

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

Rodrigo Eduardo Barros

**Exsudação radicular de glyphosate: presente em eucalipto e não mensurável
em capim-amargoso**

Montes Claros

2021

Rodrigo Eduardo Barros

**Exsudação radicular de glyphosate: presente em eucalipto e não mensurável
em capim-amargoso**

Versão final

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Leonardo David Tuffi Santos.

Montes Claros

2021

Barros, Rodrigo Eduardo.

B277e
2021

Exsudação radicular de glyphosate: presente em eucalipto e não mensurável em capim-amargoso [manuscrito]/ Rodrigo Eduardo Barros. Montes Claros, 2021. 62 f.

Tese (doutorado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Leonardo David Tuffi Santos

Banca examinadora: Charles Martins Aguiar, Leandro Silva de Oliveira, Matheus Mendes Reis, Aroldo Ferreira Lopes Machado, Luan Mateus Silva Donato.

Inclui referências: f. 17 - 23, f. 39 - 41, f. 58 - 61

1. Erva daninha -- Manejo -- Teses. 2. Controle de processos químicos -- Teses. 3. Bioensaios -- Teses. 4. Sombras e sombreados -- Teses. 5. Taxa fotossintética -- Teses. I. Tuffi Santos, Leonardo David. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 632



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

ATA DE DEFESA DE TESE

Aos 25 dias do mês de fevereiro de 2021, às 14:00 horas, sob a Presidência do Professor Leonardo David Tuffi Santos, D. Sc. (Orientador - ICA/UFMG) e com a participação dos Professores Leandro Silva de Oliveira, D. Sc. (ICA/UFMG), Charles Martins Aguilar, D. Sc. (ICA/UFMG), Matheus Mendes Reis, D. Sc. (IFNMG), Aroldo Ferreira Lopes Machado, D. Sc. (UFRRJ) e o Doutor Luan Mateus Silva Donato, D. Sc. (ICA/UFMG), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de tese de **Rodrigo Eduardo Barros**, aluno do Curso de Doutorado em Produção Vegetal. O resultado da defesa de tese intitulada: "**Exsudação radicular de glyphosate: presente em eucalipto e não mensurável em capim-amargoso**", sendo o aluno considerado **Aprovado**. E, para constar, eu, Professor Leonardo David Tuffi Santos, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: O aluno somente receberá o título após cumprir as exigências do **ARTIGO 68** do regulamento do Curso de Doutorado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

Art. 68 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, no mínimo 3 (três) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou, 4 (quatro) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.

Montes Claros, 25 de fevereiro de 2021.

Leonardo David Tuffi Santos
Orientador

Leandro Silva de Oliveira
Membro

Charles Martins Aguilar
Membro

Matheus Mendes Reis
Membro

Aroldo Ferreira Lopes Machado

Donato

Luan Mateus Silva

Membro

Membro



Documento assinado eletronicamente por **Leonardo David Tuffi Santos, Diretor(a)**, em 25/02/2021, às 19:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luan Mateus Silva Donato, Técnico em Agropecuária**, em 26/02/2021, às 09:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Silva de Oliveira, Coordenador(a) de curso**, em 26/02/2021, às 09:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Aroldo Ferreira Lopes Machado, Usuário Externo**, em 26/02/2021, às 10:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Matheus Mendes Reis, Usuário Externo**, em 26/02/2021, às 11:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Charles Martins Aguiar, Professor do Magistério Superior**, em 26/02/2021, às 13:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 0581115 e o código CRC 4CFF8B4B.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por guiar os meus passos nesta jornada. Em muitos momentos, apeguei-me à fé que tenho ao Divino Pai Eterno e Nossa senhora Aparecida e, com sua intercessão e dos anjos e santos, pude vencer grandes dificuldades nessa caminhada.

A minha família, representada em especial por minha mãe, Vera Aparecida Barros, meu pai, Edwar Barros do Carmo, e minha irmã, Carla Eduarda Barros, pessoas que sempre se esforçaram para ter, respectivamente, o filho e o irmão Doutor.

A minha namorada, Jéssica Fagundes Correia, que muito se envolveu e se dedicou nessa empreitada ao meu lado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA-UFMG), pela formação, infraestrutura e realização do trabalho.

Ao professor Leonardo David Tuffi Santos, que, além da orientação, me proporcionou amizade e ensinamentos que levo para a vida.

Aos professores Aroldo Ferreira, Charles Aguilár, Leandro Oliveira, Matheus Reis e Luan Donato, pela participação na banca de defesa e pelas contribuições para melhoria do trabalho.

Aos funcionários da Fazenda Experimental Professor Hamilton de Abreu Navarro – FEHAN, pelo apoio na condução do experimento.

A todos os amigos do Laboratório de Biologia e Manejo de Plantas de Daninhas, pela parceria e amizade durante todo esse tempo.

A todos os membros do Laboratório de pesquisa em Agroquímica, pela parceria e ajuda na condução deste trabalho.

À empresa Vallourec, que disponibilizou as mudas de eucalipto para o trabalho.

Aos órgãos de fomento FAPEMIG e CNPq, pelo financiamento de parte dos estudos realizados. À CAPES, pelo financiamento da bolsa de Doutorado (código de financiamento 001).

A todos que, de algum modo, colaboraram para a conclusão dessa importante etapa em minha vida, meu muito obrigado!

RESUMO

O glyphosate, principal herbicida utilizado no mundo, possui amplo espectro de ação no controle de plantas daninhas. Sua ação depende das condições ambientais e de características fisiológicas da espécie a ser controlada. No primeiro estudo buscou-se identificar e quantificar com método cromatográfico e por bioensaio a possibilidade de exsudação radicular de glyphosate e ácido aminometilfosfônico (AMPA) pelo eucalipto e os efeitos fisiológicos desse herbicida na planta. O experimento foi conduzido em ambiente protegido e cultivo hidropônico onde foram testadas as doses de 0, 360, 720, 1080 e 1440 g ha⁻¹ de glyphosate aplicadas sobre mudas de eucalipto. Também foi implantado um bioensaio utilizando as amostras da água nos vasos em cultivo hidropônico de *Cucurbita pepo*. No segundo experimento buscou-se identificar a exsudação radicular de glyphosate e AMPA em *Digitaria insularis*, os danos morfofisiológicos causados na espécie e o efeito do sombreamento nesse processo. O experimento foi em ambiente protegido e cultivo hidropônico. O esquema experimental foi 2 x 5, sendo o primeiro fator representado pelos ambientes de pleno sol e 83% de sombreamento e o segundo fator pelas doses 0, 370, 740, 1110 e 1480 g ha⁻¹ de glyphosate. No primeiro estudo aumento nas doses de glyphosate promoveu aumento linear na intoxicação das mudas de eucalipto e redução significativa na produção de massa seca total e de raízes das plantas. O eucalipto teve a taxa fotossintética, condutância estomática e taxa transpiratória, reduzidas conforme o aumento das doses do herbicida, com indicativos de recuperação na segunda avaliação. Ao avaliar a exsudação radicular não foi detectada a presença de AMPA, porém foi possível quantificar o glyphosate nas concentrações entre 1,47 e 1,54 ug L⁻¹ pelo método químico com efeitos sobre o bioindicador, quando da aplicação das doses de 740, 1110 e 1480 g ha⁻¹ de glyphosate. No segundo experimento o acréscimo nas doses de glyphosate promoveu aumento na intoxicação de *D. insularis* nos dois ambientes testados, porém as plantas cultivadas em sombreamento demonstraram maior intoxicação na fase inicial. Também houve redução significativa na produção de biomassa da parte aérea e das raízes independente do ambiente. O aumento das doses de glyphosate reduziu a eficiência fotoquímica do fotossistema II (ΦPSII) e a Taxa de transporte de elétrons (ETR) independente do ambiente de cultivo. A restrição luminosa aumentou a ΦPSII em *D. insularis* aos 3 dias após a aplicação do herbicida. O cultivo a pleno sol proporcionou maior ETR nos dois períodos avaliados. A taxa fotossintética, condutância estomática, taxa transpiratória e eficiência no uso da água em *D. insularis* foram reduzidas de acordo com aumento das doses do herbicida. A exsudação radicular de glyphosate ou AMPA em *D. insularis* não foi detectada, independente da dose de glyphosate ou do sombreamento. A exsudação radicular do glyphosate acontece no eucalipto, porém não do seu principal metabólico o AMPA. Para *D. insularis* nem o glyphosate e nem o AMPA foram exsudados. A disponibilidade de luz no ambiente de cultivo não interfere no processo de exsudação de glyphosate por *D. insularis*.

Palavras-chave: Bioensaio. Controle químico. Manejo de plantas daninhas. Sombreamento. Taxa fotossintética.

ABSTRACT

Glyphosate, the main herbicide used in the world, has a broad spectrum of action in the control of weeds. Its action depends on the environmental conditions and physiological characteristics of the species to be controlled. The first study sought to identify and quantify with a chromatographic method and by bioassay the possibility of root exudation of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) by *Eucalyptus* and the physiological effects of this herbicide on the plant. The experiment was conducted in a protected environment and hydroponic cultivation where doses of 0, 360, 720, 1080 and 1440 g ha⁻¹ of glyphosate applied on *Eucalyptus* seedlings were tested. A bioassay was also implemented using water samples in pots in hydroponic cultivation of *Cucurbita pepo*. The second experiment sought to identify the root exudation of glyphosate and AMPA in *Digitaria insularis*, the morphophysiological damage caused to the species and the effect of shading in this process. The experiment was carried out in a protected environment and hydroponic cultivation. The experimental design was 2 x 5, the first factor being represented by the environments of full sun and 83% shading and the second factor by the doses 0, 370, 740, 1110 and 1480 g ha⁻¹ of glyphosate. In the first study, an increase in glyphosate doses promoted a linear increase in the intoxication of *Eucalyptus* seedlings and a significant reduction in the production of total dry mass and plant roots. The *Eucalyptus* had its photosynthetic rate, stomatal conductance and transpiration rate reduced as the herbicide doses increased, with signs of recovery in the second evaluation. When evaluating root exudation, the presence of AMPA was not detected, but it was possible to quantify glyphosate at concentrations between 1.47 and 1.54 µg L⁻¹ by the chemical method with effects on the bioindicator, when applying doses of 740, 1110 and 1480 g ha⁻¹ of glyphosate. In the second experiment, the increase in the doses of glyphosate promoted an increase in the intoxication of *D. insularis* in the two environments tested, but the plants grown in shading showed greater intoxication in the initial phase. There was also a significant reduction in shoot and root biomass production regardless of the environment. Increasing doses of glyphosate reduced photochemical efficiency of photosystem II (ΦPSII) and electron transport rate (ETR) regardless of the culture environment. Light restriction increased ΦPSII in *D. insularis* 3 days after herbicide application. Cultivation in full sun provided higher ETR in both periods evaluated. The photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration rate and water use efficiency in *D. insularis* were reduced with increasing herbicide doses. Root exudation of glyphosate or AMPA in *D. insularis* was not detected, regardless of glyphosate dose or shading. Glyphosate root exudation occurs in *Eucalyptus*, but not its main metabolic AMPA. For *D. insularis* neither glyphosate nor AMPA were exuded. The availability of light in the cultivation environment does not interfere with the glyphosate exudation process by *D. insularis*.

Keywords: Bioassay. Chemical control. Weed management. Shading. Photosynthetic rate.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo Geral.....	10
2.2 Objetivos Específicos	10
3 REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1 Glyphosate	11
3.2 Efeito das condições ambientais na ação dos herbicidas nas plantas	11
3.3 Eucalipto	13
3.4 <i>Digitaria insularis</i>	13
3.5 Análise cromatográfica de glyphosate	14
3.6 Monitoramento do glyphosate no ambiente	15
REFERÊNCIAS	17
4 ARTIGOS	24
4.1 Artigo 1 - Exsudação radicular de glyphosate em eucalipto	24
4.2 Artigo 2 - Glyphosate x <i>Digitaria insularis</i> : aspectos fisiológicos e exsudação radicular do herbicida em função do ambiente de cultivo.....	42
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	62

1 INTRODUÇÃO

As áreas destinadas aos principais cultivos no campo vêm se tornando limitadas quanto à expansão territorial, o que torna necessário o aumento em produtividade. Isso exige intenso uso de tecnologia e melhora na eficiência de manejo nos principais sistemas agrícolas.

Uma das maiores dificuldades na agricultura é o manejo de plantas daninhas. Estas, quando não controladas de forma correta, podem causar prejuízos produtivos e financeiros. A exigência de altas produtividades e a limitação de mão de obra impulsionam cada vez mais o uso de métodos químicos para controle de plantas daninhas, o que torna o uso de herbicidas a principal ferramenta para esse manejo. Produtos à base de glyphosate são os principais usados no mundo para esse fim (KLINGELHÖFER *et al.*, 2021). Sua eficiência permite ampla utilização em áreas agrícolas e florestais.

Quando do uso de herbicidas à base de glyphosate, deve-se também levar em conta a presença do ácido aminometilfosfônico (AMPA), pois esse composto é o principal metabólito oriundo da degradação da molécula de glyphosate e possui efeito no metabolismo das plantas e na contaminação ambiental (HEARON *et al.*, 2021). Na maioria das opções de manejo com glyphosate, pouco se leva em consideração a influência do ambiente onde está sendo realizado o controle. Alguns processos que envolvem a dinâmica do herbicida na planta podem ser influenciados também pelo próprio ambiente, principalmente quanto ao sombreamento (COSTA *et al.*, 2020). Em virtude da necessidade de se conhecer parâmetros biológicos e fisiológicos das espécies a serem controladas frente à aplicação do glyphosate, pouco se sabe sobre influência da disponibilidade de luz no ambiente, sua relevância na ação do herbicida e seu metabólito primário.

Embora o manejo químico seja necessário, o uso intenso de herbicidas pode promover a permanência e a acumulação de suas moléculas no ambiente (HERMANSEN *et al.*, 2020) e causar danos em organismos não alvo. Esses compostos, quando aplicados nas culturas, podem atingir os corpos d'água, através da água da chuva e de irrigação, ou ainda por percolação e lixiviação no solo. Tendo em vista o potencial dispersivo e o risco ambiental de alguns desses produtos, se faz necessária uma abordagem cuidadosa da dinâmica de resíduos. Os métodos cromatográficos são os mais indicados nesse tipo de monitoramento, dada sua segurança e precisão. Estudos dessa natureza exigem técnicas bem estabelecidas e análises rigorosas para a obtenção de dados precisos.

Esse tipo de monitoramento se faz importante, com significativa contribuição para a produção e a sustentabilidade. Entretanto, por dificuldades técnicas e análises onerosas, ainda se fazem escassos. O entendimento sobre a ação do glyphosate na planta pode proporcionar melhores estratégias no manejo e redução de impactos de seu uso no ambiente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a exsudação radicular do herbicida glyphosate e de seu metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), por plantas de eucalipto e *Digitaria insularis*, bem como o efeito do sombreamento nesse processo e os efeitos do herbicida sobre a fisiologia das plantas.

2.2 Objetivos Específicos

Identificar e quantificar, por método cromatográfico, a exsudação radicular de glyphosate e de seu metabólito, AMPA, por plantas de *Eucalyptus urophylla* e de *D. insularis*, em sistema de hidroponia.

Identificar a exsudação de glyphosate por eucalipto, por meio de bioensaio, utilizando como bioindicador a *Cucurbita pepo* em sistema hidropônico.

Avaliar o efeito da disponibilidade luminosa no ambiente de cultivo e sua influência na eficiência de ação de doses de glyphosate no manejo de *D. insularis*.

Avaliar o efeito de doses de glyphosate nos aspectos fisiológicos de eucalipto e *D. insularis*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Glyphosate

O glyphosate é considerado o herbicida mais utilizado no mundo (KLINGELHÖFER *et al.*, 2021). Esse composto é utilizado como dessecante no controle de plantas daninhas em áreas cultivadas, não cultivadas e para aplicações dirigidas em culturas perenes. É um produto sistêmico com elevada sorção nos colóides do solo e baixo risco toxicológico (SILVA *et al.*, 2007; SALGADO *et al.*, 2011; OLIVEIRA JR, 2011; REZENDE-SILVA *et al.*, 2019). A absorção desse produto pelas plantas ocorre pelas folhas e pela parte aérea, onde se transloca via vasos do floema, preferencialmente para meristemas e células em crescimento (SILVA *et al.*, 2007; MACHADO *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2015).

O glyphosate atua na rota do ácido chiquímico, que é uma das principais responsáveis pelo carbono fixado nas plantas (ORCARAY *et al.*, 2010). Esse herbicida bloqueia a via do ácido chiquimato (Dewick, 1995) e suprime a biossíntese de metabólitos importantes, a partir da inibição da enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintase – EPSPs (SCHRÜBBERS *et al.*, 2014; REZENDE-SILVA *et al.*, 2019). Ainda assim o glyphosate pode também causar danos secundários que comprometem atividades fisiológicas de algumas espécies (GOMES *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2020; FREITAS-SILVA *et al.*, 2020). A inibição da enzima EPSPs também ocasiona a redução da síntese de produtos provenientes dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina, triptofano e de diversos metabólitos secundários (SILVA *et al.*, 2007; ORCARAY *et al.*, 2010; OLIVEIRA JR, 2011; MAEDA; DUDAREVA, 2012; CARVALHO *et al.*, 2015).

Aplicações do glyphosate em pré-plantio não causam danos em plantas cultivadas de forma posterior. Isso ocorre principalmente em função de sua alta sorção aos colóides do solo (MEFTAUL *et al.*, 2020), o que praticamente elimina o efeito residual desse herbicida. A degradação da molécula é influenciada também pelas características químicas do solo, onde o fósforo pode competir com o glyphosate pelos sítios de sorção no solo (HELANDER *et al.*, 2012).

Uma vez presente na solução do solo, os microrganismos atuam de forma direta na degradação do herbicida, gerando o ácido aminometilfosfônico (AMPA), que é o seu principal metabólito (BERNAL *et al.*, 2012). O AMPA pode ser considerado mais tóxico e persistente que o próprio glyphosate (HEARON *et al.*, 2021). As propriedades físico-químicas do AMPA apresentam semelhanças com o glyphosate: ambos possuem alta solubilidade em meio aquoso e pouca em solventes orgânicos. O glyphosate e o AMPA são compostos polares, característica que lhes permitem ficar retidos em argila e compostos orgânicos (MEFTAUL *et al.*, 2020). Entretanto, a alta solubilidade em água facilita o escoamento superficial e a dispersão do herbicida do local de aplicação (PIRIYAPITTAYA *et al.*, 2008).

3.2 Efeito das condições ambientais na ação dos herbicidas nas plantas

A dinâmica de herbicidas no solo e nas plantas é influenciada pelo efeito de controle ou de tolerância das plantas e pode resultar em impactos ambientais e inviabilidade financeira de cultivos. Quando uma molécula herbicida é utilizada da maneira correta e principalmente na dose adequada, seu efeito condiciona-se principalmente ao tecido vegetal. Por outro lado, quando em uso excessivo, além da

dose necessária para causar efeito na planta, existe um excedente que pode não ser metabolizado e ter como destino o solo ou até os recursos hídricos (GUNARATHNA *et al.*, 2018; AVIGLIANO *et al.*, 2015).

As plantas possuem mecanismos capazes de gerar defesas da ação tóxica das moléculas (GE *et al.*, 2010) e podem até liberar as moléculas no ambiente, como no processo de exsudação radicular (MACHADO *et al.*, 2009; TUFFI SANTOS *et al.*, 2005). Entretanto, esse processo condiciona-se não apenas ao mecanismo de defesa vegetal, mas também à molécula herbicida.

O processo de exsudação radicular consiste na eliminação de moléculas orgânicas e inorgânicas via raiz (GHANIZADEH; HARRINGTON, 2017) e se mostra dependente da espécie quanto às suas características fisiológicas. Na literatura, esse processo foi apontado em algumas espécies como um mecanismo que proporciona menor suscetibilidade a herbicidas (JUGULAM *et al.*, 2013, ROJANO DELGADO *et al.*, 2019). A exsudação radicular de glyphosate, inclusive, já foi verificada para *Urochloa brizantha* (VITI *et al.*, 2019) e *Urochloa decumbens* (TUFFI SANTOS *et al.*, 2005), porém ainda não foi confirmada a relação com a tolerância das espécies para esse herbicida. Além disso, ainda não se sabe sobre a influência do ambiente no mecanismo de exsudação radicular de herbicidas.

Mudanças na luminosidade podem alterar as características de desenvolvimento das plantas, influenciando diretamente sua morfofisiologia e seu desenvolvimento (LI *et al.*, 2019). Essas alterações na disponibilidade de luz podem ocorrer em cultivos florestais, sistemas integrados de produção, pomares e cultivos, como sorgo e milho. Dessa forma, as plantas adaptam-se e desenvolvem mecanismos para melhorarem a eficiência de captação de recursos (FENG *et al.*, 2019; TAIZ *et al.*, 2017). Mudanças na anatomia já foram constatadas em experimentos em que plantas cultivadas em ambientes sombreados apresentaram aumento na área foliar, deposição de cutina e ceras nas folhas (COSTA *et al.*, 2020), mudanças na densidade de estômatos (TAIZ *et al.*, 2017) e alterações na taxa fotossintética (FENG *et al.*, 2019). Também podem ocorrer alterações na estrutura de tecidos, como no parênquima paliçádico (QUEIROZ-VOLTAN *et al.* 2011).

A capacidade das plantas de se adaptarem a diferentes ambientes ocorre, então, devido às alterações na anatomia e na fisiologia, que lhes conferem diferentes respostas em relação à luminosidade. Assim, o sombreamento imposto sobre as plantas implica diretamente na eficiência do controle químico (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2019; BRANT *et al.*, 2018).

A cutícula é a camada mais externa presente na superfície foliar, atuando contra a perda excessiva de água e como uma barreira que atua contra a penetração de compostos externos nas folhas (TAIZ *et al.*, 2017). Porém, vários fatores, como ambiente, exposição à luminosidade, idade e espécie da planta, influenciam na composição química e na espessura da cutícula, afetando diretamente o controle final, quando do uso de herbicidas (SILVA, 2007).

Dessa forma, o sombreamento pode promover redução na espessura da lâmina foliar das plantas (SANTOS *et al.*, 2015). Essas modificações podem reduzir a barreira de entrada dos herbicidas e facilitar a penetração e absorção nas folhas, o que pode tornar as plantas mais sensíveis à ação dos herbicidas (COSTA *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2015). Esse efeito já foi constatado quando do uso de glyphosate em plantas sombreadas, em que foi possível reduzir a dose e manter o efeito de controle (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2020).

