

CRESCIMENTO INICIAL E TEORES DE GLYPHOSATE E ÁCIDO CHIQUÍMICO EM CLONES DE *Eucalyptus urograndis*

CARVALHO, L. B. (CAV/UDESC – Lages/SC – leonardo.carvalho@udesc.br), ALVES, P. L. C. A. (FCAV/UNESP – Jaboticabal/SP – plalves@fcav.unesp.br), CARBONARI, C. A. (FCA/UNESP – Botucatu/SP – carbonari@fca.unesp.br), VELINI, E. D. (FCA/UNESP – Botucatu/SP – velini@fca.unesp.br)

RESUMO – O objetivo foi avaliar o crescimento inicial e os teores de glyphosate e ácido chiquímico nos clones C219 e GG100 de *E. urograndis* expostos a glyphosate. Doses de 0 a 720 g ea ha⁻¹ foram aplicadas e a massa seca foi avaliada aos 30 dias após aplicação (DAA). Dose de 180 g ea ha⁻¹ foi aplicada e os teores de glyphosate e ácido chiquímico foram avaliados em 1, 2, 4 e 7 DAA. C219 tolerou doses 2 vezes maiores que GG100. Teores maiores de glyphosate foram encontrados em GG100 em 1 DAA (68%) e 7 DAA (65%), assim como teores de ácido chiquímico (126% e 83%, respectivamente).

Palavras-chave: Eucalipto, *N*-(fosfonometil)glicina, Deriva simulada, Metabolismo.

INTRODUÇÃO

O eucalipto (*Eucalyptus* spp.) é a principal cultura florestal do Brasil, com 5,1 milhões de hectares plantados, sendo o terceiro país maior produtor mundial de celulose (ABRAF, 2013). Destaca-se o cultivo de clones de *E. grandis* x *E. urophylla* (*E. urograndis*), representando 95% da área plantada com eucalipto no país. No entanto, a cultura está sujeita à interferência de plantas daninhas que crescem conjuntamente com as plantas e eucalipto, devendo haver controle eficiente para não ocorrer redução na produtividade. O uso de glyphosate na linha de plantio, associado à roçada na entrelinha, tem sido utilizado de maneira eficiente. No entanto, por ser herbicida não-seletivo, pode ocorrer injúrias na cultura caso ocorra deriva ou aplicação acidental do produto.

Como é comum a ocorrência de deriva em condições de campo (CARVALHO et al., 2014), o objetivo com esta pesquisa foi avaliar o crescimento inicial e os teores de glyphosate e ácido chiquímico em dois clones de *E. urograndis* expostos a glyphosate para analisar a resposta diferencial entre os clones e sua relação com as quantidades do herbicida e do metabólito encontradas nos tecidos foliares.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *E. urograndis*, clones C219 e GG100 (Fibria, minijardim clonal, Brasil), cultivadas em vasos de 3 L preenchidos com mistura de areia e substrato orgânico (2:1, v/v) e irrigadas com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) a 50%, foram mantidas em

câmara de crescimento com fotoperíodo de 14:10h (luz:escuro) e temperatura de 25 °C. Após 10 dias de aclimação, as plantas dos dois clones foram submetidas à aplicação de glyphosate, 360 g e.a. L⁻¹ de sal de isopropilamina (Monsanto, Roundup Original[®], Brasil), utilizando-se de pulverizador costal pressurizado a CO₂, com pressão de 200 kPa, munido de barra de pulverização contendo quatro pontas tipo leque TeeJet 80.02 VS e calibrado para volume de calda de 200 L ha⁻¹.

No primeiro experimento, o glyphosate foi aplicado na parte aérea dos dois clones nas doses de 0, 18, 36, 72, 180, 360 e 720 g e.a. ha⁻¹. Portanto, o experimento foi desenvolvido em esquema fatorial 2x7, tendo como fatores os dois clones e as sete doses de glyphosate, utilizando delineamento inteiramente casualizado com seis repetições. Aos 30 dias após a aplicação (DAA), as plantas foram cortadas rente ao substrato, postas a secar em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por sete dias. Em seguida, o material seco foi pesado em balança semi-analítica (0,01 g) para determinação da massa seca.

