

LEONARDO DAVID TUFFI SANTOS

EFEITOS DIRETOS E INDIRETOS DO GLYPHOSATE EM EUCALIPTO

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

LEONARDO DAVID TUFFI SANTOS

EFEITOS DIRETOS E INDIRETOS DO GLYPHOSATE EM EUCALIPTO

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

APROVADA: 26 de junho de 2006.

Prof^a. Renata Maria Strozi Alves Meira
Co-Orientadora

Prof. Acelino Couto Alfenas
Co-Orientador

Prof. Nairam Félix de Barros

Prof. Francisco Cláudio Lopes de Freitas

Prof. Francisco Affonso Ferreira
(Orientador)

Aos meus pais Antônio dos Santos e Matilde,
às minhas irmãs Marcelle e Márcia
e à minha querida Helena,
pessoas que inspiram e alegram minha vida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial aos Departamentos de Fitotecnia, Biologia Vegetal e Fitopatologia, pela oportunidade em cursar o Doutorado e de realização dos trabalhos.

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

À Suzano Bahia Sul Papel e Celulose S.A., pela concessão do material vegetal utilizado e pelo financiamento de parte do projeto.

À CENIBRA S.A. pela concessão de parte do material vegetal utilizado.

À Fazenda Guaxupé, em especial ao Sr. Sebastião Fernandes, pela área concedida para realização de parte dos experimentos.

À Empresa MONSANTO, na pessoa do Engenheiro-Agrônomo Marcelo Montezuma pelo apoio e sugestões.

Ao professor Francisco Affonso Ferreira, pela orientação, pelo apoio, pela confiança e amizade, sem os quais 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, Acelino Couto Alfenas e Renata Maria Strozi Alves Meira e à pesquisadora Izabel Cristina dos Santos, pelas sugestões e pela atenção.

Aos técnicos de laboratório da UFV, em especial a Luis Henrique e Vânia, pela amizade e pelo valioso apoio.

Aos amigos e companheiros de trabalho, Rafael Tibúrcio, William, Miller, Rodrigo, Bruno, Márcia, Aroldo, Marcela, Lourdes, Eduardo, José Barbosa, Marcelo, Evander, Rafael Viana e outros, pela valiosa colaboração e pelo apoio durante a realização deste trabalho.

A todos os colegas dos Laboratórios de Herbicida e Anatomia Vegetal, pelo agradável convívio.

Ao amigo Klever, pela convivência saudável durante esta jornada.

A Dona Guiomar, Elza, Djair, Janaína, Felipe e Helena, por terem se tornado minha segunda família, meu porto seguro em Viçosa.

BIOGRAFIA

Leonardo David Tuffi Santos, filho de Antônio dos Santos e Matilde 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 julho de 2004, concluiu 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. Em agosto de 2004, ingressou no curso de Doutorado na mesma linha de pesquisa, submetendo-se à defesa de tese em junho de 2006.

ÍNDICE

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO	01
1. CRESCIMENTO DO EUCALIPTO SOB EFEITO DA DERIVA DO GLYPHOSATE	04
1.1 Introdução.....	06
1.2 Material e Métodos.....	07
1.3 Resultados e Discussão.....	08
1.4 Conclusões.....	11
1.5 Literatura Citada.....	12
2. INTOXICAÇÃO DE ESPÉCIES DE EUCALIPTO SUBMETIDAS À DERIVA DO GLYPHOSATE	13
2.1 Introdução.....	14
2.2 Material e Métodos.....	16
2.3 Resultados e Discussão.....	17
2.4 Conclusões.....	25
2.5 Literatura Citada.....	26
3. EPIDERME FOLIAR DE EUCALIPTO E SUA RELAÇÃO COM A TOLERÂNCIA AO GLYPHOSATE	28
3.1 Introdução.....	30
3.2 Material e Métodos.....	31
3.3 Resultados e Discussão.....	33
3.4 Conclusões.....	40
3.5 Literatura Citada.....	40
4. RESPOSTAS MORFOLÓGICAS DE CLONES DE EUCALIPTO SUBMETIDOS À DERIVA DE GLYPHOSATE	43
4.1 Introdução.....	45
4.2 Material e Métodos.....	46
4.3 Resultados e Discussão.....	49
4.4 Conclusões.....	60
4.5 Literatura Citada.....	60
5. EFEITOS DO GLYPHOSATE SOBRE A RESISTÊNCIA A FERRUGEM DO EUCALIPTO	63
5.1 Introdução.....	65
5.2 Material e Métodos.....	66
5.3 Resultados e Discussão.....	68
5.4 Conclusões.....	75
5.5 Literatura Citada.....	75
6. RESUMO E CONCLUSÕES GERAIS	78

RESUMO

SANTOS, Leonardo David Tuffi, D.S., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2006.
Efeitos diretos e indiretos do glyphosate em eucalipto. Orientador: Francisco Affonso Ferreira. Co-Orientadores: Renata Maria Strozi Alves Meira, Acelino Couto Alfenas e Lino Roberto Ferreira.

O glyphosate é o herbicida mais utilizado no controle de plantas daninhas em áreas de plantios comerciais de eucalipto. Nessas áreas, o contato indesejado do glyphosate, via deriva, causa freqüente intoxicação das plantas de eucalipto, mesmo onde altos níveis tecnológicos para aplicação são adotados. Diante da importância do glyphosate na eucaliptocultura e da necessidade de conhecer os reais efeitos desse herbicida sobre o eucalipto e seu agrossistema, foram realizados cinco experimentos, para avaliar: o crescimento e a micromorfologia foliar de clones de eucalipto submetidos à deriva de glyphosate, simulada por meio de subdoses (0; 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate); as características epidérmicas de cinco espécies de eucalipto e sua relação com a tolerância diferencial ao glyphosate; o crescimento e a produção de madeira durante o ciclo do eucalipto em plantas com diferentes níveis de intoxicação por glyphosate; e os efeitos do glyphosate na severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto em clones com diferentes níveis de resistência à doença. As notas de intoxicação pelo glyphosate são baseadas na porcentagem visual da área foliar das plantas com sintomas de intoxicação em relação à testemunha, variando de 0 a 100% de intoxicação, sendo 0 ausência de sintomas visíveis e 100% a morte das plantas. 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 ápices dos

ramos. Os danos micromorfológicos foram encontrados em tecidos aparentemente saudáveis a olho nu, sendo representados por erosão de ceras epicuticulares, hiperplasia celular e necroses seguidas por colonização de fungos. Existe diferença entre clones e entre espécies quanto à tolerância ao glyphosate, via deriva, com destaque para *E. resinifera*, que foi mais tolerante quando comparado com *E. saligna*, *E. grandis*, *E. pellita* e *E. urophylla*. No estudo anatômico da epiderme foliar das cinco espécies encontrou-se alta correlação positiva (0,94**) entre a intoxicação das plantas por glyphosate e o número de células epidérmicas da face adaxial da epiderme, o que não foi observado para índice estomático, densidade de estômatos e densidade de cavidades, indicando um possível envolvimento do número de células da face adaxial da epiderme com a tolerância diferencial ao glyphosate. No campo, a deriva de glyphosate influenciou o crescimento e a produção de madeira de eucalipto. Plantas com intoxicação inicial acima de 21% apresentaram menor crescimento na avaliação realizada aos 360 dias após aplicação do herbicida (DAA), com menor altura e diâmetro quando comparadas com plantas testemunhas. Os danos causados pela deriva do glyphosate afetaram o crescimento volumétrico verificado aos 360 DAA; plantas com 21 – 30, 31 – 40 e 41 – 50% de intoxicação apresentaram redução no volume de madeira de 17, 26 e 48%, respectivamente, em relação à testemunha. Por outro lado, em condições controladas, o glyphosate não reduziu o nível de resistência à ferrugem (*P. psidii*) do eucalipto nos clones resistentes, havendo diminuição do número de urediniósporos por pústulas, urediniósporos por área e na área afetada pela ferrugem nos clones suscetíveis ao patógeno. Os resultados confirmam os efeitos negativos da deriva de glyphosate no crescimento de eucalipto, ressaltando a tolerância diferencial ao herbicida entre genótipos e a não ligação do glyphosate, via deriva, com o aumento da severidade da ferrugem causada por *P. psidii*. Os efeitos da deriva do glyphosate no crescimento e na produção de madeira serão avaliados durante o ciclo da cultura, e os efeitos do herbicida no fungo *P. psidii* devem ser avaliados *in vitro* para melhor entendimento da relação patógeno x glyphosate x hospedeiro.

ABSTRACT

SANTOS, Leonardo David Tuffi, D.S., Universidade Federal de Viçosa, June 2006. **Direct and indirect effects of glyphosate on eucalypt**. Advisor: Francisco Affonso Ferreira. Co-Advisors: Renata Maria Strozi Alves Meira, Acelino Couto Alfenas and Lino Roberto Ferreira.

Glyphosate is the most utilized herbicide to weeding control in commercial eucalypt plantations. In these areas, the undesirable contact, through drift, causes a frequent intoxication on eucalypt plants even where high-technology application methods have been adopted. Once glyphosate is of utmost importance in eucalypt culture and also the need to get to know the actual effects of this herbicide on the plant itself and its agrosystem, five experiments have been carried out to evaluate the growth and the leaf micromorphology of eucalypt clones submitted to glyphosate drift, simulated by means of the following subdoses (0; 43,2; 86,4; 172,8 and 345,6 g ha⁻¹ of glyphosate); the epidermic characteristics of five eucalypt species and its relationship with the differential tolerance to glyphosate; to accompany the growth and the production of wood during its cycle at different levels of intoxication by glyphosate and its effects on the severity of rust (*Puccinia psidii*) on clones of eucalypt with different levels of resistance. The intoxication grades are based on the visual percentage of leaf area of plants with symptoms of intoxication in relation to the control, ranging from 0 to 100% of intoxication, with 0 being absence of symptoms whereas 100% death. Injuries due to glyphosate have been proportional to the increment of subdoses, being represented by leaf wilt, chlorosis towards necrosis, leaf curling and death of apex. Micro-morphological damages have been found on tissues apparently healthy at naked eye, being represented by erosion of ceras epicuticulares, cellular hyperplasia and necrosis followed by fungi colonization. There has been a difference between clones and inter-species as to glyfosate tolerance, via drift, highlighting *Eucalyptus resinifera* which has been the most

tolerant when compared to *E. saligna*, *E. grandis*, *E. pellita* and *E. urophylla*. On the anatomical study of leaf epidermis of the five species has been encountered a high positive correlation (0,94**) between plant intoxication and the number of epidermic cells of the adaxial face; it has not been observed for stomata index, stomata density and cavity density, indicating a possible involvement of the number of cells of adaxial face of epidermis with the differential tolerance to glyphosate. At field conditions, the drift has influenced the growth and wood production. Plants with initial intoxication above 21% presented lesser growth when evaluated 360 days after application (DAA), lesser height and diameter when compared to the control. The drift damage affected the volumetric growth verified at 360 DAA, being the plants with 21 – 30, 31 – 40 and 41 – 50% intoxication rates the ones which presented reduction in wood volume of 17, 26 e 48%, respectively, in relation to the control. On the other hand, under controlled conditions, glyphosate has not reduced the level of resistance to eucalypt rust (*P. psidii*) on resistant clones, there has been a reduction in numbers of urediniospores per pustules, urediniospores per area and in the area affected by rust on clones non-resistant to the patogen. The results confirm the negative effects of glyphosate drift in eucalypt growth, highlighting the differential tolerance to the herbicide among different genotypes and the absence of connection between glyphosate drift and the increment of severity of rust caused by *P. psidii*. The effects of glyphosate drift on growth and wood production will be evaluated during the cycle of the culture and the effects of the herbicide on *P. psidii* should be evaluated in vitro so as to understand better the relationship between patogen x glyphosate x hust.

INTRODUÇÃO

O eucalipto é a essência florestal mais plantada no Brasil, o que se deve basicamente às características de rápido crescimento das espécies, boa adaptação às condições edafoclimáticas existentes no país e fornecimento de matéria-prima de qualidade para os diversos segmentos do setor florestal. No agronegócio brasileiro, o setor madeireiro só foi superado pelo complexo soja, avançando cada vez mais na agregação de valores e na cadeia produtiva (Baena, 2005).

Apesar de o gênero *Eucalyptus* possuir espécies de rápido crescimento e de apresentar 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. Esse fato coloca as plantas daninhas como um dos principais problemas para implantação e manutenção de florestas de eucalipto, tornando o manejo adequado da flora invasora indispensável.

Devido às grandes áreas cultivadas, à escassez de mão-de-obra e ao menor custo dos métodos químicos de controle das plantas daninhas, esta tecnologia tem sido a mais adotada pelas empresas florestais, sendo o herbicida glyphosate o mais utilizado em plantios comerciais de eucalipto. Dentre as vantagens que justificam o uso do glyphosate, podem-se ressaltar o efetivo controle de grande número de espécies daninhas mono e dicotiledôneas, perenes e anuais; o fato de ele ser considerado de baixo impacto ambiental (Malik et al., 1989); e o seu baixo custo, por área controlada, em comparação a outros herbicidas. Adicionalmente, existe carência de outros herbicidas registrados para a cultura de eucalipto,

além da liberação, por parte das certificadoras florestais, para utilização de agrotóxicos no sistema de produção.

O glyphosate [N-(fosfonometil)glicina] pertence ao grupo químico dos aminoácidos fosfonados, tendo como precursor a glicina. É um herbicida sistêmico, não-seletivo, aplicado em pós-emergência e de amplo espectro de controle, tendo como mecanismo de ação o acoplamento à enzima enolpiruvil shiquimato-3-fosfato sintase (EPSP), impedindo a formação do Corismato e, subseqüentemente, dos aminoácidos aromáticos: triptofano, fenilalanina e tirosina (Buchanan et al., 2000).

No Brasil, diferentes formulações desse herbicida tem sido utilizadas, tanto no preparo da área quanto no manejo de plantas daninhas na formação e manutenção de florestas de eucalipto (Tuffi Santos et al., 2006). Todavia, mesmo em empresas que adotam elevado nível tecnológico verifica-se a ocorrência de deriva do glyphosate durante as aplicações dirigidas ao controle de plantas daninhas, a qual atinge principalmente os ramos mais baixos das plantas de eucalipto. Em consequência desse fato, tem-se observado regularmente a ocorrência de intoxicação na parte aérea, causada pelo herbicida.

Atualmente, tem-se levantado a hipótese de associação das injúrias causadas pela deriva do glyphosate com a incidência e severidade da ferrugem, causada por *Puccinia psidii*. Relatos de pessoas ligadas ao manejo florestal e observações de campo nas empresas do setor sugerem maior severidade da ferrugem do eucalipto em plantas com sintomas de intoxicação por glyphosate. Além disso, diferença de tolerância ao glyphosate entre os diferentes genótipos cultivados tem sido observada. O efeito do glyphosate em plantas expostas à deriva e sua relação com as doenças de plantas possuem fundamentos teóricos, uma vez que seu mecanismo de ação interfere diretamente nas rotas responsáveis pela produção de lignina, fitoalexinas (Lévesque e Rahe, 1992; Rizzardi et al., 2003) e de outros compostos, como o ácido salicílico, ligados aos mecanismos de defesa das plantas (Duke et al., 2006). Além disso, as injúrias causadas pelo glyphosate nas folhas podem funcionar como porta de entrada para penetração de patógenos em plantas de eucalipto.

Diante da freqüência e importância do uso do glyphosate em plantios florestais, questões sobre o impacto do herbicida no crescimento e no desenvolvimento de diferentes genótipos de eucalipto e de seu envolvimento com a severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*) são relevantes para o manejo florestal e aos programas de melhoramento da espécie.

Diante do exposto objetivou-se estudar:

- O crescimento e a produção de madeira durante o ciclo do eucalipto em plantas com diferentes níveis de intoxicação por glyphosate.
- O efeito do glyphosate, via deriva, sobre o crescimento e a morfoanatomia de diferentes genótipos de eucalipto.
- A epiderme foliar de diferentes espécies de eucalipto, correlacionando com a tolerância diferencial ao glyphosate.
- Os efeitos do glyphosate na severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*) em clones com diferentes níveis de resistência à doença.

LITERATURA CITADA

BAENA, E.S. A rentabilidade econômica da cultura do eucalipto e sua contribuição ao agronegócio brasileiro. **Conhecimento Interativo**, v.1, n.1, p.3-9, 2005.

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. 3 ed., Rocjville, Maryland: American Society of Plant Physiologists 2000. 1367p.

DUKE, S.O.; CEDERGREEN, N.; E.D. VELINI; BELZ, R.G.. Hormesis: Is it an important factor in herbicide use and allelopathy. **Outlooks on Pest Management**, v.17, n.1, p.29-33, 2006.

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.

MALIK, J.; BARRY, G.; KISHORE, G. The herbicide glyphosate. **Biofactores**, v. 2, p.17-25, 1989.

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.

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

1. CRESCIMENTO DO EUCALIPTO SOB EFEITO DA DERIVA DE GLYPHOSATE

Eucalyptus growth under the effect of glyphosate drift

RESUMO: Um dos questionamentos no setor florestal é sobre os possíveis efeitos negativos da deriva de glyphosate sobre plantas de eucalipto, ao longo de seu ciclo. Aos 30 dias após a aplicação (DAA) de 1.440 g ha^{-1} de glyphosate, visando o controle de plantas daninhas em talhão de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* (híbrido urograndis) com 120 dias após o transplântio, foram selecionadas 120 plantas ao acaso, que apresentavam graus de intoxicação variáveis. Constituíram os tratamentos os intervalos: 0 – 5, 6 – 10, 11 – 20, 21 – 30, 31 – 40 e 41 – 50% de intoxicação das plantas; 0 – 5% foi considerado testemunha. Foram realizadas avaliações de altura e diâmetro, após a seleção das plantas, até 360 DAA, sendo acompanhados durante este período os sintomas de intoxicação. Aos 360 DAA foi estimado o volume de madeira (m^3) e calculado o ganho em altura e diâmetro durante o período de avaliação. O controle de plantas daninhas na área foi uniforme. Plantas com intoxicação inicial acima de 31% apresentaram menor altura e diâmetro aos 270 DAA. O ganho em altura foi menor em plantas com intoxicação inicial acima de 41%. Observou-se menor diâmetro a partir de 21% de intoxicação, e em plantas com 41 – 50% de intoxicação foram observados os menores valores de crescimento diamétrico. Os danos causados pela deriva do glyphosate afetaram a produção de madeira aos 270 DAA; plantas com 21 – 30, 31 – 40 e 41 – 50% de intoxicação apresentaram redução no volume de madeira de 18, 26 e 48%, respectivamente,

em relação à testemunha. Os resultados confirmam os prejuízos ocasionados pela deriva do glyphosate em plantas de eucalipto. Entretanto, novas avaliações devem ser realizadas para acompanhamento do crescimento e desenvolvimento das plantas até o final do ciclo do eucalipto, visando elucidar os efeitos da deriva do glyphosate sobre a produção final da cultura.

Palavras-chave: produção de madeira, *Eucalyptus* spp., deriva, glyphosate.

Abstract: The possible negative effects of glyphosate drift on eucalyptus plants throughout its cycle are one of the many queries in forestry. At day 30 after application of 1.440 g ha⁻¹ glyphosate, aiming to weed controlling em talhão of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* (urograndis hybrid) at 120 days after transplantation, 120 plants have been selected at random, which presented variable degrees of intoxication. The treatments have been constituted by the following intervals: 0 – 5; 6 – 10; 11 – 20; 21 – 30; 31 – 40 and 41 – 50% of plant intoxication, 0 – 5% has been considered the control treatment. There have been evaluations of height and diameter, after plant selection, up until 360 days after application (360 DAA) and also monitored the symptoms of intoxication in the mean while. At 360 DAA the wood volume (m³) was estimated and the gain in height and diameter was calculated during the period of evaluation. Weed controlling in the area was uniform. Plants with initial intoxication above 31% presented lesser height and diameter at 270 DAA height gains were lesser in plants with initial intoxication above 41%. It has been observed lesser diameter as from 21% intoxication, being for the plants with 41-50% intoxication observed the lesser values for diameter growth. The damage caused by the drift affected the wood production at 270 DAA, being the plants with 21 – 30, 31 – 40 e 41 – 50% intoxication the ones which presented reduction in wood volume of 18, 26 e 48%, respectively, in relation to control treatment. The results have confirmed the loss due to glyphosate drift in eucalyptus plants; however, new evaluations should be done in order to accompany the growth and development of the plants up until the end of its cycle so as to elucidate the drift effects over the final production.

Keywords: wood production, *Eucalyptus* spp., drift, glyphosate.

1.1 INTRODUÇÃO

A situação do setor florestal no Brasil em 2005 indica sua expansão em todo o país. Segundo dados da Sociedade Brasileira de Silvicultura (SBS, 2005), foram plantados cerca de 550 mil hectares de florestas em 2005, o que corresponde a aproximadamente 18% a mais que em 2004. O território nacional possui, hoje, mais de 5 milhões de hectares de plantios florestais, sendo Minas Gerais o estado com maior representatividade no negócio florestal brasileiro. Neste Estado, o setor contribui, anualmente, com cerca de R\$420 milhões para a receita estadual, sendo responsável por aproximadamente 163 mil empregos diretos e 644 mil indiretos. Considerando os resultados de 2005, se o ritmo de crescimento persistir, o país estará afastando o risco de um “apagão florestal” (AMS, 2006).

A presença das plantas daninhas nos plantios comerciais de florestas é considerada um dos maiores problemas na implantação, manutenção e reforma das florestas de eucalipto. Entre as justificativas para preocupação com controle de plantas daninhas estão os prejuízos ao crescimento, uma vez que elas competem por luz, nutrientes e água e exercem interferência de natureza alelopática, além de aumentar riscos de incêndio e dificultar os demais tratamentos silviculturais (Pitelli, 1987; Pitelli e Marchi, 1991).

O glyphosate é um dos poucos princípios ativos registrados para a cultura, fato que, somado às características favoráveis desse produto, leva à ampla utilização desse herbicida no manejo de plantas daninhas em cultivos comerciais de eucalipto. O controle da flora invasora com glyphosate, em aplicações dirigidas, é intenso nos dois primeiros anos de implantação da cultura, podendo, em caso de reinfestação, estender-se por quase todo o ciclo por questões de operacionalidade e ganhos na produtividade.

Por se tratar de um herbicida não-seletivo, sintomas de intoxicação em plantas de eucalipto causados pelo contato do glyphosate com as folhas, principalmente via deriva, têm sido relatados com frequência (Tuffi Santos et al., 2005). Esses sintomas são caracterizados por cloroses foliares, evoluindo, em alguns casos, para necroses, enrolamento das folhas e superbrotação. A deriva pode acarretar prejuízos no crescimento do eucalipto ou mesmo a diminuição do estande, devido à morte de plantas mais jovens (Tuffi Santos et al., 2005a, Tuffi Santos et al., 2005b).

Existe carência de pesquisas voltadas para elucidar os efeitos da deriva do glyphosate sobre plantas de eucalipto ao longo de seu ciclo, principalmente sobre a produtividade da

cultura. Tais informações são relevantes ao setor florestal, sendo de grande interesse dos produtores e das empresas florestais. Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da deriva de glyphosate no crescimento e na produção de madeira de eucalipto.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em plantio clonal de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maden x *E. urophylla* Blade (híbrido urograndis), entre março de 2005 e abril de 2006. O talhão de eucalipto foi plantado em espaçamento 3 x 3 m, em área de aproximadamente 2 hectares, no município de Senador Firmino-MG, em altitude média de 750 m, temperatura e índice pluviométrico com médias anuais de 21,9 °C e 1400 mm, respectivamente.

A aplicação do glyphosate (1.440 g e.a. ha⁻¹) foi feita por funcionários da fazenda previamente treinados, visando o controle das plantas daninhas, sendo aplicado volume de calda de aproximadamente 90 L ha⁻¹. As plantas de eucalipto estavam com 120 dias após o transplante e com média de 1,42 m de altura. Na aplicação do glyphosate utilizou-se pulverizador costal, munido de bico LA-1JC Yamaha (bico espuma coreano) e válvula reguladora de pressão (Jacto) de 30 Lb pol². Houve contato do glyphosate, via calda de aplicação, com algumas plantas de eucalipto, possibilitando aos 30 dias após a aplicação (DAA) a seleção de plantas, com graus de intoxicação variáveis. Os distintos graus de intoxicação foram separados em intervalos que constituíram seis tratamentos: 0–5, 6–10, 11–20, 21–30, 31–40 e 41–50% de intoxicação das plantas; o intervalo de 0–5% correspondeu à testemunha. Os tratamentos foram atribuídos de acordo com escala de notas de 0 a 100% de intoxicação (Frans, 1979), em que 0% corresponde à ausência de intoxicação e 100% a morte das plantas. Nessa escala, a nota é atribuída à área com sintomas de intoxicação por planta em relação à testemunha sem herbicida. Cada planta selecionada foi considerada como parcela experimental, sendo 20 repetições por intervalo.

Após seleção e enquadramento dentro dos diferentes intervalos de intoxicação, foram realizadas avaliações de altura (região do coleto até o ápice da planta), com um bambu graduado, e do diâmetro das plantas a 1,30 m de altura (DAP) aos 45, 180, 270 e 360 DAA. Em todas as avaliações, foi acompanhada a evolução dos sintomas visuais de intoxicação pelo glyphosate.

Com base na avaliação realizada aos 360 DAA, estimou-se o volume de madeira (m^3), e calculou-se o ganho em altura e diâmetro durante o período de avaliação. O cálculo do ganho em diâmetro e altura foi realizado pela diferença entre a avaliação realizada aos 360 DAA e a efetuada aos 30 DAA.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste t a 5% de probabilidade.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomas visuais de intoxicação foram observados em avaliações realizadas até 180 dias após aplicação (DAA) (Figura 1). Nas avaliações seguintes verificou-se, para todos os tratamentos, recuperação das plantas de eucalipto quanto aos sintomas de intoxicação, diminuindo o efeito visual negativo das injúrias causadas pela deriva do glyphosate.