Embora o sombreamento possa facilitar a penetração de herbicidas, a maior disponibilidade de luz no ambiente de cultivo melhora a translocação do herbicida na planta (MOTA *et al.*, 2020). Dessa forma,

as condições de restrição luminosa podem interferir no tempo de ação de herbicidas ou até mesmo na eficiência de controle. Porém essas alterações se mostram dependentes da espécie e das condições de cultivos.

3.3 Eucalipto

O gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae e compreende mais de 700 espécies, com origem principalmente na Austrália (BROOKER, 2003; OECD, 2014). Com o aumento populacional, a demanda mundial de madeira para os diversos fins é cada vez maior. Por isso, os cultivos florestais, principalmente de eucalipto, são importantes para suprir a demanda de madeira no mundo e reduzir o uso de florestas nativas (BAUHUS *et al.*, 2010; VIDAL *et al.*, 2015). Com a necessidade de aumentar a produção, as empresas e produtores buscam métodos mais eficientes de manejo. O eucalipto é considerado a espécie florestal mais plantada no Brasil (IBA, 2019). Com grande representatividade em nível mundial, caracteriza-se por altas densidades de plantio e baixos períodos de rotação (FERRAZ FILHO *et al.*, 2014), o que é fundamental para altas produtividades.

No cultivo florestal, o controle de plantas daninhas influencia diretamente na produtividade final, e esse é feito, em grande parte, com a aplicação dirigida de glyphosate, que é muito utilizado principalmente pela boa eficiência de controle e menor custo em relação a outros produtos. O manejo químico nas florestas plantadas é importante principalmente nos primeiros anos de cultivo, visto que, após o fechamento do dossel, a cultura tende a se sobressair (TUFFI SANTOS *et al.*, 2006; COSTA *et al.*, 2012).

De acordo com o manejo adotado, após o término de um ciclo de cultivo, pode ser realizada uma nova implantação de mudas na mesma área, o que torna importante o controle das brotações do cultivo anterior. Em grande parte, esse controle é feito com o uso de glyphosate (TUFFI SANTOS *et al.*, 2006). Após o corte da madeira, ocorre a emissão de novas brotações nas cepas remanescentes do eucalipto (MELLO *et al.*, 2007; FERRAZ FILHO *et al.*, 2014; ROCHA *et al.*, 2018). Isso ocorre devido à presença de gemas, brotos epicórmicos e lignotubers na região cambial (CLARKE *et al.*, 2013).

As brotações da cultura podem ser conduzidas para outro ciclo de produção das árvores, o chamado sistema de talhadia (FERRAZ FILHO *et al.*, 2014; ROCHA *et al.*, 2018). Entretanto, muitas brotações indesejadas no próprio eucalipto precisam ser controladas, para favorecer o crescimento dos brotos selecionados para condução. Dessa forma, o glyphosate torna-se necessário tanto para a reforma do plantio quanto para a condução por talhadia.

3.4 *Digitaria insularis*

A *D. insularis* é uma das principais plantas daninhas presentes em culturas anuais e perenes, e se faz muito comum em boa parte do território da América do Sul (LOPEZ OVEJERO *et al.*, 2017). Essa espécie tem se tornado um dos principais problemas para grandes cultivos, como soja e milho no Brasil. Conhecida popularmente como capim-amargoso, é uma gramínea que pertence à família Poaceae.

D. insularis pode se reproduzir por sementes e por partes vegetativas. Suas sementes são leves e pilosas, o que facilita a dispersão e a perpetuação da espécie (CORREIA; ACRA; BALIEIRO, 2015).

Quando dispersas, suas sementes podem germinar em ampla faixa de temperatura e luminosidade. Essa germinação também é dependente do local de origem de cada genótipo (MENDONÇA *et al.*, 2014). O capim amargoso também pode se reproduzir através da formação de rizomas, o que dificulta ainda mais seu manejo (ZOBIOLE *et al.*, 2016).

O crescimento inicial da *D. insularis* é lento quando comparado a outras gramíneas (MACHADO *et al.*, 2006), característica que deve ser levada em consideração no manejo, uma vez que a competição entre plantas daninhas e a própria cultura na fase inicial é fundamental para o estabelecimento na área. Uma vez que ocorre o fechamento do dossel das culturas, ocorre desvantagem competitiva de plantas com crescimento inicial lento, como *D. insularis*, pela limitação de luz e demais recursos. Além disso, quando sombreada, por se tratar de uma planta C4, ocorre desvantagem competitiva em relação a outras espécies (MACHADO *et al.*, 2006).

Quando em altas populações, a interferência de *D. insularis* pode reduzir a produtividade em até 80% (GAZZIERO *et al.*, 2019). A forma mais utilizada para o manejo de *D. insularis* é o uso de glyphosate, principalmente em culturas transgênicas resistentes a esse herbicida. Entretanto, o manejo para o controle de *D. insularis* está se tornando mais difícil e oneroso, em função do surgimento de indivíduos com menor susceptibilidade a esse herbicida (LOPEZ OVEJERO *et al.*, 2017).

D. insularis, por ser uma planta de rápida disseminação e estabelecimento, leva à necessidade de aplicações frequentes de glyphosate, o que tem selecionado biótipos menos suscetíveis dessa espécie (TAKANO *et al.*, 2020). Sabe-se que essa menor suscetibilidade da espécie ao glyphosate está relacionada a mutações genéticas (GALEANO *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2020). No entanto, este pode não ser o único fator envolvido, uma vez que as plantas podem desenvolver diversos mecanismos de defesa à ação dos herbicidas, relacionados a adaptações morfofisiológicas (POWLES e YU, 2010; COSTA *et al.*, 2020).

A dificuldade para elucidar os mecanismos que conferem menor suscetibilidade dessa espécie ao glyphosate está relacionada também à alta variabilidade genética de *D. insularis*, devido à alta taxa de polimorfismo e, portanto, dissimilaridade entre os biótipos (MARTINS *et al.*, 2016). Por se tratar de uma espécie de fecundação cruzada, existe grande variação genética. Essa característica permite que alguns indivíduos cultivados em diferentes condições possam adquirir características específicas, o que pode influenciar na suscetibilidade a herbicidas à base de ao glyphosate.

3.5 Análise cromatográfica de glyphosate

A busca por limites de quantificação cada vez menores é possível pelo desenvolvimento de métodos de extração e detecção cada vez mais sensíveis (KUSTER; ALDA, BARCELÓ, 2006). A análise de defensivos pode ser realizada tanto pelo emprego da cromatografia líquida de alta eficiência (CHIARELLO *et al.*, 2017), como pela cromatografia gasosa (CRUZEIRO *et al.*, 2016; MARTINS *et al.*, 2014).

O método mais adequado relaciona-se com a característica química dos resíduos a serem detectados. Quando as moléculas em estudo são voláteis, pode-se optar pela cromatografia gasosa, que geralmente é uma técnica menos onerosa. No caso da detecção em que a molécula do princípio ativo

não é volátil ou não pode ser derivatizada, faz-se o emprego da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (ASENSIO-RAMOS *et al.*, 2011).

O avanço dessa técnica está na possibilidade de acoplar o detector de espectro de massas ao cromatógrafo. Esse detector permite a identificação precisa do resíduo, pela fragmentação e comparação do peso molecular. Seu uso inicial foi em fase gasosa e, em evolução, recentemente emprega-se a técnica em fase líquida (CHIARELLO *et al.*, 2017). Outra técnica que, em conjunto com a cromatografia, potencializa as detecções é o espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado. O denominado ICP-MS proporciona alta sensibilidade e especificidade e se tornou importante ferramenta para a detecção de agroquímicos (POPP; HANN; KOELLENSPERGER, 2010).

Os métodos analíticos específicos para o glyphosate e AMPA tendem a utilizar a etapa de derivatização. Porém, caso essa etapa seja evitada, é possível reduzir os custos das análises. O glyphosate e o AMPA, na maioria dos estudos, são analisados por cromatografia líquida de alta eficiência, que pode estar acoplada a diferentes detectores. Entre eles, os mais comuns são o de fluorescência (AVIGLIANO *et al.*, 2015), espectrometria de massas (BERMAN *et al.*, 2018; GUNARATHNA *et al.*, 2018) e espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (KAZUI; SETO; INOUE, 2014).

Nas mais diversas matrizes ambientais propensas a receber moléculas de agrotóxicos, os corpos de água são os mais importantes acumuladores finais de resíduos, principalmente em agrossistemas com grande rede hidrográfica e alta intensidade de uso com pulverização agrícola (LEU *et al.*, 2004; MURRAY *et al.*, 2010). No caso da detecção em corpos hídricos, muitos componentes ou resíduos presentes na água podem mascarar os resultados. Para minimizar esse problema, podem ser utilizados filtros que proporcionam maior pureza do analito durante a corrida (SANTOS *et al.*, 2013).

Alguns produtos quando lançados no ambiente podem ser prontamente inativados ou rapidamente degradados. Nesse sentido, o monitoramento de resíduos é dificultado no caso de produtos com alta taxa de adsorção ao solo, como o glyphosate (MEFTAUL *et al.*, 2020). Porém, esse produto já foi detectado em lâminas de água em lavouras de arroz, em limites acima do recomendado pela USEPA (MATTOS *et al.*, 2002). Esse herbicida também já foi extraído em plantas, como soja e milho, e quantificado pela técnica de cromatografia líquida (CHAMKASEM ; HARMON, 2016).

O desenvolvimento e o acesso da comunidade científica aos meios de análises contribuem para avanços na produtividade agrícola, e com segurança quanto ao risco ambiental de certos produtos, tanto para a segurança do consumidor quanto para proteção do meio ambiente.

3.6 Monitoramento do glyphosate no ambiente

Entre as classes de defensivos, os herbicidas destacam-se pela grande comercialização, sendo o glyphosate o principal destaque (KLINGELHÖFER *et al.*, 2021), com ampla utilização em diversas culturas. Esse uso contínuo pode contaminar corpos d'água, com maior potencialidade de risco para produtos utilizados em culturas próximas dos recursos hídricos (LAINI *et al.*, 2012). Em algumas situações, também é possível que produtos móveis no solo possam lixiviar e atingir águas subterrâneas (CLOSE *et al.*, 2003). Mesmo quando um composto possui baixa mobilidade no solo, como o glyphosate, este ainda pode causar impactos através do escoamento superficial. Tal fenômeno caracteriza-se pelo

transporte do herbicida adsorvido às partículas do solo (SAUNDERS e PEZESHKI, 2015; MEFTAUL *et al.*, 2020), ou até mesmo quando esse é liberado em camadas mais profundas de solo, via mecanismos como a exsudação radicular.

A biodegradação de moléculas químicas no solo é um processo natural que pode reduzir a concentração dessas substâncias químicas no ambiente. Porém, para que os produtos sejam expostos à ação de microrganismos, eles devem estar associados ao solo e a seus constituintes (GAULTIER *et al.*, 2008). Dessa forma o processo de sorção pode indisponibilizar os pesticidas da solução do solo, mas também dificultar sua biodegradação. Na dinâmica de moléculas químicas no solo, a sorção não significa redução total do risco ambiental. Alguns produtos podem aderir aos colóides do solo e ainda permanecerem ativos (VIEIRA *et al.*, 1999).

Os processos de adsorção, decomposição, degradação, deriva, volatilização, lixiviação, escoamento superficial e exsudação radicular não podem ser analisados separadamente. As interações desses processos são complexas; porém resultam na dinâmica de cada produto no solo *et al.*, 2012). Áreas mais susceptíveis à contaminação relacionam-se com valores mínimos de profundidade do lençol freático, teor de carbono orgânico do solo e fluxo hídrico (MINGOTI *et al.*, 2016). Assim, características intrínsecas de cada região determinam a dinâmica dos produtos utilizados e, na maioria das vezes, o destino final dos compostos é o recurso hídrico (ARIAS *et al.*, 2007).

A passagem de moléculas de defensivo dos ecossistemas terrestres aos aquáticos ocorre, sobretudo, em locais com pulverizações constantes. Algumas dessas áreas são sujeitas à degradação, com altas taxas de erosão do solo e redução da matéria orgânica na camada superficial, o que favorece ainda mais esse transporte (MORAES *et al.*, 2016). A contaminação ambiental oriunda da atividade agrícola é, portanto, considerada do tipo difusa (DORES *et al.*, 2009), o que pode dificultar o monitoramento e conseqüentemente o controle.

A qualidade da água é medida por limites preestabelecidos por diversos órgãos. A agência de proteção ambiental dos Estados Unidos estabelece níveis de resíduo permitidos em água nesse país. Seus índices são adotados por muitos outros países. Esses níveis são estipulados em função de testes toxicológicos e ocorrência da molécula nos recursos hídricos. No caso do herbicida glyphosate, o limite máximo permitido em água potável nos Estados Unidos é de 700 $\mu\text{g L}^{-1}$ (USEPA, 2011). Na legislação europeia, o limite máximo tolerável é de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (BORGGAARD; GIMSING, 2008).

REFERÊNCIAS

- ALDER, L.; GREULICH, K.; KEMPE, G.; VIETH, B. Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC–MS or LC– MS/MS. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 25, n. 6, p. 838-865, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mas.20091>. Acesso em: 20 jun. 2020.
- ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUGNAI, R. E BAPTISTA, D. F. Use of bioindicators for assessing and monitoring pesticides contamination in streams and rivers. **Ciência Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232007000100011>. Acesso em: 20 jun. 2020
- ASENSIO-RAMOS, M.; D'ORAZIO, G.; HERNANDEZ-BORGES, J.; ROCCO, A.; FANALI, S. Multi-walled carbon nanotubes–dispersive solid-phase extraction combined with nano-liquid chromatography for the analysis of pesticides in water samples. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 400, n. 4, p. 1113-1123, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-011-4885-7>. Acesso em: 20 jun. 2020
- AVIGLIANO, E.; SCHENONE, N. F. Human health risk assessment and environmental distribution of trace elements, glyphosate, fecal coliform and total coliform in Atlantic Rainforest mountain rivers (South America). **Microchemical Journal**, v. 122, p. 149-158, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.05.004>. Acesso em: 22 jun. 2020.
- BAUHUS, J.; VAN der MEER, P. J.; KANNINEN, M. **Ecosystem goods and services from plantation forests**. Earthscan, 2010. 254 p.
- BERMAN, C. M.; MARINO, D. J. G.; QUIROGA, M. V.; ZAGARESE, H. Occurrence and levels of glyphosate and AMPA in shallow lakes from the Pampean and Patagonian regions of Argentina. **Chemosphere**, v. 200, p. 513–522, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.103>. Acesso em: 22 jun. 2020.
- BERNAL, J.; MARTIN, M. T.; SOTO, M. E.; NOZAL, M. J.; MAROTTI, I., DINELLI, G., BERNAL, J. L. Development and application of a liquid chromatography–mass spectrometry method to evaluate the Glyphosate and Aminomethylphosphonic acid dissipation in maize plants after foliar treatment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 16, p. 4017-4025, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf3006504>. Acesso em: 22 jun. 2020.
- BORGGGAARD, O. K.; GIMSING, A. L. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. **Pest Management Science**, v. 64, n. 2, p. 441-456, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.1512>. Acesso em: 22 jun. 2020.
- BRANT, M. C.; TUFFI SANTOS, L. D.; FREITAS, I. C.; FRAZÃO, L. A.; SILVA, M. S. N.; MACHADO, V. D.; SANTOS, M. V. Productivity, control, and decomposition of irrigated forage species under glyphosate doses and shading. **Planta Daninha**, v. 36, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582018360100130>. Acesso em: 22 jun. 2020.
- BROOKER, I. Botany of the eucalypts. *In*: COPPEN, J. J. W. **Eucalyptus The Genus Eucalyptus**. CRC Press, 2003. p. 17-49.
- CARVALHO, L. B. D.; ALVES, P. L. D. C. A.; COSTA, F. R. D. Differential response of clones of eucalypt to glyphosate. **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, p. 177-187, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-67622015000100017>. Acesso em: 22 jun. 2020.
- CHAMKASEM, N.; HARMON, T. Direct determination of glyphosate, glufosinate, and AMPA in soybean and corn by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, p. 4995–5004, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9597-6>. Acesso em: 22 jun. 2020.
- CHIARELLO, M.; GRAEFF, R. N.; MINETTO, L.; CEMIN, G.; SCHNEIDER, V. E.; MOURA, S. Determination of pesticides in water and sediment by HPLC–HRMS and its relationship with the use and land occupation. **Química Nova**, v. 40, n. 2, p. 158-165, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170710>. Acesso em: 22 jun. 2020.

CLARKE, P. J.; LAWES, M. J.; MIDGLEY, J. J.; LAMONT, B. B.; OJEDA, F.; BURROWS, G. E.; ENRIGHT, N. J.; KNOX, K. J. E. Resprouting as a key functional trait: how buds, protection and resources drive persistence after fire. **New Phytologist**, v. 197, n. 1, p. 19–35, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nph.12001>. Acesso em: 22 jun. 2020.

CLOSE, M. E.; MAGESAN, G. N.; LEE, R.; STEWART, M. K.; HADFIELD, J. C. Field study of pesticide leaching in an allophanic soil in New Zealand. 1: experimental results. **Australian Journal of Soil Research**, v. 41, n. 5, p. 809-824, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/SR04040>. Acesso em: 22 jun. 2020.

CORREIA, N. M.; ACRA, L. T.; BALIEIRO, G. Chemical control of different *Digitaria insularis* populations and management of a glyphosate-resistant population. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 93-101, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582015000100011>. Acesso em: 22 jun. 2020.

COSTA, A. C. P. R.; COSTA, N. V.; PEREIRA, M. R. R.; MARTINS, D. Efeito da deriva simulada de glyphosate em diferentes partes da planta de *Eucalyptus grandis*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 1663–1672, 2012. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/7730/11546>. Acesso em: 22 jun. 2020.

COSTA, G. A.; TUFFI-SANTOS, L. D.; SANTOS, S. A.; CRUZ, L. R.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; SANTOS, I. T.; TANAKA, F. A. O. Efficiency of glyphosate and carfentrazone-ethyl in the control of *Macroptilium atropurpureum* (DC.) Urb. under different light intensities. **South African Journal of Botany**, v. 131, p. 302–309, 1 jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.028>. Acesso em: 22 jun. 2020.

COSTA, G. A.; SANTOS, L. D. T.; FERREIRA, G. A. P.; CRUZ, L. R.; MACHADO, V. D.; ROCHA, L. M. Levels of shading and application of glyphosate and carfentrazone-ethyl in the control of *Macroptilium atropurpureum*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, n. 12, p. 819–824, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n12p819-824>. Acesso em: 22 jun. 2020.

CRUZEIRO, C.; ROCHA, E.; PARDAL, M. Â.; ROCHA, M. Estudo temporal de monitorização (2010-2013) de pesticidas de acordo com a Diretiva Quadro da Água Europeia: a Ria Formosa (Portugal) como caso de estudo. **Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos**, v. 6, n. 1, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.34624/captar.v6i1.11991>. Acesso em: 22 jun. 2020.

DEWICK, P. M. The biosynthesis of shikimate metabolites. **Natural Product Reports**, v. 12, n. 2, p. 101-133, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/np995120010>. Acesso em: 22 jun. 2020.

DORES, E. F.; SPADOTTO, C. A.; WEBER, O. L.; CARBO, L.; VECCHIATO, A. B.; PINTO, A. A. Environmental behaviour of metolachlor and diuron in a tropical soil in the central region of Brazil. **Water, air, and soil pollution**, v. 197, n. 1-4, p. 175-183, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9801-1>. Acesso em: 22 jun. 2020.

FENG, L.; RAZA, M. A.; LI, Z.; CHEN, Y.; KHALID, M. H. B.; DU, J.; LIU, W.; WU, X.; SONG, C.; YU, L.; ZHANG, Z.; YUAN, S.; YANG, W.; YANG, F. The Influence of Light Intensity and Leaf Movement on Photosynthesis Characteristics and Carbon Balance of Soybean. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1952, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01952>. Acesso em: 22 jun. 2020.

FERRAZ FILHO, A. C.; SCOLFORO, J. R. S.; MOLA-YUDEGO, B. The coppice-with-standards silvicultural system as applied to Eucalyptus plantations — a review. **Journal of Forestry Research**, v. 25, n. 2, p. 237-248, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11676-014-0455-0>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FREITAS-SILVA, L. DE; ARAÚJO, T. O. DE; NUNES-NESI, A.; RIBEIRO, C.; COSTA, A. C.; SILVA, L. C. DA. Evaluation of morphological and metabolic responses to glyphosate exposure in two neotropical plant species. **Ecological Indicators**, v. 113, p. 106246, June 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106246>. Acesso em: 30 jun. 2020.

