucalipto (--- solo arenoso; solo argiloso).

As concentrações de glyphosate presentes no solo arenoso podem estar mais disponíveis para a biodegradação do que no solo argiloso. Segundo Souza et al. (1999), a interação entre microorganismos, substrato e constituintes do solo pode alterar a biodegradação dos herbicidas, sendo maior ou menor de acordo com a capacidade adsortiva do solo. Assim, a adsorção pode reduzir as concentrações do herbicida na solução do solo de forma a não induzir a sua biodegradação (Madsen, 1991), ou a níveis não tóxicos aos microorganismos, o que resultaria no aumento da degradação destas moléculas (Van Loosdrecht et al., 1990); tal fato pode explicar a variação nas quantidades de CO₂, liberadas entre os solos arenoso e argiloso.

A presença do glyphosate nos solos florestais pode favorecer a microbiota que consegue degradar este herbicida, e, por outro lado, suprimir outros microorganismos, inclusive microrganismo benéficos, alterando assim o equilíbrio da microfauna destes ambientes. Paula Júnior e Zambolim (1994) relatam que o glyphosate reduz a colonização das raízes de eucalipto por micorrizas. Segundo Dodd e Jeffries (1989), é muito provável que o uso freqüente de herbicidas em uma determinada área possa causar inibição seletiva de fungos micorrizicos no campo.

4.6 CONCLUSÕES

Tanto no experimento em hidroponia como no experimento no solo, todas as doses usadas promoveram controle da braquiária superiores a 95%

Não foram observados sintomas de intoxicação nas plantas de eucalipto cultivadas em sistema hidropônico ou no solo, indicando que, se houve exsudação do glyphosate, ela ocorreu em concentrações inferiores às necessárias para provocar injúrias no eucalipto. Logo, o herbicida exsudado pelas raízes de plantas daninhas tratadas não é a causa das injúrias observadas no campo em plantas de eucalipto.

A atividade microbiana foi maior no solo arenoso, principalmente com o aumento das doses de glyphosate, aplicadas nas plantas de braquiária.

4.7 LITERATURA CITADA

ASSIS JUNIOR, S.L.; ZANUNCIO, J.C.; KASUYA, M.C.M.; COUTO, L.; MELIDO, R.C.N. Atividade microbiana do solo em sistemas agroflorestais, monoculturas, mata natural e área desmatada. **Revista Árvore**, v. 27, n. 1, p. 35 - 41, 2003.

BEIGEL C.; CHARNAY, M.P.; BARRIUSO, E. Degradation of formulated and informulated triticonazole fungicide in soil: effect of application rate. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 31, p.525-534, 1999.

CLARK, R.B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal Agricultural Food Chemical**, v.23, n.3, p.458 - 460, 1975.

COLE, D.J., CASELEY, J.C., DODGE, A.D. Influence of glyphosate on selected plant process. **Weed Research**, Oxford, v.23, p. 173-183, 1983.

COUPLAND, D. e CASELEY, J.C. Presence of ¹⁴C activity in root exsudates and guttation fluid from *Agropyron repens* treated with ¹⁴C-labelled glyphosate. **New Phytologist**, v.83, n.1, p.17-22, 1979.

DELLA BRUNA, E. et al. Atividade da microbiota de solos adicionados de serapilheira de eucalipto e de nutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 15, p. 15-20, 1991.

DODD, J.C. e JEFFRIES, P. Effects of herbicides on tree vesicular-arbuscular fungi associated with winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Biology Fertility Soils**, v.7, p.113-119, 1989.

FITES, R.C.; SLIFE, F.W.; HANSON, J.B. Translocation and metabolism of radioactive 2,4-D in jimsonweed. **Weeds**, v.12, n.3, p.180-183, 1964.

FOLEY, M.E., NAFZIGER, E.D., SLIFE, F.W., WAX, L.M. Effect of glyphosate on protein and nucleic acid synthesis and ATP levels in common cocklebur (*Xanthium pensylvanicum*) root tissue. **Weed Science**, Champaign, v. 31, p. 76-80, 1983.

FRANS, R.E. Measuring plant responses. In: Wilkinson, R. E., ed. **Research Methods in Weed Science**. Southern Weed Science Society, 1972. p.28-41.

GHINI, R.; LIGO, M.A.V.; HERMES, L.C. Efeito de herbicidas na biomassa microbiana de solos de arroz irrigado. **Revista Ecosistema**, v.22, p.97 – 101, 1997.