Tuffi Santos et al. (2005a), trabalhando com simulação de deriva em eucalipto, observaram que o aparecimento dos sintomas está relacionado com a quantidade de produto em contato com as plantas e que eles eram observados já a partir do quinto dia após aplicação. Os mesmos autores observaram recuperação, aos 45 DAA, das plantas tratadas com doses de $172,8 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate, com emissão de novas brotações, porém com sintomas de intoxicação nas partes mais velhas.

Apesar da recuperação visual do eucalipto, plantas inicialmente com porcentagem de intoxicação acima de 31% apresentaram menor altura aos 360 DAA (Tabela 1), com ganho em altura inferior ao de plantas contidas na faixa de 41–50% de intoxicação. Entre os intervalos de intoxicação nota-se variação crescente na altura até os 180 DAA, com tendência de diminuição das diferenças após essa avaliação (Figura 2). Esse comportamento indica a recuperação das plantas com porcentagem de intoxicação acima de 31%.

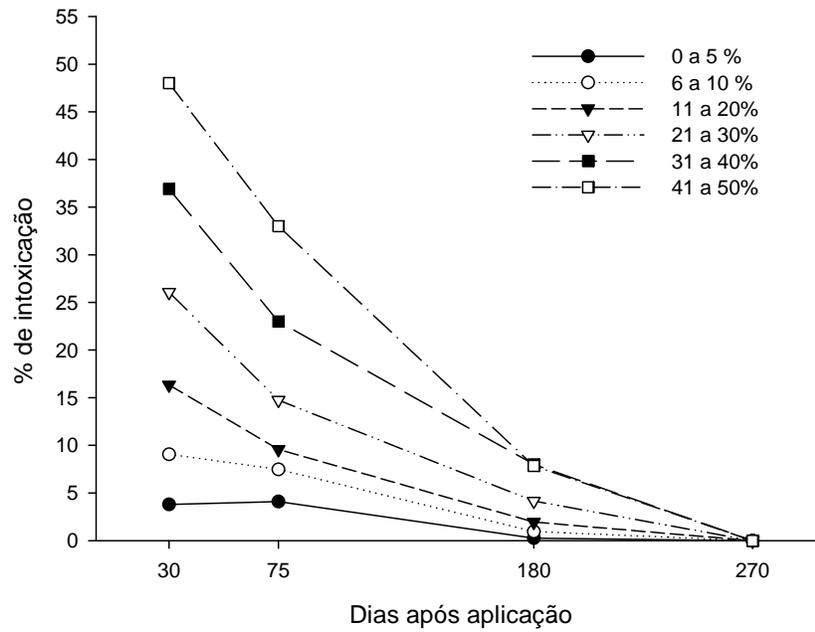


Figura 1- Intoxicação pela deriva de glyphosate em plantas de eucalipto em função do tempo após aplicação.

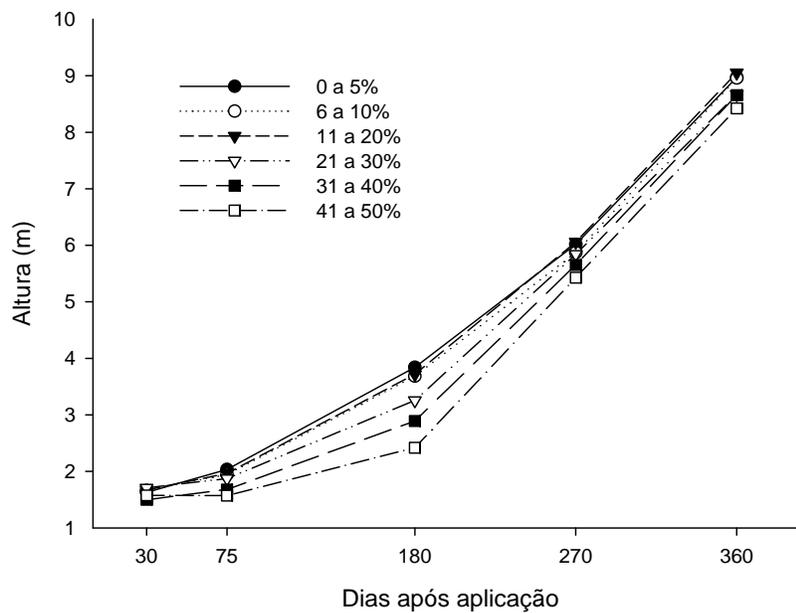


Figura 2- Altura de plantas de eucalipto após a deriva de glyphosate em função do tempo após aplicação.

Observou-se menor diâmetro a partir de 21% de intoxicação; em plantas com 41–50% foram observados os menores valores entre os tratamentos. O ganho em diâmetro de plantas com intoxicação inicial acima de 21% foi inferior ao observado para a testemunha, com os menores valores de crescimento encontrados para esta variável em plantas com intoxicação acima de 41% (Tabela 1).

Em consequência da altura e do diâmetro de plantas inferiores, o volume de madeira foi influenciado pelo glyphosate, e plantas com intoxicação a partir de 21% tiveram crescimento volumétrico de madeira inferior aos demais tratamentos. Plantas que aos 30 DAA apresentavam grau de intoxicação entre 41–50%, foram as que apresentaram menores volumes de madeira (Tabela 1). Os intervalos de 21–30, 31–40 e 41–50% de intoxicação apresentaram redução de 17, 26 e 48%, respectivamente, do volume de madeira em relação à testemunha.

O glyphosate é um produto sistêmico, não-seletivo e altamente solúvel em água; seu mecanismo de ação baseia-se na interrupção da rota do ácido chiquímico, 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). O glyphosate causa distúrbios nas principais rotas metabólicas das plantas, levando a inanição (Hess, 1994). Desse modo, plantas de eucalipto em contato com o glyphosate apresentam seu crescimento retardado, sendo a amplitude da redução do crescimento dependente da dose de glyphosate a que a planta foi submetida, corroborando valores encontrados em experimentos em casa de vegetação (Tuffi Santos et. al., 2005a).

Entre as vantagens da homogeneidade obtida por plantios clonais de eucalipto estão a maior produtividade e a melhor qualidade da madeira (Carvalho, 1994). Os danos causados pelo glyphosate na ocorrência de deriva, distribuídos em intensidade variável dentro dos talhões de plantio clonal, provocam a heterogeneidade entre plantas, o que pode acarretar uma competição intraclonal desfavorável para plantas de eucalipto que tiveram seu crescimento inibido pelo herbicida. Adicionalmente, a qualidade da madeira - que tem sido uma das buscas dos programas de melhoramento genético - pode ser influenciada pelos efeitos do glyphosate, tendo em vista as alterações na produção de lignina em plantas tratadas com esse herbicida (Rizzardi et al., 2003).

Os prejuízos da deriva do glyphosate sobre plantas de eucalipto reforçam a necessidade de cuidados quanto à tecnologia de aplicação em áreas de reflorestamento, principalmente no

que se refere ao treinamento dos aplicadores. Novas avaliações serão realizadas para acompanhamento do crescimento e desenvolvimento das plantas até o final do ciclo produtivo da cultura, visando o melhor entendimento dos efeitos do glyphosate sobre a produção e qualidade da madeira de eucalipto.

Tabela 1 – Crescimento de plantas de eucalipto expostas à deriva de glyphosate aos 360 dias após aplicação

Graus de intoxicação (%)	Altura (m)	Diâmetro (cm)	Volume (m ³ /planta)	Ganho em altura (m)	Ganho em diâmetro (cm)
0 - 5	8,970 A ^{1/}	8,599 A	0,053 A	7,321 A	6,106 A
6 - 10	8,960 A	8,520 A	0,051 A	7,303 A	5,967 A
11 - 20	9,055 A	8,743 A	0,055 A	7,339 A	6,112 A
21 - 30	8,660 AB	8,040 B	0,044 B	7,004 AB	5,336 B
31 - 40	8,662 AB	7,519 C	0,039 C	7,167 AB	5,263 B
41 - 50	8,420 B	6,767 D	0,031 D	6,846 B	4,491 C
DMS	0,507	0,382	0,0054	0,358	0,416
C.V (%)	6,27	7,67	19,01	8,08	12,11

^{1/} Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo Teste t. Média de 20 plantas.

2.4 CONCLUSÕES

Aos 180 dias após a aplicação (DAA), os sintomas visuais de intoxicação não são mais perceptíveis. Plantas com intoxicação inicial acima de 21% tiveram crescimento inferior ao daquelas sem intoxicação. Por sua vez plantas com intoxicação dentro dos intervalos 6–10 e de 11–20 não tiveram seu crescimento afetado. Plantas com 21 – 30, 31 – 40 e 41 – 50% de intoxicação apresentaram redução no volume de madeira, aos 360 DAA, de 18, 26 e 48%, respectivamente, em relação à testemunha.

2.5 LITERATURA CITADA

- CARVALHO, P.L.P.T. Clonagem na Bahia Sul Celulose S.A. Piracicaba-SP; IPEF. 1994. p.25-27.
- 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.
- 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.
- 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, 2003. p. 344-365.
- PITELLI, R.A. Competição e controle de plantas daninhas em áreas agrícolas. **IPEF**, v.4, n.12, p.25-35, 1987.
- 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 REFLORESTAMENTO, 1., 1991, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: 1991. p.110-23.
- 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.
- SBS. **Dados estatísticos sobre a produção nacional de eucalipto**. Sociedade Brasileira de Silvicultura. <http://www.sbs.org.br/secure/estatisticas.htm>>. Acesso em: 24 de março de 2005.
- AMS. **O balanço do setor florestal**. Associação Mineira de Silvicultura. <http://www.ams.org.br>. Acesso em: 10 de abril de 2006.
- TUFFI SANTOS, L.D.; FERREIRA, F.A.; MEIRA, R.M.S.A.; BARROS, N.F.; FERREIRA, L.R.; MACHADO, A.F.L. Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sob efeito de deriva do glyphosate. **Planta Daninha**, v. 23, n.1, p.133-142, 2005a.
- TUFFI SANTOS, L.D.; FERREIRA, F.A.; BARROS, N.F.; SIQUEIRA, C.H.; SANTOS, I.C., MACHADO, A.F.L. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. **Planta Daninha**, v. 23, n.1, p.143-152, 2005b.

2. INTOXICAÇÃO DE ESPÉCIES DE EUCALIPTO SUBMETIDAS À DERIVA DO GLYPHOSATE

Intoxication of eucalypt species under glyphosate drift

RESUMO: O glyphosate é o herbicida mais utilizado em florestas plantadas de eucalipto. Nessas áreas tem sido freqüente a observação de sintomas de intoxicação devido à deriva. Entretanto, trabalhos de pesquisa e observações de campo indicam comportamento diferencial entre as espécies e os clones de eucalipto quando em contato com o glyphosate. No presente trabalho objetivou-se avaliar os efeitos da deriva simulada de glyphosate, por meio de doses reduzidas, no crescimento de cinco espécies de eucalipto. Utilizou-se o esquema fatorial 5x5, sendo cinco espécies (*Eucalyptus urophylla*, *E. grandis*, *E. pellita*, *E. resinifera* e *E. saligna*) e cinco doses (0; 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate), no delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. A aplicação do herbicida foi realizada sobre as plantas, de modo que não atingisse o terço superior, 23 dias após o plantio destas. Os sintomas de intoxicação causados pelo glyphosate foram semelhantes nas diferentes espécies, sendo caracterizados por murcha, clorose, enrolamento foliar e, no caso de maiores doses, por necroses e senescência foliar. Plantas submetidas a doses acima de 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate foram severamente intoxicadas, afetando o seu crescimento, resultando em menor altura, diâmetro do caule e massa seca aos 45 dias após aplicação do herbicida. Entre as espécies estudadas, *E. resinifera* foi a mais tolerante ao glyphosate, apresentando menores valores de intoxicação e maior incremento em altura e diâmetro mesmo nas plantas submetidas às maiores doses, o que não foi observado nas demais espécies.

Palavras-chave: *Eucalyptus* spp., herbicida, tolerância, crescimento.

Abstract: Glyphosate is the most largely used herbicide in eucalypt plantations. In these places intoxication symptoms are often observed due to glyphosate drift. However research works and field observations indicate different behaviors among eucalypt species and clones with glyphosate contact. The objective of the present work was to evaluate the effects of simulated glyphosate drift, by means of subdoses of the herbicide, on the growth and morphology of five eucalypt species. The factorial model was used with five species (*Eucalyptus urophylla*, *E. grandis*, *E. pellita*, *E. resinifera* and *E. saligna*) and five subdoses (0; 43,2; 86,4; 172,8; and 345,6 g e.a. ha⁻¹ glyphosate) in the randomized block design with four repetitions. The glyphosate application was done on the plants in such a way as to avoid reaching the upper third part of the plants 23 days after planting the seedling. After the glyphosate application the intoxication percentage, the height, diameter and dry matter of the plant were measured. The intoxication symptoms caused by glyphosate were similar for the different species, as characterized by wilt, chlorosis and leaf curling and in the case of larger doses by necrosis and leaf senescence. Plants treated with subdoses above 86,4 g ha⁻¹ glyphosate were severely intoxicated which affected their growth causing smaller height, diameter and less dry matter after 45 days of the herbicide application. Plants of the five species treated with doses above 86,4 g ha⁻¹ glyphosate had their growth threatened. Among the species studied *E. resinifera* showed to be more tolerant to glyphosate drift, with the smallest values of intoxication percentage and increases in height and diameter even on plants under the greater subdoses, which was not observed on the other species.

Key words: *Eucalyptus* spp., herbicide, application technology, tolerance

2.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* compreende cerca de 800 espécies, sendo muitas delas utilizadas em cultivos comerciais destinados aos mais diversos usos, como: produção de celulose e papel, carvão vegetal, madeira para serraria, construção civil e indústria de móveis, postes e moirões, óleos essenciais, ornamentação, entre outros (Dourojeami, 2004).

Apesar de o gênero *Eucalyptus* apresentar espécies de rápido crescimento e de boa competitividade quanto a seu estabelecimento no campo, isso não o isenta dos prejuízos causados pelas plantas daninhas, que tem como consequência o decréscimo quantitativo e qualitativo da sua produção. A interferência das plantas daninhas é mais acentuada nos dois primeiros anos de crescimento; entretanto, em algumas áreas, o controle dessas plantas estende-se até o final do ciclo da cultura, o que se justifica por questões de operacionalidade na colheita e por ganhos na produtividade. O custo de controle, a demanda de mão-de-obra, a importância na busca de maiores produções por área e os efeitos do herbicida no meio ambiente colocam as plantas daninhas na lista dos piores problemas da eucaliptocultura. De acordo com Toledo et al. (2003), o controle das plantas daninhas em plantios de eucalipto é realizado basicamente através de métodos químicos e mecânicos, isolados ou combinados. No caso das extensas áreas cultivadas por empresas florestais, a escassez de mão-de-obra e a necessidade de atingir elevados índices de produtividade têm levado ao aumento do uso do controle químico, como alternativa para redução dos custos de produção (Ribeiro, 1988).

O glyphosate é o herbicida mais usado na cultura do eucalipto, principalmente pelo efetivo controle de grande número de espécies de plantas daninhas e pelo baixo risco de contaminação ambiental (Malik et al., 1989). Herbicidas à base de glyphosate têm sido usados tanto no preparo da área quanto no controle da rebrota das cepas e na manutenção de reflorestamentos de eucalipto. O maior problema do uso desse herbicida em eucalipto é a deriva, a qual compromete o controle das plantas daninhas e leva ao aumento compensatório da dose utilizada, elevando os gastos e causando prejuízos às espécies não-alvo e ao meio ambiente (Hemphill Jr e Montgomery, 1981).

O efeito da deriva de herbicidas em plantas não-alvo está diretamente ligado à quantidade do princípio ativo que chega às culturas, que por sua vez está associado às doses usadas para controle das plantas daninhas. Segundo Rodrigues e Almeida (2005), as doses recomendadas do glyphosate para o eucalipto variam de 360 a 2.160 g ha⁻¹, no controle de espécies anuais e perenes. A utilização de doses elevadas de glyphosate em áreas infestadas por plantas daninhas perenes tem potencializado os riscos de danos com a deriva.

Em áreas em que o glyphosate vem sendo utilizado no controle de plantas daninhas em reflorestamento de eucalipto, são observados sintomas de intoxicação, em intensidades

variáveis, devido à deriva. Trabalhos de pesquisa e observações de campo sugerem comportamento diferencial entre as espécies e os clones de eucalipto perante o glyphosate.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos da deriva simulada de glyphosate, por meio de doses reduzidas, no crescimento de cinco espécies de eucalipto.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, entre os meses de dezembro de 2004 e fevereiro de 2005.

Mudas padronizadas, produzidas por propagação seminífera, de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maden, *E. urophylla* Blake, *E. saligna* Smith, *E. pellita* Muell e *E. resinifera* Smith, com três meses de idade e aproximadamente 30 cm de altura, foram plantadas em vasos preenchidos com 10 L de solo argiloso, adubado 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 realizada com 12 g vaso⁻¹ de N-P-K (20-05-20), parcelados em três vezes, com intervalos entre as adubações de 20 dias. As plantas de eucalipto receberam irrigação por microaspersão, de modo que mantivesse a disponibilidade de água próxima à capacidade de campo.

Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições, sendo cada vaso, contendo uma planta, considerado uma parcela experimental. O ensaio foi instalado em esquema fatorial 5 x 5 (sendo cinco espécies de eucalipto e cinco doses de glyphosate). As doses testadas foram: 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ e.a. de glyphosate, respectivamente correspondentes a 3, 6, 12 e 24 % da dose de 1.440 g ha⁻¹ da formulação sal de isopropilamina, e uma testemunha sem herbicida (dose 0), para fins de comparação. O glyphosate, nas diferentes doses, foi aplicado 40 dias após o plantio das mudas, quando o eucalipto apresentava cerca de 45 cm de altura, de modo que não atingisse o terço superior das plantas.

Na aplicação utilizou-se pulverizador costal, pressurizado a CO₂, mantido a pressão constante, munido de barra com dois bicos com pontas tipo leque TT 11002, espaçados de 0,5 m entre si e operando a 250 kPa de pressão, com volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹. No momento da aplicação a umidade relativa do ar era de 85%; a temperatura, de 26,5°C; e a velocidade do vento, de aproximadamente 2 km h⁻¹. As folhas das plantas permaneceram 24

horas após a aplicação protegidas do contato com água da chuva ou da irrigação, visando evitar a lavagem do herbicida.

Aos 45 dias após a aplicação (DAA), determinou-se a porcentagem de intoxicação em relação à testemunha, em escala de 0 a 100%, em que 0 corresponde à ausência de sintomas visíveis e 100 à morte das plantas (Frans, 1972). Nesta mesma época foram mensurados a altura das plantas (região entre o coleto e o ápice) e o diâmetro do caule a 1 cm do solo, sendo os valores subtraídos da altura e diâmetro obtidos no dia da aplicação do glyphosate obtendo-se a variação em altura e diâmetro por planta após a exposição a deriva do glyphosate. Aos 45 DAA, a parte aérea das plantas foi cortada rente ao solo e acondicionada em sacos de papel mantidos em estufa com circulação forçada de ar (65 ± 3 °C), até atingir peso constante, para obtenção da massa seca.

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A intensidade de intoxicação das plantas variou de acordo com as doses testadas ($p < 0,05$) aos 45 dias após aplicação (DAA), sendo tanto maior quanto maiores as doses de glyphosate (Figura 1). Houve variação entre as espécies ($p < 0,05$) quanto à porcentagem de intoxicação das plantas, sendo a interação doses x espécie não significativa ($p > 0,05$).

Nas cinco espécies estudadas verificou-se murcha, clorose e encarquilhamento das folhas dos ápices das plantas pulverizadas com as doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ e, em menor intensidade, de 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate. Os sintomas tornaram-se visíveis a partir do quarto DAA em *E. grandis*, *E. pellita* e *E. urophylla* e do quinto DAA em *E. resinifera* e *E. saligna*. Aos 15 DAA, as plantas de eucalipto que receberam as doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate apresentavam folhas coriáceas, ápices deformados, necroses bem desenvolvidas nos bordos das folhas e senescência foliar acentuada. Sintomas foliares semelhantes em plantas de eucalipto submetidas à deriva simulada com glyphosate foram relatados por Tuffi Santos et al. (2005, 2006).

As doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate provocaram a morte dos ápices das plantas, verificada aos 15 DAA, em *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla*, *E. saligna* e *E. pellita*;

nessas espécies, a intensidade de intoxicação das plantas alcançou valores superiores a 62 e 70% aos 45 DAA, respectivamente (Figura 1). Em *E. resinifera* não foi observada a morte dos ápices, e nessa espécie ocorreu menor intoxicação em todas as épocas de avaliação, aproximadamente 50% dos valores das demais espécies (Figura 1), mostrando-se, portanto, mais tolerante ao glyphosate. Comportamento diferencial entre genótipos de eucalipto submetidos à deriva de glyphosate foi relatado por Tuffi Santos et al. (2006).

Plantas de *E. urophylla* submetidas a 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate emitiram novas brotações com baixa intensidade de intoxicação mesmo quando expostas à maior dose. Já em *E. pellita* e *E. grandis*, o surgimento de novas brotações só ocorreu em plantas pulverizadas com 172,8 g ha⁻¹ de glyphosate, sendo essas retorcidas, com folhas cloróticas e de tamanho reduzido. Dantas et al. (2001), trabalhando com glyphosate no controle da rebrota de cepas em diferentes clones de eucalipto, relataram o surgimento de brotações com sintomas de intoxicação. Tuffi Santos et al. (2005) também descreveram a emissão de brotações normais, e também com sintomas de intoxicação, em mudas de eucalipto submetidas às doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate, respectivamente.

Houve diferença ($p < 0,01$) entre doses de glyphosate aplicadas quanto a massa seca, altura e diâmetro das plantas, e, entre as espécies, quanto à altura. Não foi verificada variação entre espécies ($p > 0,05$) quanto à massa seca e ao diâmetro de plantas, nem para interação doses x espécies ($p > 0,05$), para todas as variáveis referentes ao crescimento das plantas.

Plantas das cinco espécies submetidas a 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate apresentaram menor massa seca e altura aos 45 DAA em relação à testemunha; com 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate, o diâmetro das plantas também foi o menor observado entre as doses testadas. Plantas expostas a 43,2 g ha⁻¹ apresentaram resultados semelhantes aos da testemunha (Figura 2 a 4). As injúrias severas que induziram à paralisação do crescimento e à senescência das folhas justificam os menores valores observados para altura, diâmetro e matéria seca das plantas expostas às maiores doses de glyphosate.

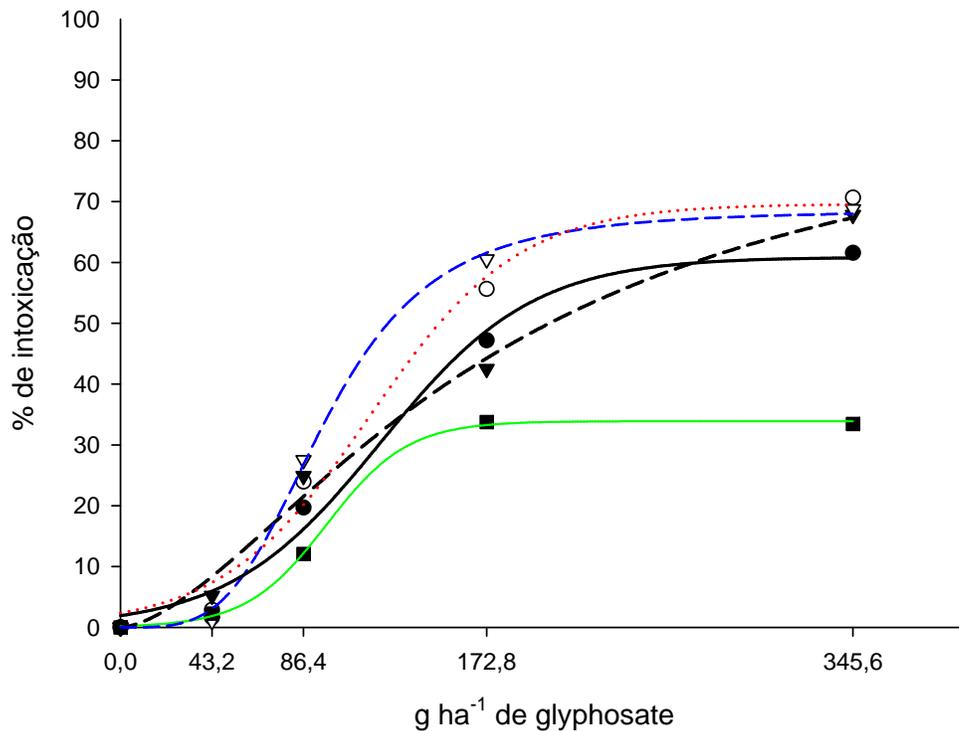


Figura 1- Porcentagem de intoxicação de espécies de eucalipto submetidas a doses crescentes de glyphosate em deriva simulada, 45 dias após aplicação.

- *E. resinifera*: $Y = 33,8941 / (1 + \exp(-(X - 97,3952) / 19,0352))$, $R^2 = 0,9987$.
- ▼-- *E. grandis*: $Y = 89,9545 / (1 + \exp(-(X - 176,3257) / 16,230))$, $R^2 = 0,9843$.
- *E. pellita*: $Y = 69,5960 / (1 + \exp(-(X - 117,8002) / 34,9084))$, $R^2 = 0,9773$.
- ...○... *E. saligna*: $Y = 60,869 / (1 + \exp(-(X - 122,864) / 35,8179))$, $R^2 = 0,9749$.
- ▽-- *E. urophylla*: $Y = 68,5549 / (1 + \exp(-(X - 97,2118) / 37,8074))$, $R^2 = 0,9970$.