- GALEANO, E.; BARROSO, A. A. M.; VASCONCELOS, T. S.; LÓPEZ-RUBIO, A.; ALBRECHT, A. J. P.; VICTORIA FILHO, R.; CARRER, H. EPSPS variability, gene expression, and enzymatic activity in glyphosate-resistant biotypes of *Digitaria insularis*. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 3, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.4238/gmr.15038730>. Acesso em: 30 jun. 2020.
- GAULTIER, J.; FARENHORST, A.; CATHCART, J.; GODDARD, T. Degradation of [carboxyl-14C] 2,4-D and [ring-U-14C] 2,4-D in 114 agricultural soils as affected by soil organic carbon content. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 1, p. 217-227, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.08.003>. Acesso em: 30 jun. 2020.
- GAZOLA, T.; BIANCHI, L.; DIAS, M. F.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Metabolic profiling of glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis*). **Weed Technology**, v. 34, n. 5, p. 748–755, May 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/wet.2020.31>. Acesso em: 30 jun. 2020.
- GAZZIERO, D. L. P.; ADEGAS, F. S.; SILVA, A. F.; CONCENÇO, G. Estimating Yield Losses in Soybean Due to Sourgrass Interference. **Planta Daninha**, v. 37, p. e019190835, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100047>. Acesso em: 30 jun. 2020.
- GE, X.; AVIGNON, D. A. D'; ACKERMAN, J. J.; SAMMONS, R. D. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism: Mechanism of glyphosate resistance in *C. canadensis*. **Pest Management Science**, v. 66, n. 4, p. 345–348, Apr. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.1911>. Acesso em: 30 jun. 2020.
- GHANIZADEH, H.; HARRINGTON, K. C. Non-target site mechanisms of resistance to herbicides. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 36, n. 1, p. 24-34, 2017. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ps.5850>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- GOMES, M. P.; LE MANAC'H, S. G.; MACCARIO, S.; LABRECQUE, M.; LUCOTTE, M.; JUNEAU, P. Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 130, p. 65–70, June 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.11.010>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- GUNARATHNA, S.; GUNAWARDANA, B.; JAYAWEERA, M.; MANATUNGE, J.; ZOYSA, K. Glyphosate and AMPA of agricultural soil, surface water, groundwater and sediments in areas prevalent with chronic kidney disease of unknown etiology, Sri Lanka. **Journal of Environmental Science and Health**. Part. B, v. 53, n. 11, p. 729-737, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1480157>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- HEARON, S. E.; WANG, M.; MCDONALD, T. J.; PHILLIPS, T. D. Decreased bioavailability of aminomethylphosphonic acid (AMPA) in genetically modified corn with activated carbon or calcium montmorillonite clay inclusion in soil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 100, p. 131–143, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.06.029>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- HELANDER, M; SALONIEMI, I; SAIKKONEN, K. Glyphosate in northern ecosystems. **Trends In Plant Science**, v. 17, n. 10, p. 569-574, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.05.008>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- HERMANSEN, C.; NORGAARD, T.; WOLLESEN DE JONGE, L.; MOLDRUP, P.; MÜLLER, K.; KNADEL, M. Predicting glyphosate sorption across New Zealand pastoral soils using basic soil properties or Vis–NIR spectroscopy. **Geoderma**, v. 360, p. 114009, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.114009>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES - IBA. **Anuário estatístico 2019 base 2018**. Disponível em: <http://www.iba.org/>. Acesso em: 15 jun. 2020.
- JUGULAM, M.; DIMEO, N.; VELDHUIS, L. J.; WALSH, M.; HALL, J. C. Investigation of MCPA (4-Chloro-2-ethylphenoxyacetate) resistance in wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 51, p. 12516-12521, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf404095h>. Acesso em: 19 jan. 2021.

- KAZUI, Y.; SETO, Y.; INOUE, H. Phosphorus-specific determination of glyphosate, glufosinate, and their hydrolysis products in biological samples by liquid chromatography–inductively coupled plasma–mass spectrometry. **Forensic Toxicology**, v. 32, p. 317-322, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11419-014-0237-6>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- KLINGELHÖFER, D.; BRAUN, M.; BRÜGGMANN, D.; GRONEBERG, D. A. Glyphosate: How do ongoing controversies, market characteristics, and funding influence the global research landscape?. **Science of The Total Environment**, v. 765, p. 144271, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144271>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- KUSTER, M.; LÓPEZ DE ALDA M.; BARCELÓ, D. Analysis of pesticides in water by liquid chromatography-tandem mass spectrometric techniques. **Mass spectrometry reviews**, v. 25, n. 6, p. 900-916, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mas.20093>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- LAINI, M. A.; BARTOLIB, L. L.; ETTORE C.; BALDERACCHIA, M.; TREVISANA, M. Herbicide contamination and dispersion pattern in lowland springs. **Science of The Total Environment**, v. 438, n. p. 312-318, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.08.080>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- LEU, C.; SINGER, H.; STAMM, C.; MÜLLER, S. R.; SCHWARZENBACH, R. P. Variability of herbicide losses from 13 fields to surface water within a small catchment after a controlled herbicide application. **Environmental Science and Technology**, v. 38, n.14, p. 3835-3841, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es0499593>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- LI, T.; DAI, J.; ZHANG, Y.; KONG, X.; LI, C.; DONG, H. Topical shading substantially inhibits vegetative branching by altering leaf photosynthesis and hormone contents of cotton plants. **Field Crops Research**, v. 238, p. 18-26, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2019.04.019>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- LOPEZ OVEJERO, R. F.; TAKANO, H. K.; NICOLAI, M.; FERREIRA, A.; MELO, M. S. C.; CAVENAGHI, A. L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OLIVEIRA, R. S. Frequency and dispersal of Glyphosate-Resistant Sourgrass (*Digitaria insularis*) populations across brazilian agricultural production areas. **Weed Science**, v. 65, n. 2, p. 285-294, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/wsc.2016.31>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- MACHADO, A. F. L.; FERREIRA, L. R.; SANTOS, L. D. T.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, F. A.; VIANA, R. G. Absorção, translocação e exsudação radicular de glyphosate em clones de eucalipto: clones. **Planta Daninha**, v. 27, n. 3, p. 549-554, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582009000300016>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- MACHADO, A. F. L.; FERREIRA, L. R.; FERREIRA, F. A.; FIALHO, C. M. T.; TUFFI SANTOS, L. D.; MACHADO, M. S. Análise de crescimento de *Digitaria insularis*. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 641-647, dez. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582006000400004>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- MACHADO, A. F. L.; FERREIRA, L. R.; TUFFI SANTOS, L. D.; FERREIRA, F. A.; Viana, R. G. Manejo integrado de plantas daninhas na cultura do eucalipto. *In*: FERREIRA, L. R.; MACHADO, A. F. L.; FERREIRA, F. A.; TUFFI SANTOS, L. D. **Manejo integrado de plantas daninhas na cultura do eucalipto**. Viçosa-MG: Ed. UFV, 2010.
- MAEDA, H., DUDAREVA, N. The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 73-105, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105439>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- MARTINS, C. X.; SALVADOR, P. D. M.; JESUS, J. D. D.; FERREIRA, L. F. R.; AMÉROCO, J. H. P.; TORRES, N. H. Análise de atrazina em amostras de água e solo por cromatografia gasosa (GC-ECD). **Bioenergia em Revista: Diálogos**, v. 4, n. 1, p. 128-138, 2014. Disponível em: <http://fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/124/80.%20Access%20in%20January%202019>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- MARTINS, J. F.; BARROSO, A.; CARVALHO, L.; ANNÉ; CESARIN, E.; AMARAL, C. L.; NEPOMUCENO, M.; APARECIDA, J.; DESIDÉRIO; ALVES, P. L. C. A. Plant growth and genetic polymorphism in glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis* L. Fedde). **Australian Journal of**

Crop Science, v. 10, p. 1466-1473, 2016. Disponível em: [10.21475/ajcs.2016.10.10.p7761](https://doi.org/10.21475/ajcs.2016.10.10.p7761). Acesso em: 19 jan. 2021.

MATTOS, M. L. T.; PERALBA, M. D. C. R.; DIAS, S. L.; PRATA, F.; CAMARGO, L. Monitoramento ambiental do glifosato e do seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) na água de lavoura de arroz irrigado. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, p. 45-154, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/pes.v12i0.3156>. Acesso em: 19 jan. 2021.

MEFTAUL, I. Md; VENKATESWARLU, K.; DHARMARAJAN, R.; ANNAMALAI, P.; ASADUZZAMAN, M.; PARVEN, A.; MEGHARAJ, M. Controversies over human health and ecological impacts of glyphosate: Is it to be banned in modern agriculture? **Environmental Pollution**, v. 263, p. 114372, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114372>. Acesso em: 19 jan. 2021.

MELLO, S. L. de M.; GONÇALVES, J. L. M.; GAVA, J. L. Pre- and post-harvest fine root growth in *Eucalyptus grandis* stands installed in sandy and loamy soils. **Forest Ecology and Management**, v. 246, p. 186-195, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.03.060>. Acesso em: 19 jan. 2021.

MENDONÇA, G. S. DE; MARTINS, C. C.; MARTINS, D.; COSTA, N. V. DA. Ecophysiology of seed germination in *Digitaria insularis* ((L.) Fedde). **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 4, p. 823-832, dez. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000400021>. Acesso em: 19 jan. 2021.

MINGOTI, R.; SPADOTTO, C. A.; MORAES, D. A. C. Suscetibilidade à contaminação da água subterrânea em função de propriedades dos solos no Cerrado brasileiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 9, p. 1252-1260, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000900025>. Acesso em: 19 jan. 2021.

MORAES, D. A. D. C.; SPADOTTO, C. A.; SARTORI, A. A. D. C.; ZIMBACK, C. R. L. Spatial variability of groundwater contamination risk by tebutiuron in sugarcane area. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 12, p. 1992-1999, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016001200010>. Acesso em: 22 jun. 2020.

MORAES, D. A. C.; ZIMBACK, C. R. L.; SPADOTTO, C. A. Espacialização das estimativas de contaminação de águas subterrâneas por tebutiuron. **Irriga**, v. 17, n. 3, p. 299-312, 2012. Disponível em: <https://revistas.fca.unesp.br/index.php/irriga/article/view/397>. Acesso em: 19 jan. 2021.

MOTA, L. M.; MENDES, K. F.; JÚNIOR, L. H. B.; SILVA, E. M. G. DA; FURTADO, I. F.; TORNISIELO, V. L. Light availability interferes with absorption and translocation of ¹⁴C-glyphosate in *Urochloa brizantha* cv. Marandu plants. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 326, n. 1, p. 683-693, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10967-020-07333-z>. Acesso em: 19 jan. 2021.

MURRAY, K. E.; SHEEBA, M. T.; BODOUR, A. A. Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. **Environmental Pollution**, v. 158, n.12, p.3462-3471, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.08.009>. Acesso em: 19 jan. 2021.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Consensus document on the biology of *Eucalyptus* spp.** Paris: OECD, 2014. (Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, n. 58). Disponível em: https://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/images/cibiogem/comunicacion/publicaciones/ENV-JM-MONO-2014-27-ENG_eucalip.pdf. Acesso em: 19 jan. 2021.

OLIVEIRA JR, R. S. Mecanismo de ação de herbicidas. *In*: Oliveira Jr, R. S.; Constantin, J.; Inoue, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba, PR: Omnipax, 2011. 348 p.

ORCARAY, L.; IGAL, M.; MARINO, D.; ZABALZA, A.; ROYUELA, M. The possible role of quinate in the mode of action of glyphosate and acetolactate synthase inhibitors. **Pest Management Science**, v. 66, p. 262-269, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.1868>. Acesso em: 19 jan. 2021.

PIRIYAPITTAYA, M.; JAYANTA, S.; MITRA, S.; LEEPIPATPIBOON, N. Micro-scale membrane extraction of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water followed by high-performance liquid chromatography and postcolumn derivatization with fluorescence detector. **Journal of Chromatography**

A, v. 1189, p. 483-492, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.01.074>. Acesso em: 19 jan. 2021.

POPP, M.; HANN, S.; KOELLENSPERGER, G. Environmental application of elemental speciation analysis based on liquid or gas chromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry-A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 668, n. 2, p.114-129, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.036>. Acesso em: 19 jan. 2021.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. 1, p. 317-347, June 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112119>. Acesso em: 19 jan. 2021.

QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; ROLIM, G. de S.; PEDRO JÚNIOR, M. J.; HERNANDES, J. L. Variações na anatomia foliar de Videira Niagara em diferentes sistemas de condução. **Bragantia**, v. 70, n. 3, p. 488-493, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052011005000002>. Acesso em: 19 jan. 2021.

REZENDE-SILVA, S. L.; COSTA, A. C.; DYSZY, F. H.; BATISTA, P. F.; CRISPIM-FILHO, A. J.; NASCIMENTO, K. J. T.; SILVA, A. A. DA. *Pouteria torta* is a remarkable native plant for biomonitoring the glyphosate effects on cerrado vegetation. **Ecological Indicators**, v. 102, p. 497-506, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.03.003>. Acesso em: 19 jan. 2021.

ROCHA, J. H. T.; WENZEL, A. V. A.; MELO, E. A. S. C.; LIMA, Â. S. F.; HAKAMADA, R. E.; FERRAZ, A. V.; ARTHUR JUNIOR, J. C.; GONÇALVES, J. L. M.; MOREIRA, G.; GONÇALVES, A. N. Responses of coppiced *Eucalyptus* to macro- and micronutrient application. **New Forests**, p. 1-15, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11056-018-09695-5>. Acesso em: 19 jan. 2021.

ROJANO-DELGADO, A. M.; PORTUGAL, J. M.; PALMA-BAUTISTA, C.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; TORRA, J.; ALCÁNTARA, E.; DE PRADO, R. Target site as the main mechanism of resistance to imazamox in a *Euphorbia heterophylla* biotype. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 15423, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51682-z>. Acesso em: 19 jan. 2021.

SALGADO, T. P.; ALVES, P. L. C. A.; KUVA, M. A.; TAKAHASHI, E. N.; DIAS, T. C. S.; LEMES, L. N. Sintomas da intoxicação inicial de *Eucalyptus* proporcionados por subdoses de glyphosate aplicadas no caule ou nas folhas. **Planta Daninha**, v. 29, n. 4, p. 913-922, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582011000400022>. Acesso em: 19 jan. 2021.

SANTOS JÚNIOR, A.; FREITAS, F. C. L.; SANTOS, I. T.; SILVA, D. C.; PAIXÃO, G. P.; SEDIYAMA, C. S. Management of *Commelina benghalensis* with saflufenacil in shaded environments. **Planta Daninha**, v. 37, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100051>. Acesso em: 19 jan. 2021.

SANTOS JÚNIOR, A.; TUFFI SANTOS, L. D.; COSTA, G. A.; BARBOSA, E. A.; LEITE, G. L. D.; MACHADO, V. D.; CRUZ, L. R. Manejo de tiririca e trapoeraba com glyphosate em ambientes sombreados. **Planta Daninha**, v. 31, n. 1, p. 213–214, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582013000100023>. Acesso em: 19 jan. 2021.

SANTOS, E. A.; CORREIA, N. M.; BOTELHO, R. G. Resíduos de herbicidas em corpos hídricos-uma revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 2, p. 188-201, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.7824/rbh.v12i2.245>. Acesso em: 19 jan. 2021.

SANTOS, S. A.; TUFFI-SANTOS, L. D.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; TANAKA, F. A. O.; SILVA, L. F.; SANTOS JÚNIOR, A. Influence of shading on the leaf morphoanatomy and tolerance to glyphosate in *Commelina benghalensis* L. and *Cyperus rotundus* L. **Australian Journal of Crop Science**.v. 9, n. 2, p.135-142, 2015. https://www.researchgate.net/publication/282382538_Influence_of_shading_on_the_leaf_morphoanatomy_and_tolerance_to_glyphosate_in_Commelinea_benghalensis_L_and_Cyperus_rotundus_L. Acesso em: 19 jan. 2021.

SAUNDERS, L.; PEZESHKI, R. Glyphosate in Runoff Waters and in the Root-Zone: A Review. **Toxics**, v. 3, n. 4, p. 462-480, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxics3040462>. Acesso em: 19 jan. 2021.

- SCHRÜBBERS, L. C.; VALVERDE, B. E.; SØRENSEN, J. C.; CEDERGREEN, N. Glyphosate spray drift in *Coffea arabica* – Sensitivity of coffee plants and possible use of shikimic acid as a biomarker for glyphosate exposure. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 115, p. 15-22, Oct. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.08.003>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- SILVA, A. A. Herbicidas: absorção, translocação, metabolismo, formulação e misturas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: UFV, 2007. p. 149-188.
- SOARES, C.; PEREIRA, R.; MARTINS, M.; TAMAGNINI, P.; SERÔDIO, J.; MOUTINHO-PEREIRA, J.; CUNHA, A.; FIDALGO, F. Glyphosate-dependent effects on photosynthesis of *Solanum lycopersicum* L.- An ecophysiological, ultrastructural and molecular approach. **Journal of Hazardous Materials**, v. 398, p. 122871, nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122871>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- TAIZ L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.
- TAKANO, H. K.; MELO, M. S. C.; OVEJERO, R. F. L.; WESTRA, P. H.; GAINES, T. A.; DAYAN, F. E. Trp2027Cys mutation evolves in *Digitaria insularis* with cross-resistance to ACCase inhibitors. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 164, p. 1–6, Mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.12.011>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- 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, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582005000100017>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- 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 do glyphosate. **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 359-364, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582006000200020>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- UNITED STATE ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. Finalization of guidance on incorporation of water treatment effects on pesticide removal and transformations in drinking water exposure assessments. 2011. Disponível em: <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/finalization-guidance-incorporation-water-treatment>. Acesso em: 25 de jun. 2020.
- VIDAL, J. M.; EVANGELISTA, W. V.; SILVA, J. D. C.; JANKOWSKY, I. P. Preservação de madeiras no Brasil: histórico, cenário atual e tendências. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 1, p. 257-271, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-509820152505257>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- VIEIRA, E. M.; PRADO, A. D.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. D. O. Study of adsorption/desorption of herbicide 2,4D in soil. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 305-308, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000300002>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- VITI, M. L.; ALVES, P. A. T.; MENDES, K. F.; PIMPINATO, R. F.; GUIMARÃES, A. C. D.; TORNISIELO, V. L. Translocation and root exudation of Glyphosate by *Urochloa brizantha* and its transport on sugarcane and citrus seedlings. **Planta Daninha**, v. 37, p. e019183334, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100030>. Acesso em: 19 jan. 2021.
- ZOBIOLE, L. H. S.; KRENCHINSKI, F. H.; ALBRECHT, A. J. P.; PEREIRA, G.; LUCIO, F. R.; ROSSI, C.; RUBIN, R. D. S. Controle de capim-amargoso perenizado em pleno florescimento. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 15, n. 2, p. 157, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.7824/rbh.v15i2.474>. Acesso em: 19 jan. 2021.

4 ARTIGOS

4.1 Artigo 1 - Exsudação radicular de glyphosate em eucalipto

Este artigo foi elaborado conforme normas da Revista *Ecotoxicology and Environmental Safety*.

Exsudação radicular de glyphosate em eucalipto

RESUMO

O herbicida glyphosate destaca-se no manejo do eucalipto, o que faz importante conhecer seu comportamento e efeitos na planta, bem como possíveis impactos ambientais. O objetivo deste estudo foi identificar e quantificar com método cromatográfico e com método biológico a possibilidade de exsudação radicular de glyphosate e do ácido aminometilfosfônico (AMPA) pelo eucalipto. Foram testadas as doses de 0, 360, 720, 1080 e 1440 g ha⁻¹ de glyphosate aplicadas sobre mudas de eucalipto. Foi realizada avaliação fisiológica, aos 5 e 10 dias após a aplicação do herbicida (DAH) e intoxicação aos 12 DAH. Aos 6 DAH amostra de água remanescente dos vasos foram usadas para quantificação química da exsudação radicular de glyphosate e AMPA em cromatografia líquida de alta eficiência. Aos 10 DAH amostras da água nos vasos foram usadas no bioensaio com cultivo de abóbora (*Cucurbita pepo*), em sistema hidropônico, para detecção da exsudação do herbicida. O aumento das doses de glyphosate promoveu crescimento linear na intoxicação das mudas de eucalipto e redução significativa na produção de massa seca total e de raízes das plantas. As plantas de eucalipto tiveram suas taxas fotossintética, transpiratória e condutância estomática reduzidas conforme o aumento das doses do herbicida. A exsudação radicular de AMPA não foi detectada, porém foi possível quantificar a presença de glyphosate pelo método químico nas doses de 740, 1110 e 1480 g ha⁻¹ de glyphosate, com concentrações entre 1,47 e 1,54 ug L⁻¹. Também foi possível identificar o efeito do glyphosate exsudado através do bioensaio. A exsudação radicular de glyphosate pelo eucalipto pode resultar em menor ação do herbicida no controle das plantas e causar contaminação de camadas mais profundas do solo.

Palavra-chaves: Cromatografia líquida. Bioensaio. Taxa fotossintética. Hormese. Ácido aminometilfosfônico.

Root exudation of glyphosate in Eucalyptus

ABSTRACT

The herbicide glyphosate stands out in the management of Eucalyptus, which makes it important to know its behavior and effects on the plant, as well as possible environmental impacts. The aim of this study was to identify and quantify with chromatographic and biological methods the possibility of root exudation of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) by Eucalyptus. They were tested as doses of 0, 360, 720, 1080 and 1440 g ha⁻¹ of glyphosate applied to Eucalyptus seedlings. Physiological evaluation was performed at 5 and 10 days after herbicide application (DAH) and intoxication at 12 DAH. At 6 DAH samples of water remaining from the pots were used for chemical quantification of root exudate of glyphosate and AMPA in high performance liquid chromatography. At 10 DAH, the water in the pots was used in a bioassay with squash (*Cucurbita pepo*) cultivation in a hydroponic system to detect herbicide exudation. The increase in the doses of glyphosate promoted linear growth in the intoxication of Eucalyptus seedlings and reduced production of total dry mass and plant roots. The Eucalyptus plants had their photosynthetic, transpiratory and stomatal conductance rates reduced as the herbicide doses increased. AMPA root exudation was not detected, but it was possible to quantify the presence of glyphosate by chemical method at doses of 740, 1110 and 1480 g ha⁻¹ of glyphosate, with due between 1.47 and 1.54 ug L⁻¹. It was also possible to identify the effect of the exuded glyphosate through the bioassay. The root exudation of glyphosate by eucalyptus can result in lesser action of the herbicide in plant control and cause contamination of deeper soil layers.

Keywords: Liquid chromatography. Bioassay. Photosynthetic rate. Hormeses. Aminomethylphosphonic acid.

1 Introdução

A manutenção de altas produtividades nas florestas plantadas de eucalipto necessita de um correto manejo de plantas daninhas e das brotações indesejadas dessa espécie florestal. As espécies do gênero *Eucalyptus* apresentam capacidade de emitir brotações (Mello *et al.*, 2007; Ferraz Filho *et al.*, 2014) devido à presença de gemas, brotos epicórmicos e lignotubers na casca e na região cambial (Little e Eccles, 2000; Clarke *et al.*, 2013) que favorecem a emissão de novas brotações após distúrbios, como o próprio corte das árvores (Burrows, 2013; Clarke *et al.*, 2013).

Após o corte raso da floresta, o talhão poderá ser destinado a outro ciclo de cultivo, por sistemas de condução das brotações, a uma nova implantação de eucalipto ou mesmo a outra atividade agrícola. Com a escolha da condução das brotações, algumas brotações indesejadas devem ser controladas de acordo com a finalidade da madeira (Ferraz Filho *et al.*, 2014). No caso da reimplantação com outros plantios ou destinação da área para outras atividades, também há a necessidade de controle das brotações do eucalipto.

