

## TEOR DE CLOROFILA E EFICIÊNCIA DO FOTOSISTEMA II EM CLONES DE EUCALIPTO SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE GLYPHOSATE

SILVA, N. R. (CAV/UEDESC – Lages/SC – naatys\_@hotmail.com), CARVALHO, L. B. (CAV/UEDESC – Lages/SC – leonardo.carvalho@udesc.br), ALVES, P. L. C. A. (FCAV/UNESP – Jaboticabal, SP – plalves@fcav.unesp.br).

**RESUMO** – O objetivo com essa pesquisa foi avaliar a resposta de clones de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*), quanto ao teor de clorofila e à eficiência do fotossistema II, a glyphosate, para verificar se o herbicida pode afetar a etapa fotoquímica da fotossíntese. Plantas de quatro clones de eucalipto (C219, GG100, I144 e I224), apresentando 8 folhas foram expostas a doses crescentes de glyphosate, variando de 0 a 720 g e.a. ha<sup>-1</sup>, sendo avaliado o teor de clorofila e a relação Fv/Fm durante 30 dias após a aplicação. O teor de clorofila do clone C219 foi reduzido em até 12% em doses ≥ 360 g e.a. ha<sup>-1</sup>. Além disso, o teor de clorofila foi maior (≥ 12%) em todos os clones a partir de 7 dias. A relação Fv/Fm não se alterou em função dos tratamentos. Conclui-se que a eficiência do fotossistema II não é influenciada pelo glyphosate em nenhum dos clones estudados, apesar de doses a partir de 360 g e.a. ha<sup>-1</sup> afetarem o teor de clorofila do clone C219.

**Palavras-chave:** *Eucalyptus* sp., N-(fosfonometil)glicina, Dose-resposta.

### INTRODUÇÃO

O manejo de plantas daninhas em espécies perenes, incluindo eucalipto (*Eucalyptus* spp.), é comumente feito com roçadas na entrelinha associadas à aplicação de herbicidas na linha de plantio (CARVALHO et al., 2013), o que causa o risco de deriva do herbicida sobre plantas da cultura, causando prejuízos ao crescimento, desenvolvimento e produção. Nesse sistema de manejo, o herbicida mais usado é o glyphosate, que não é seletivo às culturas e pode, assim, causar reduções no crescimento ou mesmo morte de plantas caso doses letais atinjam as plantas.

Sabe-se que, indiretamente, o glyphosate afeta a fotossíntese (CEDERGREEN; OLESEN, 2010; CARVALHO et al., 2012). Assim, o objetivo com esta pesquisa foi avaliar a resposta de clones de eucalipto, quanto ao teor de clorofila e eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm), a doses crescentes de glyphosate, para verificar se o herbicida pode afetar a etapa fotoquímica da fotossíntese.

### MATERIAL E MÉTODOS

Plantas jovens de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*), clones C219, GG100, I144 e I224 (Fibria, minijardim clonal, Brasil), cultivadas em vasos de 3 L preenchidos com mistura

de areia e substrato orgânico na proporção 2:1 (v:v), foram submetidas à aplicação de glyphosate (sal de isopropilamina, 360 g e.a. L<sup>-1</sup>) nas doses 0, 18, 36, 72, 180, 360 e 720 g e.a. ha<sup>-1</sup>. A aplicação foi efetuada com pulverizador costal pressurizado a CO<sub>2</sub>, 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<sup>-1</sup>. O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições.

As plantas foram mantidas em câmara de crescimento, com fotoperíodo de 14:10h (luz:escuro) e temperatura de 25 °C, por 30 dias após a aplicação do herbicida. Foram efetuadas irrigações diárias com 150 mL de solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), a 25% da concentração original. Nesse período, 4 leituras por plantas avaliaram o teor relativo de clorofila total (clorofilômetro, Minolta, SPAD-502, Japão) e 2 leituras por planta de fluorescência variável/fluorescência máxima da clorofila a (Fv/Fm) (fluorômetro, Hansatech, PEA, Inglaterra) foram efetuadas em 1, 2, 3, 4, 7, 10, 15 e 30 dias após a aplicação de glyphosate (DAA).