Entre as espécies estudadas, *E. resinifera*, *E. urophylla* e *E. pellita* obtiveram as maiores alturas aos 45 DAA (Figura 3). Por sua vez, *E. saligna* apresentou a menor altura entre as espécies (Figura 3), provavelmente devido aos severos sintomas de intoxicação em plantas expostas a 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate (Figura 1), principalmente pela morte dos ápices e pela não emissão de brotações que retomassem o crescimento das plantas, como observado nas demais espécies.

E. pellita, *E. grandis*, *E. urophylla* e *E. saligna* apresentaram menor altura após exposição à deriva simulada com as doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate (Figura 5),

resultante da morte e senescência dos ápices causada pelo herbicida. A dose de 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate reduziu a altura das plantas de todas as espécies, exceto em *E. resinifera*, que nesta dose apresentou comportamento semelhante ao de plantas não expostas ao herbicida, com ganhos em altura de praticamente o dobro daqueles de indivíduos das demais espécies (Figura 5). *E. resinifera* foi a espécie que apresentou as menores reduções em diâmetro quando submetida à deriva do glyphosate, contrastando com *E. urophylla*, que teve o pior comportamento quando pulverizada com 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate (Figura 6).

Os resultados evidenciam os prejuízos da deriva de glyphosate no crescimento de eucalipto, alertando para os cuidados a serem tomados com a tecnologia de aplicação de herbicidas na eucaliptocultura, principalmente na implantação, fase em que as plantas de eucalipto são mais sensíveis ao glyphosate.

Maior tolerância à deriva do glyphosate foi constatada em *E. resinifera*, quando comparada às demais espécies estudadas. A variação na suscetibilidade entre os genótipos é o ponto de partida para a busca do entendimento sobre os mecanismos envolvidos na tolerância de plantas ao glyphosate. Há trabalhos que demonstram que a tolerância ao glyphosate se deve à sua penetração ou translocação diferencial (Sandberg et al., 1980; D'Anieri et al., 1990; Satichivi et al., 2000; Monquero et al., 2004). As taxas de absorção foliar de herbicidas e, conseqüentemente, sua eficácia estão diretamente ligada aos tipos de estruturas encontradas na folha e à permeabilidade da cutícula (Baker, 1982), que, por sua vez, dependem da constituição e da polaridade dos componentes da cutícula. Assim, faz-se necessário estudos da anatomia e micromorfologia foliar de *Eucalyptus* spp., bem como da constituição de ceras e cutícula, que possam fornecer subsídios que expliquem a tolerância diferencial entre *E. resinifera*, *E. pellita*, *E. grandis*, *E. urophylla* e *E. saligna* ao glyphosate.

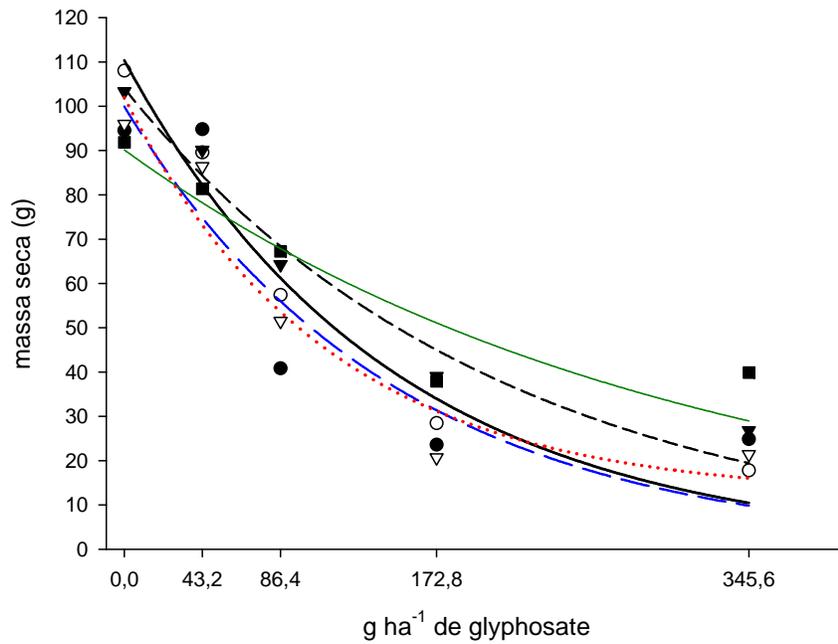


Figura 2: Massa seca de cinco espécies de eucalipto submetidas a diferentes doses de glyphosate em deriva simulada, aos 45 dias após aplicação.

- |— *E. resinifera*: $Y = 90,1473 \cdot \exp(-0,003285 \cdot X)$ $R^2 = 0,83.$
- -▼ - - *E. grandis*: $Y = 104,0550 \cdot \exp(-0,004853 \cdot X)$ $R^2 = 0,96.$
- *E. pellita*: $Y = 110,3580 \cdot \exp(-0,006815 \cdot X)$ $R^2 = 0,96..$
- ...○... *E. saligna*: $Y = 99,9819 \cdot \exp(-0,006707 \cdot X)$ $R^2 = 0,81.$
- -▽- - *E. urophylla*: $Y = 11,88 + 90,1144 \cdot \exp(-0,08917 \cdot X)$ $R^2 = 0,86.$

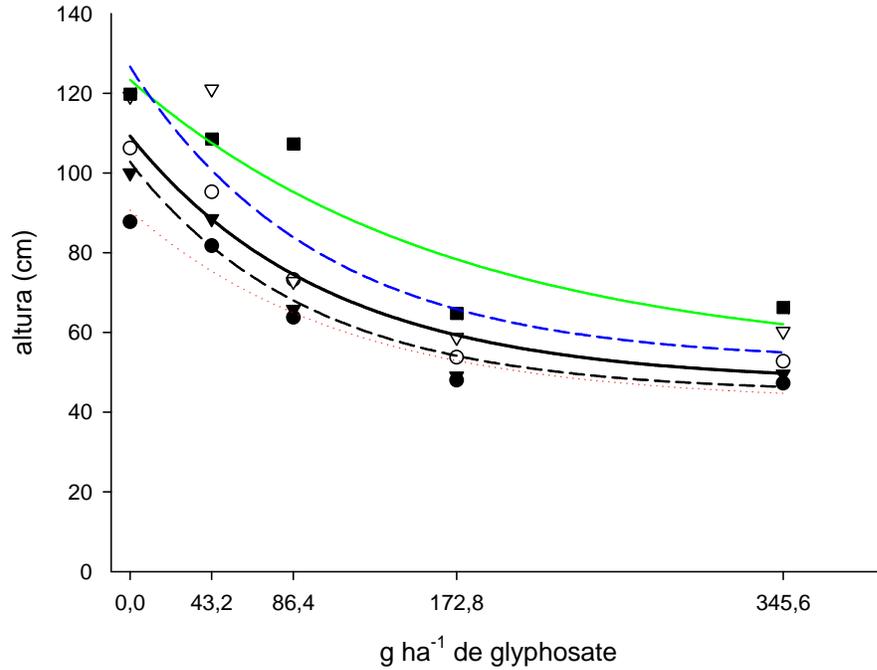


Figura 3- Altura de cinco espécies de eucalipto submetidas a diferentes doses de glyphosate em deriva simulada, 45 dias após aplicação.

—|— *E. resinifera*: $Y = 52,8071 + 70,5590 \cdot \exp(-0,005884 \cdot X)$ $R^2 = 0,86$.

- -▼ - - *E. grandis*: $Y = 101,496 \cdot \exp(-0,002591 \cdot X)$ $R^2 = 0,84$.

—●— *E. pellita*: $Y = 44,8468 + 57,9379 \cdot \exp(-0,01060 \cdot X)$ $R^2 = 0,91$.

...○... *E. saligna*: $Y = 42,4449 + 48,2006 \cdot \exp(-0,00884 \cdot X)$ $R^2 = 0,88$.

- -▽- - *E. urophylla*: $Y = 52,6210 + 74,0283 \cdot \exp(-0,009982 \cdot X)$ $R^2 = 0,82$

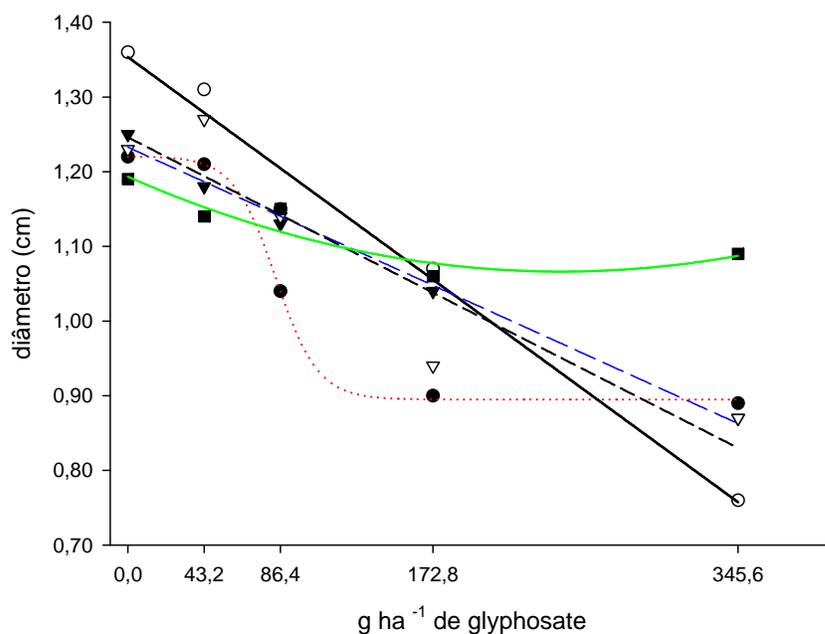


Figura 4 - Diâmetro de cinco espécies de eucalipto submetidas a diferentes doses de glyphosate em deriva simulada, 45 dias após aplicação.

—■— *E. resinifera*: $Y = 1,1932 - 0,001034X + 2,1074X^2$ $R^2 = 0,86$

--▼-- *E. grandis*: $Y = 1,2327 - 0,0010706X$ $R^2 = 0,99$.

—●— *E. pellita*: $Y = 1,35 - 0,001724X$ $R^2 = 0,97$.

....○.... *E. saligna*: $Y = 0,8948 / (1 + \exp(-(X - 83,7896) / -11,9916))$ $R^2 = 0,99$.

--▽-- *E. urophylla*: $Y = 1,246 - 0,0012037X$ $R^2 = 0,86$.

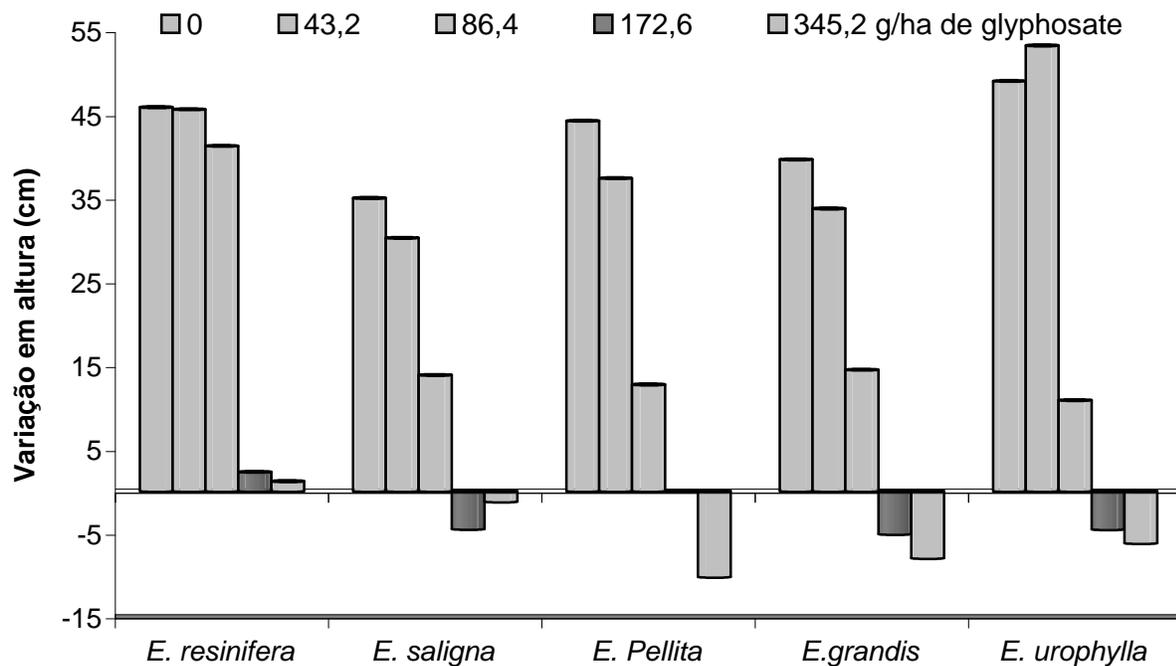


Figura 5- Variação em altura de diferentes espécies de eucalipto no período de 45 dias após aplicação de doses de glyphosate em deriva simulada.

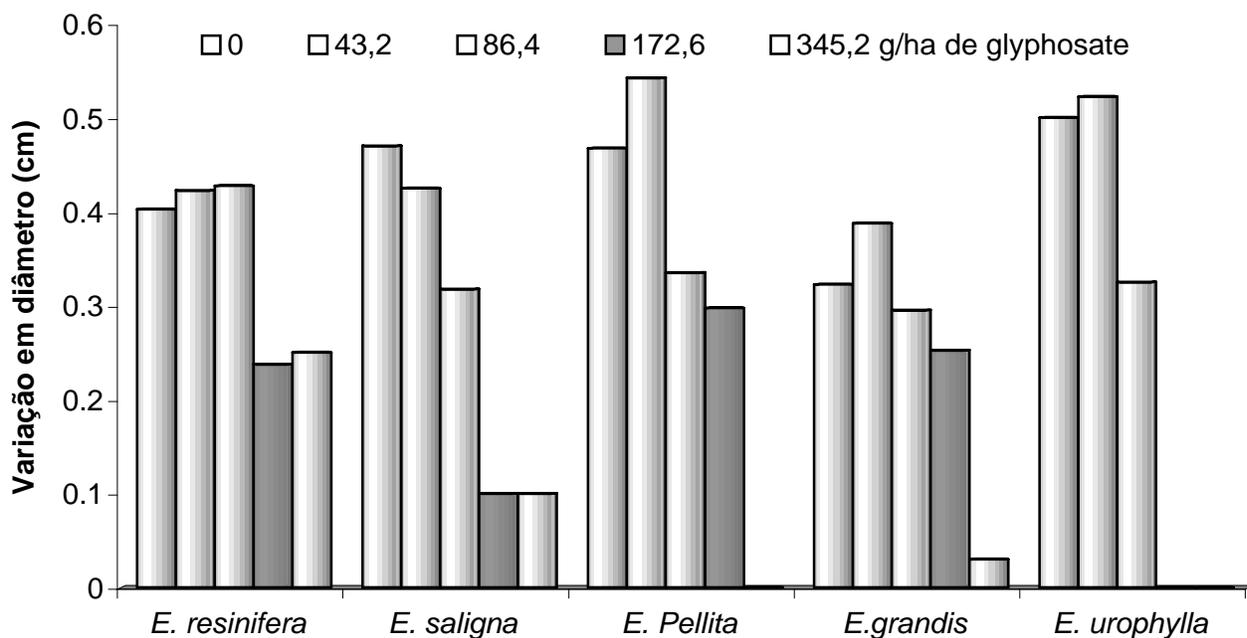


Figura 6- Variação em diâmetro do caule de diferentes espécies de eucalipto no período de 45 dias após aplicação de doses de glyphosate em deriva simulada.

2.4 CONCLUSÕES

Os sintomas de murcha, clorose, encarquilhamento foliar, necroses e senescência foliar causados pelo glyphosate foram semelhantes nas diferentes espécies. Plantas submetidas a doses acima de 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate tiveram o seu crescimento afetado, resultando em menores altura, diâmetro do caule e massa seca aos 45 dias após aplicação do herbicida. *E. resinifera* foi mais tolerante ao glyphosate, apresentando menor intensidade de intoxicação e maior incremento em altura e diâmetro, mesmo nas plantas submetidas às maiores doses, o que não foi observado em *E. grandis*, *E. urophylla*, *E. saligna* e *E. pellita*.

2.5 LITERATURA CITADA

- AHRENS, W.H. Glyphosate. In: **Herbicide Handbook** (ed. W.H. Ahrens). Champaign, IL, USA. Weed Sci. Society of America, 1994. p. 149-152.
- 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.
- CAMPBELL, W.F.; EVANS, J.O.; REED, F.C. Effect of glyphosate on chloroplast ultrastructure of quack grass mesophyll cell. **Weed Sci.**, v. 24, p. 22-25, 1976.
- COLE, D.J.; CASELEY, J.C.; DODGE, A.D. Influence of glyphosate on selected plant process. **Weed Res.**, v.23, p. 173-183, 1983.
- D'ANIERI, P. et al. Glyphosate translocation and efficacy relationships in red maple, sweet gum and loblolly pine seedlings. **Forestry Sci.**, 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, 2001, Viçosa-MG. **Anais...** Viçosa: SBS/ SIF, p. 29-44. 2001.
- DOUROJEAMI M. O eucalipto não é vilão. Sociedade Brasileira de Silvicultura. 2004. Disponível: [http:// www.sif.com.br](http://www.sif.com.br). Acessado: 18 set. 2005.
- FRANS, R.E. Measuring plant responses. In: Wilkinson, R. E. (Ed.) **Research Methods in Weed Sci.**, (s.l.): Southern Weed Sci. Society, 1972. p. 28-41.
- HEMPHILL JR., D.D.; MONTGOMERY, M.L. Response of vegetable crops to sub lethal application of 2,4-D. **Weed Sci.**, v. 29, n. 6, p. 632-635, 1981.
- MALIK, J.; BARRY, G.; KISHORE, G. The Herbicide Glyphosate. **Biofactores**, v. 2, p. 17-25, 1989.
- MONQUERO, P.A. et al. Caracterização da superfície foliar e das ceras epicuticulares em *Commelina benghalensis*, *Ipomoea grandifolia* e *Amaranthus hybridus*. **Planta Daninha**, v. 22, p. 203-210, 2004.
- 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.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. Londrina: Edição dos autores 2005. 591p.
- SANDBERG, C.L.; MEGGITT, W.F.; PENNER, D. Absorption, translocation and metabolism of ¹⁴C-glyphosate in several weed species. **Weed Res.**, v. 20, p. 195-200, 1980.

SATICHIVI, N.M. et al. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Sci.**, v. 48, p. 675-679, 2000.

TOLEDO, R.E.B. et al. 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. et al. Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sob efeito de deriva do glyphosate. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 133-142. 2005.

TUFFI SANTOS, L.D. et al. Morphological responses of different eucalypt clones submitted to glyphosate drift. **Environ. Exp. Bot.**, (*in press*).

3. EPIDERME FOLIAR DE EUCALIPTO E SUA RELAÇÃO COM A TOLERÂNCIA AO GLYPHOSATE

Leaf epidermis characteristics of eucalypt and its role in glyphosate tolerance

RESUMO: O glyphosate, via deriva, pode causar injúrias nas plantas de eucalipto. Trabalhos preliminares de pesquisa e observações de campo apontam para uma tolerância diferencial a esse herbicida entre os genótipos cultivados. Neste estudo, caracterizou-se a epiderme foliar de cinco espécies de eucalipto, correlacionando as características epidérmicas com a tolerância ao glyphosate em deriva simulada por meio de subdoses. Utilizou-se o esquema fatorial (5x5), sendo cinco espécies (*Eucalyptus urophylla*, *E. grandis*, *E. pellita*, *E. resinifera* e *E. saligna*) e quatro subdoses (43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate) + uma testemunha na ausência do herbicida. Anteriormente à aplicação do herbicida, coletaram-se folhas, totalmente expandidas, para análise anatômica da superfície epidérmica, segundo metodologia de dissociação celular. O efeito do glyphosate sobre as espécies foi avaliado, aos 45 dias após aplicação (DAA), pela intensidade de intoxicação das plantas, em escala variando de 0 a 100%, sendo 0% atribuído a plantas com ausência de injúrias e 100% a plantas mortas. Das espécies estudadas, *E. resinifera* mostrou-se mais tolerante ao glyphosate, apresentando menor intoxicação aos 45 (DAA), não sendo verificada diferença entre as demais espécies. As cinco espécies apresentam folhas glabras, anfiestomáticas, com estômatos do tipo anomocítico e presença de cutícula proeminente. Apesar de presentes em ambas as faces, os estômatos são raros na epiderme adaxial, que apresenta baixo índice estomático e densidade estomática. Os maiores valores DE índice estomático foram observados em *E. resinifera*, enquanto *E. saligna* apresentou a maior densidade estomática. Cavidades subepidérmicas vistas na superfície como células de cobertura estão presentes nas cinco espécies, com maior densidade em *E. pellita*.

Houve alta correlação positiva entre a intoxicação por glyphosate e a densidade (0,90**) e o número de células epidérmicas (0,94**) da face adaxial, respectivamente, o que não foi verificado para as demais características da epiderme. Essa correlação indica o possível envolvimento do número de células da face adaxial da epiderme com a tolerância diferencial ao herbicida. *E. resinifera* foi mais tolerante que *E. urophylla*, *E. grandis*, *E. pellita* e *E. saligna*, com alta correlação positiva entre a intensidade de intoxicação por glyphosate e a densidade e o número de células epidérmicas da face adaxial.

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

Abstract: In reforestation areas, the glyphosate drift causes injuries in eucalyptus plants. Preliminary research and field observations differential tolerance to glyphosate among cultivated genotypes. In this context, it was studied the anatomical structures of leaf epidermis of five species of eucalypt, correlated to glyphosate tolerance. The factorial designing was used, being five species (*Eucalyptus urophylla*, *E. grandis*, *E. pellita*, *E. resinifera* and *E. saligna*) and five subdoses (0, 43.2, 86.4, 172.8 and 345.6 g ha⁻¹ of glyphosate) simulating drift. Immediately before the herbicide application, expanded leaves had been collected for anatomical analysis of epidermal surface through dissociation methodology. Among the studied species, *E. resinifera* has shown to be the most tolerant to glyphosate drift presenting the least values for intoxication percentage at day 45 post application; difference among the others hadn't been found either. The five species present glabrous leaves, amphistomatic, with anomocytic type stomata and prominent cuticle. Despite being present on both faces, stomata are rare on the adaxial face, exhibiting low index and stomatic density. The highest values for stomatic index have been observed on *E. resinifera*, where as *E. saligna* presented the highest stomatic density. Subepidermic cavities evidenced on the surface by the overlying cells are present in the five species, with the highest density on *E. pellita*. There has been high correlation between intoxication percentage and number of epidermal cells on the adaxial surface, indicating the involvement of this characteristic with the differential tolerance to the herbicide. Studies on absorption, translocation and metabolism of glyphosate in eucalypt must be under taken to elucidate the differential tolerance of genotypes concerning glyphosate drift.

Keywords: anatomy, *Eucalyptus* spp., phytointoxication, herbicide.

3.1 INTRODUÇÃO

O manejo de plantas daninhas destaca-se entre as principais práticas silviculturais em plantios de eucalipto. Esse manejo se intensifica no período das chuvas, principalmente nos primeiros anos de implantação, sendo feito basicamente por métodos de controle químico e mecânico, isolados ou combinados (Toledo, 2003). Dentre os herbicidas usados, o glyphosate tem se destacado, por ser aplicado na fase de pós-emergência das plantas daninhas, o que favorece operações em áreas de cultivo mínimo; 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 rápida inativação no solo (Malik et al., 1989).

Em áreas onde o controle químico é adotado, o contato da molécula herbicida com organismos não alvo, que caracteriza o problema da deriva, tem sido relatado com frequência. Em aplicações dirigidas de produtos não seletivos, como no caso dos herbicidas à base de glyphosate, a própria cultura pode ser afetada pela deriva.

Relatos de pessoas ligadas ao manejo florestal e observações de campo nas empresas do setor apontam para uma diferença de tolerância ao glyphosate entre os genótipos cultivados. Em trabalho com deriva simulada de glyphosate em eucalipto, Tuffi Santos et al. (2006) relataram comportamento diferencial entre clones e entre espécies, sendo *Eucalyptus grandis* mais suscetível e *E. urophylla* mais tolerante. Entretanto, os mecanismos envolvidos nessa tolerância diferencial não são esclarecidos.

A literatura (Sandberg et al., 1980; D'Anieri et al., 1990; Satichivi et al., 2000; Monquero et al., 2004) demonstra que a tolerância de plantas ao glyphosate ocorre devido à penetração ou translocação diferencial desse herbicida na planta. As taxas de absorção foliar de herbicidas e, conseqüentemente, sua eficácia estão diretamente ligadas aos tipos de estruturas encontradas na folha e à permeabilidade da cutícula (Baker, 1982), que por sua vez depende da constituição e da polaridade desta. Estudos demonstram que nos estômatos e na base dos tricomas a cutícula é mais fina e mais permeável a substâncias polares (menor teor de cera epicuticular), sendo uma via de penetração de herbicidas (Hess & Falk, 1990; Schreiber, 2005). Esse fato pode favorecer a penetração do glyphosate em plantas onde a presença dessas estruturas epidérmicas seja freqüente.

Objetivou-se neste trabalho estudar as estruturas anatômicas da epiderme foliar de cinco espécies de eucalipto e sua relação com a tolerância diferencial ao glyphosate em deriva simulada.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, de dezembro de 2004 a fevereiro de 2005.