Na eucaliptocultura, o controle de plantas daninhas e de brotações indesejadas é realizado principalmente com uso de herbicidas. Porém, o uso intensivo desses produtos favorece a seleção de biótipos de plantas daninhas resistentes e tolerantes (Carpejani e Oliveira Jr, 2013). Isso proporciona o uso de doses mais elevadas, aumentando, assim, o custo e o risco de contaminação ambiental.

O herbicida glyphosate destaca-se entre os produtos utilizados para esse manejo por ser um produto sistêmico, não seletivo, que controla amplo número de espécies (Romagnoli e Manzione, 2018) e apresenta baixo custo em comparação a outros produtos. O glyphosate é translocado para toda planta, atingindo raízes, rizomas e caules, e nas regiões meristemáticas (Castro *et al.*, 2016). Relacionado ao mecanismo de defesa das plantas, estão várias adaptações fisiológicas e metabólicas que podem resultar em fenômenos como a exsudação radicular do produto, fato já estudado em outras espécies com braquiária (Viti *et al.*, 2019). O principal produto do metabolismo do glyphosate nas plantas é o ácido de aminometilfosfônico (AMPA), que é considerado mais tóxico e persistente que o próprio herbicida (Hearon *et al.*, 2021). A exsudação do glyphosate e do AMPA por plantas tratadas pode resultar na redução do efeito do produto no controle de plantas indesejadas e, por outro lado, aumentar os riscos de contaminação ambiental. Na literatura, os estudos sobre a exsudação de glyphosate e do AMPA são escassos, sobretudo com a identificação e a quantificação precisa das moléculas pela cromatografia líquida de alta eficiência.

Dessa forma, o objetivo deste estudo é identificar e quantificar, de forma precisa, com método cromatográfico, e confirmar, com método biológico, a possibilidade de exsudação radicular de glyphosate pelo eucalipto e avaliar o efeito do herbicida na fisiologia da planta.

2 Material e métodos

2.1 Condições experimentais

O experimento foi realizado no Instituto de Ciências Agrárias da UFMG (16°40'59,22" S; 43°50'18,31" O; 650 m), localizado no município de Montes Claros, Minas, Gerais, Brasil. O clima da região é classificado, segundo Köppen, como Aw, tropical com inverno seco.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, sendo testadas cinco doses de glyphosate (0, 1, 2, 3, 4 L ha⁻¹) do produto comercial, correspondentes a 0, 360, 720, 1080 e 1440 g ha⁻¹ de glyphosate, aplicadas sobre mudas de *Eucalyptus urophylla*, em quatro repetições. O experimento foi conduzido em ambiente protegido e em sistema hidropônico (Fig.1).

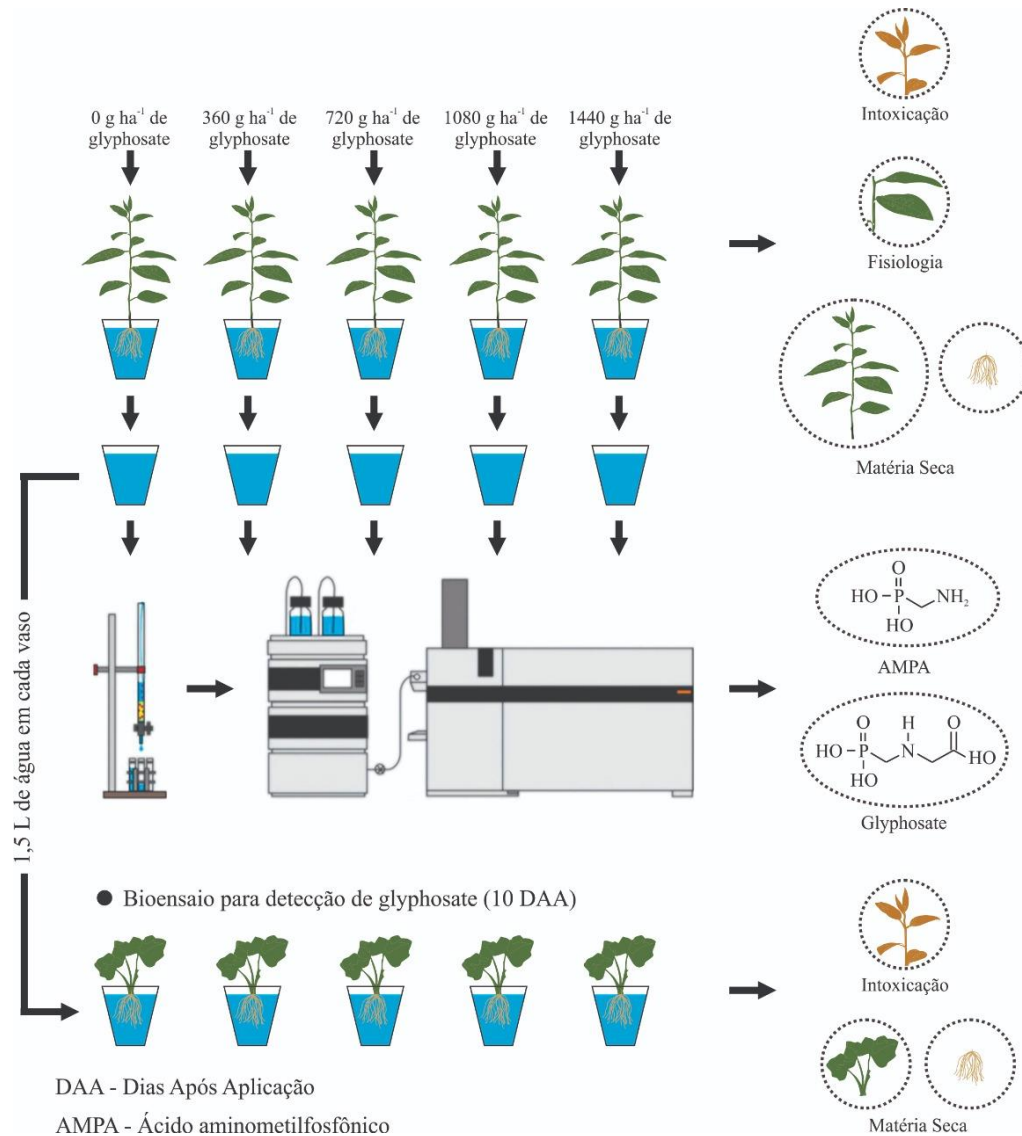


Fig. 1. Representação esquemática da metodologia com o cultivo de mudas de eucalipto e o bioensaio com *Cucurbita pepo*

Mudas de eucalipto foram adquiridas do viveiro clonal da empresa Vallourec, caracterizadas como clones de *Eucalyptus urophylla*, com altura média de 29,6 cm. As mudas foram lavadas cuidadosamente com água destilada, para retirada do substrato presente nas raízes. Após esse processo, as mudas foram levadas para cultivo em sistema hidropônico, mantidas em vasos plásticos com volume de 3,5 dm³ vaso⁻¹ e sistema de oxigenação artificial. As mudas permaneceram no sistema de cultivo hidropônico por 34 dias, sendo que, nos primeiros 22 dias de cultivo, foi utilizada solução nutritiva de Hoagland modificada (Hoagland e Arnon, 1950) e, nos 12 últimos dias de cultivo, água deionizada (Fig.1).

Após 22 dias de cultivo em solução nutritiva, foi realizada a aplicação do glyphosate nas mudas de eucalipto. Para isso, os vasos foram retirados do sistema de oxigenação e levados para local aberto

para realizar a aplicação do herbicida. Uma estrutura plástica foi utilizada para isolar as raízes e a solução nutritiva da parte aérea da planta, para evitar contaminação durante a aplicação. A calda contendo o glyphosate foi aplicada na parte aérea das mudas de eucalipto, por meio de pulverizador costal pressurizado a CO₂, com ponta modelo Teejet 11002 e pressão constante a 250 kPa. O volume calibrado de calda foi de 165 L ha⁻¹. Decorrido 2 horas após a aplicação, com a completa secagem da calda aplicada, houve a retirada da proteção plástica e os vasos foram novamente levados ao sistema de aeração. Após a aplicação do herbicida, a solução nutritiva dos vasos foi totalmente substituída por água deionizada, em que as mudas de eucalipto permaneceram até o final do experimento. A substituição foi realizada para evitar interferências na detecção do glyphosate e do AMPA.

2.2 Análises de intoxicação e de trocas gasosas no eucalipto sob efeito do glyphosate

Foi realizada avaliação visual de intoxicação, considerando-se a parte aérea, aos 12 dias após a aplicação do herbicida (DAH) glyphosate, adotando-se a escala de 0 a 100% para os sintomas de intoxicação, em que 0% é a inexistência de efeitos tóxicos provocados pelo herbicida e 100% a morte total dos tecidos vegetais (Ewrc, 1994).

A fisiologia das plantas foi avaliada na terceira folha totalmente expandida aos 5 e 10 DAH, no período da manhã, para se evitar o máximo possível as alterações climáticas. A determinação de taxa fotossintética ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática ao vapor de água ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa transpiratória ($\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração do carbono interno foi feita utilizando-se o analisador de gás no infravermelho (IRGA, model LI-6400xtr, LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA), que determina as trocas gasosas foliares a partir das variações de CO₂ e da umidade relativa no interior da câmara do aparelho.

2.3 Análise de exsudação radicular de glyphosate e AMPA

Aos 6 DAH, coletou-se 100 mL da água com o intuito de analisar a exsudação radicular de glyphosate e AMPA por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao ICP-MS/MS, segundo metodologia de Tiago *et al.* (2020) (Fig.1).

Para determinação química, utilizaram-se padrões analíticos de glyphosate (99,2 % m/m) e AMPA (99,0 % m/m) da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Soluções estoque de glyphosate e AMPA foram preparadas na concentração de 500 mg L⁻¹ em água ultrapura, obtida pelo sistema Milli-Q (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) e soluções de trabalho nas concentrações de 25 mg L⁻¹. Além dos padrões utilizaram-se os reagentes acetato de amônio (65% m/m), metanol (grau HPLC), hidróxido de tetrabutílamônio e solução de ácido acético (49% m/v), todos obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA), ácido clorídrico P.A, da Anidrol, (Diadema, São Paulo) e Hidróxido de sódio P.A, da Dinâmica (Indaiatuba, São Paulo).

Na detecção, foi utilizado um sistema hifenado, composto por um módulo de cromatografia líquida de alta eficiência (modelo 1260 Infinity Series, Agilent Technologies, Alemanha) e de um espectrômetro de massas triplo quadrupolo com plasma indutivamente acoplado modelo 8800® (Agilent

Technologies, Hachioji, Japão). Para a separação do glyphosate e AMPA, utilizou-se uma coluna analítica ZORBAX SB-C8 (4.6 x 150 mm, 5 μ m, Agilent Technologies, CA, Estados Unidos).

2.4 Método de extração

Utilizou-se uma coluna de vidro (20 cm X 1,5 cm de diâmetro interno), empacotada com 1 g de resina trocadora de ânions. Em seguida, a resina foi condicionada com 10,0 mL de água ultrapura, a uma vazão de 0,5 mL min⁻¹, para a retirada do excesso de íons cloreto. Adicionou-se solução de NaOH a 1,0 mol L⁻¹ até em 100 mL de amostra, até obter pH 10,5 e, posteriormente, a solução obtida foi eluída em coluna contendo a resina, a uma vazão de 0,5 mL min⁻¹. Os analitos retidos na resina foram eluídos com 10 mL de água ultrapura, seguidos de 30,0 mL de solução de HCl a 6,0 mol L⁻¹, com vazão de 0,5 mL min⁻¹. Logo após, o eluato coletado foi concentrado sob aquecimento em banho-maria com glicerina (60 °C), sob fluxo de ar contínuo. O extrato concentrado foi ressuscitado em 400 μ L com a fase móvel e injetado no HPLC-ICP-MS/MS.

2.5 Especificação do fósforo na análise de glyphosate e AMPA por HPLC-ICP-MS/MS

Foram submetidas a análises soluções padrão do herbicida glyphosate e do AMPA, dos extratos brancos e fortificados obtidos a partir da extração das amostras de água. Para a detecção e a quantificação dos analitos, foi monitorado o fósforo presente nas moléculas desses compostos e calculada a concentração final de glyphosate ou AMPA.

As condições de análise adotadas consistiram em coluna analítica ZORBAX SB-C8 (4,6 x 150 mm, 5 μ m), volume de injeção de 50 μ L, fase móvel composta de solução de 50 mM ácido acético/acetato de amônio: 5 mM tetrabutilamônio: 1% metanol com pH = 4,7, fluxo de 1,0 mL min⁻¹ com eluição isocrática. As condições de operação do ICP-MS/MS estão apresentadas na Tabela 1.

Tab 1. Condições de operação otimizadas do ICP-MS/MS

Parâmetros ICP-MS/MS	
Radiofrequência	1600 W
Fluxo do gás de plasma	15 L min ⁻¹
Fluxo do gás carreador	1,0 L min ⁻¹
Fluxo do gás de Makeup	2,0 L min ⁻¹
Profundidade de amostragem	3 mm
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Duplo-passo
Cones de amostragem e <i>skimmer</i>	Níquel
Massas monitoradas	Q1 (m/z ³¹ P) e Q2 (m/z 47 ³¹ P ¹⁶ O ⁺)
Dwell time	0,1 s por isótopo
Sistema de reação octopolar	O ₂
Fluxo do gás de reação	1,5 L min ⁻¹

2.6 Bioensaio para detecção do glyphosate

Aos 10 dias após a aplicação do herbicida sobre as mudas de eucalipto, também foram coletadas amostras da água presente nos vasos, para realizar o bioensaio e determinar a presença do glyphosate. Foi coletado o volume de 1,5 L de água em cada vaso, e com esse volume foi montado um novo sistema hidropônico, com oxigenação artificial para o cultivo de abóbora (*Cucurbita pepo*), utilizada como espécie bioindicadora (Fig.1).

Mudas de abóbora foram preparadas previamente em leito de areia e, após o surgimento da primeira folha expandida, foram levadas então para o cultivo em vasos com a referida solução. Foi realizada a observação diária em relação a sintomas de intoxicação na abóbora (Ewrc, 1994). Aos 9 dias após o transplante, as plantas foram retiradas, separadas em raiz e parte aérea, levadas à estufa de ventilação forçada a 65°C, até atingir peso constante para aferição da massa seca. O delineamento experimental empregado foi o mesmo do experimento com eucalipto.

2.7 Análises estatísticas

Os dados de quantificação da exsudação radicular foram analisados de forma descritiva, por não atenderem aos pressupostos da análise de variância. Os dados das demais variáveis foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5 % de significância e o efeito das doses do herbicida foi analisado por meio de análise de regressão, ajustando-se os modelos adequados para representá-los em função do seu comportamento biológico, da significância dos coeficientes do modelo e do valor do coeficiente de determinação (R^2). As análises estatísticas do trabalho foram realizadas por meio do software R (R CORE TEAM, 2019).

3 Resultados e discussão

3.1 Avaliações de controle e matéria seca das mudas de eucalipto

O aumento das doses de glyphosate aplicadas promoveu crescimento linear na intoxicação das mudas de eucalipto, porém não foram observados níveis de intoxicação superiores a 60% (Fig.2). Apesar de as plantas apresentarem danos morfológicos consideráveis, como seca dos ápices, necroses foliares e queda de folhas, nenhuma das doses aplicadas neste ensaio foi suficiente para causar a morte das plantas.

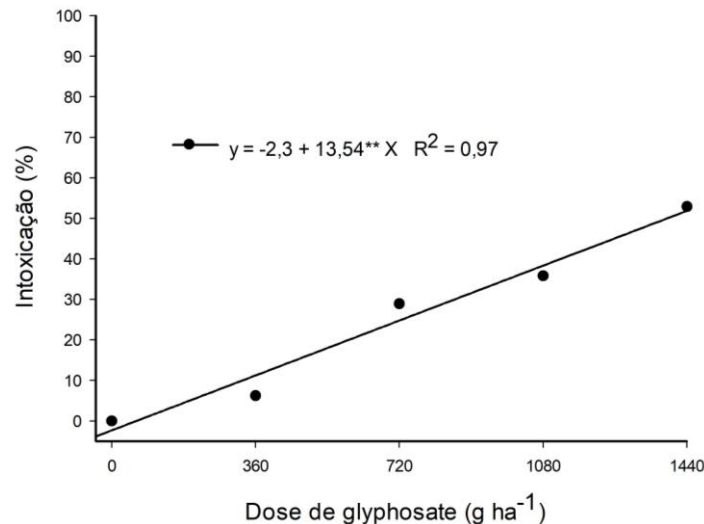


Fig. 2. Intoxicação em mudas de eucalipto aos 12 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate. Significativo pelo teste t em 0,01 (**).

Os níveis de intoxicação das plantas inferiores a 60% podem ser atribuídos ao vigor característico dessa espécie de eucalipto e às condições experimentais, uma vez que em sistemas hidropônicos as plantas têm alta disponibilidade de nutrientes e ausência de competição intraespecífica e interespecífica. Resultados semelhantes foram relatados por Machado *et al.* (2017) que observaram níveis de intoxicação inferiores a 60% em mudas de eucalipto, após a aplicação de glyphosate e fertilizante líquido. A boa disponibilidade de minerais na solução nutritiva pode estar relacionada à baixa eficiência do herbicida em provocar a morte do eucalipto. Segundo Senem *et al.* (2009), altas concentrações de alguns nutrientes catiônicos, ao serem absorvidas pelas plantas, podem reduzir a fitotoxicidade do glyphosate, por meio da formação de complexos pouco solúveis com as moléculas desse herbicida no tecido vegetal.

O aumento das doses de glyphosate aplicadas nas mudas de eucalipto promoveu redução significativa ($p \leq 0,05$) na produção de massa seca total e de raízes das plantas (Fig. 3). Embora a intoxicação não tenha atingido níveis drásticos (Fig. 2), observa-se que houve redução no crescimento das mudas de eucalipto, inclusive do sistema radicular (Fig. 3 B).

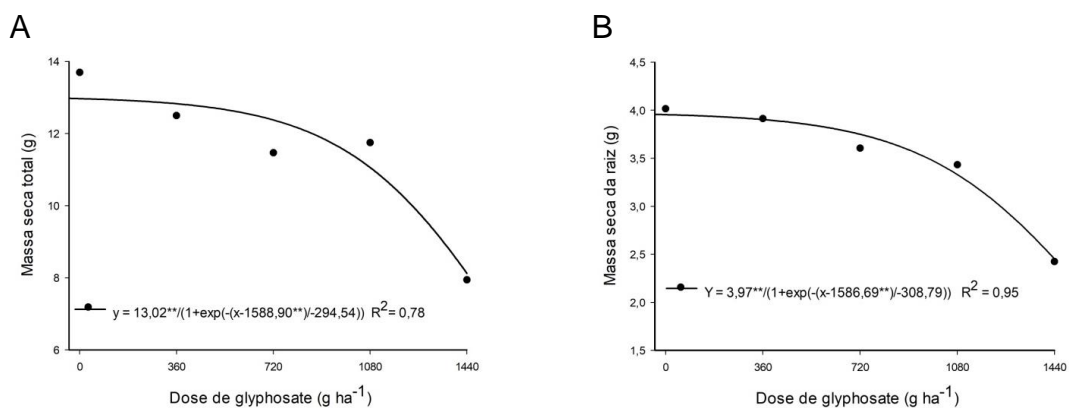


Fig. 3. Massa seca total (A) e Massa seca da raiz (B) de mudas de eucalipto, 12 dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate. Significativo pelo teste t em 0,05 (*) e 0,01 (**)

Após penetrar nas folhas, o glyphosate é translocado até os pontos de crescimento (Satchivi *et al.*, 2000; Cakmak *et al.*, 2009), o que pode explicar o rápido efeito obtido na redução de matéria seca acumulada em plantas de eucalipto expostas ao herbicida.

3.2 Avaliação fisiológica das mudas de eucalipto

Ao observar as variáveis fisiológicas, é possível notar que, embora os sintomas de intoxicação não tenham sido maximizados ao ponto de levar à morte das plantas, ainda assim se verifica dano importante aos sistemas fisiológicos das plantas.

A taxa fotossintética do eucalipto reduziu conforme o aumento das doses do herbicida. Na primeira avaliação fisiológica realizada aos 5 DAH, observa-se redução dessa variável, atingindo média próxima a 0 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Fig. 4 A). Aos 10 DAH, observa-se novamente o efeito das doses na redução da taxa fotossintética. Entretanto, mesmo nas maiores doses, já não há reduções tão severas a essa variável, sendo que, na dose de 1440 g ha⁻¹ de glyphosate, a taxa fotossintética manteve-se em torno de 6 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Fig. 4 B), o que demonstra a recuperação fisiológica das plantas nesse período. Ainda assim, fica evidente o dano causado pelo herbicida nas maiores doses, em comparação as plantas que não receberam aplicação do glyphosate.

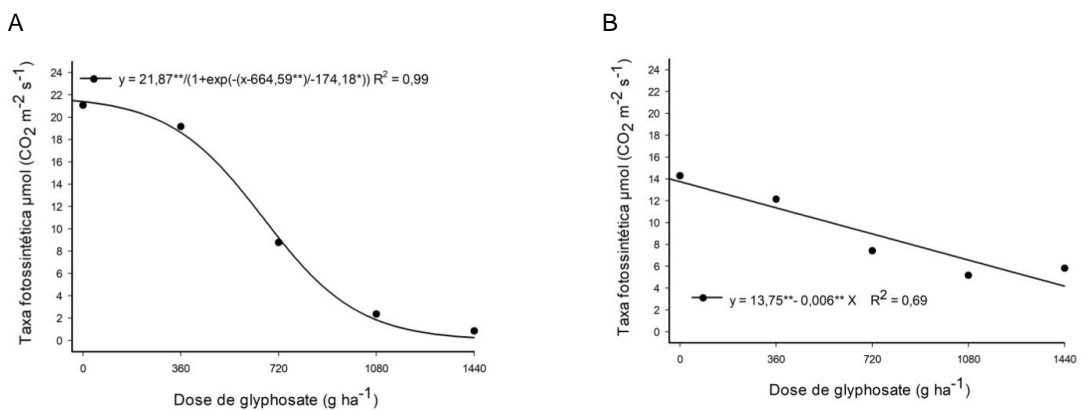


Fig.4. Taxa fotossintética em mudas de eucalipto após a aplicação de diferentes doses de glyphosate, aos 5 (A) e 10 dias após aplicação do herbicida (B). Significativo pelo teste t em 0,05 (*) e 0,01 (**)

O glyphosate bloqueia a via do shiquimato, como um inibidor da enzima EPSPS. Ao suprimir essa rota metabólica, não ocorre a biossíntese de metabólitos importantes, incluindo compostos relacionados à fotossíntese, como as quinonas (Dewick, 1995). O glyphosate pode também causar danos secundários, que comprometem atividades fundamentais no tecido vegetal (Gomes *et al.*, 2016).