Os dados foram submetidos à análise de variância, em esquema fatorial 4x7x8 (quatro clones, sete doses de glyphosate e oito períodos de avaliação). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey HSD a 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa computacional Statistica (StatSoft, versão 8.0, EUA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos dados de teor relativo de clorofila total indicou interação altamente significativa entre clones e doses ( $p < 0,001$ ), além dos fatores isolados, clones, doses e épocas (Tabela 1). Com isso, foi realizado o desdobramento da interação e a apresentação dos dados médios da época. A análise geral dos resultados de teor relativo de clorofila total, para a interação entre clones e doses, evidencia que o teor de clorofila foi dependente da dose apenas para o clone C219, sendo reduzido principalmente nas doses de 360 e 720 g e.a. ha<sup>-1</sup> (Tabela 2). Além disso, e também de maneira geral, o clone C219 apresentou maior teor de clorofila total (52,3 e 51,4 UR) que os clones demais clones (46,3 a 47,4 UR) nas doses 0 e 18 g e.a. ha<sup>-1</sup>, o que não foi observado nas demais doses. Além disso, a análise geral dos resultados de teor relativo de clorofila total (média entre doses e clones) evidencia que o teor de clorofila foi, em geral, dependente da época, sendo que após 7 DAA os valores de clorofila foram semelhantes entre si (50,0 a 51,2 UR) e mais altos que os teores observados de 1 a 4 DAA (43,9 a 47,0 UR) (Tabela 3). Esses resultados indicam que o teor de clorofila não depende da exposição ao herbicida, sendo uma característica específica do estágio de desenvolvimento das plantas.

A análise de variância dos dados de fluorescência variável não foi significativa para nenhuma interação, tampouco para os fatores clones, doses e épocas, isoladamente

( $p > 0,05$ ) (Tabela 4). Assim, foram apresentados apenas os dados médios de cada um dos fatores isolados. Dessa maneira, os clones de eucalipto C219, GG100, I144 e I224 apresentaram valores da relação Fv/Fm semelhantes, variando de 0,809 a 0,813 para o fator clone isoladamente, de 0,803 a 0,814 para o fator dose isoladamente, e de 0,804 a 0,814 para o fator época isoladamente (Tabela 5). Esses resultados indicam que a eficiência quântica do fotossistema II não foi influenciada pela exposição das plantas dos quatro clones de eucalipto estudados (C219, GG100, I144 e I224) ao glyphosate, mesmo no clone C219 que apresentou redução no teor relativo de clorofila total nas doses mais altas do herbicida.

Tabela 1. Tabela da análise de variância sobre os dados de teor relativo de clorofila total em plantas de quatro clones de eucalipto em diferentes dias após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

CV	GL	MS	SS	F	p
Clone (C)	3	1404	468	27,669	< 0,001
Dose (D)	6	393	66	3,878	< 0,001
Época (E)	7	4106	587	34,693	< 0,001
CxD	18	736	41	2,418	< 0,001
CxE	21	414	20	1,166	0,276
DxE	42	348	8	0,489	0,997
CxDxE	126	899	7	0,422	1,000
Erro	448	7575	17		
Total	671	15875			

Tabela 2. Teor relativo de clorofila total (interação entre clones e doses) em plantas de quatro clones de eucalipto em diferentes dias após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

Dose (g e.a. ha <sup>-1</sup> )	Clorofila (UR)			
	C219	GG100	I144	I224
0	52,3 ± 0,7 a	47,1 ± 0,6 cdef	47,4 ± 0,9 cdef	46,6 ± 1,2 ef
18	51,4 ± 0,9 abc	46,3 ± 1,3 ef	47,4 ± 0,5 cdef	46,5 ± 1,0 ef
36	52,0 ± 0,5 ab	48,0 ± 0,8 abcdef	47,7 ± 0,8 bcdef	47,8 ± 1,4 bcdef
72	51,2 ± 1,0 abc	48,1 ± 1,2 abcdef	49,1 ± 0,7 abcde	46,5 ± 0,7 ef
180	51,1 ± 0,9 abcd	48,2 ± 1,3 abcdef	46,0 ± 0,7 ef	47,2 ± 1,1 cdef
360	46,6 ± 0,5 ef	44,0 ± 0,9 f	47,8 ± 0,9 bcdef	47,7 ± 1,2 bcdef
720	48,6 ± 1,0 abcde	46,2 ± 0,8 ef	46,7 ± 1,1 def	47,6 ± 0,7 bcdef

Obs. Médias ± o erro padrão da média de seis repetições seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey HSD para comparação múltipla das médias.