Mudas padronizadas, oriundas de semente, de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maden, *E. urophylla* S.T. Blake, *E. saligna* Smith, *E. pellita* F. Muell e *E. resinifera* Smith, com aproximadamente 30 cm de altura e três meses de idade, foram plantadas em vasos preenchidos com 10 L de solo argiloso, adubado 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. As sementes foram adquiridas no Instituto de Pesquisas Florestais (IPEF). A adubação de cobertura foi feita com 12 g por vaso de N-P-K (20-5-20), parcelado em três vezes. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, recebendo irrigação por microaspersão de modo que a mantivesse adequada a disponibilidade de água.

Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 5 x 5 (cinco espécies de eucalipto e cinco doses de glyphosate) com quatro repetições, sendo cada vaso considerado uma parcela experimental.. As doses testadas foram equivalentes a: 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate, respectivamente correspondentes a 3, 6, 12 e 24% da dose de 1440 g ha⁻¹ da formulação sal de isopropilamina, além da testemunha sem herbicida (dose 0). O glyphosate foi aplicado simulando uma deriva, de modo que a calda pulverizada não atingisse o terço superior das plantas. A aplicação foi realizada aos 40 dias após o plantio, quando as mudas de eucalipto apresentavam em média cerca de 45 cm de altura. Na aplicação utilizou-se pulverizador costal pressurizado a CO₂, munido de barra com dois bicos com pontas tipo leque TT 11002 espaçadas de 0,5 m, operando a 250 kPa de pressão e trabalhando com volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹. No momento da aplicação do glyphosate a umidade relativa do ar encontrava-se a 85%, a temperatura a 26,5°C, e a velocidade do vento era de aproximadamente 2 km h⁻¹. As folhas das plantas permaneceram protegidas do contato com água da chuva ou proveniente da irrigação 24 horas após a aplicação, visando evitar a lavagem do produto.

Imediatamente antes da aplicação foi coletada, por planta, uma folha totalmente expandida do terceiro nó, a partir do ápice caulinar, para o estudo histológico e histoquímico, sendo utilizadas seis plantas por espécie. Os testes para verificação da presença da cutícula, por meio do reagente Sudan III (Pearse, 1980), foram aplicados em cortes da região mediana e da margem da folha em amostras frescas seccionadas transversalmente em micrótomo de mesa (modelo LPC, Rolemberg e Bhering Comércio e Importação LTDA, Belo Horizonte, Brasil), sendo o laminário montado com gelatina glicerinada.

Para descrever os caracteres de superfície, fragmentos foliares, de aproximadamente 1 cm², provenientes da região mediana de cada folha coletada (um fragmento por planta), foram dissociados utilizando-se ácido nítrico e ácido crômico (Jensen, 1962). As amostras foram coradas com azul-de-astra e fucsina básica (Kraus et al., 1998) e as lâminas montadas com gelatina glicerinada.

As determinações do tipo de estômato seguiram a classificação proposta por Metcalfe e Chalk (1979). A análise do laminário e a documentação fotográfica do laminário histológico foram feitas utilizando-se um microscópio fotônico (modelo AX70TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) com sistema U-Photo.

Para determinação do índice estomático, densidade estomática (estômatos mm⁻²), densidade de células epidérmicas propriamente ditas (número de células mm⁻²) e densidade de cavidades (cavidades mm⁻² - mensuradas conforme as células de cobertura na epiderme foliar), foram realizadas 10 observações por planta para cada face epidérmica, em campos com área correspondente a 0,067 mm². Os dados quantitativos da superfície epidérmica foram obtidos com auxílio do software Image-Pro Plus. O cálculo do índice estomático foi feito de acordo com a fórmula de Cutter (1986): Índice Estomático (IE) = NE/(CE + NE)*100, em que NE é o número de estômatos e CE o número de células epidérmicas propriamente ditas.

Após a aplicação do herbicida foram realizadas observações diárias de alterações morfológicas na parte aérea das plantas. Aos 45 dias após a aplicação (DAA) determinou-se a porcentagem de intoxicação em relação à testemunha, em que 0% corresponde à ausência de sintomas visíveis e 100% à morte das plantas (Frans, 1972).

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. Para os dados de porcentagem de

intoxicação, foram ajustadas equações de regressão em função das subdoses de glyphosate aplicadas, simulando deriva.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cinco espécies de *Eucalyptus* apresentam folhas glabras, anfiestomáticas, com estômatos do tipo anomocítico e dispostos no mesmo plano das demais células epidérmicas (Figuras 1A-E). A epiderme é unisseriada e apresenta células com formato variando entre tabular e arredondado (Figura 1E), salvo nas regiões da nervura central e dos bordos foliares, onde as células são papilosas (Figuras 1F e 2B). Lenticelas foram visualizadas na epiderme da face abaxial das cinco espécies. Nestas a cutícula é conspícua, sendo evidenciada pelo Sudan III (Figura 2).

Diferença significativa entre as espécies ($p < 0,05$) foi encontrada para índice estomático (%), densidade de estômatos (estômatos mm^{-2}), densidade de cavidades (cavidades mm^{-2}) e densidade de células epidérmicas propriamente ditas (número de células epidérmicas propriamente ditas mm^{-2}) (Figuras 3 a 6).

A densidade de estômatos na superfície adaxial da epiderme foi menor do que na abaxial (Figura 4), e a densidade de cavidades (Figura 5), em ambas as superfícies, foi menor que a densidade de estômatos em todas as espécies estudadas. Resultados semelhantes foram obtidos por James e Bell (1995) quando analisaram folhas de *Eucalyptus camaldulensis*. A densidade estomática é variável de acordo com a idade da planta e diretamente influenciada pelas condições ambientais (Cao, 2000; Justo et al., 2005). Entretanto, esta característica está positivamente relacionada com a assimilação de CO_2 (Abrams et al., 1994; Justo et al., 2005), provavelmente pela relação positiva da densidade estomática com as trocas gasosas (Araus et al., 1986) e com a maior condutância estomática (Boardman, 1977). Por outro lado, o índice estomático é um parâmetro relativamente constante para cada espécie (Cutter, 1986), tendo, portanto, maior relevância taxonômica. Tomando como base a face abaxial da epiderme, onde se concentra o maior número de estômatos, poderia se associar a maior densidade estomática de *E. saligna* a uma maior assimilação de CO_2 , quando comparada com as demais espécies.

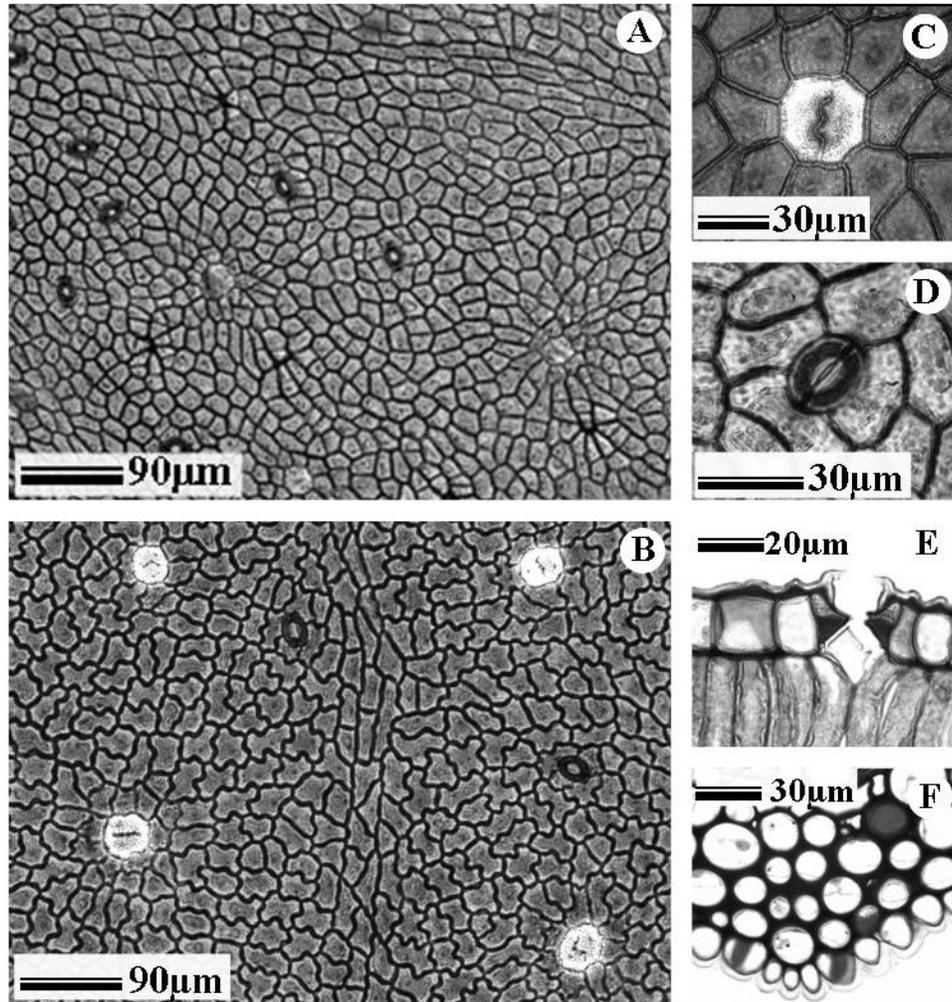


Figura 1- Epiderme foliar de eucalipto em microscopia de luz. A-D. Vista frontal da face adaxial da epiderme da lâmina foliar de espécies de *Eucalyptus*, fragmentos submetidos à dissociação. A- *Eucalyptus grandis*; B- *E. resinifera*; C- Detalhe da cavidade secretora de *E. pellita*, apresentando duas células de cobertura; D- Detalhe do estômato de *E. pellita*; E. Secção transversal da lâmina foliar de *E. pellita*, evidenciando um estômato; F- Células epidérmicas papilosas da região da nervura em secção transversal da lâmina foliar de *E. grandis*.

Cavidades estão dispersas no mesofilo e na nervura central das espécies de *Eucalyptus* estudadas, predominantemente localizadas na região subepidérmica das duas faces da folha (Figura 2A). As cavidades são identificadas na superfície epidérmica por duas células de cobertura (Figura 1C). *E. pellita* apresenta a maior densidade de cavidades, tanto na face abaxial quanto na adaxial da folha (Figura 5).

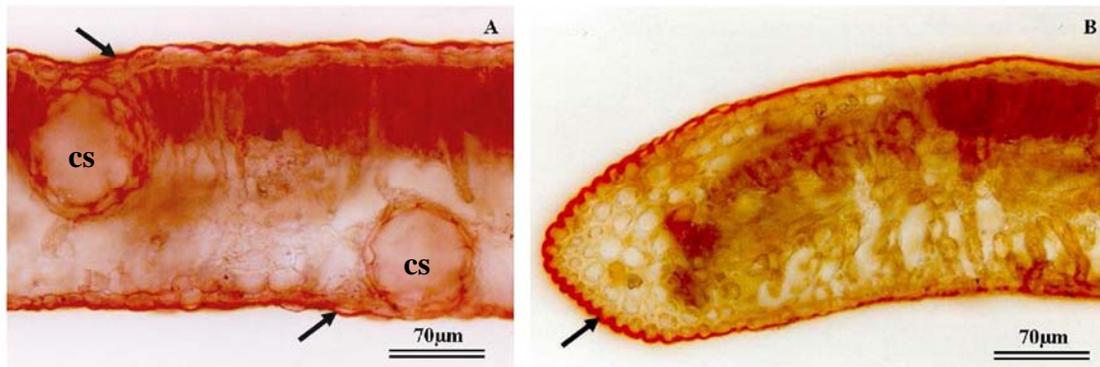


Figura 2- Cortes transversais da lâmina foliar de eucalipto submetidos ao Sudan III. Setas mostrando a cutícula foliar; cs – cavidade secretora. A – porção mediana da folha de *E. pellita*. B – margem da folha de *E. urophylla*.

Quanto à densidade de células epidérmicas propriamente ditas, *E. saligna* apresenta o maior número de células por área, tanto na face adaxial quanto na abaxial. Contrariamente, *E. pellita* e *E. resinifera* apresentam menor densidade de células epidérmicas (Figura 4). Ao microscópio de luz, essa diferença é clara quando se comparam as espécies de maior com as de menor densidade de células epidérmicas (Figura 1A e 1B).

A intoxicação das plantas variou de acordo com as doses testadas ($p < 0,05$) aos 45 dias após aplicação (DAA), sendo tanto maior quanto maiores as doses de glyphosate (Figura 7). Entretanto, houve variação entre as espécies ($p < 0,05$) quanto à porcentagem de intoxicação das plantas, sendo a interação doses *versus* espécie não significativa ($p > 0,05$).

Nas cinco espécies estudadas verificaram-se murcha, clorose e enrolamento das folhas dos ápices das plantas pulverizadas com as doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ e, em menor intensidade, com 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate. Os sintomas eram visíveis a partir do 4^o DAA em *E. grandis*, *E. pellita* e *E. urophylla*, e do 5^o DAA em *E. resinifera* e *E. saligna*. Os sintomas nas plantas que receberam as doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate evoluíram para folhas coreáceas, ápices deformados, necroses bem desenvolvidas nos bordos das folhas e senescência foliar acentuada. Sintomas foliares semelhantes em plantas de eucalipto submetidas à deriva simulada com glyphosate foram relatados por Tuffi Santos et al. (2005) e por Tuffi Santos *et al.* (2006). A clorose pode ser resultado da degeneração dos cloroplastos (Campbell et al., 1976) e/ou da inibição da formação de clorofila (Cole et al., 1983) como resultado da ação do glyphosate em plantas.

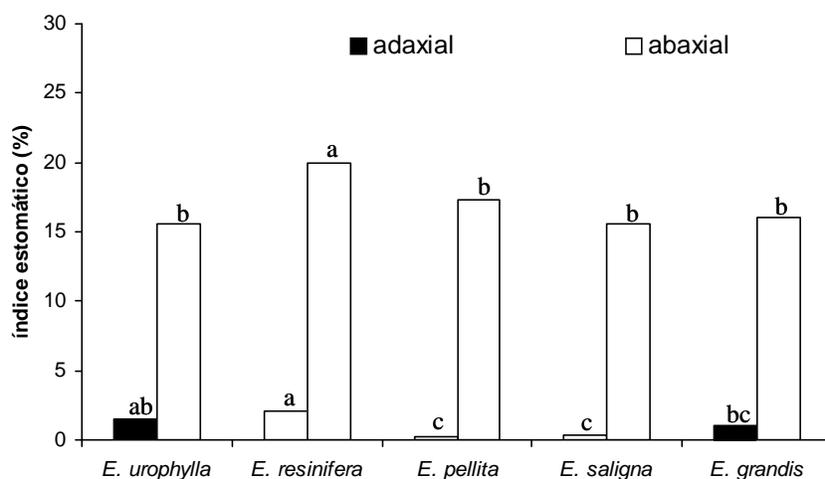


Figura 3- Índice estomático de cinco espécies de *Eucalyptus*. Médias seguidas pelas mesmas letras dentro da mesma face epidérmica não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

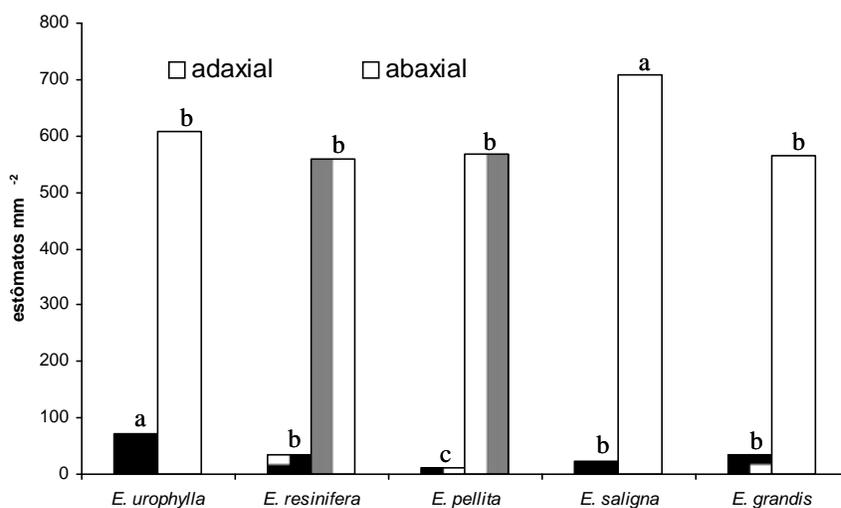


Figura 4- Densidade estomática de cinco espécies de *Eucalyptus*. Médias seguidas pelas mesmas letras dentro da mesma face epidérmica não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

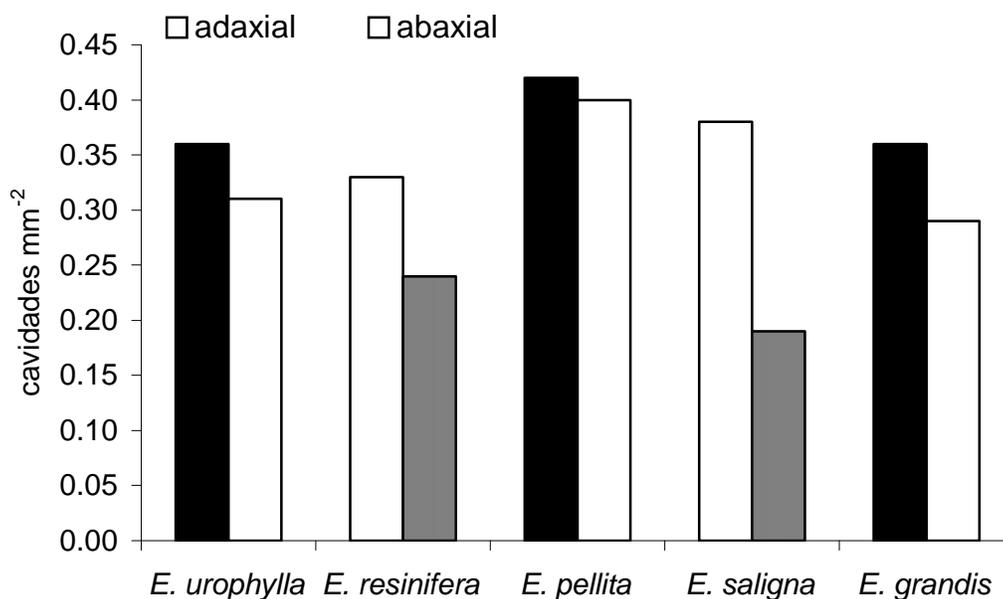


Figura 5- Densidade de cavidades nas faces abaxial e adaxial da epiderme de cinco espécies de *Eucalyptus*. Médias seguidas pelas mesmas letras dentro da mesma face epidérmica não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

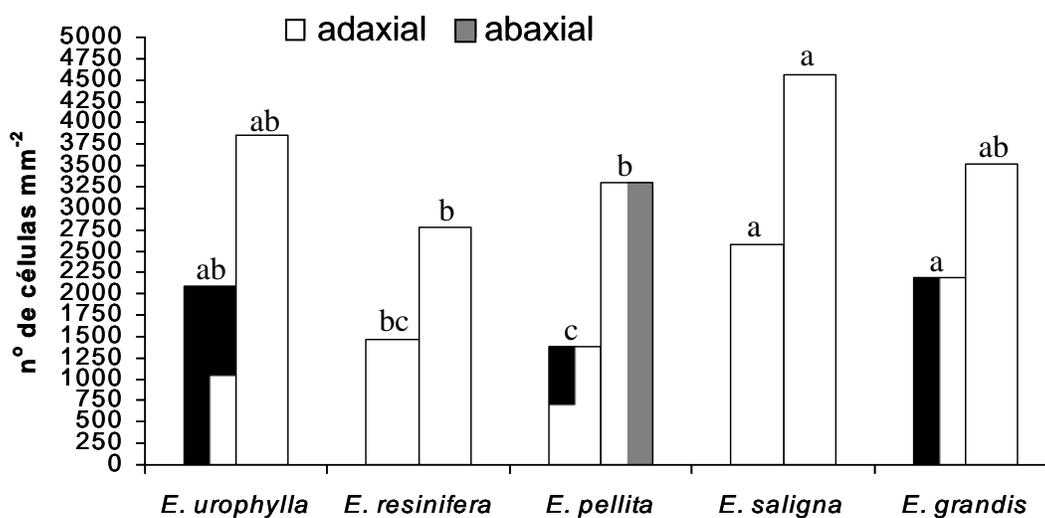


Figura 6- Densidade de células epidérmicas propriamente ditas nas faces abaxial e adaxial de cinco espécies de *Eucalyptus*. Médias seguidas pelas mesmas letras dentro da mesma face epidérmica não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

As doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate provocaram a morte dos ápices das plantas em *E. grandis*, *E. urophylla*, *E. saligna* e *E. pellita*; nessas espécies, a intoxicação das plantas alcançou valores superiores a 62% aos 45 DAA (Figura 7). Em *E. resinifera* não foi observada a morte dos ápices das plantas, apresentando a menor intensidade de intoxicação, aproximadamente 50% dos valores das demais espécies (Figura 7), mostrando-se, portanto, mais tolerante ao glyphosate. Comportamento diferencial entre genótipos de eucalipto submetidos à deriva de glyphosate também foi relatado por Tuffi Santos et al. (2006), que verificaram maior suscetibilidade do clone de *E. grandis* ao herbicida que dos clones de *E. urophylla* e do híbrido urograndis.

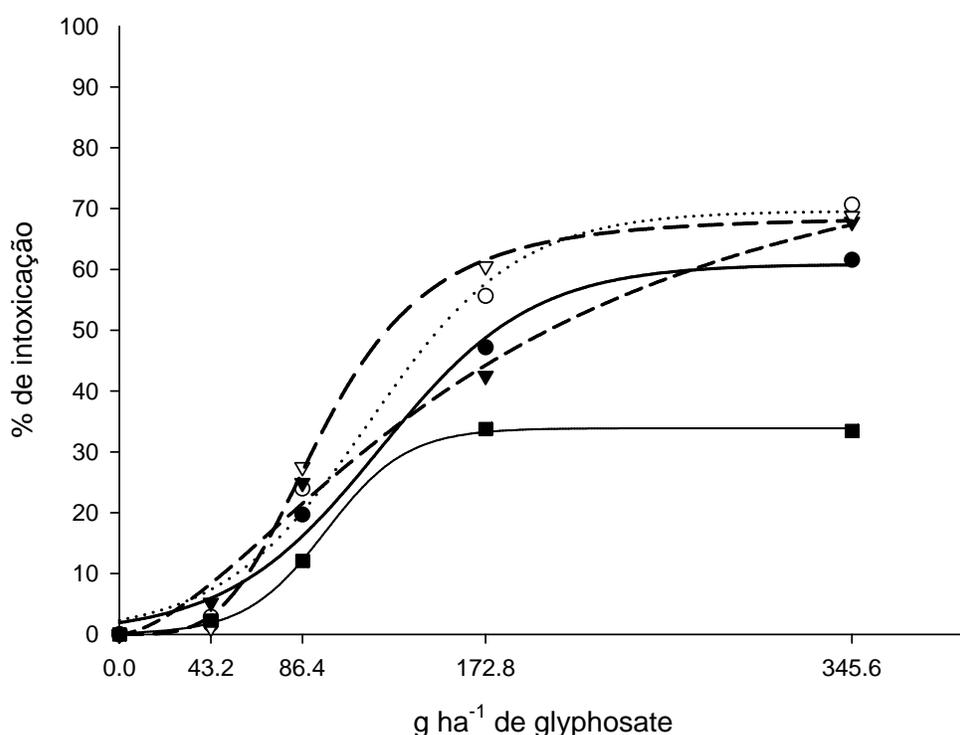


Figura 7- Porcentagem de intoxicação de espécies de eucalipto submetidas a doses crescentes de glyphosate em deriva simulada, 45 dias após aplicação.

- *E. resinifera*: $Y = 33,8941 / (1 + \exp(-(X - 97,3952) / 19,0352))$, $R^2 = 0,9987$.
- ▼-- *E. grandis*: $Y = 89,9545 / (1 + \exp(-(X - 176,3257) / 16,230))$, $R^2 = 0,9843$.
- *E. pellita*: $Y = 69,5960 / (1 + \exp(-(X - 117,8002) / 34,9084))$, $R^2 = 0,9773$.
- ...○... *E. saligna*: $Y = 60,869 / (1 + \exp(-(X - 122,864) / 35,8179))$, $R^2 = 0,9749$.
- ▽— *E. urophylla*: $Y = 68,5549 / (1 + \exp(-(X - 97,2118) / 37,8074))$, $R^2 = 0,9970$.

A correlação entre a porcentagem de intoxicação causada pelo glyphosate e as características índice estomático, densidade estomática e densidade de cavidades nas duas faces epidérmicas das folhas de eucalipto foi baixa e não significativa ($p>0,05$). Por sua vez, alta correlação positiva foi observada com a densidade de células epidérmicas propriamente ditas e com o número de células epidérmicas totais da face adaxial das folhas (Tabela 1).

A cutícula foliar é a principal via de penetração do glyphosate, sendo a sua análise de importância fundamental nos estudos de tolerância a herbicidas (Devine, 1990). Nos estômatos, onde a cutícula sobre as células-guarda apresenta-se mais fina e mais permeável a substâncias polares (menor teor de cera epicuticular), parece ocorrer maior penetração de herbicidas (Hess & Falk, 1990; Schreiber, 2005). Esse fato pode favorecer a penetração do glyphosate em plantas nas quais a presença de estômatos seja grande, principalmente na face adaxial da epiderme foliar, onde o contato com a calda herbicida aplicada é mais provável. Contudo, nas folhas de eucalipto, a baixa densidade estomática na face adaxial torna-se limitante para uma boa penetração do glyphosate por esta via (Tuffi Santos et al., 2006), como pode ser confirmado pela baixa correlação encontrada neste estudo entre a porcentagem de intoxicação causada pelo glyphosate e o índice e densidade estomática de *Eucalyptus*.