Embora o comprometimento fisiológico não seja facilmente identificado ou mesmo levado em consideração em condições de campo (Barros *et al.*, 2014), este pode significar sérios prejuízos, com reflexos no desenvolvimento e no crescimento das plantas. Para a condutância estomática, observou-se implicação similar nos dois períodos de avaliação, com redução da condutância estomática em função do aumento das doses do herbicida (Fig. 5). Essa redução do fluxo de gases na planta interfere diretamente na produção de fotoassimilados e em outras funções fisiológicas e vitais do metabolismo celular das plantas.

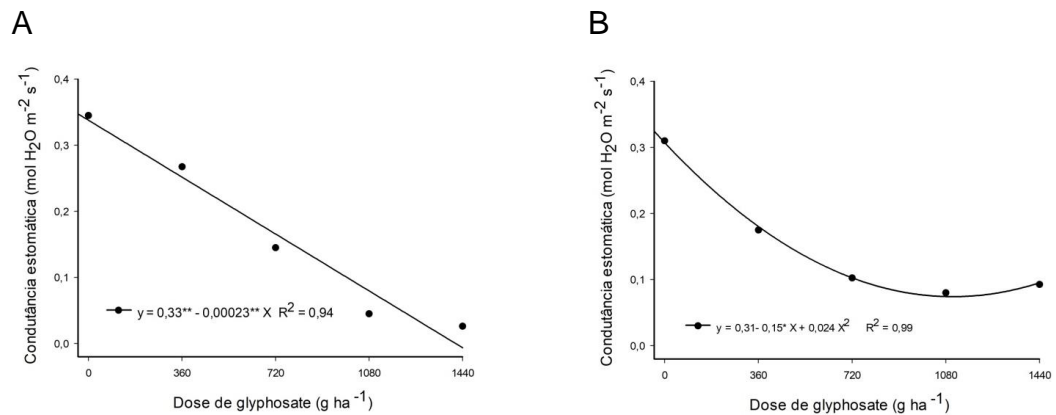


Fig. 5. Condutância estomática em mudas de eucalipto após a aplicação de diferentes doses de glyphosate, aos 5 (A) e 10 (B) dias após aplicação do herbicida. Significativo pelo teste t em 0,05 (*) e 0,01 (**)

A aplicação do glyphosate nas plantas inibe a expressão da enzima EPSPs. Essa enzima está envolvida na síntese dos aminoácidos aromáticos (Shilo *et al.*, 2017). Entretanto, indiretamente, o glyphosate afeta a fisiologia da planta hospedeira com o fechamento estomático e, por consequência, causa reduções no fluxo de gases e fotossíntese (Cerveira *et al.*, 2020).

Na avaliação aos 5 DAH, nota-se redução expressiva da taxa transpiratória em função do aumento das doses (Fig. 6 A), efeito similar ao encontrado aos 10 DAH (Fig. 6 B). A taxa transpiratória, além de indicar a perda de água das plantas para o ambiente, é um indicativo da atividade fisiológica no tecido vegetal.

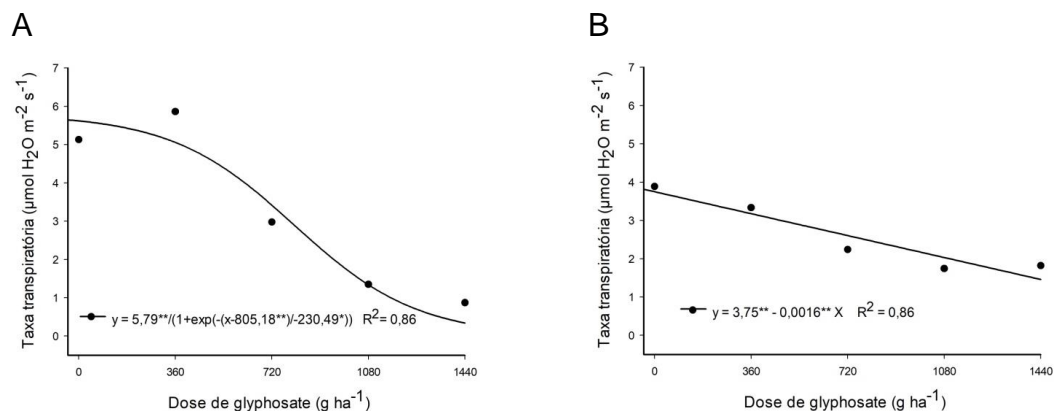


Fig. 6. Taxa transpiratória em mudas de eucalipto após a aplicação de diferentes doses de glyphosate, aos 5 (A) e 10 dias após aplicação do herbicida (B). Significativo pelo teste t em 0,05 (*) e 0,01 (**)

As plantas em condições de metabolismo acelerado tendem a produzir mais fotoassimilados e, por consequência, transpirar mais, pela necessidade de manter os estômatos abertos para a assimilação de CO_2 ; porém, em condições de estresse, o efeito pode ser inverso (Silva *et al.*, 2020). Como o glyphosate pode desencadear indiretamente redução no fluxo de gases na célula e diminuição da atividade metabólica, ocorre também redução na perda de água para o ambiente.

A dinâmica de abertura e fechamento dos estômatos influencia na taxa transpiratória: quanto menor a abertura do estômato, maior será a resistência à perda de água. A condutância estomática regula então o fluxo de água e o CO_2 no tecido vegetal (Taiz e Zeiger, 2004). A redução da transpiração pode estar relacionada com diminuição na disponibilidade hídrica. Como essa condição foi mantida

constante, atribui-se a menor taxa transpiratória à ação indireta do glyphosate nos processos de regulação estomática.

O aumento das doses de glyphosate proporcionou aumento na concentração do carbono na câmara subestomática aos 5 DAH (Fig. 7 A). Tal fato indica o comprometimento fisiológico causado pelo herbicida, que acarretou tanto a redução da taxa fotossintética quanto o aumento da concentração de carbono na câmara subestomática. Entretanto, aos 10 DAH, não houve efeito significativo quanto à concentração interna de carbono, o que indica uma recuperação da planta e o restabelecimento do aparato fisiológico.

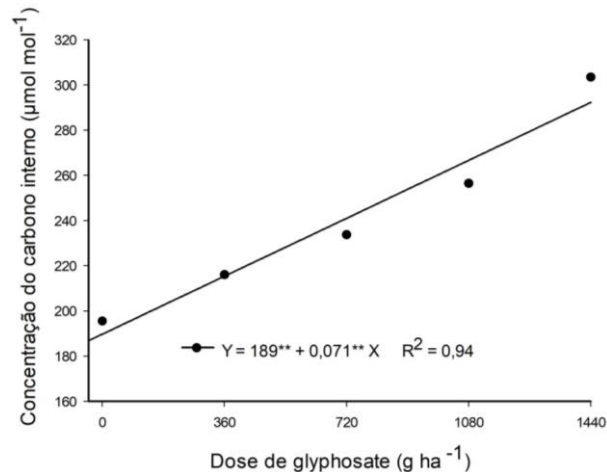


Fig. 7. Concentração interna de carbono em mudas de eucalipto após a aplicação de diferentes doses de glyphosate aos 5 dias após aplicação do herbicida. Significativo pelo teste t em 0,05 (*) e 0,01 (**)

A concentração interna de carbono na câmara subestomática está relacionada com o carbono gasto para a produção de fotoassimilados, visto que, ao ser incorporado pelo processo de carboxilação, ocorre redução no carbono da câmara subestomática. Esse processo de carboxilação pode limitar-se pela própria disponibilidade de CO₂ ou atividade enzimática (Larcher, 2000).

3.3 Exsudação radicular do glyphosate e AMPA em mudas de eucalipto

Foi quantificada a presença de glyphosate na solução de cultivo, quando da aplicação na parte aérea de 720, 1080 e 1440 g ha⁻¹ do herbicida (Fig. 8); entretanto, não foi possível detectar a presença de AMPA. Embora tenha sido possível identificar a exsudação radicular em mudas, a concentração encontrada não atinge o limite máximo de resíduos (700 µg L⁻¹) definidos pela Legislação dos Estados Unidos para amostras de água (Usepa, 2011).

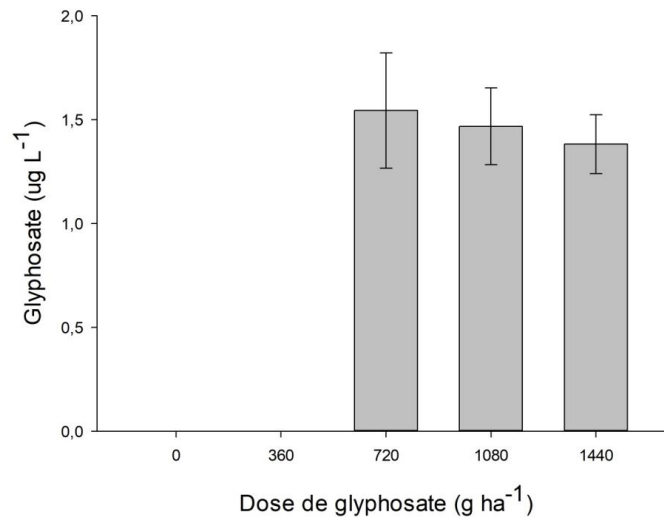


Fig. 8. Concentração de glyphosate em solução analisada após cultivo de mudas de eucalipto tratadas com doses do herbicida. Barras = erro padrão da média

Em estudo realizado por Machado *et al.* (2009), verificou-se a exsudação radicular em clones de eucalipto e que 2% do produto aplicado é exsudado pelo sistema radicular das plantas. De forma adicional, Feng *et al.* (2003) demonstraram que, em *Abutilon theophrasti*, 45% do glyphosate absorvido foi translocado para as raízes.

O fato de se obterem baixas concentrações do composto pode relacionar-se com o porte da planta, por se tratar de mudas com pouca área foliar para captação do herbicida, assim como um sistema radicular pouco desenvolvido. Porém, a identificação do processo de exsudação radicular pode indicar que, em indivíduos de maior porte plantados em campo, onde há pleno desenvolvimento do sistema radicular, inclusive em profundidade, haja também maior possibilidade de ocorrência da exsudação.

O eucalipto na fase adulta pode desenvolver suas raízes a camadas profundas do solo. Essas camadas possuem menores atividades microbiana e enzimática e menor disponibilidade de nutrientes (Liu *et al.*, 2021), fato que pode proporcionar a liberação do glyphosate em uma região mais próxima ao lençol freático, com menor taxa de degradação e sorção da molécula, resultando em maiores impactos ambientais.

Como observado nas análises fisiológicas, no período inicial após a aplicação do glyphosate, as plantas submetidas às maiores doses sofreram maior estresse. Isso pode ser percebido nas reduções da taxa fotossintética e da condutância estomática (Fig. 4 e 5). Esse estresse pode reduzir a translocação de herbicidas no tecido vegetal (Singh *et al.*, 2020), fenômeno esse que pode estar relacionado a não diferença de exsudação radicular por parte das mudas expostas às três maiores doses do herbicida.

3.4 Biensaio com plantas de abóbora

Quanto ao bioensaio, não se verificou sintoma visual de intoxicação, nem mesmo efeito sobre a massa seca da parte aérea das plantas de abóbora que foram cultivadas com a solução das mudas de eucalipto tratadas com glyphosate. Entretanto, neste estudo, observou-se que a massa seca da raiz aumentou de forma linear nas plantas cultivadas na água com resíduo das maiores doses de glyphosate.

Houve, portanto, efeito estimulatório do herbicida glyphosate exsudado na solução nutritiva pelas plantas de eucalipto para o crescimento radicular da abóbora (Fig. 9).

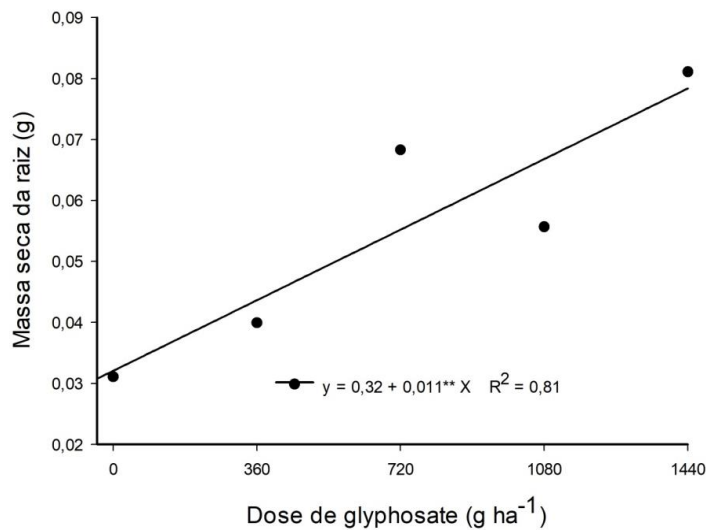


Fig. 9. Massa seca da raiz de abóbora mantida com o sistema radicular imerso em água anteriormente usada no cultivo de mudas de eucalipto tratado com doses de glyphosate

Ao analisar a influência da exsudação radicular de glyphosate por *Brachiaria decumbens* e os efeitos sobre mudas de eucalipto, Tuffi Santos *et al.* (2005) observaram que a quantidade exsudada do herbicida na solução não é suficiente para causar intoxicação nas mudas da espécie florestal.

Alguns herbicidas, quando entram em contato com tecido vegetal em baixa concentração, podem exercer função inversa e promover o crescimento e desenvolvimento das plantas (Brito *et al.*, 2018; Duke, 2020). Esse efeito é chamado de hormese e está relacionado ao mecanismo de resposta das plantas a compostos presentes no produto, porém em concentrações não letais, o que pode resultar em ganhos para as espécies, fenômeno já comprovado para o glyphosate (Brito *et al.*, 2018). Estima-se que os ganhos em crescimento na cultura ocorrem na faixa entre 20 e 30% e, em alguns casos, até superiores a esses valores (Duke, 2020). Ressalta-se que, na água utilizada para o cultivo do bioensaio, não havia uso de fertilizantes, sendo a única diferença entre os tratamentos a exsudação radicular de compostos químicos.

4 Conclusões

Os resultados confirmam a exsudação radicular em mudas de eucalipto. As concentrações do glyphosate foram identificadas e quantificadas entre 1,47 e 1,54 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Mesmo as baixas concentrações de glyphosate exsudado são capazes de estimular o desenvolvimento radicular da abóbora usada como planta bioindicadora, apesar de não gerar injúrias morfológicas visíveis à vista desarmada.

A aplicação de glyphosate em mudas de eucalipto reduz sua atividade fisiológica. Porém, 10 dias após a aplicação, já é possível observar uma recuperação fisiológica das plantas.

Referências

- Barros, R.E., Tuffi Santos, L.D., Cruz, L.R., Faria, R.M., Costa, C.A., Felix, R.C., 2014. Resposta fisiológica de espécies de eucalipto cultivadas em solo tratado com herbicidas mimetizadores de auxinas. *Planta Daninha* 32, 629–638. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582014000300019>.
- Brito, I.P., Tropaldi, L., Carbonari, C.A., Velini, E.D., 2018. Efeitos hormonais do glifosato em plantas: Glyphosate hormesis. *Pest. Manag. Sci.* 74, 1064-1070. <https://doi.org/10.1002/ps.4523>.
- Burrows, G.E., 2013. Buds, bushfires and resprouting in the *eucalypts*. *Aust. J. Bot.* 61, 331. <https://doi.org/10.1071/BT13072>.
- Cakmak, I., Yazici, A., Tutus, Y., Ozturk, L., 2009. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. *Europ. Journ. of Agron.*, 31, 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.07.001>.
- Carpejani, M.S., Oliveira Jr., R.S., 2013. Manejo químico de capim-amargoso resistente a glyphosate na pré-semeadura da soja. *Revista Campo Digital* 8, 26-33. <http://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/campodigital/article/view/1563>.
- Castro, E.B., Carbonari, C.A., Velini, E.D., Belapart, D, Gomes, G.L.G.C., Ben, R., 2016. Absorção, translocação e efeitos metabólicos do glifosato em plantas de eucalipto. *Sci. Forestalis* 44,719-727. <https://doi.org/10.18671/scifor.v44n111.18>.
- Cerveira Junior, W.R., Costa, Y.K.S. da, Carbonari, C.A., Duke, S.O., Alves, P.L. da C.A., Carvalho, L.B. de, 2020. Growth, morphological, metabolic and photosynthetic responses of clones of *eucalyptus* to glyphosate. *For. Ecol. and Manag.* 470–471, 118218. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118218>.
- Clarke, P.J., Lawes, M.J., Midgley, J.J., Lamont, B.B., Ojeda, F., Burrows, G.E., Enright, N.J., Knox, K.J.E., 2013. Resprouting as a key functional trait: how buds, protection and resources drive persistence after fire. *New. Phytol.* 197,19-35. <https://doi.org/10.1111/nph.12001>.
- Dewick, P.M., 1995. The biosynthesis of shikimate metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 12, 101-133. <https://doi.org/10.1039/np9951200101>.
- Duke, S.O. Glyphosate: environmental fate and impact, 2020. *Weed Sci.* 68, 201–207. <https://doi.org/10.1017/wsc.2019.28>.
- Feng, P.C.C., Chiu, T., Douglas Sammons, R., 2003. Glyphosate efficacy is contributed by its tissue concentration and sensitivity in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Pestic. Biochem. and Physiol.* 77, 83-91. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2003.08.005>.
- Ferraz Filho, A.C., Scolforo, J.R.S, Mola-Yudego, B., 2014. The coppice-with-standards silvicultural system as applied to Eucalyptus plantations — A review. *J. of For. Res.* 25, 237–248. <https://doi.org/10.1007/s11676-014-0455-0>.
- Gomes, M.P., Le Manac'h, S.G., Maccario, S., Labrecque, M., Lucotte, M., Juneau, P., 2016. Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants. *Pestic. Biochem. and Physiol.* 130, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.11.010>.
- Hearon, S.E., Wang, M., Mc Donald, T.J., Phillips, T.D., 2021. Decreased bioavailability of aminomethylphosphonic acid (AMPA) in genetically modified corn with activated carbon or calcium montmorillonite clay inclusion in soil. *J. of Environ. Sci.* 100, 131-143. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.06.029>.

- Hoagland, D.R., Arnon, D. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. CA Agric. Exp. Stn., Circular 347. https://openlibrary.org/books/OL25240089M/The_water-culture_method_for_growing_plants_without_soil.
- Indústria Brasileira de árvores - IBA, 2020. Anuário Estatístico 2020 base 2019. Disponível em: <http://www.iba.org/>.
- Larcher, W. (Ed), 2000. Ecofisiologia vegetal. Rima Artes e Textos, São Paulo, 531 p.
- Little, K.M., Eccles, N.S., 2000. Control of *Eucalyptus grandis* cut-stumps de single-stem origin. S. Afr. For. J. 187, 45–49. <https://doi.org/10.1080/10295925.2000.9631255>.
- Liu, R., Zhang, Y., Hu, X.-F., Wan, S., Wang, H., Liang, C., Chen, F.-S., 2021. Litter manipulation effects on microbial communities and enzymatic activities vary with soil depth in a subtropical Chinese fir plantation. For. Ecol. and Manag. 480, 118641. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118641>
- Machado, A.F.L., Ferreira, L.R., Santos, L.D.T., Santos, J.B., Ferreira, F.A., Viana, R.G., 2009. Absorção, translocação e exsudação radicular de glifosato em clones de eucalipto: clones. Planta Daninha 27, 549–554. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582009000300016>.
- Machado, M.S., Ferreira, L.R., Pereira, G.A.M., Gonçalves, V.A., Paixão, G.P., 2017. Protective effect on *eucalyptus* plants and signal grass control with a tank mixture of glyphosate and liquid fertilizer. Planta Daninha 35, 1-8. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582017350100079>.
- Mello, S.L. de M., Gonçalves, J.L. de M., Gava, J.L., 2007. Pre- and post-harvest fine root growth in *Eucalyptus grandis* stands installed in sandy and loamy soils. For. Ecol. and Manag. 246, 186–195. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.03.060>.
- R Core Team, 2019. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Romagnoli, I., Manzione, R.L., 2018. Mapeamento da vulnerabilidade e riscos de contaminação das águas subterrâneas na região do pontal do paranapanema (ugrhi-22) / groundwater vulnerability mapping and contamination risks at pontal do paranapanema region (ugrhi - 22). Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas 12, 3, 307–326. <https://doi.org/10.18011/bioeng2018v12n3p307-326>
- Satchivi, N.M., Wax, L.M., Stoller, E.W., Briskin, D.P., 2000. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. Weed Sci. 48, 675–679. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0675:AATOGI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0675:AATOGI]2.0.CO;2).
- Senem Su, Y., Ozturk, L., Cakmak, I., Budak, H., 2009. Turfgrass species response exposed to increasing rates of glyphosate application. Eur. J. of Agron. 31, 120-125. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.05.011>.
- Shilo, T., Rubin, B., Plakhine, D., Gal, S., Amir, R., Hacham, Y., Wolf, S., Eizenberg, H., 2017. Secondary Effects of Glyphosate Action in *Phelipanche aegyptiaca*: Inhibition of Solute Transport from the Host Plant to the Parasite. Front. Plant Sci. 8, 1-16 <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00255>.
- Silva, D.F., Cipriano, P.E., Souza, R.R. de, Siveia Júnior, M., Silva, R.F. da, Faquin, V., Silva, M.L. de S., Guilherme, L.R.G., 2020. Anatomical and physiological characteristics of *Raphanus sativus* L. submitted to different selenium sources and forms application. Sci. Hortic. 260, 108839. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108839>.
- Singh, S., Kumar, V., Datta, S., Wani, A.B., Dhanjal, D.S., Romero, R., Singh, J., 2020. Glyphosate uptake, translocation, resistance emergence in crops, analytical monitoring, toxicity and degradation: a review. Environ. Chem. Lett. 18, 663–702. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-00969-z>
- Taiz, L., Zeiger, E., 2004. Fisiologia vegetal. 3. ed. Artmed, Porto Alegre, 719 p.