GUBBIGA, N.G.; WORSHAM, A.D.; CORBIN, F.T. Root/rhizome exudation of nicosulfuron from treated johnsongrass (*Sorghum halepense*) and possible implications for corn (*Zea mays*). **Weed Science**, v.44, n.3, p.455-460, 1996.

HEINONEN-TANSKI, H. The effect of temperature and liming on the degradation of glyphosate in two arctic forest soils. **Soil Biology Biochemistry**, v.21, n.2, p.313-317, 1989.

HESS, F.D. Mechanism of action of inhibitors of amino acid biosynthesis. In: **Herbicide action: an intensive course on the activity, selectivity, behavior and fate of herbicides in plants and soil**. West Lafayette, Indiana: Purdue University, 1994. p. 344-365.

LÉVESQUE, C.A.; RAHE, J.E. Herbicide interaction with fungal root pathogens, with special reference to glyphosate. **Annual Review Phytopathology**, v.30, p.579-602, 1992.

LINDER, P.J.; CRAIG JR, J.C.; WALTON, T.R. Movement of ¹⁴C-tagged alpha-methoxyphenylacetic acid out of roots. **Plant Physiology**, v.32, n.6, p.572- 575, 1957.

LINDER, P.J.; MITCHELL, J.W.; FREEMAN, G.D. Persistence and translocation of exogenous regulating compounds that exude from roots. **Journal Agricultural Food Chemical**, v.12, n.5, p.437-438, 1964.

MADSEN, E.L. Determining *in situ* biodegradation: facts and challenges. **Environment Science Technology**, v.25, n.1, p.1663-1673, 1991.

MAGALHÃES, P.C.; SILVA, J.B.; DURÃES, F.O.M.; KARAM, D.; RIBEIRO, L.S. Efeito de doses reduzidas de glyphosate e paraquat simulando deriva na cultura do milho. **Planta Daninha**, v.19, n.2, p.247-253, 2001a.

PAULA JUNIOR, T.Z.; ZAMBOLIM, L. Efeito de fungicidas e de herbicidas sobre a micorrização de *Eucalyptus grandis* por *Glomus etunicatum*. **Fitopatologia Brasileira**, v.19, n.2, p.173-177, 1994.

PIVETZ, B.E.; STEENHUIS, T.S. Soil matrix and macropore biodegradation of 2,4-D. **Journal Environment Quality**, v.24, n.4, p.564-570, 1995.

RIZZARD, M.A.; FLECK, N.G.; AGOSTINETO, D.; BALBINOT JR, A.A. Ação dos herbicidas sobre o mecanismo de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p. 957-965, 2003.

RODRIGUES, J.J.V.; WORSHAM, A.D.; CORBIN, F.T. Exudation of glyphosate from wheat (*Triticum aestivum*) plants and its effects on interplanted corn (*Zea mays*) and soybeans (*Glycine max*). **Weed Science**, v. 30, p. 316-320, 1982.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 4. RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. (Eds): Londrina, 1998. 331p.

RUEPPEL, M.L.; BRIGHTWELL, B.B.; SHAEFER, J. et al. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. **Journal Agriculture Food Chemical**, v.25, v.3, p.517-528, 1977.

SILVA, C.M.M. Exsudação radicular de imazapyr por plantas de *Eucalyptus* spp. (Tese de Mestrado), Viçosa, UFV. 64p., 2002.

SMITH, W.H. Character and significance of Forest tree root exudates. **Ecology**, v.57, n.2, p.324-331, 1976.

SPRANKLE, P., MEGGITT, W.F., PENNER, D. Adsorption, mobility and microbial degradation of glyphosate in the soil. **Weed Research**, v.23, n.3, p.229-234, 1975.

SOUZA, A.P.; FERREIRA, F.A.; SILVA, A.A.; CARDOSO; A.A.; RUIZ; H.A. Respiração microbiana do solo sob doses de glyphosate e de imazapyr. **Planta Daninha**, v. 17, n.3, p. 387-398. 1999.

TOLEDO, R.E.B; VICTORIA FILHO, R.; ALVES, P.L.C.A.; PITELLI, R.A.; LOPES, M.A.F. Faixas de controle de plantas daninhas e seus reflexos no crescimento de plantas de eucalipto. **Scientia Forestalis**, v.64, p.78-92, 2003.

TUFFI SANTOS, L.D; FERREIRA, F.A.; BARROS, N.F.; FERREIRA, L.R.; SIQUEIRA, C.H.; MACHADO, A.F.L. Simulação de deriva do glyphosate em eucalipto. In: XXIV CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS (24º: 2004: São Pedro, SP). **Resumos Expandidos...** São Pedro, SP: SBCPD, 2004.

VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; LYKLEMA, J.; NORDE, W. Influence of interfaces on microbial activity. **Microbiology Review**, v.54, n.1, p.75-87, 1990.

WARDLE, D.A.; NICHOLSON, K.S.; RAHMAN, A. Influence of herbicide applications on the decomposition, microbial biomass and microbial activity of pasture shoot and root litter. **N. Z. Journal Agriculture Research**, v.37, n.1, p.29-39, 1994.

5. RESUMO E CONCLUSÕES GERAIS

O eucalipto é a essência florestal mais utilizada nos programas de reflorestamento no Brasil, tendo importante papel social e econômico. O glyphosate é o herbicida mais usado no controle de plantas daninhas no eucalipto, sendo observados no campo sintomas de intoxicação na cultura pelo glyphosate. A forma como o glyphosate entra em contato com as plantas de eucalipto e dos reais efeitos do herbicida sobre a cultura e seu agrossistema não é conhecida. Duas hipóteses são levantadas para explicar o contato do glyphosate com as plantas de eucalipto: a deriva da calda herbicida aplicada e a exsudação radicular do glyphosate por plantas daninhas tratadas, com sua absorção, pelas raízes de eucalipto.

Diante da importância do uso do glyphosate para o estabelecimento da cultura do eucalipto e da necessidade de conhecer os reais efeitos deste herbicida sobre a cultura e seu agrossistema, foram realizados três experimentos para avaliar: o crescimento e a morfoanatomia foliar de plantas de eucalipto, submetidas à deriva simulada de glyphosate por meio de subdoses (0, 43.2, 86.4, 172.8 e 345.6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate); a exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos sobre plantas de eucalipto cultivadas em solo e em solução nutritiva; a respiração microbiana, sob diferentes manejos, com o herbicida glyphosate; a tolerância de diferentes clones de eucalipto, à deriva simulada do glyphosate.

Os sintomas da deriva do glyphosate em plantas de eucalipto podem ser verificados entre o quarto e quinto dia após aplicação do herbicida, sendo semelhantes para *E. grandis*, *E. urophylla* e para seus híbridos, caracterizados por murcha, clorose e enrolamento foliar, e, no caso de maiores doses, por necroses, senescência foliar e morte dos ponteiros.

Os efeitos da deriva do glyphosate foram proporcionais às doses testadas, sendo *E. urophylla* mais tolerante que *E. grandis* e *E. urograndis*, e a tolerância ao herbicida maior em plantas mais velhas.

As maiores doses de glyphosate causaram injúrias severas nas plantas de eucalipto, comprometendo o crescimento e causando alterações anatômicas, como: hiperplasia e divisão celular; formação de tecido de cicatrização, isolando as áreas afetadas; aumento da espessura do limbo, do parênquima lacunoso, da epiderme da face adaxial e principalmente do parênquima paliçádico; acúmulo de compostos fenólicos e morte de células epidérmicas, que podem ser via de entrada de patógenos.

Nos ensaios realizados para o estudo da exsudação radicular, não foram verificados sintomas de intoxicação nas plantas de eucalipto cultivadas em sistema hidropônico e também no solo, não podendo ser comprovada a exsudação do glyphosate pelas raízes de braquiária, tratadas com o herbicida. A exsudação pode ter ocorrido em concentrações inferiores às necessárias para provocar injúrias no eucalipto, sendo pouco provável que esta seja a forma de contato do glyphosate com plantas de eucalipto, responsável pelas injúrias observadas no campo.

No solo, a presença do glyphosate estimulou a atividade microbiana, principalmente no solo arenoso, onde a molécula herbicida fica mais disponível para biodegradação que no solo argiloso.

Os resultados reforçam a idéia da importância do conhecimento do destino final desta molécula herbicida, sendo necessário cuidados redobrados na tecnologia de aplicação do herbicida e no melhor conhecimento do ecossistema onde o produto será aplicado, visando otimizar o manejo de plantas daninhas e a produção da cultura.

Diante das vantagens do uso do glyphosate no controle de plantas daninhas em eucalipto e da sua crescente utilização, torna-se necessário o estudo da ação desse produto sobre os diferentes materiais genéticos utilizados em reflorestamentos de eucalipto, bem como o melhor conhecimento dos seus efeitos entre as interações - eucalipto versus patógenos e microrganismos do solo- de importância para a cultura e seu ecossistema.