Tabela 1: Correlações entre porcentagem de intoxicação de plantas submetidas à deriva de glyphosate e características da epiderme foliar de cinco espécies de eucalipto

Características epidérmicas	% de intoxicação por glyphosate
Índice estomático EAB	0,346 ^{ns}
Índice estomático EAD	-0,036 ^{ns}
Densidade de estômatos EAB	0,445 ^{ns}
Densidade de estômatos EAD	-0,202 ^{ns}
Densidade de cavidades EAB	-0,284 ^{ns}
Densidade de cavidades EAD	0,089 ^{ns}
Densidade de células epidérmicas ¹ EAB	0,552*
Densidade de células epidérmicas EAD	0,896**
Células totais ² EAB	0,432 ^{ns}
Células totais EAD	0,939**

¹Células epidérmicas propriamente ditas. ²Somatório das células epidérmicas propriamente ditas + células estomáticas + células de cobertura das cavidades. EAB = face abaxial da epiderme; EAD = epiderme da face adaxial. ^{ns}, * e ** não-significativo e significativo a 5 e 1%, respectivamente.

Segundo Schönherr (2002), a presença de água é fundamental para uma boa penetração de glyphosate nas folhas, sendo evidente que grande parte do herbicida que penetra em seus tecidos passa por poros hidratados da cutícula. Estudos sobre a micromorfologia foliar de espécies do gênero *Eucalyptus* mostram que a superfície epidérmica é ondulada e a junção entre as células adjacentes apresenta-se em depressão (Louro et al., 1999; Tuffi Santos et al., 2006). Tal fato pode predispor as regiões dos contornos celulares a uma maior hidratação e a um possível acúmulo da calda herbicida aplicada, favorecendo assim a absorção do glyphosate. Logo, maior densidade de células epidérmicas implicaria maior número de regiões mais propensas à penetração do glyphosate, o que explicaria a alta correlação positiva entre esta característica e a porcentagem de intoxicação causada por esse herbicida em eucalipto. Assim, esse parâmetro mostra-se promissor para os estudos de tolerância diferencial, podendo ser usado na seleção de possíveis genótipos mais tolerantes ao glyphosate. Contudo, estudos de absorção, translocação e metabolismo do glyphosate em eucalipto devem ser realizados para confirmação dos fenômenos envolvidos com a tolerância diferencial entre os genótipos dessa espécie. Adicionalmente, abordagens ultra-estruturais poderão contribuir com informações sobre a estrutura da cutícula e da parede celular em relação à penetração diferencial do glyphosate.

3.4 CONCLUSÕES

Existe tolerância diferencial ao glyphosate, sendo *E. resinifera* mais tolerante que *E. urophylla*, *E. grandis*, *E. pellita* e *E. saligna*. As cinco espécies possuem folhas glabras, anfiestomáticas, com estômatos do tipo anomocítico e presença de cutícula proeminente. Existe alta correlação positiva entre a intoxicação por glyphosate e a densidade (0,90**) e o número de células epidérmicas (0,94**) da face adaxial.

3.5 LITERATURA CITADA

ABRAMS, M.D.; KUBISKE, M.E.; MOSTOLLER, S.A. Relating wet and dry year ecophysiology to leaf structure in contrasting temperate tree species. **Ecology**, v.75, n.1, p.123-133, 1994.

ARAUS, J.L.; et al. Relationship between photosynthetic capacity and leaf structure in several shade plants. **Am. J. Bot.**, v.76, n.12, p.1760-1770, 1986.

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.

BOARDMAN, N.K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annu. Rev. Plant Physiol.**, v.28, p.355-377, 1977.

CAMPBELL, W.F.; EVANS, J.O.; REED, F.C. Effect of glyphosate on chloroplast ultrastructure of quack grass mesophyll cell. **Weed Sci.**, v.24, p.22-25, 1976.

CAO, K.F. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. **Can. J. Bot.**, v.78, n.10, p.1245-1253, 2000.

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

CRUZ, C.D. **Programa GENES: aplicativo computacional em genética e estatística versão Windows**. Viçosa-MG: UFV, 2001. 442p.

CUTTER, E.G. **Anatomia vegetal**. Parte I – Células e tecidos. 2. ed. São Paulo: Roca, 1986, 304p.

D'ANIERI, P. et al. Glyphosate translocation and efficacy relationships in red maple, sweet gum and loblolly pine seedlings. **Forest. Sci.**, v.36, p.438-447, 1990.

DEVINE, M.D. Mechanisms of herbicide absorption and translocation in plants. **Weed Sci.**, v.38, p.279-285, 1990.

FRANS, R.E. Measuring plant responses. In: WILKINSON, R.E. (Ed.) **Research Methods in Weed Science**. Australian: Southern Weed Science Society, 1972, p.28-41.

HESS, F.D.; FALK, R.H. Herbicide deposition on leaf surfaces. **Weed Sci.**, v.38, n.3, p.280-288, 1990.

JAMES, S.A.; BELL, D.T. Morphology and anatomy of leaves of *Eucalyptus camaldulensis* clones: variation between geographically separated locations. **Aust. J. Bot.**, v.43, p.415-433, 1995.

JENSEN, W.A. **Botanical Histochemistry: Principles and Practice**. San Francisco: W. H. Freeman & Co, 1962, 408p.

JUSTO, C.F. et al. Plasticidade anatômica das folhas de *Xylopia brasiliensis* Sprengel (Annonaceae). **Acta Bot. Bras.**, v.19, p.112-123, 2005.

KRAUS, J.E. et al. Astrablue and basic fuchsin double staining of plant materials. **Biotech. Histochem.**, v.73, p.235-243, 1998.

LOURO, R.P.; SANTOS, A.V.; MACHADO, R.D. Ultrastructure of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* I. shoots cultivated in vitro in multiplication and elongation-rooting media. **Int. J. Plant Sci.**, v.160, n.2, p.217-227, 1999.

MALIK, J.; BARRY, G.; KISHORE, G. The Herbicide Glyphosate. **BioFactors**, v. 2, p.17-25, 1989.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject**. 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1979. v.1. 276p.

MONQUERO, P.A.; et al. Caracterização da superfície foliar e das ceras epicuticulares em *Commelina benghalensis*, *Ipomoea grandifolia* e *Amaranthus hybridus*. **Planta Daninha**, v.22, p.203-210, 2004.

PEARSE, A.G.E. **Histochemistry theoretical and applied**. Longman Group Limited. V. II, Ed. 4th., 1980, 1518p.

SANDBERG, C.L.; MEGGITT, W.F.; PENNER, D. Absorption, translocation and metabolism of ¹⁴C-glyphosate in several weed species. **Weed Res.**, v.20, p.195-200, 1980.

SATICHIVI, N.M. et al. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Sci.**, v.48, p.675-679, 2000.

SCHÖNHERR, J. A mechanistic analysis of penetration of glyphosate salts across automaton cuticular membranes. **Pest Manag. Sci.**, v.58, p.343-351, 2002.

SCHREIBER, L. Polar paths of diffusion across plant cuticles: new evidence for an old hypothesis. **Ann. Bot.**, v.95, p.1069-1073, 2005.

TOLEDO, R.E.B. et al. Faixas de controle de plantas daninhas e seus reflexos no crescimento de plantas de eucalipto. **Sci. For.**, v.64, p.78-92, 2003.

TUFFI SANTOS, L.D. et al. Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sob efeito de deriva do glyphosate. **Planta Daninha**, v.23, n.1, p.133-142, 2005.

TUFFI SANTOS, L.D. et al. Morphological responses of different eucalypt clones submitted to glyphosate drift. **Environ. Exp. Bot.**, (in press), 2006.

4. RESPOSTAS MORFOLÓGICAS DE CLONES DE EUCALIPTO SUBMETIDOS À DERIVA DO GLYPHOSATE

Morphological responses of different eucalypt clones submitted to glyphosate drift

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da deriva simulada de glyphosate, por meio de subdoses, no crescimento e na micromorfologia foliar de clones de *Eucalyptus* spp. Utilizou-se o esquema fatorial, sendo três clones: *Eucalyptus urophylla*, *E. grandis* e o híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* (“urograndis”) e cinco subdoses (0; 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate), no delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. A aplicação foi feita sobre as plantas, de modo que não atingisse o terço superior, 23 dias após o plantio das mudas. Aos 7 e 15 dias após aplicação (DAA) do glyphosate, folhas coletadas no primeiro ramo basal das plantas foram processadas segundo metodologia usual para os estudos de micromorfologia. Os sintomas de intoxicação por glyphosate foram proporcionais às doses testadas, sendo o clone de *E. urophylla* mais tolerante ao herbicida que o de *E. grandis* e o híbrido urograndis. Os sintomas de intoxicação das plantas causados pelo glyphosate foram os mesmos para os diferentes clones testados, sendo caracterizados por murcha, clorose e encarquilhamento 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 apresentaram injúrias severas na parte aérea, o que afetou o seu crescimento, proporcionando menor altura, menor diâmetro do caule e menor matéria seca aos 50 dias após aplicação do herbicida. Os danos micromorfológicos antecederam o aparecimento de sintomas visíveis, sendo observado nos três clones erosão de ceras

epicuticulares e infestação por hifas fúngicas em plantas expostas à deriva de glyphosate. Não houve diferença marcante na micromorfologia foliar que explicasse a tolerância diferencial entre os três clones estudados. Os resultados indicam a necessidade de estudos da constituição de ceras e cutícula de *Eucalyptus* spp. para elucidar os mecanismos de tolerância diferencial ao glyphosate entre espécies e clones de eucalipto.

Palavras-chave: *Eucalyptus* spp., herbicida, cera epicuticular, fitotoxidez.

Abstract: This work aimed to evaluate the effects of simulated glyphosate drift on leaf growth and micromorphology of *Eucalyptus* spp. clones, using subdoses. A factorial scheme consisting of three clones, *Eucalyptus urophylla*, *E. grandis* and the hybrid *Eucalyptus urophylla* X *E grandis* (*E. urograndis*) and five sub-rates (0; 43.2; 86.4; 172.8 and 345.6 g e.a. ha⁻¹ of glyphosate) were used in a randomized block design, with four repetitions. The herbicide was applied on the plants so as not to reach the superior third, 23 days after seedling planting. At 7 and 15 days after application (DAA), the leaves collected from the first basal branch of the plants were processed according to the conventional methodology used for micromorphological studies. The effects of glyphosate drift were proportional to the rates tested, with *E. urophylla* being more tolerant to the herbicide than *E. grandis* and *E. urograndis*. Glyphosate symptoms were the same for the different clones tested, being characterized by wilting, chlorosis and leaf curling, and, at higher rates, by necrosis, foliar senescence and death of the eucalypt plants. Plants submitted to 172.8 and 345.6 g ha⁻¹ of glyphosate had severe injuries in the aerial part, affecting their development, resulting in reduced height, stem diameter and dry mass at 50 DAA. The micromorphological damages occurred prior to the appearance of visible symptoms, with erosion of the epicuticular waxes and fungal hypha infestation in plants exposed to glyphosate drift being observed in the three clones. No marked difference in leaf micromorphology was observed that could explain the differential tolerance among the three clones studied. The results show that further studies on wax and cuticle constitution of *Eucalyptus* spp. are needed for the elucidation of the mechanisms of differential tolerance of eucalypt species and clones to glyphosate.

Keywords - *Eucalyptus* spp., scanning electron microscopy, herbicide, epicuticular wax, phytotoxic

4.1 INTRODUÇÃO

A garantia de sustentabilidade e competitividade no setor florestal depende, entre outros fatores, de uma base florestal que atenda a padrões cada vez mais exigentes em termos de qualidade e produtividade, o que conduz ao efetivo investimento em pesquisa e adoção de práticas silviculturais adequadas (Brito, 1995). Entre os fatores responsáveis pela otimização da produtividade está o uso de diferentes métodos de controle das plantas daninhas, isolados ou combinados, visando eficiência, baixo impacto ambiental e diminuição dos custos de produção.

Em áreas de florestas plantadas, o manejo das plantas daninhas, nas diversas etapas do seu processo produtivo, é realizado basicamente pelo emprego de métodos mecânicos e químicos. O método químico merece destaque dentre as práticas adotadas pela menor dependência de mão-de-obra; pelo controle eficiente, mesmo em épocas chuvosas, inclusive de plantas com propagação vegetativa; por permitir o cultivo mínimo e plantio direto; e por não afetar o sistema radicular das culturas.

Dentre os herbicidas usados, dois se destacam no manejo de plantas daninhas em reflorestamentos de eucalipto: oxyfluorfen e glyphosate. Entretanto, o glyphosate vem sendo usado em grande escala, por ser aplicado em pós-emergência das plantas daninhas, facilitando operações em áreas de cultivo mínimo (Toledo, 2003), e por exercer efetivo controle de grande número de espécies daninhas mono e dicotiledôneas, perenes e anuais, além de apresentar baixo impacto ambiental (Malik et al., 1989).

Apesar do uso freqüente do glyphosate nos reflorestamentos, pouco se sabe sobre os efeitos dessa molécula herbicida sobre o eucalipto. Em áreas onde o controle químico é usado no manejo de plantas daninhas é comum a ocorrência de deriva, ou seja, o contato da molécula herbicida com organismos não alvo de áreas adjacentes ou mesmo na própria área, como é o caso das aplicações dirigidas de herbicidas não seletivos como glyphosate.

O efeito da deriva de herbicidas é diretamente ligado à quantidade do princípio ativo que chega às culturas, que por sua vez depende das doses recomendadas para controle das plantas daninhas e das condições de aplicação. Segundo Rodrigues e Almeida (1998), as doses recomendadas do glyphosate para o eucalipto variam muito, sendo de 0,36 a 2,16 kg ha⁻¹ para controle de espécies anuais e perenes. Nas áreas onde o glyphosate tem sido usado no controle de plantas daninhas em reflorestamentos de eucalipto, a presença de toxidez na parte

aérea tem sido verificada, principalmente em plantas jovens e em brotações, no caso da rebrota de cepas de eucalipto.

Vários são os trabalhos envolvendo o conceito de “deriva simulada” (Bailey e Kapusta, 1993), visando estudar os efeitos de diferentes formulações herbicidas sobre as mais diversas culturas. Entretanto, há uma grande variação nas subdoses utilizadas nesses estudos.

Alguns parâmetros foliares podem ser utilizados para qualificar e/ou quantificar a influência de substâncias tóxicas sobre as plantas, entre eles: lesões foliares e crescimento (Prado-Filho, 1993; Silva et al., 2000; Soda et al., 2000; Fornasiero, 2001, 2003); alterações causadas na micromorfologia foliar (Chaves et al., 2002); e aspectos anatômicos e ultra-estruturais (Silva et al., 2000; Fornasiero, 2001; Chaves et al., 2002; Reig-Armiñana et al., 2004).

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 no eucalipto.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar os efeitos da deriva simulada de glyphosate no crescimento e na micromorfologia foliar de clones de *Eucalyptus* spp., fornecendo subsídios que caracterizem a tolerância dessas plantas ao herbicida.

4.2 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. Na Figura 1 estão representados os dados de temperatura máxima ($T_{m\acute{a}x}$), temperatura mínima ($T_{m\acute{i}n}$), temperatura média ($T_{m\acute{e}d}$) e umidade relativa (UR) referentes ao período de condução do experimento.

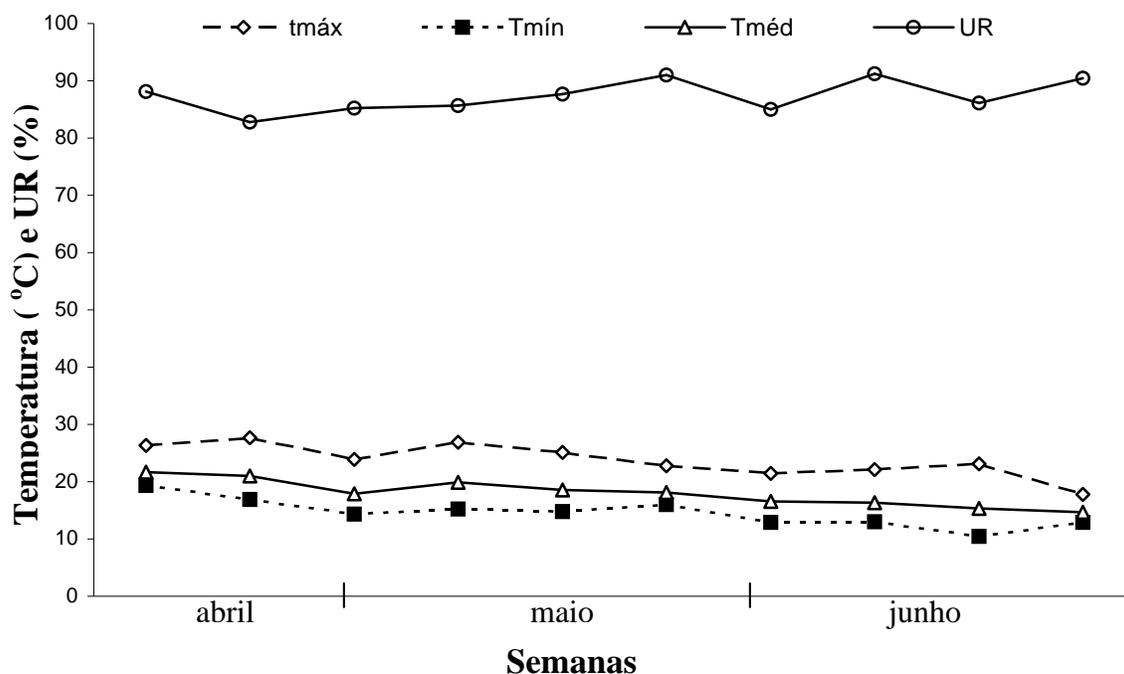


Figura 1 – Médias semanais de temperatura máxima (Tmáx), temperatura mínima (Tmín), temperatura média (Tméd) e umidade relativa (UR) referentes ao período de 12 de abril a 15 de junho de 2004.

Para o ensaio, foram usados os clones: 15 - híbrido de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake x *E. grandis* W. Hill ex. Maiden (híbrido urograndis), 72 - *E. urophylla* S.T. Blake e um clone de *E. grandis* W. Hill ex. Maiden, ambos cedidos pela Celulose Nipo-Brasileira S.A. (CENIBRA). As mudas, com três meses de idade e aproximadamente 30 cm de altura, 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 na proporção de Ca:Mg = 4:1 equivalentes, sendo utilizados na adubação de cobertura 6 g por vaso de N-P-K (20-5-20) aos 15 dias após o plantio das mudas (DAP) e três aplicações de 4 g por vaso de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ aos 40, 60 e 80 DAP. Utilizou-se o esquema fatorial, sendo três clones e cinco doses de glyphosate no delineamento de blocos casualizados com quatro repetições, em que cada vaso representava a parcela experimental. As doses aplicadas foram de 43,2; 86,4; 172,8 e 345,6 g e.a. ha^{-1} de glyphosate, correspondentes a 3, 6, 12 e 24% da dose de 1.440 g. e.a. ha^{-1} de glyphosate, respectivamente na formulação sal de isopropilamina (Roundup CS), mais a testemunha sem herbicida (dose 0). As doses foram

aplicadas sobre as plantas, de modo que não atingisse o terço superior, 23 dias após o plantio das mudas de eucalipto, que apresentavam cerca de 35 cm de altura. Na aplicação utilizou-se pulverizador costal com pressão constante mantida a CO₂, munido de barra com dois bicos tipo leque TT 11002 espaçados de 0,5 m, operando a 250 kPa de pressão e trabalhando com volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹. No momento da aplicação a umidade relativa do ar encontrava-se a 85% e a temperatura era de 21° C.

Após a aplicação do herbicida, foram observadas, diariamente, possíveis alterações morfológicas na parte aérea das plantas; aos 7, 15, 30 e 45 dias após a aplicação (DAA), determinou-se a porcentagem de intoxicação em relação à testemunha, segundo Frans (1972), em que 0% corresponde à ausência de sintomas visíveis e 100% à morte das plantas.

Para microscopia eletrônica de varredura, foram retiradas amostras dos três clones nas doses de 0 e 6% (84,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate), com aproximadamente 0,5 cm², na porção mediana de folhas do terceiro nó do primeiro ramo basal das plantas de eucalipto, aos 7 e 15 DAA. Todas as amostras coletadas do tratamento com glyphosate eram de regiões sem sintomas visíveis. As amostras para microscopia eletrônica de varredura foram fixadas em Karnovisk (glutaraldeído 2,5% + paraformaldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,05M, pH 7,2) e pós-fixadas em tetróxido de ósmio (1%). Após a desidratação do material em série etanólica, foi feita a secagem ao ponto crítico, utilizando-se CO₂ em equipamento Balzers (modelo CPD 020, Bal-Tec, Liechtenstein). Posteriormente, os fragmentos foram aderidos ao suporte (*stubs*) para metalização com ouro paládio em Metalizados Balzer (modelo FDU 010, Bal-Tec, Liechtenstein) de acordo com metodologia proposta por Bozzola e Russell (1992). As observações e a documentação fotográfica foram feitas utilizando-se microscópio eletrônico de varredura (modelo Leo 1430VP, Zeiss, Cambridge, England).

Aos 50 DAA, foram anotados os dados de altura das plantas (região entre o coleto e o ápice das plantas) e de diâmetro do caule a 1 cm do solo. Em seguida, a parte aérea das plantas foi cortada na região do coleto, embalada em sacos de papel e mantida em estufa de ventilação forçada (65 ± 3°C) até atingir peso constante, para obtenção da massa seca.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sintomatologia

A intoxicação das plantas, verificada aos 7, 15, 30 e 45 dias após aplicação (DAA), variou de acordo com as doses testadas ($p < 0,01$), sendo tanto maior quanto maiores as doses de glyphosate (Figura 2).

Os primeiros sintomas de intoxicação foram observados aos 4 DAA, nos três clones de eucalipto. Aos 7 DAA esses sintomas foram caracterizados por murcha, clorose e enrolamento das folhas dos ápices das plantas pulverizadas com calda contendo concentrações superiores a $86,4 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate; necroses foram observadas, em maior intensidade, em plantas de *E. grandis* e do híbrido urograndis tratadas com $172,8$ e $345,6 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate (Figura 3). Plantas de *E. grandis* pulverizadas com $345,6 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate apresentavam, aos 15 DAA, praticamente toda a área foliar necrosada (Figura 3I). Nesta mesma época, leves sintomas de intoxicação eram visíveis nos três clones tratados com $43,2 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate, mais intensamente em *E. grandis*. Entretanto, estes desaparecem aos 45 DAA, indicando total recuperação das plantas tratadas com $43,2 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate.

Sintomas foliares semelhantes em plantas do híbrido urograndis, pulverizadas com $172,8$ e $345,6 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate, foram relatados por Tuffi Santos et al. (2005). A clorose pode ser resultado da degeneração dos cloroplastos (Campbell et al., 1976) e/ou da inibição da formação de clorofila (Cole et al., 1983) em plantas tratadas com glyphosate. A ocorrência de cloroses também tem sido relatada em resposta a outras substâncias fitotóxicas, como o flúor, tanto em espécies mono (Chaves et al., 2002) como em dicotiledôneas (Silva et al., 2000).

Eucalyptus grandis foi mais suscetível ao glyphosate, apresentando morte de 75% das plantas tratadas com $345,6 \text{ g ha}^{-1}$ desse herbicida aos 30 DAA, enquanto *E. urophylla* e o híbrido urograndis apresentavam, respectivamente, 15 e 0% das plantas mortas. Essa diferença foi bem visível aos 45 DAA, quando a dose de $345,6 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate causou intoxicação de 96,3% em *E. grandis*, comparada com 87,5 e 77,5% no híbrido urograndis e em *E. urophylla*, respectivamente (Figura 2).

Plantas submetidas a $172,8 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate emitiram novas brotações, porém com sintomas de intoxicação em *E. urophylla* e, em menor intensidade, no híbrido urograndis. Quando submetidos a $345,6 \text{ g ha}^{-1}$ de glyphosate, esses dois genótipos não emitiram novas

brotações, o mesmo sendo verificado em plantas de *E. grandis* tratadas com 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate.

Quando o glyphosate é usado no controle da rebrota das cepas em diferentes clones de eucalipto, ocorrem brotações com sintomas de intoxicação. Tuffi Santos et al. (2005) também descreveram a emissão de brotações normais e brotações com sintomas de intoxicação, em plantas de eucalipto submetidas às doses de 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate, respectivamente. Magalhães et al. (2001a,b), trabalhando com simulação de deriva do glyphosate nas culturas de milho e sorgo, respectivamente, observaram queda na produção e necroses na parte aérea das plantas tratadas com doses superiores a 115,2 g ha⁻¹ de glyphosate.

A altura, o diâmetro e a massa seca das plantas diferiram ($p < 0,01$) entre as doses testadas (Figura 4), havendo variação entre os clones para o diâmetro e a massa seca das plantas ($p < 0,01$), o que não foi verificado na altura das plantas ($p > 0,05$).

Plantas submetidas a 172,8 e 345,6 g ha⁻¹ de glyphosate apresentaram menores alturas, diâmetro e massa seca, enquanto as plantas dos demais tratamentos não diferiram entre si, em relação a essas características. As injúrias severas que levaram ao não crescimento e à senescência das folhas justificam a diminuição da altura, do diâmetro e da matéria seca observada nas plantas expostas às maiores doses.

Observou-se maior severidade das injúrias em plantas mais jovens (25 dias após o transplântio) tratadas com glyphosate que aquela observada por Tuffi Santos et al. (2005) em plantas com maior tempo de cultivo (45 dias após o transplântio) sob tratamentos semelhantes. Assim, quanto maior o tempo entre o transplântio e a intervenção com controle químico na cultura do eucalipto, menores serão os riscos com a deriva do glyphosate. Entretanto, a altura e a densidade de infestação das plantas daninhas devem ser monitorados, devido à interferência que exercem na cultura e às dificuldades operacionais que impõem.