Tiago, J.P.F., Sicupira, L.C., Barros, R.E., Pinho, G.P. de, Silvério, F.O., 2020. Simultaneous and direct determination of glyphosate and AMPA in water samples from the hydroponic cultivation of eucalyptus seedlings using HPLC-ICP-MS/MS. *J. of Environ. Sci. and Health, Part B* 55, 558–565. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1733369>.

Tuffi Santos, L.D., Ferreira, F.A., Barros, N.F., Siqueira, C.H., Santos, I.C., Machado, A.F.L., 2005. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. *Planta Daninha* 23, 143–152. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582005000100017>.

USEPA. United State Environmental Protection Agency. Finalization of Guidance on Incorporation of Water Treatment Effects on Pesticide Removal and Transformations in Drinking Water Exposure Assessments. 2011. <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/finalization-guidance-incorporation-water-treatment>.

Viti, M.L., Alves, P.A.T., Mendes, K.F., Pimpinato, R.F., Guimarães, A.C.D., Tornisielo, V.L., 2019. Translocation and Root Exudation of Glyphosate by *Urochloa brizantha* and its Transport on Sugarcane and Citrus Seedlings. *Planta Daninha* 37, e019183334. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582019370100030>.

4.2 Artigo 2 - Glyphosate x *Digitaria insularis*: aspectos fisiológicos e exsudação radicular do herbicida em função do ambiente de cultivo

Este artigo foi elaborado conforme normas da Revista Saudi Journal of Biological Sciences.

Glyphosate x *Digitaria insularis*: aspectos fisiológicos e exsudação radicular do herbicida em função do ambiente de cultivo

RESUMO

A exsudação radicular pode promover menor suscetibilidade de algumas espécies aos herbicidas, fato ainda pouco estudado em *Digitaria insularis*, uma das principais plantas daninhas de culturas anuais no mundo. Dessa forma buscou-se identificar se existe ocorrência de exsudação radicular de glyphosate em *D. insularis* e a influência deste herbicida em parâmetros fisiológicos e de controle desta espécie quando cultivada em diferentes condições de luminosidade. O experimento foi conduzido em sistema hidropônico, onde foram cultivadas plantas de *D. insularis*. O esquema experimental foi 2 x 5, sendo o primeiro fator representado pelos ambientes de pleno sol e 83% de sombreamento artificial e o segundo fator representado pelas doses 0, 370, 740, 1110 e 1480 g ha⁻¹ de glyphosate. O acréscimo nas doses de glyphosate promoveu aumento na intoxicação e redução na biomassa da parte aérea e das raízes de *D. insularis* nos dois ambientes, porém as plantas cultivadas em sombreamento demonstraram maior intoxicação na fase inicial. O aumento das doses de glyphosate reduziu a eficiência fotoquímica do fotossistema II (ΦPSII) e a taxa de transporte de elétrons (ETR) independente do ambiente de cultivo. A restrição luminosa aumentou a ΦPSII em *D. insularis* aos 3 dias após aplicação do herbicida DAH, já aos 6 DAH as plantas sombreadas apresentaram redução mais acentuada da ΦPSII. O cultivo a pleno sol proporcionou maior ETR nos dois períodos avaliados. A taxa fotossintética, condutância estomática, taxa transpiratória e eficiência no uso da água de *D. insularis* foram reduzidas de acordo com aumento das doses do herbicida. Ao avaliar a exsudação radicular não foi detectada a presença de glyphosate ou AMPA independente da dose de glyphosate ou da disponibilidade de luz no ambiente. *D. insularis* não apresentou exsudação radicular do glyphosate e o sombreamento não influencia nesse processo.

Palavras-chave: Taxa fotossintética. Taxa de transporte de elétrons. Exsudação radicular. Capim-amargoso.

**Glyphosate x *Digitaria insularis*: physiological aspects and root exudation of the herbicide
as a function of the cultivation environment**

ABSTRACT

The root exudation can promote lesser susceptibility of some species to herbicides, a fact that is still little studied in *Digitaria insularis*, one of the main weeds in annual crops. Thus, we sought to identify whether there is the occurrence of root exudation of glyphosate in *D. insularis* and the influence of this herbicide on physiological and control parameters of this species when cultivated under different light conditions. The experiment was carried out in a hydroponic system, where *D. insularis* plants were grown. The experimental design was 2 x 5, the first factor being represented by full sun environments and 83% of artificial shading and the second factor being represented by doses 0, 370, 740, 1110 and 1480 g ha⁻¹ of glyphosate. The increase in the doses of glyphosate promoted an increase in intoxication and a reduction in the biomass of the aerial part and roots of *D. insularis* in both environments, however, as plants grown in shade, they showed greater intoxication in the initial phase. Increasing glyphosate doses reduces photochemical efficiency of photosystem II (Φ PSII) and electron transport rate (ETR) regardless of the culture environment. Light reduction increased Φ PSII in *D. insularis* at 3 days after application of the herbicide DAH, whereas at 6 DAH the shaded plants reduced the most marked reduction in Φ PSII. Cultivation and full sun provided the highest ETR in the two transitioned periods. The photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration rate and water use efficiency of *D. insularis* were reduced with increasing herbicide doses. When evaluating root exudation, the presence of glyphosate or AMPA was not detected regardless of glyphosate dose or light availability in the environment. *D. insularis* did not show root exudation of glyphosate and shading did not influence this process.

Keywords: Photosynthetic rate. Electron transport rate. Root exudation. Sourgrass.

1 Introdução

Digitaria insularis é uma das principais plantas daninhas no Brasil (Bianchi *et al.*, 2020), sendo encontrada na América tropical e subtropical e relatada como invasora em diferentes países (GBIF, 2021). Essa espécie pertence à família Poaceae e pode se reproduzir através da formação de rizoma ou via seminífera, o que dificulta ainda mais seu manejo (Zobiolo *et al.*, 2016). Quando em altas populações, a interferência de *D. insularis* pode reduzir a produtividade da soja em até 80% (Gazziero *et al.*, 2019). O manejo de *D. insularis* vem se tornando ainda mais difícil em função de grandes populações dessa espécie terem se tornado resistentes ao glyphosate (Soares *et al.*, 2020, Biachi *et al.*, 2020).

O glyphosate (N-(phosphonomethyl) glycine) é um dos princípios ativos mais utilizados para o manejo de *D. insularis*, principalmente em culturas transgênicas resistentes a esse composto (Lopez Ovejero *et al.*, 2017). O glyphosate apresenta baixa volatilidade, baixa toxicidade a mamíferos e à vida aquática, rápida sorção no solo pelas argilas (Hermansen *et al.*, 2020; Meftaul *et al.*, 2020), amplo espectro de ação (Romagnoli e Manzione, 2018) e baixo custo, sendo um dos princípios ativos mais utilizados no mundo (Silva *et al.*, 2020). Entretanto, o uso contínuo e repetido dessa molécula, principalmente com altas doses, aumenta a pressão de seleção com possibilidades de mudança na flora invasora e seleção de biótipos com resistência ao produto (Carpejani e Oliveira Jr, 2013). Dessa forma, o uso excessivo e indevido do glyphosate também pode gerar sérios problemas ambientais, com crescente relatos de detecção de resíduos no meio ambiente (Mac Loughlin *et al.*, 2017; Santos, 2013). Além da molécula de glyphosate, o ácido de aminometilfosfônico (AMPA), principal produto oriundo da degradação de glyphosate, em alguns casos pode ser considerado mais tóxico e persistente que o próprio herbicida (Hearon *et al.*, 2021).

Um dos problemas do uso do glyphosate é a necessidade de aplicação de altas doses do produto, principalmente quando da ocorrência de plantas daninhas com menor suscetibilidade ao herbicida, como é o caso da *Digitaria insularis* (Vivancos *et al.*, 2011; Rezende-Silva *et al.*, 2019). A ação do glyphosate sobre *D. insularis* ainda é pouco estudada, não sendo conhecido o processo de tolerância da espécie ao herbicida. Sabe-se que alguns indivíduos dessa espécie adquiriram resistência ao glyphosate por mecanismos relacionados à diminuição na afinidade da enzima alvo, além de sua maior atividade em comparação a plantas não resistentes da espécie (Galeano *et al.*, 2016; Soares *et al.*, 2020).

Na literatura, a menor ação do glyphosate sobre outras espécies é atribuída à restrição ou à baixa penetração na planta (Costa *et al.*, 2020; Hao *et al.*, 2019), baixa translocação (Mota *et al.*, 2020; Vazquez-Garcia *et al.*, 2020) e metabolismo da molécula (Ge *et al.*, 2010). O processo de exsudação radicular consiste na compartimentalização e eliminação de moléculas orgânicas e inorgânicas via raiz (GHANIZADEH; HARRINGTON, 2017). Essa eliminação via exsudação radicular também pode promover menor suscetibilidade de algumas espécies a herbicidas (Jugulam *et al.*, 2013, Rojano Delgado *et al.*, 2019), fato ainda não estudado em *D. insularis*. Tal fenômeno pode representar um risco de contaminação ambiental, uma vez que as moléculas podem ser liberadas em camadas profundas do solo.

Quando um herbicida entra em contato com a superfície vegetal, ocorre uma série de processos até que este atinja a organela alvo e possa levar a planta à morte. Esses processos envolvem a

dinâmica do herbicida na planta, ou seja, a penetração, a absorção, a translocação e o metabolismo, o que está intimamente ligado à sensibilidade da planta ao produto, fatores esses que podem ser influenciados também pelo próprio ambiente (Costa *et al.*, 2020). O sombreamento gerado pelo dossel das culturas e forrageiras ou das florestas ocasiona mudanças morfológicas e na estrutura foliar das plantas daninhas, como alongamento de caules, pecíolo, internódios, expansão do limbo foliar, redução da deposição de ceras na superfície foliar e mudança na angulação da folha (Gobbi *et al.*, 2009; Albuquerque *et al.*, 2016; Costa *et al.*, 2020). Essas alterações podem influenciar no contato dos produtos durante a aplicação, conseqüentemente na penetração e eficiência de controle. Com base nessas adaptações, é possível que o sombreamento exerça efeito na resposta de *D. insularis* quando tratada com glyphosate e nos mecanismos de tolerância dessa espécie.

Nesse cenário, torna-se importante conhecer a dinâmica do herbicida na planta e a influência do ambiente nesse processo, sobretudo quanto à exsudação radicular do glyphosate. Dessa forma, o intuito deste estudo é identificar se existe ocorrência de exsudação radicular de glyphosate em *D. insularis* e a influência desse herbicida em parâmetros fisiológicos e de controle desta espécie, quando cultivada em ambientes com diferentes intensidades luminosas.

2 Material e métodos

2.1 Condições experimentais

O experimento foi realizado em ambiente protegido localizado na longitude de 43°50'18.31"W, na latitude de 16°40'59.22"S e a 650 m de altitude. O clima da região é classificado, segundo Köppen, como Aw, tropical com inverno seco.

Sementes de *Digitaria insularis* foram coletadas a campo e cultivadas em bandejas de polietileno, com células contendo areia e esterco bovino na proporção de 3:1 e adubação com o formulado 4:30:10 de N:P:K na proporção de 1% do volume do substrato. Aos 16 dias após o plantio, essas mudas foram levadas a ambiente protegido, onde ainda permaneceram nas bandejas por 32 dias, sendo a metade cultivada sem restrição luminosa e a outra parte em ambiente com sombreamento artificial. Para obtenção do ambiente sombreado foi utilizado tela comercial de polipropileno, tipo sombrite, cor preta. A incidência de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) nos ambientes foi aferida utilizando-se o aparelho Y (II) meter (OPTI-SCIENCES, Hudson, USA), obtendo-se 83% de restrição luminosa no ambiente sombreado, conforme Tabela 1.

Após esse período, as mudas tiveram seu sistema radicular lavado cuidadosamente, visando a retirar todo o substrato. Posteriormente à lavagem, as mudas foram transferidas para vasos plásticos com 3,0 dm³ de solução nutritiva, com tampas contendo duas perfurações, sendo uma central para a fixação das mudas, mantendo o sistema radicular submerso, e outra menor, destinada ao tubo de arejamento da solução. A Solução nutritiva utilizada foi de Hoagland modificada (Hoagland & Arnon, 1950), com pH da solução ajustado entre 5,5 e 6,0 com NaOH ou HCl a 0,2 mol L⁻¹.

Após a transferência das mudas para a solução nutritiva, essas continuaram mantidas nos respectivos ambientes a pleno sol ou de sombreamento. As temperaturas e umidades máximas e

mínimas do ar nos diferentes ambientes foram monitoradas diariamente e os valores médios do período experimental apresentados na Tabela 1.

Tab. 1. Temperaturas, umidades máximas e mínimas e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) nos ambientes a pleno sol e de 83% de sombreamento durante a condução do experimento

Ambiente	Temperatura		Umidade		PAR
	Máxima °C	Mínima °C	Máxima %	Mínima %	$\mu\text{mols m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Pleno sol	$36,5 \pm 0,33$	$13,4 \pm 0,35$	$96,1 \pm 0,60$	$15,7 \pm 0,84$	$635 \pm 47,9$
Sombra	$33,7 \pm 0,27$	$14,3 \pm 0,32$	$91,2 \pm 1,18$	$22,5 \pm 1,28$	$105 \pm 2,08$

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, e cada vaso foi considerado uma parcela experimental. O esquema experimental foi 2 x 5, sendo o primeiro fator representado pelos ambientes a pleno sol e de 83% de sombreamento e o segundo fator representado pelas doses 0, 1, 2, 3 e 4 L ha⁻¹ do produto comercial, correspondentes a 0, 370, 740, 1110 e 1480 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate (Fig. 1).

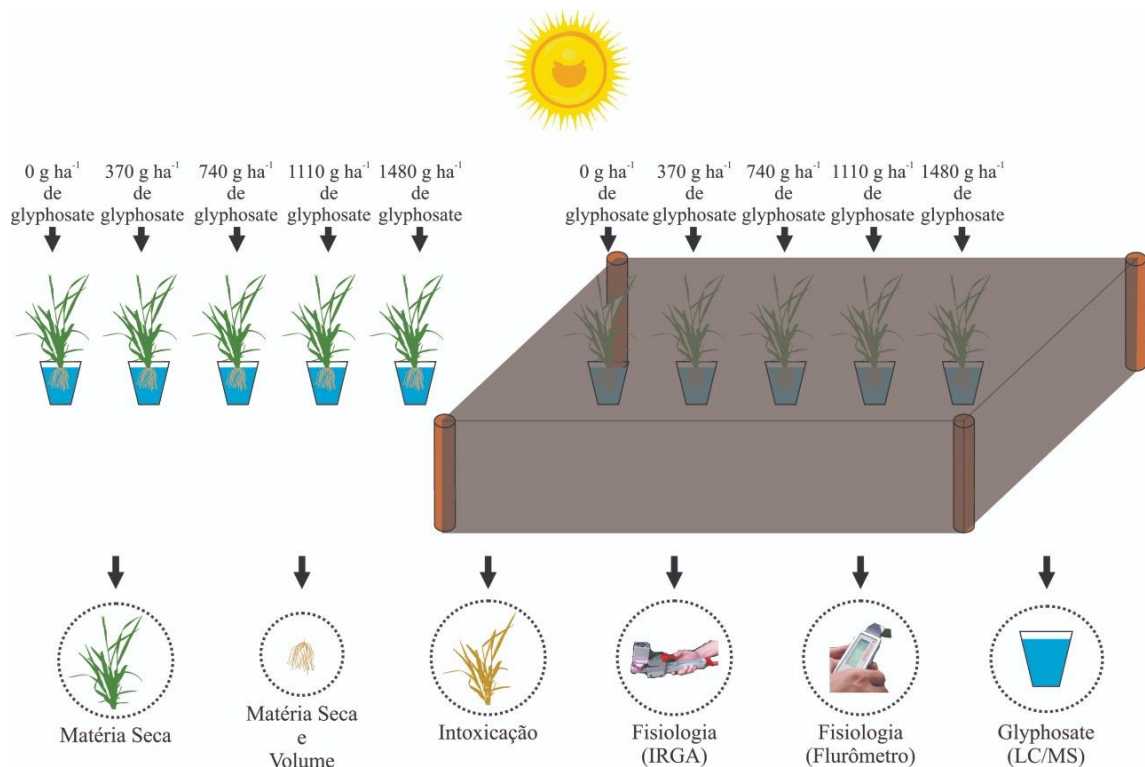


Fig.2. Representação esquemática da metodologia

Aos 29 dias após o início do cultivo no sistema hidropônico, foi realizada a aplicação do herbicida. Para isso, utilizou-se um pulverizador costal de precisão, propelido a gás carbônico, munido de barra com bicos tipo leque TT110.02, operando a 250 KPa de pressão e volume de calda correspondente a 163,7 L ha⁻¹. No momento da aplicação, os recipientes com a solução nutritiva e o sistema radicular foram totalmente protegidos com sacos plásticos, evitando assim o contato com a calda herbicida pulverizada com a solução. A partir dessa data, as mudas foram mantidas apenas em água deionizada e adubadas via foliar, para evitar interferência dos nutrientes nas análises químicas de exsudação radicular.

2.2 Análises de intoxicação e de trocas gasosas no eucalipto sob efeito do glyphosate

Foi realizada avaliação visual de intoxicação considerando-se a parte aérea, aos 12 dias após a aplicação do herbicida (DAH) glyphosate, adotando-se a escala de 0 a 100% para os sintomas de intoxicação, em que 0% é a inexistência de efeitos tóxicos provocados pelo herbicida e 100% a morte total dos tecidos vegetais (Ewrc, 1994).

A fisiologia das plantas foi avaliada na terceira folha totalmente expandida aos 5 e 10 DAH, no período da manhã, para se evitar o máximo possível as alterações climáticas. A determinação de taxa fotossintética ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática ao vapor de água ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa transpiratória ($\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração do carbono interno foi feita utilizando-se o analisador de gás no infravermelho (IRGA, model LI-6400xtr, LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA), que determina as trocas gasosas foliares a partir das variações de CO_2 e da umidade relativa no interior da câmara do aparelho.

2.3 Análise de exsudação radicular de glyphosate e AMPA

Aos 6 DAH, coletou-se 100 mL da água, com o intuito de analisar a exsudação radicular de glyphosate e AMPA por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao ICP-MS/MS, segundo metodologia de Tiago *et al.* (2020) (Fig.1).

Para determinação química, utilizaram-se padrões analíticos de glyphosate (99,2 % m/m) e AMPA (99,0 % m/m) da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Soluções estoque de glyphosate e AMPA foram preparadas na concentração de 500 mg L^{-1} em água ultrapura, obtida pelo sistema Milli-Q (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha) e soluções de trabalho nas concentrações de 25 mg L^{-1} . Além dos padrões utilizaram-se os reagentes acetato de amônio (65% m/m), metanol (grau HPLC), hidróxido de tetrabutilamônio e solução de ácido acético (49% m/v), todos obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA), ácido clorídrico P.A, da Anidrol (Diadema, São Paulo) e Hidróxido de sódio P.A, da Dinâmica (Indaiatuba, São Paulo).

Na detecção, foi utilizado um sistema hifenado, composto por um módulo de cromatografia líquida de alta eficiência (modelo 1260 Infinity Series, Agilent Technologies, Alemanha) e de um espectrômetro de massas tripo quadrupolo com plasma indutivamente acoplado modelo 8800® (Agilent Technologies, Hachioji, Japão). Para a separação de glyphosate e AMPA, utilizou-se uma coluna analítica ZORBAX SB-C8 (4.6 x 150 mm, 5 μm , Agilent Technologies, CA, Estados Unidos).

2.4 Método de extração

Utilizou-se uma coluna de vidro (20 cm X 1,5 cm de diâmetro interno), empacotada com 1 g de resina trocadora de ânions. Em seguida, a resina foi condicionada com 10,0 mL de água ultrapura, a uma vazão de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$, para a retirada do excesso de íons cloreto. Adicionou-se solução de NaOH a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ até em 100 mL de amostra, até obter pH 10,5 e, posteriormente, a solução obtida foi eluída em coluna, contendo a resina, a uma vazão de $0,5 \text{ mL min}^{-1}$. Os analitos retidos na resina foram eluídos

com 10 mL de água ultrapura seguidos de 30,0 mL de solução de HCl a 6,0 mol L⁻¹ com vazão de 0,5 mL min⁻¹. Logo após o eluato coletado foi concentrado sob aquecimento em banho-maria com glicerina (60 °C), sob fluxo de ar contínuo. O extrato concentrado foi ressuspensionado em 400 µL com a fase móvel e injetado no HPLC-ICP-MS/MS.

2.5 Especificação do fósforo na análise de glyphosate e AMPA por HPLC-ICP-MS/MS

Foram submetidos a análises soluções padrão do herbicida glyphosate e do AMPA, dos extratos brancos e fortificados obtidos a partir da extração das amostras de água. Para a detecção e a quantificação dos analitos, foi monitorado o fósforo presente nas moléculas desses compostos e calculada a concentração final de glyphosate ou AMPA.

As condições de análise adotadas consistiram em coluna analítica ZORBAX SB-C8 (4,6 x 150 mm, 5 µm), volume de injeção de 50 µL, fase móvel composta de solução de 50 mM ácido acético/acetato de amônio: 5 mM tetrabutilamônio: 1% metanol com pH = 4,7, fluxo de 1,0 mL min⁻¹ com eluição isocrática. As condições de operação do ICP-MS/MS estão apresentadas na Tabela 2.

Tab. 2. Condições de operação otimizadas do ICP-MS/MS

Parâmetros ICP-MS/MS	
Radiofrequência	1600 W
Fluxo do gás de plasma	15 L min ⁻¹
Fluxo do gás carreador	1,0 L min ⁻¹
Fluxo do gás de Makeup	2,0 L min ⁻¹
Profundidade de amostragem	3 mm
Nebulizador	Concêntrico
Câmara de nebulização	Duplo-passo
Cones de amostragem e <i>skimmer</i>	Níquel
Massas monitoradas	Q1 (m/z ³¹ P) e Q2 (m/z 47 ³¹ P ¹⁶ O ⁺)
Dwell time	0,1 s por isótopo
Sistema de reação octopolar	O ₂
Fluxo do gás de reação	1,5 L min ⁻¹

2.6 Análises fisiológicas

Parâmetros da fisiologia das plantas foram avaliados no terço médio, em folha totalmente expandida de cada planta: a determinação da taxa fotossintética (µmol CO₂ m⁻² s⁻¹), a condutância estomática ao vapor de água (mol H₂O m⁻² s⁻¹), a taxa transpiratória (µmol H₂O m⁻² s⁻¹), a eficiência do uso da água (mol CO₂ mol H₂O⁻¹) e a concentração do carbono interno e externo. Essa análise foi realizada utilizando-se o analisador de gás no infravermelho (IRGA, model LI-6400xtr, LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA). A avaliação ocorreu aos 4 DAH, no período da manhã, entre 7 e 11 horas, para se evitar grandes oscilações de temperatura durante a avaliação.