No segundo experimento, o glyphosate foi aplicado na parte aérea dos dois clones na dose de 180 g e.a. ha⁻¹. Nos períodos de 1, 2, 4 e 7 DAA, as folhas foram destacadas da planta, postas a secar em estufa (como descrito anteriormente), moídas em micro-moinho tipo Willey com malha 20 mesh e congeladas em freezer a 80 °C. As amostras congeladas foram enviados ao Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM, FCA/UNESP, Botucatu/SP), onde os teores de glyphosate e ácido chiquímico em tecidos foliares foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), seguindo metodologia descrita por Gomes (2011). O experimento foi desenvolvido em esquema fatorial 2x4, tendo como fatores os dois clones e as quatro épocas de avaliação em parcela subdividida, utilizando delineamento inteiramente casualizado com seis repetições.

A análise estatística do experimento foi realizada através do programa computacional SigmaPlot[®] (Systat, versão 10.0, EUA). Os dados de teores de glyphosate e ácido chiquímico foram submetidos à análise de regressão segundo os modelos: linear ($y = y_0 + ax$) ou quadrático ($y = y_0 + ax + bx^2$). Os dados de massa seca foram submetidos à análise de regressão segundo o modelo não-linear, log-logístico: $y = \min + (\max - \min) / [1 + (x^{\text{Hillslope}}/EC50)]$, em que y indica massa seca, min e max são coeficientes que expressam os valores mínimo e máximo de massa seca, Hillslope é a inclinação da curva, EC50 é o ponto de inflexão da curva (expressa a dose requerida para reduzir a massa seca em 50%) e x representa a dose de produto comercial usada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os clones C219 e GG100 apresentaram resposta diferencial do acúmulo de massa seca quando expostos a glyphosate, principalmente nas doses de 72 e 180 g ea ha⁻¹ (Figura 1). A dose requerida para reduzir a massa seca em 50% foi de 420 e 120 g ea ha⁻¹ para os

clones C219 e GG100, respectivamente, de modo que o clone C219 tolerou doses 2,0 vezes maiores que o clone GG100 (Tabela 1). A redução na massa seca na dose de 720 g ea ha⁻¹, no entanto, foi de 67% e 50%, respectivamente para os clones C219 e GG100. Em doses de até 18 g ea ha⁻¹ e de 360 g ea ha⁻¹ ou maiores, não houve diferenças significativas no crescimento dos dois clones. Portanto, considerando a dose de campo de 4 L ha⁻¹ de Roundup Original®, correspondente a 1.440 g ea ha⁻¹, a deriva de 2,5% (36 g ea ha⁻¹, 100 mL pc ha⁻¹) a 25% (360 g ea ha⁻¹, 1 L pc ha⁻¹) ocasionou redução de crescimento significativamente maior em plantas do clone GG100.

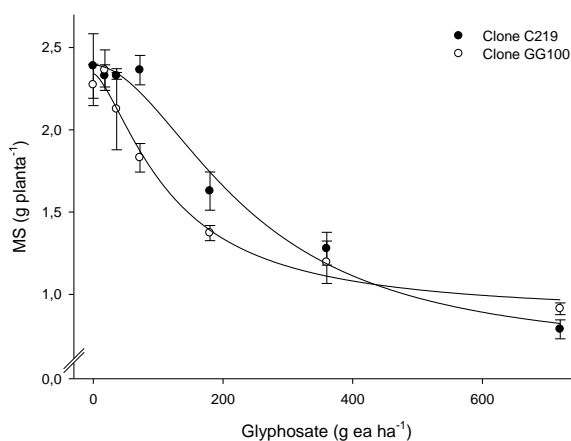


Figura 1. Acúmulo de massa seca em clones de *Eucalyptus urograndis* em resposta a doses de glyphosate.