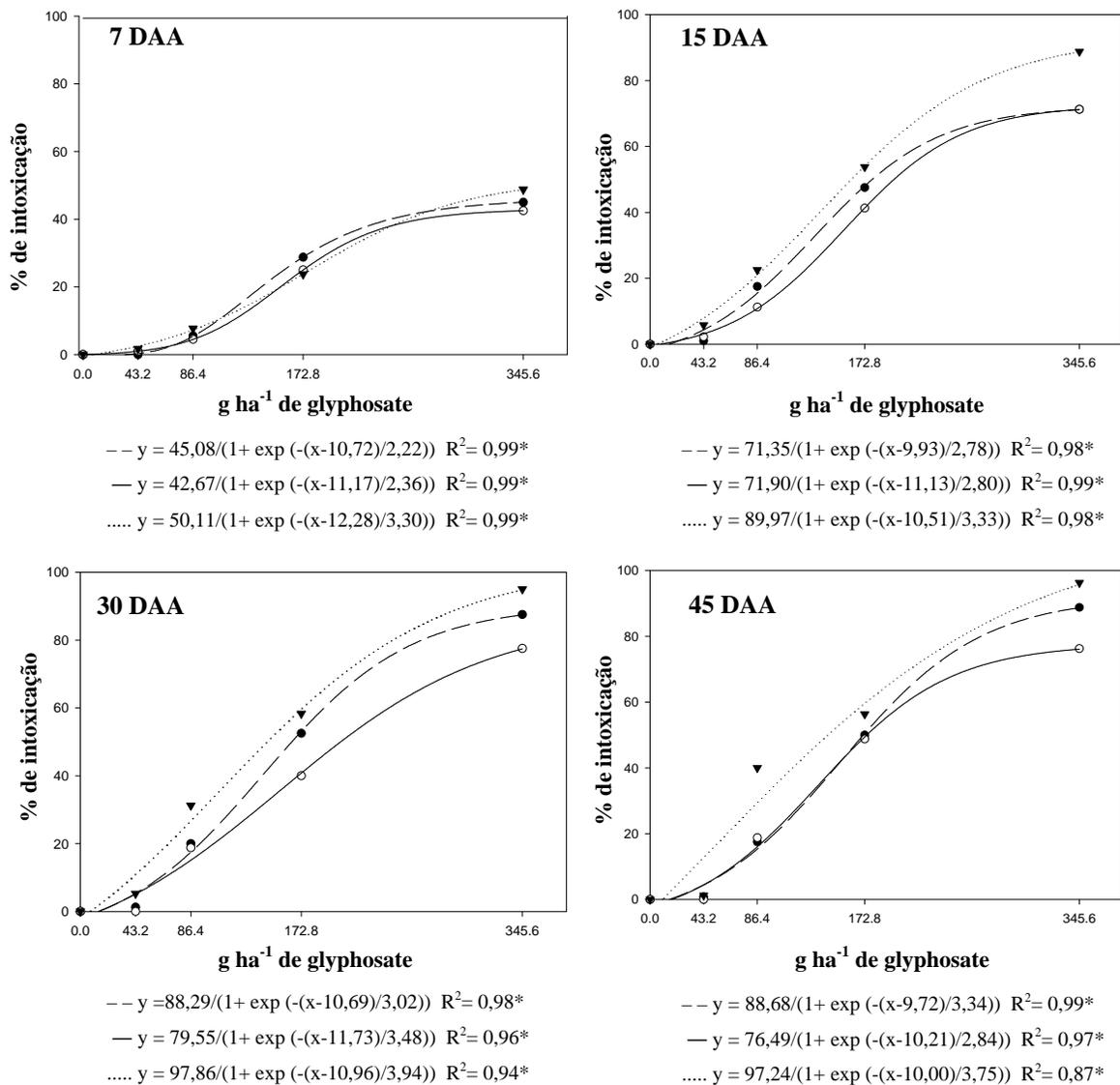


Figura 2 - Porcentagem de intoxicação de plantas de eucalipto submetidas à deriva do glyphosate, aos 7, 15, 30 e 45 dias após aplicação (DAA) (..... *Eucalyptus grandis*; ---- híbrido urograndis; — *E. urophylla*).

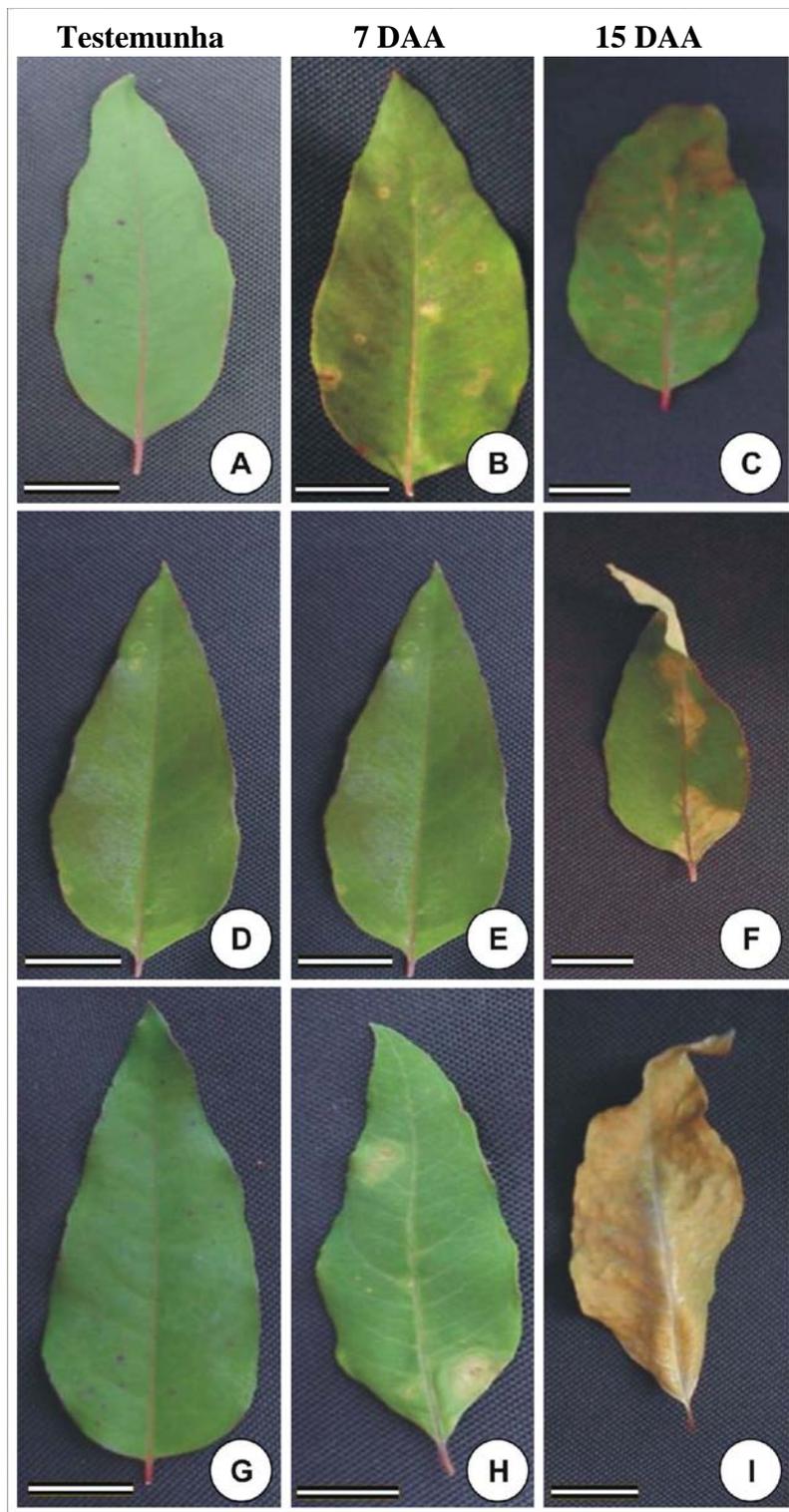


Figura 3 - Aspecto de folhas de eucalipto submetidas à deriva de glyphosate (dose = 345,6 g ha⁻¹). A – C = híbrido urograndis; D – F = *Eucalyptus urophylla*; G – I = *E. grandis*. DAA = dias após aplicação (Barra = 2 cm).

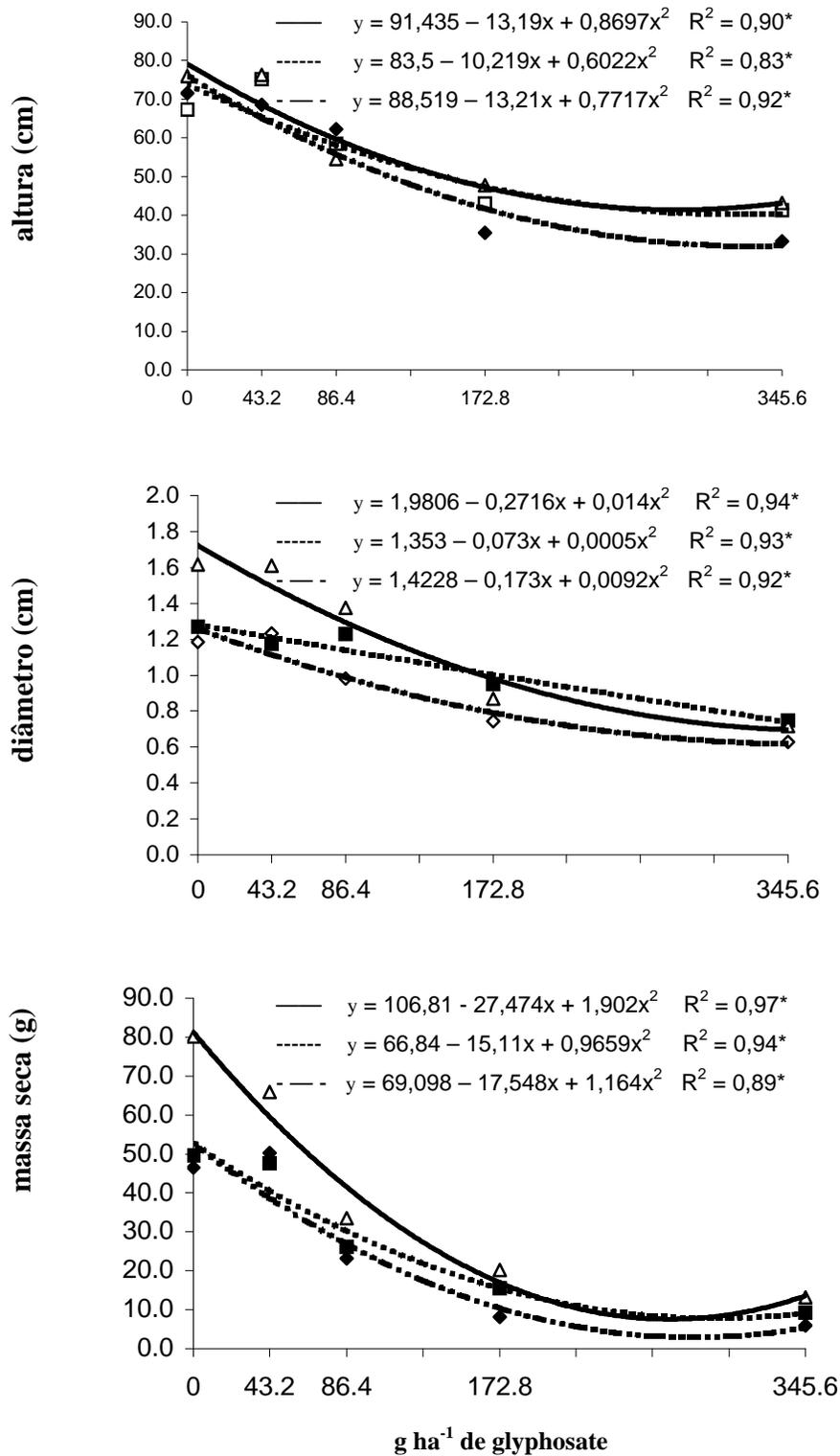


Figura 4 - Altura, diâmetro do caule e matéria seca de plantas de três clones de eucalipto submetidos à deriva simulada do glyphosate, aos 50 dias após aplicação (— *Eucalyptus grandis*; híbrido urograndis; - - - *E. urophylla*).

Microscopia eletrônica de varredura

Nenhum dano visível à vista desarmada foi verificado nas folhas das plantas, coletadas para análise microscópica de varredura, sob aplicação de 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate. Porém, as análises micromorfológicas das amostras desse tratamento evidenciaram alterações na superfície epidérmica, quando comparadas com as plantas testemunhas, do híbrido urograndis (Figura 5), *E. grandis* (Figura 6) e *E. urophylla* (Figura 7), evidenciando a importância dos estudos de micromorfologia foliar na caracterização de injúrias, provocadas pela deriva do glyphosate, que antecedem o surgimento de danos visuais. Os estudos de micromorfologia também são amplamente utilizados para avaliar danos causados por outras substâncias fitotóxicas (Turunen e Huttunen, 1991; Turunen et al., 1995; Chaves et al., 2002).

O híbrido urograndis apresentou placas de ceras e estômatos nas faces adaxial (Fig. 5A) e abaxial (Figura 5D) das folhas. As plantas submetidas a 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate apresentaram, na epiderme da face adaxial, aos 7 (Figura 5B) e 15 (Figura 5C) DAA do herbicida, perda de ceras epicuticulares e presença de hifas fúngicas, respectivamente. A erosão de ceras epicuticulares (Figura 5E) também ocorreu na superfície abaxial da folha, aos 7 DAA. O achatamento da superfície epidérmica (Figura 5F), observado aos 15 dias após o tratamento, provavelmente é decorrente da perda da turgidez das células da epiderme da face abaxial levando à formação de depressões, também relatada, em resposta a poluentes, em *Glycine max* (Azevedo, 1995), *Panicum maximum* e *Chloris gayana* (Chaves et al., 2002).

Em *E. grandis* observou-se que as células epidérmicas que recobrem as cavidades secretoras do mesofilo (*overlying cells*) apresentam formato distinto das demais (Figura 6A). A perda de cera epicuticular (Figura 6D) foi observada na superfície adaxial das folhas submetidas ao glyphosate 7 DAA, o que favoreceu a infestação por fungos, conforme as hifas observadas aos 15 DAA do herbicida (Figura 6B). Tais fungos são responsáveis pela dissolução localizada das ceras nas regiões infestadas (Figura 6B). A face adaxial da epiderme do tratamento controle é mostrada na Figura 6C. A perda de ceras epicuticulares e a obliteração dos estômatos pela cera erodida foram observadas nas amostras coletadas 15 dias após aplicação de 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate (Figura 6D).

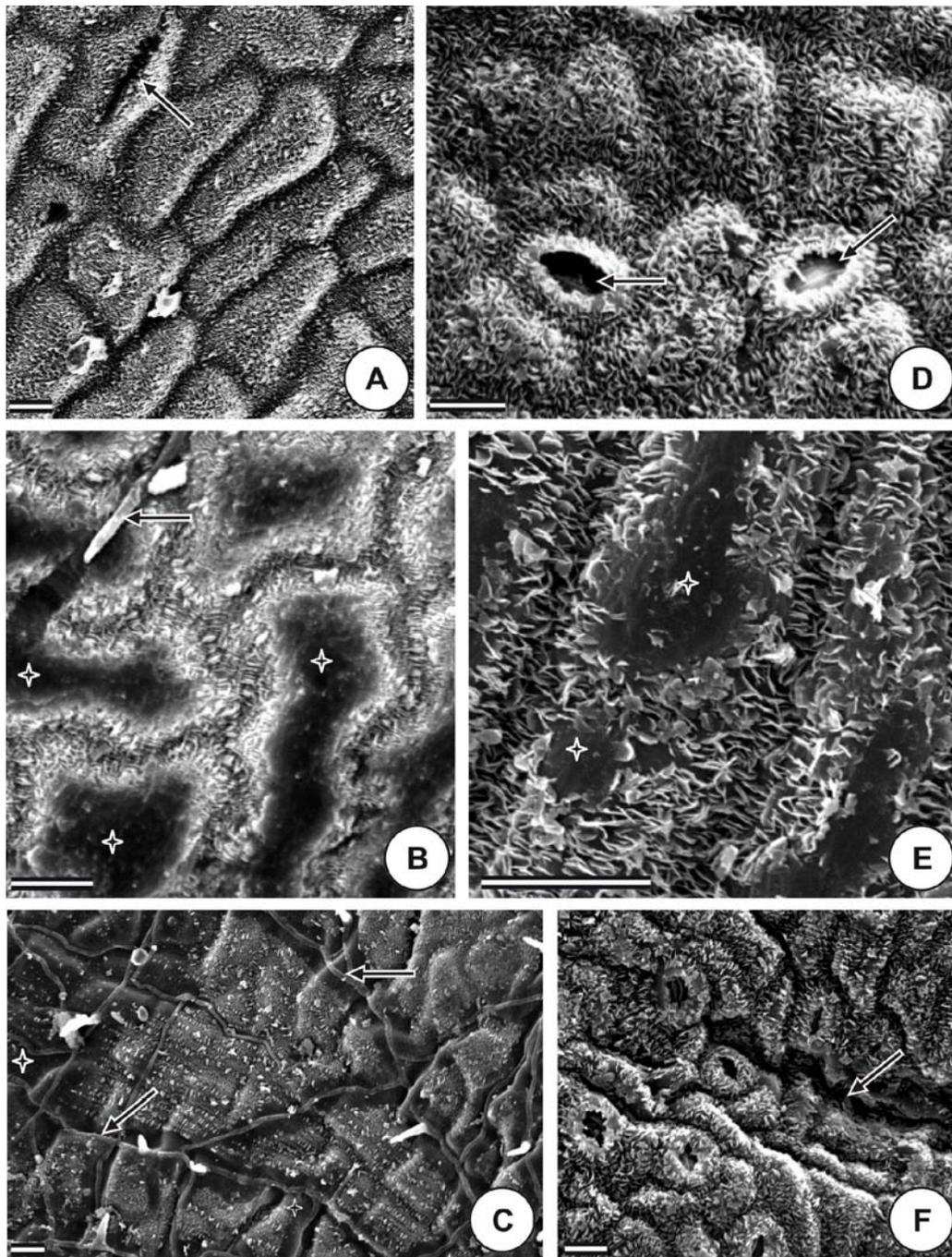


Figura 5 – Híbrido urograndis – Superfície da lâmina foliar ao microscópio eletrônico de varredura. (A-C) Superfície adaxial. (D-F) Superfície abaxial. (A) Seta indica estômato no tratamento controle. (B) Hifa fúngica (seta) na região com perda de cera epicuticular (estrelas) 7 dias após exposição ao herbicida. (C) Área colonizada por hifas fúngicas (setas): estrelas indicam áreas com erosão de cera epicuticular 15 dias após o tratamento com glyphosate. (D) Setas indicando estômatos no tratamento controle. (E) Erosão de ceras epicuticulares (estrelas) 7 dias após exposição ao tratamento. (F) Área com depressões no relevo (seta) 15 dias após o tratamento. Barras = 10 μm .

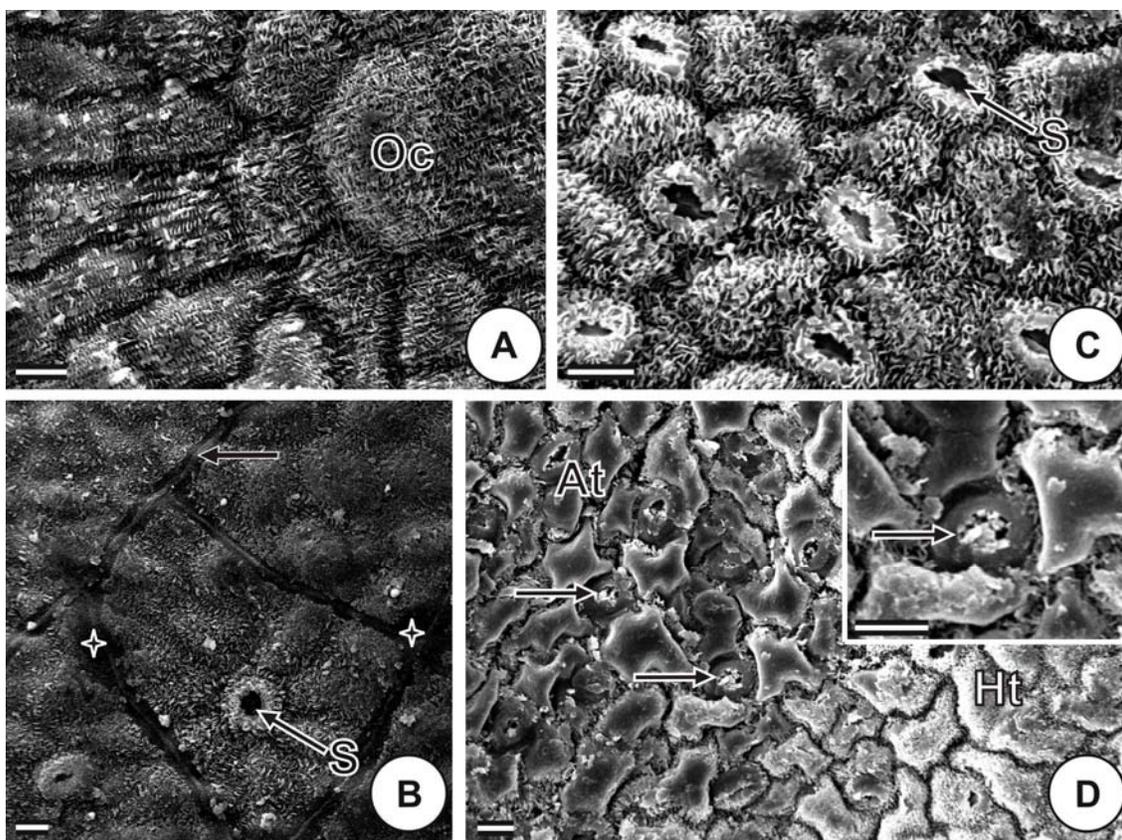


Figura 6 – *Eucalyptus grandis* – Superfície da lâmina foliar ao microscópio eletrônico de varredura. (A e B) Superfície adaxial. (C e D) Superfície abaxial. (A) *Overlying cell* no tratamento controle. (B) Hifas fúngicas (setas) nas regiões com perda de ceras epicuticulares (estrelas), 15 dias após exposição ao herbicida. (C) Tratamento controle. (D) Erosão das ceras epicuticulares na região afetada e estômatos obliterados (setas), em destaque no detalhe, 7 dias após aplicação do herbicida. Oc, *overlying cell* (células de cobertura); S, estômatos; At, tecido afetado; Ht, tecido não afetado. Barras = 10 μ m.

A superfície adaxial de plantas testemunhas de *E. urophylla* apresenta relevo e limites celulares bem definidos (Figura 7A). Ceras com aspecto amorfo foram observadas, na superfície adaxial das amostras foliares, aos 7 DAA do glyphosate (Figura 7B). A erosão de ceras epicuticulares e a infestação por hifas fúngicas em *E. urophylla* só foram observadas nas amostras coletadas aos 15 DAA do glyphosate (Figura 7C). Regiões da epiderme da face abaxial colonizadas por uma massa de hifas fúngicas apresentaram depressões no relevo 7 dias após aplicação do herbicida (Figura 7E), como observado no híbrido urograndis (Figura 5) 15 dias após exposição ao glyphosate.

A erosão de ceras epicuticulares pelo glyphosate e o conseqüente ataque de fungos também foram evidenciados, através de estudos de micromorfologia foliar, em *Pinus sylvestris*

e *Picea abies*, submetidos à chuva ácida (Turunen et al., 1995). A erosão de ceras pode ser atribuída à presença de adjuvantes nas formulações herbicidas comercializadas, que visam aumentar a penetração do produto ativo nas plantas a serem controladas. No caso da deriva do glyphosate, esses adjuvantes podem maximizar os problemas do contato indesejado do herbicida com plantas de eucalipto, uma vez que, além da intoxicação, a remoção das ceras pode facilitar a infecção por fungos fitopatogênicos. A erosão das ceras pela formulação herbicida usada aumenta a afinidade da superfície da folha pela água. Segundo Barthlott (1981), superfícies “molháveis”, ou seja, que apresentam filme de água, são favoráveis à colonização por microrganismos. A perda de ceras observada em *Pinus sylvestris* devido à chuva ácida foi ocasionada pela reação química direta entre as ceras ou seus precursores e a solução contendo o agente estressante (Turunen e Huttunen, 1991).

Adicionalmente a esses fatos, Rizzardi et al. (2003) relatam que o glyphosate pode facilitar o ataque de patógenos em plantas. Subdoses do herbicida podem causar redução do acúmulo tanto de fitoalexinas quanto de lignina (Lévesque e Rahe, 1992), consideradas barreiras físico-fisiológicas da planta.

Nas observações micromorfológicas, não foram encontradas diferenças marcantes que explicassem a diferença de tolerância ao glyphosate entre os clones estudados. A tolerância de plantas ao glyphosate pode ser atribuída à penetração ou translocação diferencial (Sandberg et al., 1980; D’Anieri et al., 1990; Satichivi et al., 2000; Monquero et al., 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 da cutícula (Baker, 1982), que, por sua vez, dependem da constituição e da polaridade dos componentes cuticulares.