Foram também realizadas avaliações com o fluorômetro aos 3 e 6 DAH. Foram analisadas a eficiência fotoquímica do fotossistema II (Φ PSII) e a taxa de transporte de elétrons (ETR), com auxílio do aparelho fluorômetro Y (II) meter (OPTI-SCIENCES, Hudson, USA). As avaliações foram feitas em

três folhas do terço médio das plantas, que resultam em uma média final para reduzir as variações pontuais do ambiente. O período de avaliação foi pela manhã, entre 8 e 11 horas.

2.7 Análises de controle e biomassa

Foram realizadas avaliações visuais de controle aos 7 e 25 dias após a aplicação do herbicida (DAH), considerando-se toda a muda, adotando-se a escala de 0 a 100% para os sintomas de intoxicação, em que 0% é a inexistência de efeitos tóxicos provocados pelo herbicida e 100% a morte total dos tecidos vegetais. Aos 25 DAH, as plantas foram retiradas, separadas em raiz e parte aérea, levadas à estufa de ventilação forçada a 65°C, até atingir peso constante para determinação da massa seca.

2.8 Análises estatísticas

Os dados de controle foram analisados de forma descritiva. Já os das demais variáveis foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de significância e o efeito das doses do herbicida foi examinado por meio de análise de regressão, ajustando-se os modelos adequados para representá-los em função do seu comportamento biológico, da significância dos coeficientes do modelo e do valor do coeficiente de determinação (R^2). As análises estatísticas do trabalho foram realizadas por meio do software R (R CORE TEAM, 2019).

3 Resultados

3.1 Exsudação radicular do glyphosate e do AMPA por *Digitaria insularis*

Neste estudo, não se observou exsudação radicular do glyphosate ou AMPA em *D. insularis* (Fig. 2). Os cromatogramas representam o extrato coletado da solução de cultivo em plantas a pleno sol tratadas na dose de 1480 g ha⁻¹ de glyphosate (Fig. 2 a), e sombreadas tratadas na mesma dose (Fig. 2 c). Comparado a uma solução padrão fortificada com glyphosate e AMPA (70 ppb) (Fig. 2 b), não é possível verificar a existência dos picos que representam os compostos AMPA e glyphosate em nenhum dos ambientes, mesmo na maior dose testada.

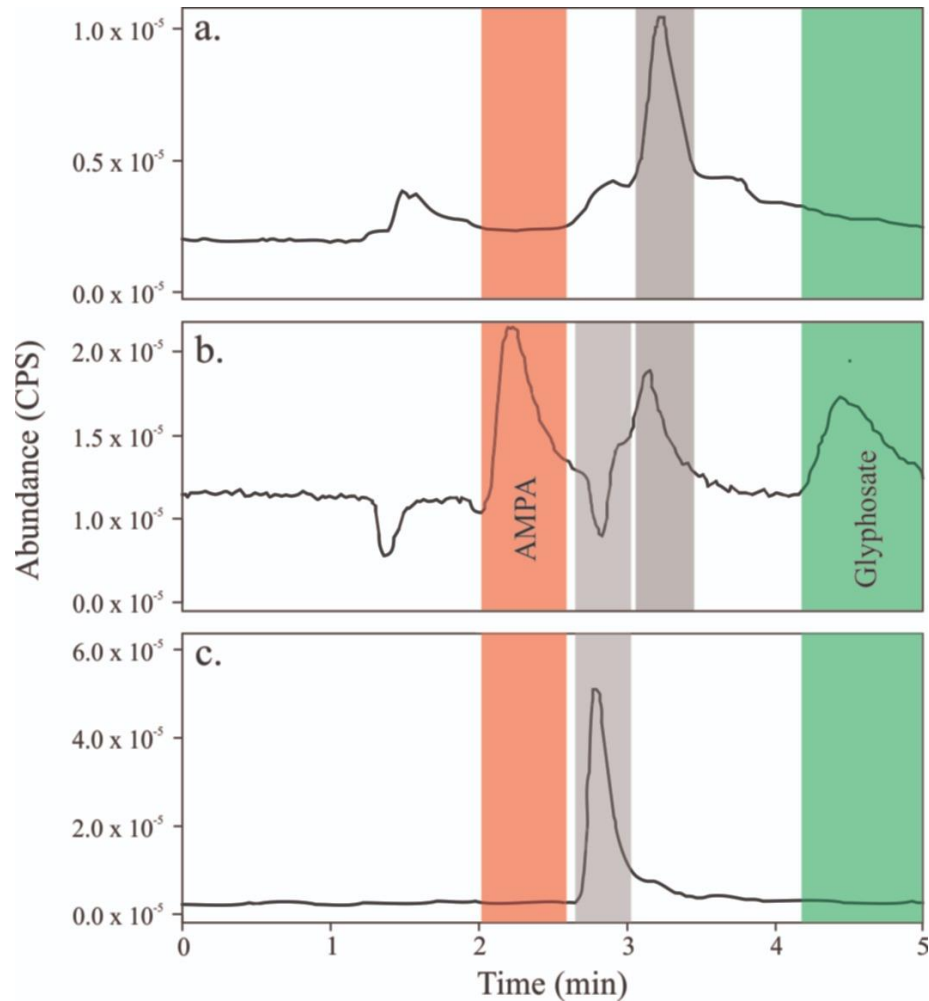


Fig. 2. Cromatogramas da amostra tratada com 1480 g ha^{-1} de glyphosate em pleno sol (a), extrato da matriz fortificada com glyphosate e AMPA 70 ppb (b) e amostras tratadas com 1480 g ha^{-1} de glyphosate em sombreamento (c).

3.2 Fisiologia de *D. insularis*

A restrição luminosa aumentou a ΦPSII em *D. insularis* aos 3 DAH ($p \leq 0,05$) com média de 0,43 e 0,21 respectivamente em sombreamento e a pleno sol. O aumento das doses reduziu a ΦPSII independentemente do ambiente de cultivo (Fig. 3a). Porém, aos 6 DAH, ocorreu interação entre os fatores, em que as plantas sombreadas e não tratadas com o herbicida também mantiveram maior média de ΦPSII . Com a aplicação do glyphosate, as plantas de ambos os ambientes apresentaram comportamento semelhante, com redução ainda mais acentuada nas maiores doses (Fig. 3 b).

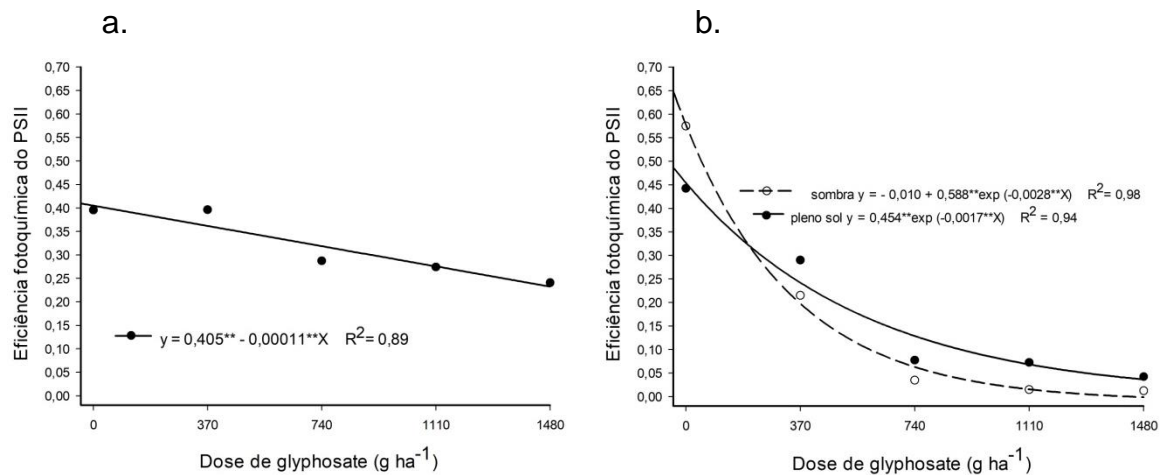


Fig. 3. Eficiência fotoquímica do fotossistema II em *D. insularis* após a aplicação de diferentes doses de glyphosate, aos 3 (a) e 6 dias após aplicação do herbicida (b). Significativo pelo teste t em 0,05 (*) e 0,01 (**)

As plantas cultivadas a pleno sol apresentaram maior ETR nos dois períodos avaliados ($p \leq 0,05$), ao 3 DAH com média de 24,78 e 75,01 e aos 6 DAH com 5,68 e 8,84, respectivamente em sombreamento e a pleno sol. O aumento nas doses de glyphosate reduziu a ETR em ambos os ambientes de cultivo: aos 3 DAH, de forma linear conforme o aumento das doses; e aos 6 DAH, com efeito quadrático, com redução drástica no transporte de elétrons nas maiores doses (Fig. 4).

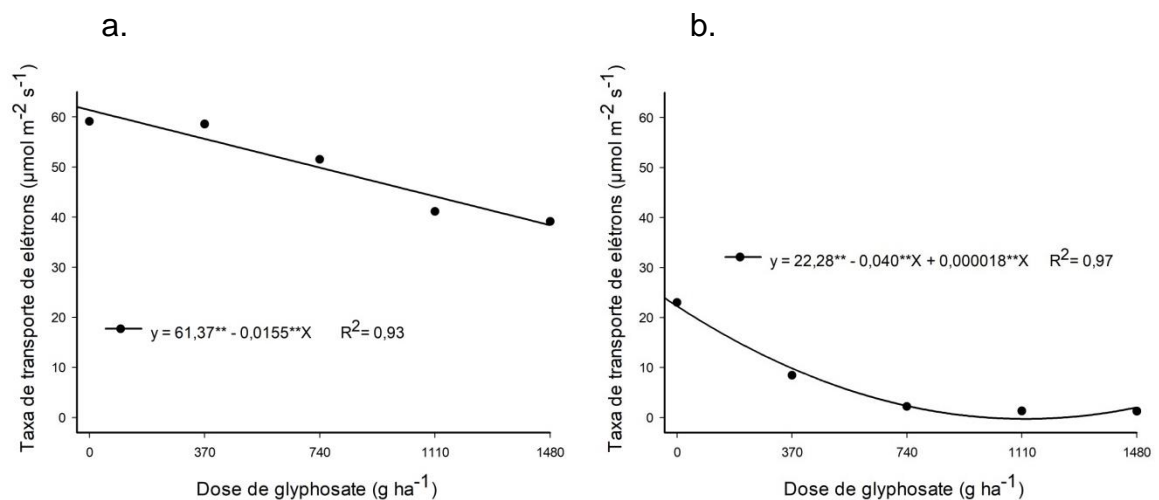


Fig. 4. Taxa de transporte de elétrons em *D. insularis* após a aplicação de diferentes doses de glyphosate, aos 3 (a) e 6 dias após aplicação do herbicida (b). Significativo pelo teste t em 0,05 (*) e 0,01 (**).

A taxa fotossintética de *D. insularis* reduziu conforme o aumento das doses (Fig. 5 a). Assim, evidencia-se o dano causado nas maiores concentrações do produto em comparação às plantas que não receberam aplicação do glyphosate (Fig. 5 a). Para a condutância estomática, observou-se redução em função do aumento das doses do herbicida (Fig. 5 b). As testemunhas em sombreamento mantiveram médias de condutância estomática elevadas; porém, a partir da menor dose do glyphosate, o comportamento entre os ambientes é semelhante (Fig. 5 b).

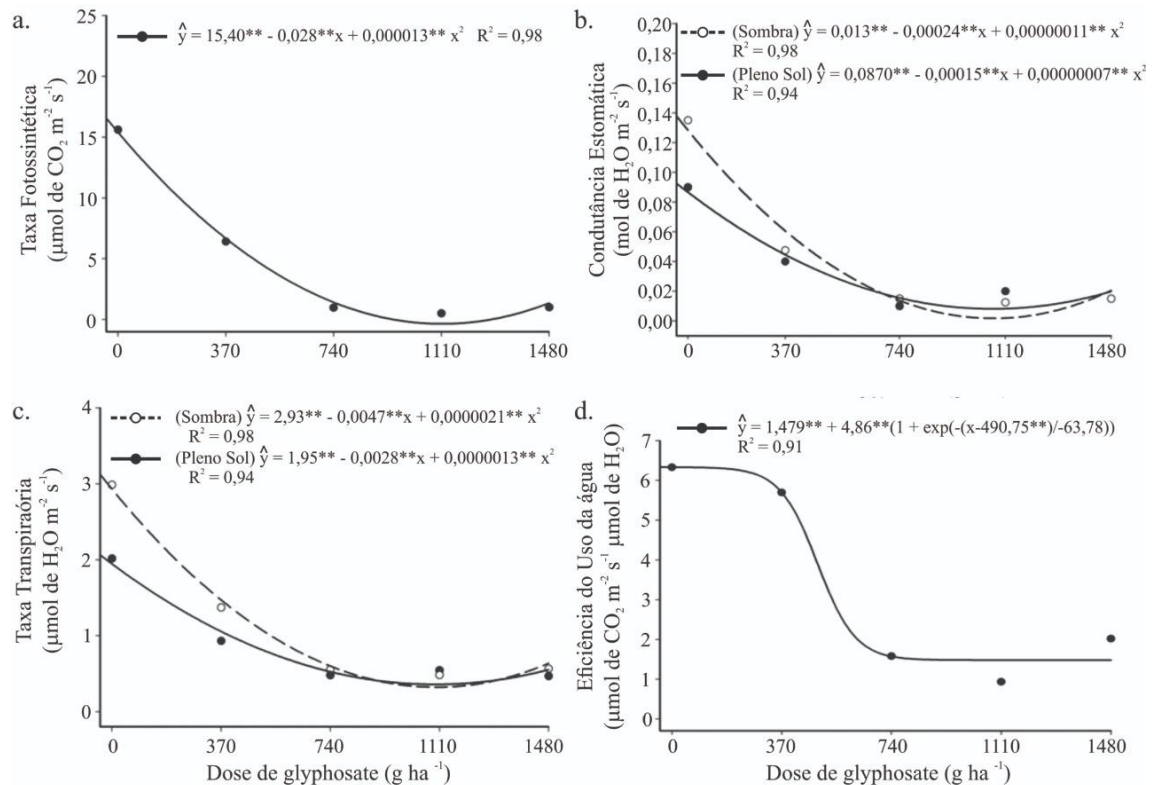


Fig. 5. Taxa fotossintética (a), condutância estomática (b), taxa transpiratória (c) e eficiência do uso da água (d) em *D. insularis* após a aplicação de diferentes doses de glyphosate, 4 dias após aplicação do herbicida. Significativo pelo teste t em 0,05 (*) e 0,01 (**)

Nota-se também redução expressiva da taxa transpiratória em função do aumento das doses (Fig. 5 c). As plantas *D. insularis* cultivadas a pleno sol apresentaram maior eficiência no uso da água ($p \leq 0,05$), média de 2,76 e 3,86 (mol CO₂ mol H₂O⁻¹), respectivamente em sombreamento e a pleno sol. O glyphosate também proporcionou menor eficiência no uso da água. A redução mais significativa ocorreu a partir da dose de 740 g ha⁻¹ de ingrediente ativo e se manteve para as demais doses testadas (Fig. 5 d).

3.3 Controle de *D. insularis* por glyphosate

O efeito inicial do herbicida foi mais expressivo em plantas sombreadas aos 7 DAH. Já aos 25 DAH, não se observa mais diferença no controle de *D. insularis* em função das doses, com alto índice de controle em ambos os ambientes (Figura 6). Ainda assim, é possível observar que o sombreamento tornou as plantas de *D. insularis* mais sensíveis, com efeito mais rápido do herbicida, pois já na dose de 740 g ha⁻¹ o controle das plantas cultivadas em sombreamento foi próximo a 80% (Fig. 6 a), enquanto aquelas cultivadas a pleno sol apresentaram 48,75% de intoxicação (Fig. 6a).

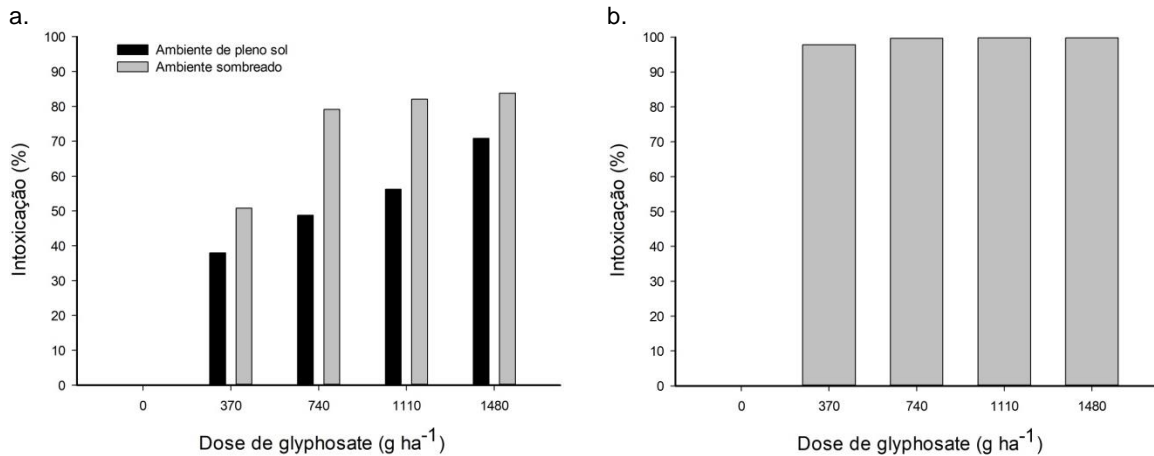
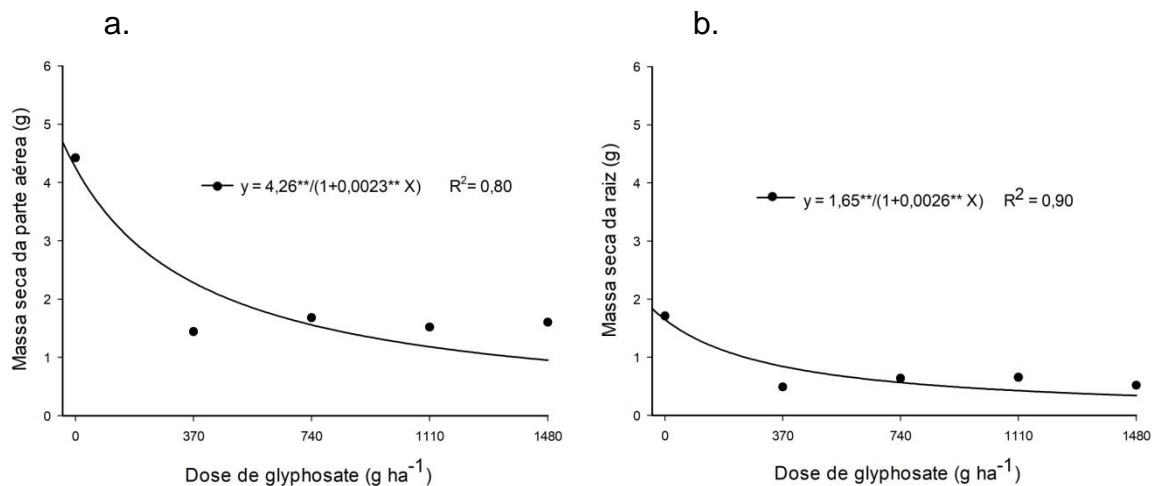


Fig. 6. Controle de *D. insularis* aos 17 (A) e 35 (B) dias após a aplicação de diferentes doses de glyphosate

Não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) quanto à matéria seca da raiz, da parte aérea e o volume de raiz em relação ao sombreamento. Já o uso de glyphosate a partir da dose de 370 g ha^{-1} promoveu redução significativa ($p \leq 0,05$) na produção de biomassa da parte aérea e de raízes em *D. insularis* (Fig. 7).



4 Discussão

Dentre os mecanismos que podem conferir menor ação do herbicida a uma espécie está a eliminação dos compostos pela exsudação radicular. Como não foi observada a exsudação radicular do glyphosate e do AMPA neste estudo, mesmo em doses elevadas em nenhum dos ambientes (Fig. 2), é possível indicar que o mecanismo de *D. insularis* que confere menor suscetibilidade a esse herbicida não se relaciona à eliminação por esse processo.

A maior tolerância de *D. insularis* ao glyphosate parece estar mais relacionada à compartimentalização da molécula e mutações genéticas (Soares *et al.*, 2020). Em estudo com *D. insularis*, Melo *et al.* (2019) não constatarem mutações específicas em genes que codificam a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), enzima alvo da ação do produto, em plantas resistentes ao glyphosate. Entretanto, Galeano *et al.* (2016), trabalhando com variabilidade da EPSPS

em *D. insularis* resistentes ao glyphosate, observaram as substituições de prolina por treonina e tirosina por cisteína, causando diminuição da afinidade da EPSPS ao glyphosate. O sequestro do herbicida no vacúolo das plantas reduz a ação do glyphosate (Ge *et al.*, 2010) e pode ser levado em consideração como um possível mecanismo de maior tolerância de *D. insularis* ao glyphosate a ser estudado.

Sabe-se que a maior tolerância ao glyphosate pela *D. insularis* pode ocorrer de forma direta no seu local alvo, com mutações na enzima EPSPS (Vivancos *et al.*, 2011; Rezende-Silva *et al.*, 2019; DEWICK, 1995). O segundo mecanismo envolve o local não alvo: é quando o herbicida tem absorção e translocação limitada, metabolismo ou compartimentalização no vacúolo (Powles e Yu, 2010).