Tabela 3. Teor relativo de clorofila total médio (entre clones e doses) em eucalipto em diferentes dias após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

Época (dias)	Clorofila (UR)
1	43,9 ± 0,6 d
2	45,6 ± 0,5 cd
3	46,9 ± 0,5 bc
4	47,0 ± 0,5 bc
7	51,1 ± 0,5 a
10	51,2 ± 0,5 a
15	50,0 ± 0,4 a
30	50,1 ± 0,3 a

Obs. Médias  $\pm$  o erro padrão da média de seis repetições seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey HSD para comparação múltipla das médias a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Tabela da análise de variância sobre os dados de fluorescência variável/fluorescência máxima (Fv/Fm) em plantas de quatro clones de eucalipto em diferentes dias após aplicação de doses crescentes de glyphosate.

CV	GL	MS	SS	F	p
Clone (C)	3	0,0104	0,0035	3,278	0,051
Dose (D)	6	0,0140	0,0023	2,204	0,062
Época (E)	7	0,0121	0,0017	1,634	0,124
CxD	18	0,0222	0,0012	1,168	0,284
CxE	21	0,0152	0,0007	0,688	0,847
DxE	42	0,0444	0,0011	1,002	0,471
CxDxE	126	0,1143	0,0009	0,860	0,845
Erro	448	0,4728	0,0011		
Total	671	0,7053			

Tabela 5. Fluorescência variável/fluorescência máxima (Fv/Fm) média (entre clones, doses e épocas) em eucalipto em diferentes dias após aplicação de doses crescentes de glyphosate. Jaboticabal, SP, 2011.

Clone	Fv/Fm
C219	0,809 $\pm$ 0,008
GG100	0,810 $\pm$ 0,006
I144	0,813 $\pm$ 0,007
I224	0,811 $\pm$ 0,009
Dose (g e.a. ha <sup>-1</sup> )	
0	0,810 $\pm$ 0,004
18	0,812 $\pm$ 0,007
36	0,807 $\pm$ 0,008
72	0,814 $\pm$ 0,005
180	0,810 $\pm$ 0,004
360	0,810 $\pm$ 0,007
720	0,803 $\pm$ 0,006
Época (dias)	
1	0,814 $\pm$ 0,008
2	0,810 $\pm$ 0,010
3	0,809 $\pm$ 0,009
4	0,808 $\pm$ 0,009
7	0,807 $\pm$ 0,009
10	0,806 $\pm$ 0,008
15	0,814 $\pm$ 0,007
30	0,804 $\pm$ 0,009

O glyphosate inibe a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), na via metabólica do chiquimato. Essa inibição 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). Há estudos que evidenciam o efeito do glyphosate na fotossíntese das plantas

(CEDERGREEN; OLESEN, 2010), incluindo o início da etapa bioquímica, como as trocas gasosas (CARVALHO et al., 2012). Nesse sentido, desde efeitos na fixação de carbono (afetado pela atividade da Rubisco) até a produção, translocação e partição de fotoassimilados devem estar envolvidas na resposta das plantas ao glyphosate, conforme discutido por Carvalho et al. (2012). No entanto, não foram encontradas evidências da influência direta do herbicida na etapa fotoquímica da fotossíntese.

### CONCLUSÃO

O teor de clorofila total do clone C219 é reduzido pela aplicação de glyphosate em doses a partir de 360 g e.a. ha<sup>-1</sup>, no entanto essa redução não influencia a eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) desse clone, tampouco dos demais clones estudados (GG100, I144 e I244). Assim, o glyphosate não afeta essas características envolvidas na etapa fotoquímica da fotossíntese.

### AGRADECIMENTOS

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

### REFERÊNCIAS

- CARVALHO, L. B. et al. Physiological dose-response of coffee (*Coffea arabica* L.) plants to glyphosate depends on growth stage. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 2, p. 182-187, 2012.
- CARVALHO, L. B. et al. Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 2, p. 813-822, 2013.
- CEDERGREEN, N.; OLESEN, C. F. Can glyphosate stimulate photosynthesis? **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, n. 3, p. 140-148, 2010.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. J. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 31 p. (Circular, 347).
- 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.