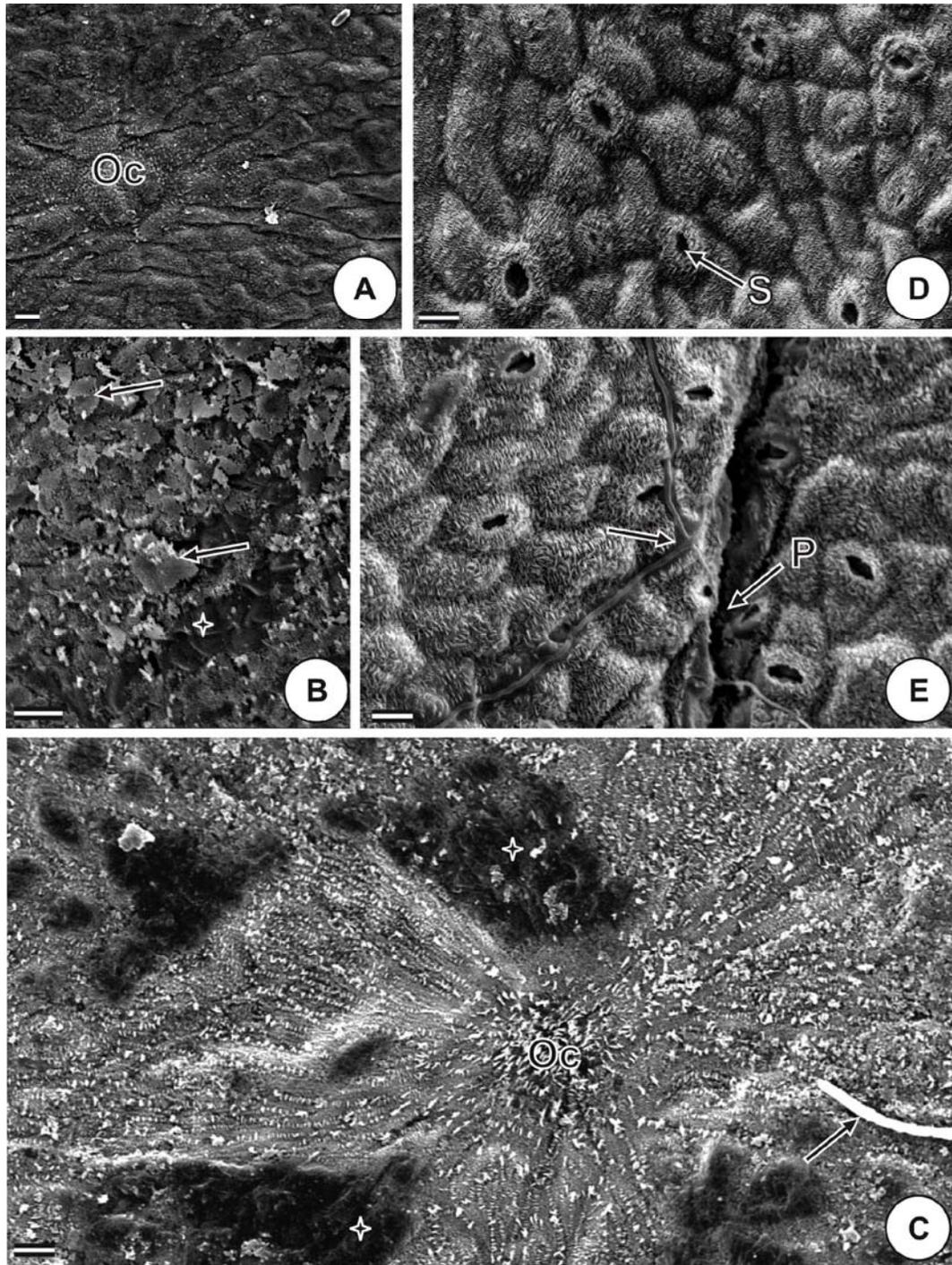


Figura 7 – *Eucalyptus urophylla* – Superfície da lâmina foliar ao microscópio eletrônico de varredura. (A-C) Superfície adaxial. (D e E) Superfície abaxial. (A) Tratamento controle. (B) Região com perda de cera epicuticular (estrela), 7 dias após exposição ao glyphosate. (C) Hifa fúngica (seta) próxima a regiões com perda de cera epicuticular (estrelas), 15 dias após exposição ao glyphosate. (D) Tratamento controle. (E) Células epidérmicas com perda de turgidez e superfície colonizada por hifas fúngicas (seta), 7 dias após exposição ao tratamento. Oc, *overlying cell* (células de cobertura); S, estômato; P, células plasmolizadas. Barras = 10 μ m.

Estudos mostram que nos estômatos, onde a cutícula sobre as células-guarda apresenta-se mais fina e mais permeável a substâncias polares, em razão do menor teor de cera epicuticular, tem-se uma possível via de penetração de herbicidas (Hess & Falk, 1990; Schreiber, 2005). Esse fato pode favorecer a penetração do glyphosate em plantas cuja presença de estômatos seja grande, principalmente na face adaxial da epiderme foliar, onde o contato com a calda herbicida aplicada é mais provável. Os três clones de eucalipto estudados apresentam estômatos nas duas faces da epiderme, porém o número reduzido de estômatos na face adaxial torna-se limitante para uma boa absorção do glyphosate por esta via.

Plantas de eucalipto expostas à deriva simulada de glyphosate apresentam, com frequência, células epidérmicas mortas pela ação do herbicida (Tuffi Santos, 2005). Segundo esses autores, células mortas na epiderme podem se constituir em uma via facilitadora da entrada de patógenos em plantas de eucalipto expostas à deriva de glyphosate.

O herbicida glyphosate possui baixo Kow, apresentando pouca afinidade a lipídios (Kirkwood, 1999); portanto, ceras epicuticulares com grande quantidade de compostos apolares podem representar uma barreira à penetração desse herbicida. A difusão do glyphosate pela cutícula de cinco espécies, estudada por Subramaniam e Hoggard (1998), foi considerada baixa, sendo ligeiramente melhorada após a extração da cera epicuticular. Os autores concluem que para produtos hidrofílicos, como o glyphosate, as ceras não são a principal barreira à difusão de herbicidas. Por sua vez, a matriz de polímeros que constitui a cutina seria a real barreira à difusão do glyphosate através da cutícula.

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

4.4 CONCLUSÕES

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

Os sintomas do glyphosate foram os mesmos nos diferentes clones testados, sendo caracterizados por murcha, clorose e encarquilhamento foliar e, no caso de maiores doses, por necroses, senescência foliar e morte dos ponteiros. Os danos micromorfológicos antecederam o aparecimento de sintomas visíveis a vista desarmada, havendo erosão de ceras epicuticulares e infestação por fungos.

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

Plantas submetidas a 172,8 e 345,6 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate tiveram injúrias severas na parte aérea, o que afetou o seu desenvolvimento, apresentando menor altura, menor diâmetro do caule e menor massa seca em relação à testemunha.

4.5 LITERATURA CITADA

AZEVEDO, A.A. **Ação do flúor, em chuva simulada, sobre a estrutura foliar de *Glycine max* (L.) Merrill.** 1995. 95p (Tese de Doutorado em Botânica). Universidade de São Paulo, São Paulo. 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, p.140-161, 1982.

BARTHLOTT, W. Epidermal and seed surface characters of plants: systematic applicability and some evolutionary aspects. **Nordic Journal of Botany**, v.1, p.345-355, 1981.

BOZZOLA, J.J.; RUSSELL, L.D. **Electron microscopy**. Boston: Jones and Bartlett Publishers, 1992. 542p.

BRITO, M.A.R. Manejo de plantas daninhas em área de reflorestamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 20. Florianópolis. **Resumos**, p. 92-95, 1995.

- 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.
- CHAVES, A.L.F.; SILVA, E.A.M.; AZEVEDO, A.A.; OLIVA CANO, M.A.; MATSUOKA, K. Ação do flúor dissolvido em chuva simulada sobre a estrutura foliar de *Panicum maximum* Jacq. (colonião) e *Chloris gayana* Kunth. (capim-Rhodes) – Poaceae. **Acta Botânica Brasílica**, v.16, p.395-406, 2002.
- 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, sweet gum 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.
- FORNASIERO, R. B. Phytotoxic effects of fluorides. **Plant Science**, v.161, p.979-985, 2001.
- FORNASIERO, R. B. Fluorides effects on *Hypericum perforatum* plants: first field observations. **Plant Science**, v.165, p.507-513, 2003.
- 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.
- HESS, F. D.; FALK, R. H. Herbicide deposition on leaf surfaces. **Weed Science**, 38, n. 3, 280-288, 1990.
- KIRKWOOD, R.C.; HETHERINGTON, R.; REYNOLDS, T.; MARSHALL, G. Absortion, localization, translocation and activity of glyphosate in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L) Beauv): influence of herbicide and surfactant concentration. **Pest Management Science**, v.56, n.4, p.359-367, 2000.
- 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.
- MONQUERO, P.A.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; MATAS, J.A.; HEREDIA, A. Caracterização da superfície foliar e das ceras epicuticulares em *Commelina benghalensis*, *Ipomoea grandifolia* e *Amaranthus hybridus*. **Planta Daninha**, v.22, n.2, p.203-210, 2004.

PRADO-FILHO, J.F. Uso de bioindicadores para monitoramento do ar. **Ambiente**, v.7, n.1, p.57-64, 1993.

REIG-ARMIÑANA, J.; CALATAYUD, V.; CERVERÓ, J.; GARCÍA-BREIJO, F. J.; IBARS, A.; SANZ, M. J. Effects of ozone on the foliar histology of the mastic plant (*Pistacia lentiscus* L.). **Environmental Pollution**, v.132, p.321-331, 2004.

RIZZARDI, 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**. Londrina, 1998. 331p.

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.

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.

SCHREIBER, L. Polar paths of diffusion across plant cuticles: new evidence for an old hypothesis. **Annals of Botany**, v. 95, p.1-5, 2005.

SILVA, L.C; AZEVEDO, A.A.; SILVA, E.A.M.; OLIVA, M.A. Flúor em chuva simulada: sintomatologia e efeitos sobre a estrutura foliar e o crescimento de plantas arbóreas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23,p.383-391, 2000.

SODA, C.; BUSSOTI, F.; GROSSONI, P.; BARNES, J.; MORI, B.; TANI, C. Impacts of urban levels of ozone on *Pinus halepensis* foliage. **Environmental and Experimental Botany**, v.44, p. 69-82, 2000.

SUBRAMANIAM, V.; HOGGARD, P E. Metal complexes of glyphosate, **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.36, p.1326-1329, 1988.

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.; MEIRA, R.M.S.A.; BARROS, N.F.; FERREIRA, L.R.; MACHADO, A.F.L. Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sob efeito de deriva do glyphosate . **Planta Daninha**, v.23, n.1, p. 133-142, 2005.

TUTUNEN, M.; HUTTUNEN, S. Effect of simulated acid rain on the epicuticular wax of Scots pine needles under northerly conditions. **Canadian Journal of Botany**, v.69, p.412-419, 1991.

TURUNEN, M.; HUTTUNEN, S.; BÄCK, J.; LAMPPU, J. Acid-rain-induced changes in cuticles and Ca distribution in Scots pine and Normay spruce seedlings. **Canadian Journal of Forest Research**, v.25, p.1313-1325, 1995.

5. EFEITOS DO GLYPHOSATE SOBRE A RESISTÊNCIA À FERRUGEM (*Puccinia psidii*) DO EUCALIPTO

Glyphosate effects over the resistance to eucalyptus rust (*Puccinia psidii*)

Resumo: O glyphosate é o herbicida mais usado no controle de plantas daninhas em eucalipto, atuando diretamente na rota do ácido chiquímico, principal via de formação de compostos ligados à defesa das plantas, como: lignina, ácido salicílico e fitoalexinas. Assim, o contato do glyphosate, via deriva, com as folhas do eucalipto pode apresentar conseqüências importantes sobre a resistência a doenças. Assim objetivou-se neste estudo avaliar o envolvimento do glyphosate, via deriva, na severidade da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em genótipos de eucalipto com diferentes níveis de resistência ao patógeno, após inoculação em ambiente controlado. Mudanças de quatro clones, dois heterozigotos resistentes à ferrugem (G21 e 6021) e dois homozigotos suscetíveis (9838 e 531) foram submetidas a subdoses de 0 (testemunha); 28,8; 57,6; 86,4 e 115,2 g ha⁻¹ de glyphosate simulando deriva. Três dias após a simulação da deriva do glyphosate, as plantas foram inoculadas com isolado UFV1 de *P. psidii* obtido de *Eucalyptus* sp., na região de Itapetininga, SP. Aos 21 dias após a inoculação, avaliou-se a intensidade de ferrugem utilizando-se uma escala diagramática com quatro classes de severidade (S0 e S1 resistentes à ferrugem e S2 e S3 suscetíveis), o número de pústulas/cm² de área foliar, a área lecionada pela ferrugem, o número médio de urediniosporos/cm² de área foliar, o número médio de urediniosporos/pústula e a porcentagem de intoxicação pelo glyphosate. O clone 531 foi o mais suscetível ao glyphosate, enquanto o G21 apresentou maior

tolerância ao herbicida. A deriva de glyphosate não alterou o nível de resistência à ferrugem nos genótipos resistentes (6021 e G21) que apresentaram ausência de pústulas nas folhas, tanto em plantas expostas à deriva do glyphosate quanto nas testemunhas. Para os clones suscetíveis, manteve-se a suscetibilidade à ferrugem, constatando-se maior densidade de pústulas e maior porcentagem de área afetada no clone 9838. Nos clones suscetíveis à ferrugem observou-se, com o aumento das doses de glyphosate, a tendência de diminuição da severidade da doença, principalmente no clone 531. Esse fato pode ser atribuído ao efeito da formulação herbicida nos processos de infecção e sobrevivência do fungo. Conclui-se que o glyphosate, em deriva, não afetou a resistência do eucalipto a *Puccinia psidii* e que existe tolerância diferencial entre os clones ao herbicida.

Palavras-chave: *Puccinia psidii*, herbicida, doença de plantas, *Eucalyptus* spp.

Abstract: Glyphosate is the most utilized herbicide for controlling weeds in eucalypt, working directly on the route of shikimic acid, the main via for the formation of compounds connected with the plant natural defenses such as: lignin, salicytic acid and phytoalexins. Thus the glyphosate contact with the leaves of the plant through drift may present important consequences over the resistance to diseases. Based on that, it has been our aim to evaluate the involvement of glyphosate, through drift, over the severity of rust caused by *Puccinia psidii* on genotypes with different levels of resistance to the patogen, after inoculation in controlled environment. Saplings of four clones, two resistant heterozugotes to rust (G21 and 6021) and two susceptible homozygotes (9838 and 531) have been submitted to subdoses of 0 (control); 28,8; 57,6; 86,4 and 115,2 g ha⁻¹ of glyphosate simulating drift. Three days after the simulation, the plants were inoculated with UFV1 isolated of *P. psidii* obtained from *Eucalyptus* sp, from Itapetininga region. At day 21 after inoculation, it was evaluated the intensity of rust by means of a diagrammatic scale with four classes of severity (S0 and S2 resistant to rust and S2 and S3 susceptible), pustules number/cm² of leaf area, affected area by rust, the average number of urediniospores/cm², glyphosate percentage intoxication, average number of urediniosporos/pustule. Clone 531 has been the most susceptible of all while G21 presented the highest tolerance to the herbicide. The drift has not changed the level of resistance to rust in respect to the resistant genotypes (6021, G21) which presented no pustule

both in plants exposed to drift and also in the control plants. In respect to the susceptible clones, the susceptibility has been kept, being then evident a higher pustuli density and higher percentage of affected area for clone 9838. For some susceptible to rust, it has been observed, as dosages increased, the reduction in tendency of severity especially for clone 531. This fact may be attributed to the effect of herbicide formulation on the processes of infection and fungus survival. It has been concluded that glyphosate drift has not affected eucalyptus resistance to *Puccinia psidii* and that there is differential tolerance to the herbicide among clones.

Keywords : *Puccinia psidii*, herbicide, disease, *Eucalyptus* spp.

5.1 INTRODUÇÃO

A ferrugem causada por *Puccinia psidii* Winter é atualmente uma das principais doenças do eucalipto no Brasil, causando prejuízos em viveiro e no campo, sendo as plantas suscetíveis ao patógeno até o estágio fenológico B, com cerca de 3 a 4 m de altura. O controle baseia-se principalmente no uso de espécies, clones e progênies resistentes. O uso de alguns fungicidas, o plantio e o corte raso capaz de possibilitar o crescimento das plantas no campo em épocas desfavoráveis ao patógeno também são práticas eficientes de controle da doença (Alfenas et al., 2004).

A herança da resistência a *P. psidii* em *Eucalyptus grandis* é condicionada por um gene de efeito principal, denominado *Ppr-1*, cujo conhecimento possibilitou a identificação e seleção de genótipos homozigóticos e heterozigóticos para resistência, bem como de genótipos suscetíveis (Junghans et al., 2003).

Atualmente, tem-se levantado a hipótese de associação dos danos causados pela deriva do glyphosate com o aumento de incidência e severidade da ferrugem do eucalipto. A intoxicação do eucalipto por glyphosate, via deriva, caracteriza-se pela presença de folhas cloróticas, evoluindo em alguns casos para necroses, superbrotamento e redução do crescimento da planta. Outros distúrbios e alterações morfológicas do eucalipto, como senescência acentuada de folhas e morte dos ponteiros, têm sido atribuídos aos efeitos do

glyphosate. A deriva pode acarretar prejuízos no desenvolvimento do eucalipto ou mesmo a diminuição do estande, devido à morte de plantas mais jovens (Tuffi Santos et al., 2005).

O glyphosate é um herbicida sistêmico, não seletivo, aplicado em pós-emergência e de amplo espectro de controle, sendo o principal produto ativo utilizado no controle de plantas daninhas em áreas de reflorestamento de eucalipto. Seu mecanismo de ação interfere na rota do ácido chiquímico, cujos produtos alimentam a produção de vários compostos, muitos deles envolvidos na defesa de plantas, destacando-se: taninos, antocianinas, ácido salicílico, lignina, flavonas, isoflavonas e cumarinas (Buchanan et al., 2000; Sriwastava, 2001).

Além dos efeitos diretos do glyphosate nas plantas, o herbicida pode estar favorecendo a infecção do eucalipto por patógenos, devido à queda das defesas da planta causada pelo comprometimento ou interrupção da síntese de lignina, fitoalexinas (Lévesque e Rahe, 1992; Rizzardi et al., 2003) e de outros compostos.

Diante da importância do uso do glyphosate em áreas de florestas plantadas objetivou-se avaliar o seu envolvimento, via deriva, na severidade da ferrugem causada por *Puccinia Psidii* em genótipos de eucalipto com diferentes níveis de resistência a doença.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se mudas de quatro clones de *E. grandis da* Suzano – Bahia Sul S.A., sendo dois heterozigotos resistentes à ferrugem do eucalipto (6021 e G21) e dois suscetíveis (531 e 9838). As mudas foram padronizadas quanto à altura e idade, sendo, posteriormente, transplantadas e cultivadas em vasos de 6 L contendo substrato constituído de 3/4 de solo argiloso e 1/4 de areia, adubado com 120 g de N-P-K (6-30-6) e 7,2 g de calcário na proporção de Ca:Mg = 4:1 equivalentes. Após o transplantio, realizaram-se adubações quinzenais de cobertura com 1,5 g por vaso de Ouro Verde (15-15-20 de N-P-K + pequenas quantidades de Ca, S, Mg, B, Zn, Mn e Fe), previamente dissolvido em 100 mL de água.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com cinco repetições, montado no esquema fatorial 5 x 4 (cinco subdoses e quatro clones), sendo considerado como parcela experimental cada vaso contendo uma planta. As plantas de eucalipto receberam as subdoses de 28,8; 57,6; 86,4 e 115,2 g ha⁻¹ de glyphosate simulando uma deriva, aplicado como solução aquosa da formulação comercial Roundup NA. Como comparação, aplicou-se água no grupo de plantas correspondentes à testemunha (subdose 0).

A aplicação foi realizada diretamente sobre as plantas, que se encontravam com 30 dias após o transplante e aproximadamente 0,4 m de altura, utilizando pulverizador costal com pressão constante, pressurizado a CO₂, munido de barra com dois bicos com pontas tipo leque TT 11002, operando a 250 kPa de pressão e volume de calda correspondente a 200 L.ha⁻¹.

Dois dias após a simulação da deriva do glyphosate, as plantas foram inoculadas com um isolado UFV-1 de *P. psidii* obtido de *Eucalyptus* sp., na região de Itapetininga, SP. O isolado foi previamente multiplicado em mudas de jambeiro (*Syzygium jambos*), e os esporos produzidos coletados aos 12 dias após a inoculação, suspensos em água com Tween 80 (0,05%) e atomizados (2×10^4 urediniósporos mL⁻¹) homogeneamente em ambas as faces do limbo foliar, com o auxílio de atomizador De Vilbss nº 15, acoplado a um compressor elétrico (0,6 – 0,8 kgf cm⁻²). As mudas inoculadas foram mantidas em câmara de nevoeiro, no escuro por 24h, e posteriormente levadas para câmara de crescimento a 22° C, com fotoperíodo de 12 horas (Ruiz et al., 1989) e intensidade luminosa de 40 µmoles de fótons m⁻² s⁻¹. As avaliações foram realizadas aos 21 dias após a inoculação, utilizando-se uma escala diagramática com quatro classes de severidade (S0, S1, S2 e S3), de acordo com Junghans et al. (2003), sendo plantas com S0 e S1 resistentes à ferrugem e S2 e S3 suscetíveis. Na haste principal das mudas foram selecionadas, no segundo par de folhas apical, folhas totalmente expandidas representativas do estado de infecção da planta, sendo estas fotografadas e digitalizadas, para quantificação do número médio de pústulas por área foliar, da porcentagem de área afetada pela ferrugem e da área média por pústula. Após a digitalização, retiraram-se quatro discos, de 1,2 cm de diâmetro, da região central de cada folha. Os quatro discos coletados por folha foram colocados em tubos de ensaio contendo 3 mL de água + Tween 80 (0,1%) e agitados em vortex por três minutos, realizando-se duas leituras por tubo em câmara de Neubauer, para determinação do número médio de urediniósporos por área foliar. Com o número de pústulas por área foliar e de urediniósporos por área, pôde-se obter o número médio de urediniósporos produzidos por pústula.

Além do efeito do herbicida sobre a intensidade da ferrugem, foram avaliadas diariamente possíveis modificações morfológicas na parte aérea das plantas e, aos 21 dias após a aplicação (DAA), fez-se a avaliação visual da porcentagem de intoxicação causada pelo glyphosate em relação à testemunha, em escala de 0 a 100, em que 0% corresponde à ausência de sintomas visíveis e 100% à morte das plantas (Frans, 1972).

Os dados foram submetidos à análise estatística pelo Teste F a 5% de probabilidade, sendo ajustadas equações de regressão para intoxicação das plantas, área afetada com ferrugem, número de urediniósporos por pústulas e número de urediniósporos por área foliar.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plantas tratadas com glyphosate, nas subdoses superiores a 57,6 g ha⁻¹, apresentaram sintomas de murcha e cloroses nas regiões apicais da parte aérea, verificados a partir do sexto dia após aplicação (DAA). Necroses, localizadas principalmente nos bordos foliares, eram visíveis em plantas expostas a 115,2 g ha⁻¹ de glyphosate. Os sintomas foliares observados estão de acordo com os descritos por Tuffi Santos et al. (2005) e Tuffi Santos et al. (2006a) para clones de eucalipto submetidos à deriva simulada de glyphosate. Sintomas semelhantes foram observados em outras espécies herbáceas e arbóreas submetidas à deriva de glyphosate, como algodão (Miller et al., 2004; Yamashita e Guimarães, 2005), varjão (*Parkia multijulga*) (Yamashita et al., 2006) e teca (*Tectona grandis*) (Vieira et al., 2006).

A intoxicação das plantas variou de acordo com as subdoses dos herbicidas testados ($p < 0,05$) aos 21 DAA, sendo tanto maior quanto maiores as subdoses de glyphosate. O clone 531 foi o mais suscetível ao glyphosate, alcançando 20% de intoxicação aos 21 DAA em plantas expostas a 115,2 g ha⁻¹ de glyphosate (Figura 1). Por outro lado, o clone G21 apresentou maior tolerância ao herbicida, chegando a apenas 6,8% de intoxicação na maior subdose de glyphosate (Figura 1). Os resultados confirmam a diferença de tolerância ao glyphosate entre os clones. O comportamento diferencial entre os genótipos submetidos à deriva de glyphosate foi relatado por Tuffi Santos et al. (2006a), em que o clone de *E. grandis* foi mais suscetível ao herbicida que clones de *E. urophylla* e híbrido urograndis. Em trabalho semelhante, Tuffi Santos et al. (2006b) constataram maior tolerância ao glyphosate em *E. resinifera*, quando comparado a *E. grandis*, *E. urophylla*, *E. saligna* e *E. pellita*.

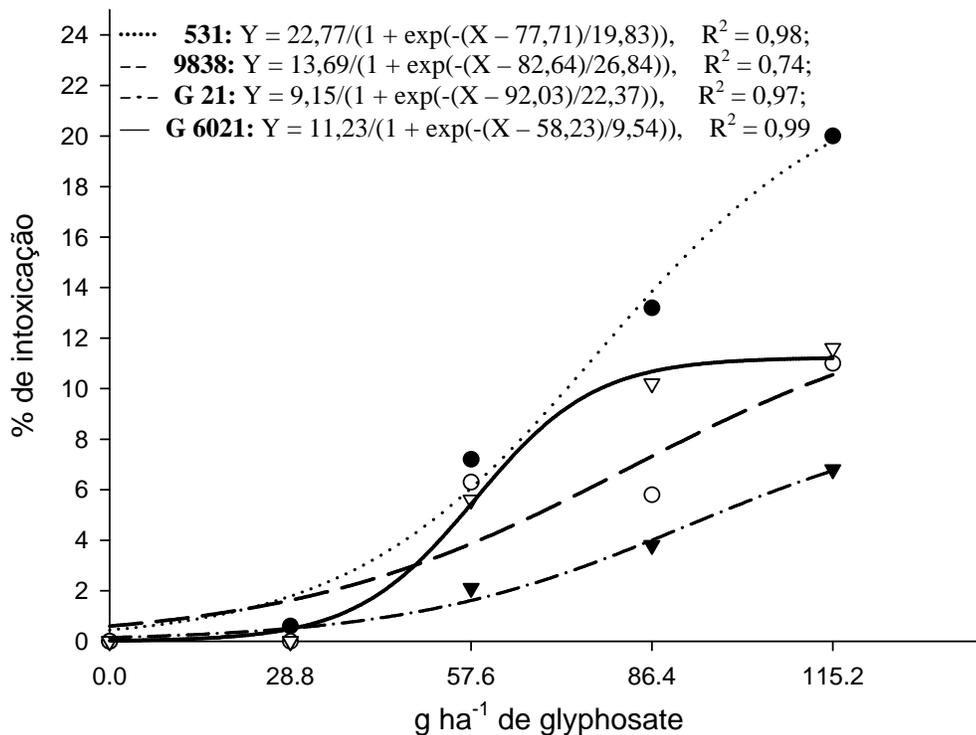


Figura 1- Porcentagem de intoxicação de clones de eucalipto submetidos à deriva simulada com glyphosate, 21 dias após aplicação.