Tabela 1. Parâmetros da equação e resumo da análise estatística usada para estimar a dose-resposta de clones de *Eucalyptus urograndis* a glyphosate.

| Clone | Parâmetros da Equação ¹ | | | | ANOVA ² | | | FT ³ |
|-------|------------------------------------|-------|------|-----------|--------------------|--------|-------|-----------------|
| | min | max | EC50 | Hillslope | R ² | F | P | |
| C219 | 0,627 | 2,393 | 240 | 1,890 | 0,965 | 55,866 | 0,004 | 2,0 |
| GG100 | 0,872 | 2,342 | 120 | 1,487 | 0,972 | 69,171 | 0,003 | 1,0 |

¹ Equação de regressão: $y = \min + (\max - \min) / [1 + (x^{\text{Hillslope}}/\text{EC50})]$, onde min é o valor mínimo de massa seca, max é o valor máximo de massa seca, EC50 é o ponto de inflexão da curva (representa a dose de herbicida requerida para reduzir a massa seca em 50%) e Hillslope é a inclinação da curva no ponto EC50. ² ANOVA: R², F e P são os valores do coeficiente de determinação ajustado e do F e do P (significância), respectivamente, do teste F para análise de regressão não linear. ³ FT é o fator de tolerância, calculado pela relação da EC50(C219)/EC50(GG100).

Na dose de 180 g ea ha⁻¹, em que houve diferença no acúmulo de massa seca entre os clones estudados (Figura 1), tanto o teor de glyphosate (Figura 2) quanto o teor de ácido chiquímico (Figura 3) apresentaram resposta diferencial entre C219 e GG100. O clone C219 apresentou resposta quadrática enquanto o clone GG100, linear, ao longo de 7 DAA, para ambos os teores de glyphosate e ácido chiquímico. Em geral, aos 2 e 4 DAA, não houve diferença significativa entre os clones estudados, sendo que, em média, C219 acumulou 891,7 µg mg⁻¹ de glyphosate e 45,3 µg g⁻¹ de ácido chiquímico, enquanto GG100, 910,8 µg mg⁻¹ de glyphosate e 48,1 µg g⁻¹ de ácido chiquímico. No entanto, diferença significativa entre os clones foi observada em 1 e 7 DAA.

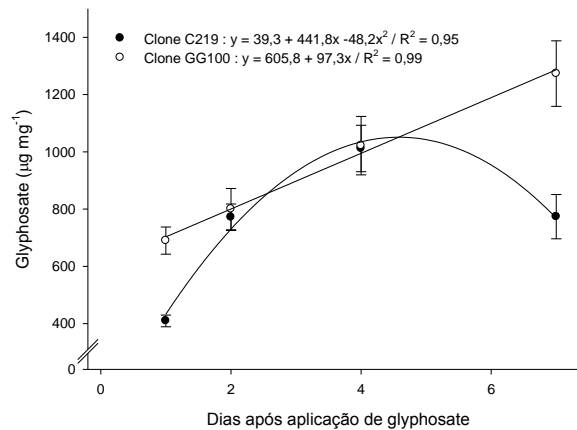


Figura 2. Teor de glyphosate em clones de *Eucalyptus urograndis* em diferentes épocas após a aplicação de 180 g ea ha⁻¹ do herbicida.

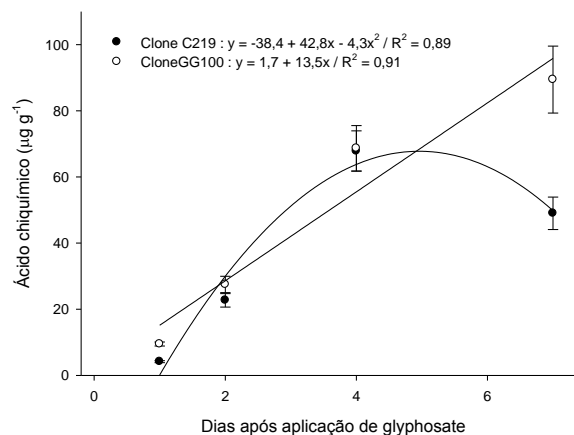


Figura 3. Teor de ácido chiquímico em clones de *Eucalyptus urograndis* em diferentes épocas após a aplicação de 180 g ea ha⁻¹ do herbicida

Em 1 DAA, C219 e GG100 apresentaram 409,7 e 690,0 µg mg⁻¹ de glyphosate, respectivamente, sendo que o teor de glyphosate em plantas de GG100 foi 68% maior que em C219; além disso, C219 e GG100 apresentaram 4,2 e 9,5 µg g⁻¹ de ácido chiquímico, respectivamente, sendo que o teor de glyphosate em GG100 foi 126% maior que em C219. Em 7 DAA, C219 e GG100 apresentaram 773,5 e 1.273,3 µg mg⁻¹ de glyphosate, respectivamente, sendo que o teor de glyphosate em GG100 foi 65% maior que em C219; além disso, C219 e GG100 apresentaram 49,0 e 89,4 µg g⁻¹ de ácido chiquímico, respectivamente, sendo que o teor de glyphosate em GG100 foi 83% maior que em C219.

A redução do crescimento de plantas expostas a glyphosate decorre da inibição da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), na via metabólica do chiquimato. A inibição na EPSPS acarreta acúmulo dos substratos utilizados na síntese de corismato, mais pronunciadamente de chiquimato (ácido chiquímico), por isso ocorreu acúmulo de ácido chiquímico em plantas expostas ao herbicida. Essa inibição ainda resulta em redução

na síntese dos aminoácidos aromáticos que são requeridos na síntese proteica (SIEHL, 1997), assim como produtos derivados dessa via metabólica, como ácido indolacético, lignina e metabólitos secundários que atuam na defesa da planta (LYDON; DUKE, 1989). A desregulação dessa via metabólica também causa carência de compostos necessários à fixação de carbono (SIEHL, 1997), processo rapidamente inibido pela ação do herbicida (SERVAITES et al., 1987).

Os maiores teores de glyphosate encontrados em plantas do clone GG100 evidenciam que mais herbicida foi absorvido por esse clone. Além disso, há evidências de que mais herbicida atinge o sítio de ação (EPSPS), causando maior bloqueio na via do chiquimato, pois maior teor de ácido chiquímico foi encontrado em plantas do clone GG100 (não foi encontrado AMPA, indicando que não há degradação do herbicida – dados não apresentados). No entanto, há necessidade de estudos sobre absorção e translocação para que se possa entender os mecanismos que levam à resposta diferencial entre os clones.

CONCLUSÃO

O clone C219 é pouco mais tolerante a glyphosate que o clone GG100, sendo que maiores teores de glyphosate e ácido chiquímico são encontrados no clone GG100.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pela bolsa de Pós-doutorado concedida ao primeiro autor e ao CNPq pela bolsa de Produtividade em Pesquisa concedida ao segundo, terceiro e quarto autores.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS – ABRAF. **Anuário estatístico ABRAF 2013**: ano base 2012. ABRAF: Brasília, 2013. 148 p.
- CARVALHO, G. P. et al. Deriva simulada de triclopyr e fluroxypyr + triclopyr no desenvolvimento de mudas de clones de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v. 38, n. 1, p. 165-173, 2014.
- GOMES, G. L. G. C. **Alterações metabólicas de plantas de milho submetidas à aplicação de glyphosate e fosfito**. 97f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, SP. 2011.
- HOAGLAND, D.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil**. California: AES. 1950. 32 p.
- LYDON, J.; DUKE, S. O. Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants. **Pest Management Science**, v. 25, n. 4, p. 361-373, 1989.
- SERVAITES, J. C. et al. Glyphosate effects on carbon assimilation, ribulose biphosphate carboxylase activity, and metabolite levels in sugar beet leaves. **Plant Physiology**, v. 85, n. 2, p. 370-374, 1987.
- SIEHL, D. L. Inhibitors of EPSPS synthase, glutamine synthetase and histidine synthesis. In: ROE, R. M. et al. (Eds). **Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology**. IOS Press: Amsterdam, The Netherlands, 1997. p. 37-67.