Não se observou ocorrência de pústulas nos clones resistentes à ferrugem, G21 e G6021, independentemente do tratamento ou não com glyphosate (Tabela 1), sendo atribuída nota S0 de severidade. Esses resultados indicam que a deriva de glyphosate não quebrou a resistência à *Puccinia psidii* em se tratando dos genótipos heterozigoto para resistência (G6021 e G21).

Entre os clones 531 e 9838, suscetíveis à ferrugem, houve diferença para área afetada pela ferrugem ($p < 0,10$), número de pústulas por área ($p < 0,10$), número de urediniósporos por pústula ($p < 0,05$) e número de urediniósporos por área foliar ($p < 0,05$); o que não foi observado ($p > 0,10$) para área média por pústula (Tabela 1). Não houve diferença significativa pelo Teste F entre as subdoses de glyphosate e para interação clone x subdoses ($p > 0,05$) para todas as variáveis supracitadas (Tabela 1).

Tabela 1- Resumo da análise de variância para área afetada (AF), área média por pústula (AMP), número de pústulas por área (NPA), número de urediniósporos por pústula (NUP) e número de urediniósporos por área foliar (NUAF) de *Puccinia psidii*, em clones de eucalipto submetidos à deriva de glyphosate

Fontes de Variação	Soma de Quadrado					
	GL	AF (cm ²)	AMP (cm ²)	NPA pústula/cm ²	NUP -	NUAF Urediniósporos /cm ²
Clone ¹	1	32,4818 ^(0,10)	0,0199 ^{ns}	7,6362 ^(0,10)	6156,0608*	1798,5603*
Subdose ²	4	17,1125 ^{ns}	0,0045 ^{ns}	7,1123	840,07977 ^{ns}	1253,1739 ^{ns}
Clone x Subdose	4	21,5831 ^{ns}	0,0060 ^{ns}	7,0067	2002,2803 ^{ns}	517,71041 ^{ns}
Resíduo	40	351,1358	0,0063	103,09	20523,6067	6142,8267

*significativo a 5% de probabilidade; ^(0,10) significativo a 10% de probabilidade e ^{ns} não significativo pelo Teste F.

¹ Clones 530 e 9838.

² Subdoses de 0; 28,8; 57,6; 86,4 e 115,2 g ha⁻¹ de glyphosate em deriva simulada.

Os clones suscetíveis mantiveram a predisposição à infecção por *P. psidii*, sendo atribuída notas S2 e S3 de severidade tanto para plantas expostas à deriva quanto para a testemunha (Tabela 2). O clone 9838 foi o mais suscetível à doença (Tabelas 2 e 3), apresentando maior número de pústulas por área foliar, maior porcentagem de área foliar afetada (Figura 2) e maior número de urediniósporos por pústula e por área foliar (Tabela 3).

Em plantas do clone 531 existe uma tendência de diminuição da severidade da doença com o aumento das subdoses de glyphosate (Tabela 2). Em ambos os clones constatou-se uma tendência de diminuição da ferrugem nas plantas previamente tratadas com glyphosate, sendo este efeito maior no clone 531 (Figura 3). Plantas expostas à deriva do glyphosate apresentaram menor área foliar afetada por ferrugem, menor número de urediniósporos/pústulas e menor número de urediniósporos/área foliar, em comparação com as plantas testemunhas (Figura 3).

Tabela 2- Severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*) avaliada por escala diagramática com quatro classes de severidade (S0, S1, S2 e S3), em clones de eucalipto submetidos a deriva de glyphosate

Clone	g ha ⁻¹ de glyphosate ¹				
	0	28,8	57,6	86,4	115,2
6021	S0	S0	S0	S0	S0
G 21	S0	S0	S0	S0	S0
531	S3	S3	S3	S2	S2
9838	S3	S3	S3	S3	S3

¹ Subdoses correspondentes a 0 (testemunha), 2, 4, 6 e 8% da dose de 1.440 g ha⁻¹ de glyphosate, respectivamente.

S0 e S1 são resistentes à ferrugem.

S2 e S3 são suscetíveis.

O caráter biotrófico do patógeno *Puccinia psidii*, ou seja, que infecta e se desenvolve bem em tecidos saudáveis pode ser uma possível explicação para a menor severidade da doença em plantas expostas a deriva, haja visto os distúrbios fisiológicos, anatômicos e estruturais verificados em plantas intoxicadas por glyphosate. O glyphosate atua sobre a atividade enzimática da 5-enol-piruvil shiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), inibindo a síntese dos aminoácidos aromáticos triptofano, tirosina e fenilalanina (Kruze et al., 2000; Trezzi et al., 2001). Conseqüentemente, as plantas tratadas com glyphosate apresentam deficiência na síntese protéica e de vários outros compostos aromáticos importantes, como vitaminas (K e E), hormônios (auxina e etileno), alcalóides, lignina, antocianina entre outros. Além disso, este herbicida inibe a eficiência fotossintética (Trezzi et al., 2001). Deficiências e desequilíbrios nutricionais, mudanças morfoanatômicas e bioquímicas na planta podem predispor certos materiais genéticos a maior severidade de doenças. Os efeitos fisiológicos do glyphosate em eucalipto podem causar distúrbios bioquímicos e, conseqüente, o desbalanço entre os compostos orgânicos e inorgânicos da planta. Teores foliares de Ca, Mg, Fe, Mn e B superiores, em comparação com a testemunha, foram observados em plantas que receberam doses de 345,6 e 691,2 g ha⁻¹ de glyphosate, em deriva simulada, não havendo relação entre os sintomas provocados pelo glyphosate com a deficiência de nutrientes (Siqueira et al., 2004).

Puccinia psidii é um patógeno que infecta tecidos jovens e tenros da parte aérea da planta. Dentre os efeitos do glyphosate em eucalipto podemos ressaltar as necroses seguidas de senescência de folhas jovens. Adicionalmente, foi verificado um aspecto coreáceo das folhas de plantas tratadas com doses superiores a 86,4 g ha⁻¹ de glyphosate, também relatado como sintoma de intoxicação em outros ensaios com deriva simulada de glyphosate em eucalipto (Tuffi Santos et al., 2005). O enrijecimento dos tecidos foliares ocasionado pelo glyphosate pode ser responsável pela menor incidência da ferrugem em plantas expostas a deriva.

Os efeitos preventivos e curativos do glyphosate na incidência de ferrugem do trigo e de soja resistente ao herbicida foram relatados por Feng et al. (2005) em condições controladas e no campo. Neste trabalho folhas de trigo pré-inoculadas com *Puccinia triticina* e protegidas do contato com o glyphosate pulverizado no restante da planta apresentaram menor incidência de ferrugem que nas plantas testemunha (sem glyphosate), ressaltando o efeito sistêmico do herbicida na diminuição da severidade desta doença.

Anderson et al. 2005 observaram que com a aplicação do glyphosate houve redução ou ausência de infecção por *P. triticina* e por *P. graminis* em genótipos de trigo resistentes ao herbicida. Entretanto os autores não encontraram efeito curativo do herbicida na ferrugem do trigo, sendo que a aplicação do glyphosate não afetou o desenvolvimento de pústula de *Puccinia* pré-estabelecida, sugerindo o efeito inibitório do herbicida nos primeiros estágios de infecção. A germinação de aeciósporos de *Puccinia lagenophora*, usado no biocontrole de *Senecio vulgaris*, é significativamente menor quando da adição de 0,1125 e 0,0565 mg e.a. ml⁻¹ no meio de cultura, quando comparado à adição de água (Wyss e Muller-Scharer, 2001).

A presença do herbicida na superfície epidérmica da folha do eucalipto pode influenciar os processos de infecção e sobrevivência dos esporos de *Puccinia psidii*. Berner et al. (1991) mencionaram que aplicações de glyphosate, em formulações com ou sem surfatante, inibiram o crescimento micelial de *Calonectria crotalariae*. A intoxicação de estirpes de *Bradyrhizobium* por glyphosate, *in vitro*, foi descrita por Santos et al. (2004), havendo diferença de toxidez entre as formulações do herbicida. A presença de diferentes substâncias químicas na formulação do herbicida, como solventes, surfatantes e agentes molhantes, podem modificar e, provavelmente, potencializar os efeitos negativos dos herbicidas em organismos (Kishinevsky et al., 1988; Malkones, 2000).

Por sua vez, subdoses de herbicidas, ou de outras substâncias tóxicas, podem exercer efeito estimulatório no crescimento de populações de patógenos de plantas, seguindo o princípio da hormese (Duke et al., 2006; Yu et al., 1988).

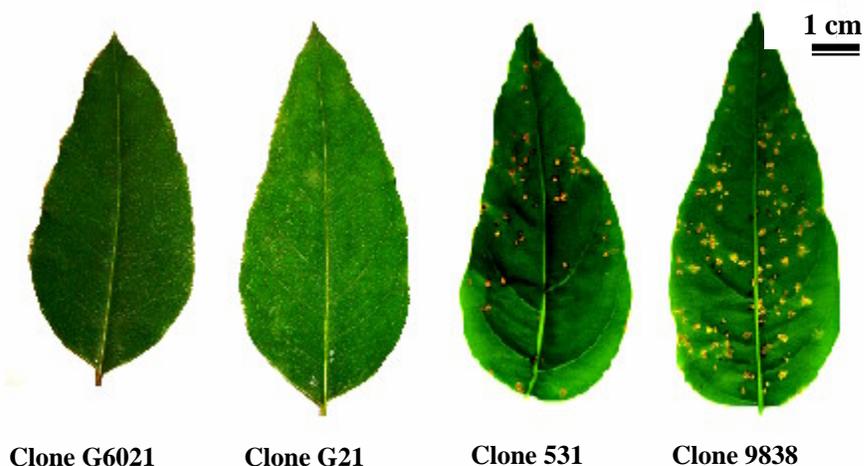


Figura 2- Espectro de infecção e severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*) em folhas de eucalipto.

Tabela 3- Valores médios de área afetada (AF), área média por pústula (AMP), número de pústulas por área (NPA), número de urediniósporos por pústula (NUP) e número de urediniósporos por área foliar (NUAF) de *Puccinia psidii*, em clones de eucalipto submetidos à deriva de glyphosate

Clone	AF ^(0,10) (cm ²)	NPA ^(0,10) pústula/cm ²	NUP*	NUAF * Urediniósporos /cm ²
531	1,52	1,47	11,70 x 10 ⁴	15,57 x 10 ⁴
9838	3,15	2,25	33,89 x 10 ⁴	27,57 x 10 ⁴

*significativo a 5% de probabilidade; ^(0,10) significativo a 10% de probabilidade pelo Teste F.

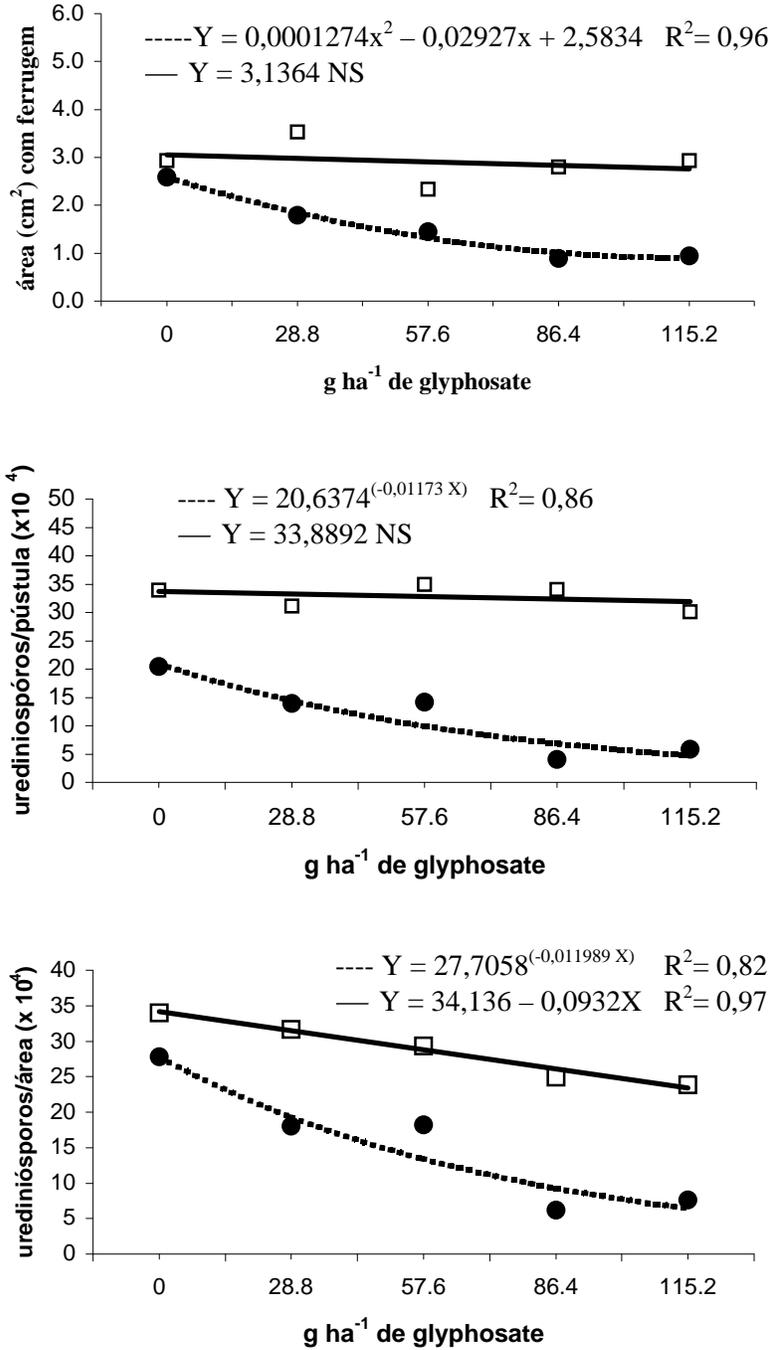


Figura 3- Desenvolvimento do fungo *Puccinia psidii* em plantas de eucalipto submetidas à deriva de glyphosate. ----- clone 531; — clone 9838.

A ocorrência de deriva de glyphosate em povoamentos de eucalipto é freqüente, mesmo em situações nas quais alto nível tecnológico é empregado. No campo, o contato de esporos de *Puccinia psidii* com plantas de eucalipto pode acontecer antes, ao mesmo tempo ou após o contato das plantas com herbicida, evidenciando o número de casos a serem estudados para o melhor entendimento da interação patógeno x eucalipto x glyphosate.

5.4 CONCLUSÕES

O glyphosate, em deriva, não alterou o nível de resistência do eucalipto a *Puccinia psidii* em dois clones heterozigotos para resistência à ferrugem.

Entre os genótipos suscetíveis, o clone 9838 mostrou-se mais sensível à ferrugem que o clone 531. Plantas dos clones suscetíveis à ferrugem, expostas ao glyphosate, apresentaram menor área foliar afetada por pústulas, menor número de urediniósporos por pústula e menor número de urediniósporos por área foliar, principalmente no clone 531.

Os clones G21 e 531 foram, respectivamente, o mais tolerante e o mais sensível ao glyphosate.

5.5 LITERATURA CITADA

ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. Clonagem e doenças do eucalipto. Viçosa – UFV. 2004.

ANDERSON, J.A.; KOLMER, J.A. Rust control in glyphosate tolerant wheat following application of the herbicide glyphosate. **Plant Disease** v.89, p.1136-1142, 2005.

BERNER, D. K.; BERGGREN, G. T.; SNOW, J. P. Effects of glyphosate on *Calonectia crotalariae* and red crown rot of soybean. **Plant Disease**, v. 75, p. 809-813, 1991.

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. Biochemistry and molecular biology of plants. 3 ed., American Society of Plant Physiologists, Rocjville, Maryland, 2000. 1367p.

DUKE, S.O.; CEDERGREEN, N.; VELINI, E.D.; BELZ, R.G. Hormesis: Is it an important factor in herbicide use and allelopathy. **Outlooks on Pest Management**, v.17, n.1, p.29-33, 2006.

FENG, P.C.C.; BALEY, G.J.; CLINTON, W.P.; BUNKERS, G.J.; ALIBHAI, M.F.; PAULITZ, T.C.; KIDWELL, K.K. Glyphosate inhibits rust diseases in glyphosate-resistant wheat and soybean. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.102, p.17290-17295, 2005.

- FRANS, R.E. Measuring plant responses. In: Wilkinson, R. E., ed. **Research Methods in Weed Science**. Southern Weed Science Society, 1972. p.28-41,
- JUNGHANS, D. T. ; ALFENAS, A. C.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; ODA, S.; MELLO, E.; GRATTAPAGLIA, D. Resistance to rust (*Puccinia psidii* Winter) in *Eucalyptus*: mode of inheritance and mapping of a major gene with RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Alemanha, v. 108, p. 175-180, 2003.
- JUNGHANS, D.T.; ALFENAS, A.C.; MAFFIA, L.A. Escala de notas para quantificação da ferrugem em *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, n.2, 2003.
- KISHINEVSKY, B. et al. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Res.**, v. 28, p. 291-296, 1988.
- KRUZE, N. D.; TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores da EPSPS: Revisão de literatura. **R. Bras. Herbicidas**, v. 1, n. 2, p. 139-46, 2000.
- 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.
- MALKONES, H. P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities — a review. **J. Plant Dis. Protect.**, v. 8, p. 781-789, 2000.
- MILLER, D.K. et al. Response of non glyphosate resistant cotton to reduced rates of glyphosate. **Weed Sci.**, v.52, p. 178-182, 2004.
- 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.
- RUIZ, R.A.R.; ALFENAS, A.C.; FERREIRA, F.A.; VALLE, F.X.R. Influência de temperatura, do tempo de molhamento foliar, fotoperíodo e da intensidade de luz sobre a infecção de *Puccinia psidii* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, v.14, p.55-61, 1989.
- SANTOS, J.B.; JACQUES, R.J.S.; PROCOPIO, S.O.; KASUYA, M.C.M.; SILVA, A.A., SANTOS, E.A. Effects of different glyphosate commercial formulations on Bradyrhizobium strains. **Planta daninha**, v.22, n.2, p.293-299, 2004.
- SIQUEIRA, C.H.; TUFFI SANTOS, L.D; BARROS, N.F.; FERREIRA, F.A.; FERREIRA, L.R. Crescimento e concentração de nutrientes na parte aérea de eucalipto sob efeito da deriva de glyphosate. FERTIBIO 2004 (2004: Lajes, SC). Resumos Expandidos... LAJES, SC: 2004. Divulgação digital (CD).
- SRIVASTAVA, L.M. Plant growth and development. Hormones and environment. Elsevir Science, 2001. 771p.
- TREZZI, M. M.; KRUZE, N. D.; VIDAL, R. A. Inibidores de EPSPS. In: VIDAL, R.A.; MEROTTO JR., A. (Eds.) **Herbicidologia**. Porto Alegre, 2001. p. 37-45.
- TUFFI SANTOS, L.D.; FERREIRA, F.A.; MEIRA, R.M.S.A.; BARROS, N.F.; FERREIRA, L.R.; MACHADO, A.F.L. Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sob efeito de deriva do glyphosate. **Planta Daninha**, v. 23, n.1, p.133-142. 2005.

TUFFI SANTOS, L.D.; MEIRA, R.M.S.A.; FERREIRA, F.A.; SANT'ANNA-SANTOS, B.F.; FERREIRA, L.R. Morphological responses of different eucalypt clones submitted to glyphosate drift. **Environ. Exp. Bot.** (*in press*).

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

VIEIRA, R.G.; YAMASHITA, O.M.; SANTI, A.; RONDON NETO, R.M. Fitointoxicação por herbicidas em áreas de reflorestamento de Teca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25^o, Brasília, 2006. **Resumos...** Brasília: SBCPD, 2006. p. 450.

WYSS, G.S.; MULLER-SCHARER, H. Effects of selected herbicides on the germination and infection process of *Puccinia lagenophora*, a biocontrol pathogen of *Senecio vulgaris*. *Biol. Control*. v.20, p.160-166, 2001.

YAMASHITA, O.M.; GUIMARÃES, S.C. Respostas de cultivares de algodoeiro a subdoses de glyphosate. **Planta Daninha**, v.23, n.4, p.627-633, 2005.

YAMASHITA, O.M.; ALBERGUINI, S.E.; VIEIRA, R.G.; RONDON NETO, R.M.; SANTI, A. Deriva de glyphosate em mudas de varjão (*Parkia multijuga*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DAS CIÊNCIAS DAS PLANTAS DANINHAS, 25^o, Brasília, 2006. **Resumos...** Brasília: SBCPD, 2006. p. 449.

YU, S.-M.; TEMPLETON, G.E. ; WOLF, D.C. Trifluralin concentration and the growth of *Fusarium solani* f. sp. *cucurvitae* in liquid medium and soil. **Soil Biol. Biochem.**, v.20, p.607-612, 1988.

6. RESUMO E CONCLUSÕES GERAIS

Diante da importância e frequência do uso do glyphosate e da necessidade de conhecer os efeitos diretos e indiretos desse herbicida sobre a cultura do eucalipto e seu agrossistema, foram realizados cinco experimentos para avaliar: o crescimento e a micromorfologia 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 ha⁻¹ de glyphosate); a epiderme foliar de cinco espécies de eucalipto e sua relação com a tolerância diferencial ao glyphosate; o crescimento e a produção de madeira durante o ciclo do eucalipto em plantas com níveis distintos de intoxicação por glyphosate; e os efeitos do glyphosate na severidade da ferrugem (*Puccinia psidii*) em clones com diferentes níveis de resistência à doença.

Os primeiros sintomas da deriva do glyphosate em plantas de eucalipto foram observados entre o quarto e o quinto dia após aplicação do herbicida (DAA), sendo semelhantes para *E. resinifera*, *E. grandis*, *E. urophylla*, *E. pellita* e *E. saligna* e para os diferentes clones avaliados, cujos sintomas são caracterizados por murcha, clorose e encarquilhamento foliar e, no caso de maiores doses, por necroses, senescência foliar e morte dos ápices caulinares. Os efeitos da deriva do glyphosate foram proporcionais às doses testadas, sendo *E. resinifera* mais tolerante que *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. pellita* e *E. grandis*.

Na micromorfologia foliar não houve diferença marcante que explicasse a tolerância diferencial entre clones. Observou-se erosão de ceras epicuticulares e colonização de hifas

fúngicas por meio das análises micromorfológicas de folhas de plantas tratadas com glyphosate, mesmo em regiões aparentemente saudias a olho nu.

Na análise anatômica da epiderme de *E. resinifera*, *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. pellita* e *E. grandis* encontrou-se alta correlação positiva (0,94**) entre a intoxicação por glyphosate e o número de células epidérmicas da face adaxial, o que não foi observado para índice estomático, densidade de estômatos e densidade de cavidades, indicando um possível envolvimento do número de células da face adaxial da epiderme com a tolerância diferencial ao glyphosate.

Os efeitos da intoxicação por glyphosate em diferentes níveis (0 – 5; 6 – 10; 11 – 20; 21 – 30; 31 – 40 e 41 – 50% de intoxicação das plantas), em condições de campo, influenciaram o crescimento e a produção de madeira aos 360 dias após a aplicação do herbicida. Plantas com intoxicação inicial acima de 21% obtiveram menor crescimento, apresentando altura e diâmetro inferiores aos da testemunha (0 – 5% de intoxicação) aos 360 DAA. Os danos causados pela deriva do glyphosate influenciaram a produção de madeira aos 360 DAA, sendo que plantas com 21 – 30, 31 – 40 e 41 – 50% de intoxicação apresentaram redução no volume de madeira de 17, 26 e 48%, respectivamente, em relação à testemunha. Novas avaliações, ao longo do ciclo da cultura, serão realizadas para elucidar o desempenho de plantas intoxicadas por glyphosate quanto a seu crescimento, produção e qualidade de madeira.

Os efeitos do glyphosate, via deriva, na severidade da ferrugem (*P. psidii*) de quatro clones de eucalipto, sendo dois sabidamente resistentes à ferrugem e dois suscetíveis, foram estudados em condições controladas. O herbicida não afetou a expressão da resistência à ferrugem (*P. psidii*) do eucalipto. Por outro lado, nos clones suscetíveis ao patógeno, foi observada diminuição de urediniósporos por pústulas, urediniósporos por área foliar e da área foliar afetada pela ferrugem com o aumento das subdoses de glyphosate. Esses resultados sugerem efeito inibitório do glyphosate em *P. psidii* e no desenvolvimento da doença em plantas expostas à deriva do herbicida.

Houve efeito negativo da deriva de glyphosate no crescimento de eucalipto, ressaltando a tolerância diferencial ao herbicida entre genótipos e o não envolvimento do glyphosate, via deriva, com o aumento da severidade da ferrugem causada por *P. psidii*. O conhecimento do destino final dessa molécula herbicida é relevante para o setor florestal, sendo necessários

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 do eucalipto.