Embora o efeito de controle tenha sido efetivo mesmo em doses baixas (Fig. 6), é necessário levar em consideração as condições de condução do estudo, já que as perfeitas condições nutricionais e hídricas proporcionadas para o cultivo reduz o estresse da planta, o que favorece a translocação e a eficácia do produto (Barreto *et al.*, 2017; Bagavathiannan, 2017). Isso associado à impossibilidade de longos períodos de cultivo no sistema pode favorecer que plantas mantidas em hidroponia tendam a ser mais sensíveis em relação à condição de campo. Além disso, o aumento da tensão de umidade do solo, que ocorre com a secagem em condições de campo, pode reduzir a absorção do produto pelas plantas (Kruse *et al.*, 2000), já que nessa situação ocorrem alterações morfofisiológicas no tecido vegetal.

O efeito rápido de controle observado nas plantas mantidas sobre sombreamento, comparativamente às mantidas a pleno sol (Fig. 6), pode trazer benefícios para formação mais rápida de palhada ou mesmo a diminuição da competição com espécies de interesse.

A maior ação do glyphosate no controle inicial nas plantas com restrição de luz pode relacionar-se com alterações morfológicas causadas pelo sombreamento. Plantas sombreadas apresentam maior área foliar média, menor densidade de tricomas, redução da deposição de ceras epicuticulares e folhas mais finas (Costa *et al.*, 2020), o que pode favorecer a penetração do herbicida. Alguns estudos demonstraram maior eficiência do glyphosate no controle em plantas sombreadas (Costa *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2015; Santos Junior *et al.*, 2019). Entretanto, Mota *et al.* (2020), ao estudarem *Urocloa brizantha*, observaram que, em condições de maior disponibilidade de luz, o glyphosate foi menos absorvido, porém mais translocado, o que também pode explicar o maior controle inicial em plantas sombreadas e a igualdade de controle entre os ambientes aos 25 DAH.

Ao avaliar o acúmulo de massa seca em função da aplicação do glyphosate, nota-se que a redução de biomassa ocorreu tanto a pleno sol quanto em sombreamento para parte aérea e raiz (Fig. 7). Após penetrar nas folhas, o glyphosate é translocado até os pontos de crescimento (Cakmak *et al.*, 2009), o que pode resultar em rápido efeito na redução de novos perfilhos e, por consequência, menor acúmulo de biomassa seca. Em alguns biótipos de plantas, os herbicidas podem ser translocados rapidamente para as raízes, inclusive quando tratadas com glyphosate (Brunharo *et al.*, 2016).

4.1 Respostas fisiológicas de *D. insularis* ao glyphosate

Ao observar as variáveis fisiológicas (Fig. 3, 4 e 5), é possível notar que mesmo com os sintomas de intoxicação não maximizados ao ponto de permitir a presença folhas sem injúrias, ainda assim verifica-se dano importante aos sistemas fisiológicos das plantas com valor preditivo. Embora plantas de *D. insularis* cultivadas em ambiente sombreado apresentem maior produtividade quântica no

Φ PSII aos 3 DAH (Fig. 3), essa eficiência é insuficiente para compensar a redução na quantidade de luz fornecida, observado na maior ETR de plantas cultivadas a pleno sol. Com alta intensidade luminosa, as plantas podem sofrer com excesso de energia, sendo necessário a fotoproteção, que dissipa parte da energia na forma de calor (Pinnola *et al.*, 2013). Esse mecanismo pode, portanto, reduzir a Φ PSII (Ashraf and Harris, 2013; Hazrati *et al.*, 2016; Janka *et al.*, 2015; Zha *et al.*, 2017), como observado neste estudo.

Após a excitação de luz, a energia é transferida para os centros de reação dos fotossistemas, Vivancos *et al.* (2011) demonstraram que o glyphosate afeta a quantidade de proteínas associadas ao PSII, ao interromper a biossíntese de aminoácidos aromáticos, incluindo a tirosina. Este aminoácido está envolvido no fluxo da cadeia de transporte de elétrons; portanto, limita o transporte de elétrons, após a exposição ao glyphosate. Esse efeito fisiológico também pode ser acentuado por outros fatores, uma vez que o glyphosate é conhecido como quelante de minerais. A redução da disponibilidade de minerais e aminoácidos associados ao PSII pode reduzir a capacidade das plantas em transferir a energia necessária para o transporte de elétrons e a ocorrência da fotossíntese (Gomes *et al.*, 2014). Esses fenômenos explicam a redução da ETR obtida neste estudo. A ETR pode ser utilizada para indicar o reflexo da intoxicação das plantas em níveis fisiológicos, quando submetidas à aplicação de herbicidas (Araldi *et al.*, 2011). Essa variável é importante para determinar o estresse de plantas de forma prática, pois permite a detecção do efeito indireto dos herbicidas (Abbaspoor *et al.*, 2006; Ferreira *et al.*, 2015).

Quando submetidas à condição de restrição luminosa, plantas C4 como *D. insularis* têm suas taxas fotossintéticas reduzidas (Ubierna *et al.*, 2013), diminuindo a produção de fotoassimilados. Como a iluminação artificial do equipamento IRGA foi fixada em ambos os ambientes, não houve diferença na produção fotossintética entre os ambientes. Isso demonstra que mesmo nas plantas que se desenvolvem sob restrição luminosa, o fotossistema permanece ativo e preparado para maiores incidências de luz. Esse fato pode ser comprovado em *D. insularis*, pela maior Φ PSII obtida nas plantas sombreadas, o que demonstra a boa plasticidade fenotípica dessa espécie. Quando em limitação luminosa, as plantas também podem desenvolver mecanismos para melhorar a captação da luz (Feng *et al.*, 2019; Santos Junior *et al.*, 2019; Taiz *et al.*, 2017).

O glyphosate não atua diretamente no fotossistema. Esse herbicida bloqueia a via do shiquimato e suprime a biossíntese de metabólitos importantes (DEWICK, 1995). Esse mecanismo de ação já foi relatado em diferentes espécies (Schrübbbers *et al.*, 2014; Rezende-Silva *et al.*, 2019). Ainda assim o glyphosate pode também causar danos secundários que comprometem atividades fisiológicas (Gomes *et al.*, 2016; Soares *et al.*, 2020; Freitas-Silva *et al.*, 2020). Nessas plantas, os efeitos nas trocas gasosas podem ser uma resposta à regulação fotossintética, uma vez que o herbicida afeta tecidos em crescimento ativo, independentemente da inibição de fotossíntese; a necessidade de fotoassimilados diminui, gerando acúmulo de carboidratos nas folhas (Yannicari *et al.*, 2012), fato que pode reduzir a fotossíntese, como no presente estudo (Fig. 5 a).

Entre os parâmetros fisiológicos, a condutância estomática é apontada como um dos mais sensíveis bioindicadores da presença de glyphosate, sendo o primeiro a ser afetado quando do uso desse herbicida (Yannicari *et al.*, 2012). Indiretamente, o glyphosate afeta a fisiologia da planta hospedeira com o fechamento estomático e, por consequência, ocorrem reduções no fluxo de gases e na fotossíntese (Freitas-Silva *et al.*, 2020; Cerveira *et al.*, 2020; Gomes *et al.*, 2014). Freitas-Silva *et al.*

(2020) observaram que o uso de glyphosate pode proporcionar o surgimento de espaços intercelulares nas células do mesófilo, principalmente próximos à nervura central, causando também injúrias que comprometem a regulação da difusão de gases. Esse efeito está em conformidade com a redução da condutância estomática no atual estudo (Fig. 5 b), visto que essa representa a difusão de gases pelos estômatos.

Outro fator que pode proporcionar alterações na incorporação de CO₂ pode ser a maior resistência estomática da própria planta à absorção (Belo *et al.*, 2011), fato que também foi verificado neste estudo nas plantas sem aplicação de herbicida, em que a condutância estomática de *D. insularis* em sombreamento apresentou tendência superior àquela das cultivadas a pleno sol (Fig. 5 b). A exposição ao glyphosate promove também a inibição na transcrição de gene e conteúdo para formação da RuBisCO (Soares *et al.*, 2020). Esse efeito pode impactar a assimilação e conversão do CO₂ nas plantas para o processo fotossintético, conforme observado nas maiores doses deste estudo.

É possível observar que, neste estudo, a redução na eficiência do uso da água em *D. insulares* (Fig. 5 d) não se deve a limitações hídricas, pois as condições de cultivo não proporcionaram limitações de água ou nutrientes. Esse fato reforça que a limitação se deve a desarranjos fisiológicos causados pelo herbicida em *D. insulares*. Em trabalho realizado por Soares *et al.* (2020), também se evidencia que o glyphosate pode comprometer o balanço hídrico das plantas. Esses autores também verificaram redução na eficiência do uso da água em plantas tratadas com glyphosate, de forma a comprometer reações fotoquímicas que necessitam de água. A aplicação de glyphosate pode bloquear a captação de água e também reduzir a eficiência quanto ao uso desse recurso (Zobiolo *et al.*, 2010). Portanto, fica evidente a influência do glyphosate no comprometimento fisiológico de *D. insulares*.

5 Conclusões

Plantas de *D. insulares* não possuem exsudação radicular de glyphosate e de seu principal metabólito, o AMPA, e a disponibilidade de luz no ambiente de cultivo não influencia nesse mecanismo de resposta das plantas a esse herbicida.

O sombreamento do ambiente de cultivo proporciona efeito mais rápido de intoxicação pelo glyphosate em *D. insulares*. Fica evidente o comprometimento fisiológico do aparato fotossintético das plantas em ambos os ambientes.

Referências

- Abbaspoor, M., Teicher, H., Streibig, J., 2006. The effect of root-absorbed PSII inhibitors on Kautsky curve parameters in sugar beet. *Weed Res.* 46, 226-235. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2006.00498.x>
- Albuquerque, T.C.S., Evangelista, T.C., Albuquerque Neto, A.A.R. de, 2016. Níveis de sombreamento no crescimento de mudas de castanheira do Brasil. *Agro@mbiente* 9, 440. <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v9i4.3025>.
- Araldi, R., Velini, E.D., Giroto, M., Carbonari, C.A., Jasper, S.P., Trindade, M.L.B., 2011. Efeitos na taxa de transporte de elétrons de plantas daninhas após aplicação de amicarbazone. *Planta Daninha* 29, 647-653. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582011000300019>.
- Ashraf, M., Harris, P.J.C., 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynt.* 51, 163-190. <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6>.
- Bagavathiannan, M., Singh, V., Govindasamy, P., Abugho, S.B., Liu, R., 2017. Impact of Concurrent Weed or Herbicide Stress with Other Biotic and Abiotic Stressors on Crop Production, in: Senthil-Kumar, M. (Ed.), *Plant Tolerance to Individual and Concurrent Stresses*. Springer, New Delhi, 33-45. https://doi.org/10.1007/978-81-322-3706-8_3.
- Barreto, L.F., Decaro, R.A., Silva, M.G. da, Griesang, F., Ferreira, M.D.C., 2017. Efeito do paraquat e glyphosate sobre espécimes de poaceae e convolvulaceae em condições de déficit hídrico. *Revista Brasileira de Herbicidas* 16, 198-205. <https://doi.org/10.7824/rbh.v16i3.554>.
- Belo, A.F., Coelho, A.T.C.P., Tironi, S.P., Ferreira, E.A., Ferreira, L.R., Silva, A.A., 2011. Atividade fotossintética de plantas cultivadas em solo contaminado com picloram. *Planta Daninha* 29, 885–892. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582011000400019>.
- Bianchi, L., Anunciato, V.M., Gazola, T., Perissato, S.M., Dias, R.C., Tropaldi, L., Carbonari, C.A., Velini, E.D., 2020. Effects of glyphosate and clethodim alone and in mixture in sourgrass (*Digitaria insularis*). *Crop Protection* 138, 105322. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105322>.
- Brunharo, C.A., Patterson, E.L., Carrijo, D.R., Melo, M.S. de, Nicolai, M., Gaines, T.A., Nissen, S.J., Christoffoleti, P.J., 2016. Confirmation and mechanism of glyphosate resistance in tall windmill grass (*Chloris elata*) from Brazil: glyphosate resistance in tall windmill grass (*Chloris elata*) from Brazil. *Pest. Manag. Sci.* 72, 1758-1764. <https://doi.org/10.1002/ps.4205>.
- Cakmak, I., Yazici, A., Tutus, Y., Ozturk, L., 2009. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. *Europ. J. of Agron.* 31, 114-119. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.07.001>.
- Carpejani, M.S., Oliveira Jr., R.S., 2013. Manejo químico de capim-amargoso resistente a glyphosate na pré-semeadura da soja. *Revista Campo Digital* 8, 26-33. <http://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/campodigital/article/view/1563>.
- Cerveira Junior, W.R., Costa, Y.K.S. da, Carbonari, C.A., Duke, S.O., Alves, P.L. da C.A., Carvalho, L.B. de, 2020. Growth, morphological, metabolic and photosynthetic responses of clones of eucalyptus to glyphosate. *For. Ecol. and Manag.* 470–471, 118218. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118218>.
- Costa, G.A., Tuffi-Santos, L.D., Santos, S.A. dos., Cruz, L.R. da, Sant'Anna-Santos, B.F., Santos, I.T. dos, Tanaka, F.A.O., 2020. Efficiency of glyphosate and carfentrazone-ethyl in the control of *Macroptilium atropurpureum* (DC.) Urb. under different light intensities. *S. Afr. J. of Bot.* 131, 302-309. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.028>.
- Dewick, P.M., 1995. The biosynthesis of shikimate metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 12, 101-133. <https://doi.org/10.1039/np9951200101>.

- Freitas-Silva, L., Araújo, T.O. de, Nunes-Nesi, A., Ribeiro, C., Costa, A.C., Silva, L.C. da, 2020. Evaluation of morphological and metabolic responses to glyphosate exposure in two neotropical plant species. *Ecol. Indic.* 113, 106246. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106246>.
- Feng, L., Raza, M.A., Li, Z., Chen, Y., Khalid, M.H.B., Du, J., Liu, W., Wu, X., Song, C., Yu, L., Zhang, Z., Yuan, S., Yang, W., Yang, F., 2019. The influence of light intensity and leaf movement on photosynthesis characteristics and carbon balance of soybean. *Front. Plant Sci.* 9, 1952. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01952>.
- Ferreira, E.A., Matos, C.D.C. de, Barbosa, E.A., Silva, D.V., Santos, J.B. dos, Pereira, G.A.M., Faria, A.T., Silva, C.T. da, 2015. Respostas fisiológicas da mandioca à aplicação de herbicidas. *Semina: Ciências Agrárias* 36, 645-655. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n2p645>.
- Galeano, E., Barroso, A.A.M., Vasconcelos, T.S., López-Rubio, A., Albrecht, A.J.P., Victoria Filho, R., Carrer, H., 2016. EPSPS variability, gene expression, and enzymatic activity in glyphosate-resistant biotypes of *Digitaria insularis*. *Genet. Mol. Res.* 15, 1-15. <https://doi.org/10.4238/gmr.15038730>.
- Gazziero, D.L.P., Adegas, F.S., Silva, A.F., Concenço, G., 2019. Estimating yield losses in soybean due to sourgrass interference. *Planta Daninha* 37, e019190835. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582019370100047>.
- Global Biodiversity Information Facility - GBIF, 2019. *Digitaria insularis* (L.) Mez ex Ekman, in: GBIF Secretariat (2021). GBIF Backbone Taxonomy. <https://www.gbif.org/pt/species/5289938>. Acesso em: 12 jun. 2021.
- Ge, X., d'Avignon, D.A., Ackerman, J.J., Sammons, R.D., 2010. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism: Mechanism of glyphosate resistance in *C. canadensis*. *Pest. Manag. Sci.* 66, 345-348. <https://doi.org/10.1002/ps.1911>.
- Ghanizadeh, H., Harrington, K.C., 2020. Perspective: root exudation of herbicides as a novel mode of herbicide resistance in weeds. *Pest. Manag. Sci.* 76, 2543–2547. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ps.5850>.
- Gobbi, K.F., Garcia, R., Garcez Neto, A.F., Pereira, O.G., Ventrella, M.C., Rocha, G.C., 2009. Características morfológicas, estruturais e produtividade do capim-braquiária e do amendoim forrageiro submetidos ao sombreamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 38, 1645-1654. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000900002>.
- Gomes, M.P., Le Manac'h, S.G., Maccario, S., Labrecque, M., Lucotte, M., Juneau, P., 2016. Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants. *Pestic. Biochem. and Physiol.* 130, 65-70. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.11.010>
- Gomes, M.P., Smedbol, E., Chalifour, A., Hénault-Ethier, L., Labrecque, M., Lepage, L., Lucotte, M., Juneau, P., 2014. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: an overview. *J. of Exp. Bot.* 65, 4691-4703. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru269>.
- Hao, Y., Zhang, Y., Xu, W., Gao, J., Tao, L., 2019. Synergistic effects of adjuvant A-134 on the herbicidal effects of glyphosate. *J. Pestic. Sci.* 44, 249–254. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D19-030>.
- Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Modarres-Sanavy, S.A.M., Mokhtassi-Bidgoli, A., Nicola, S., 2016. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. *Plant Physiol. and Biochem.* 106, 141-148. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.046>.
- Hearon, S.E., Wang, M., McDonald, T.J., Phillips, T.D., 2021. Decreased bioavailability of aminomethylphosphonic acid (AMPA) in genetically modified corn with activated carbon or calcium montmorillonite clay inclusion in soil. *J. of Environ. Sci.* 100, 131-143. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.06.029>.
- Hermansen, C., Norgaard, T., Wollesen de Jonge, L., Moldrup, P., Müller, K., Knadel, M., 2020. Predicting glyphosate sorption across New Zealand pastoral soils using basic soil properties or Vis–NIR spectroscopy. *Geoderma* 360, 114009. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.114009>.

- Hoagland, D.R., Arnon, D. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. CA Agric. Exp. Stn., Circular 347. https://openlibrary.org/books/OL25240089M/The_water-culture_method_for_growing_plants_without_soil.
- Janka, E., Körner, O., Rosenqvist, E., Ottosen, C.-O., 2015. Using the quantum yields of photosystem II and the rate of net photosynthesis to monitor high irradiance and temperature stress in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*). Plant Physiol. and Biochem. 90, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.02.019>.
- Jugulam, M., Dimeo, N., Veldhuis, L.J., Walsh, M., Hall, J.C., 2013. Investigation of MCPA (4-Chloro-2-ethylphenoxyacetate) resistance in wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.). J. Agric. Food Chem. 61, 12516-12521. <https://doi.org/10.1021/jf404095h>.
- Kruse, N.D., Trezzi, M.M., Vidal, R.A., 2000. Herbicidas inibidores da EPSPs: revisão de literatura. Revista Brasileira de Herbicidas 1, 139-146. <https://doi.org/10.7824/rbh.v1i2.328>.
- Lopez Ovejero, R.F., Takano, H.K., Nicolai, M., Ferreira, A., Melo, M.S.C., Cavenaghi, A.L., Christoffoleti, P.J., Oliveira, R.S., 2017. Frequency and dispersal of glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis*) populations across brazilian agricultural production areas. Weed Sci. 65, 285–294. <https://doi.org/10.1017/wsc.2016.31>.
- Mac Loughlin, T.M., Peluso, L., Marino, D.J.G., 2017. Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. Sci. of The Total Environ. 598, 572–580. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.116>.
- Meftaul, I.Md., Venkateswarlu, K., Dharmarajan, R., Annamalai, P., Asaduzzaman, M., Parven, A., Megharaj, M., 2020. Controversies over human health and ecological impacts of glyphosate: is it to be banned in modern agriculture?. Environ. Pollut. 263, 114372. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114372>.
- Melo, M.S.C., Rocha, L.J.F.N., Brunharo, C.A.C.G., Nicolai, M., Tornisiello, V.L., Nissen, S.J., Christoffoleti, P.J., 2019. Sourgrass resistance mechanism to the herbicide glyphosate. Planta Daninha 37, e019185746. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582019370100033>.
- Mota, L.M., Mendes, K.F., Júnior, L.H.B., Silva, E.M.G. da, Furtado, I.F., Tornisiello, V.L., 2020. Light availability interferes with absorption and translocation of ¹⁴C-glyphosate in *Urochloa brizantha* cv. Marandu plants. J. Radioanal Nucl. Chem. 326, 683-693. <https://doi.org/10.1007/s10967-020-07333-z>.
- Pinnola, A., Dall'Osto, L., Gerotto, C., Morosinotto, T., Bassi, R., Alboresi, A., 2013. Zeaxanthin binds to light-harvesting complex stress-related protein to enhance nonphotochemical quenching in *Physcomitrella patens*. Plant Cell. 25, 3519-3534. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.114538>.
- Powles, S.B., Yu, Q., 2010. Evolution in action: plants resistant to herbicides. Annu. Rev. Plant. Biol. 61, 317-347. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112119>.
- R Core Team, 2019. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Rezende-Silva, S.L., Costa, A.C., Dyszy, F.H., Batista, P.F., Crispim-Filho, A.J., Nascimento, K.J.T., Silva, A.A. da, 2019. *Pouteria torta* is a remarkable native plant for biomonitoring the glyphosate effects on Cerrado vegetation. Ecol. Indic. 102, 497–506. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.03.003>.
- Rojano-Delgado, A.M., Portugal, J.M., Palma-Bautista, C., Alcántara-de la Cruz, R., Torra, J., Alcántara, E., De Prado, R., 2019. Target site as the main mechanism of resistance to imazamox in a *Euphorbia heterophylla* biotype. Sci. Rep. 9, 15423. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51682-z>.
- Romagnoli, I., Manzione, R.L., 2018. Mapeamento da vulnerabilidade e riscos de contaminação das águas subterrâneas na região do pontal do paranapanema (ugrhi-22) / groundwater vulnerability mapping and contamination risks at pontal do paranapanema region (UGRHI - 22). Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas 12, 307-326. <https://doi.org/10.18011/bioeng2018v12n3p307-326>.

- Santos, E.A. dos., Correia, N.M., Botelho, R.G., 2013. Resíduos de herbicidas em corpos hídricos - uma revisão. *Revista Brasileira de Herbicidas* 12, 188-201. <https://doi.org/10.7824/rbh.v12i2.245>.
- Santos, S.A., Tuffi-Santos, L.D., Sant'Anna-Santos, B.F., Tanaka, F.A.O., Silva, L.F., Santos, A. dos, 2015. Influence of shading on the leaf morphoanatomy and tolerance to glyphosate in "*Commelina benghalensis*" L. and "*Cyperus rotundus*" L. *Aust. J. of Crop Sci.* 9, 135-142. https://www.researchgate.net/publication/282382538_Influence_of_shading_on_the_leaf_morphoanatomy_and_tolerance_to_glyphosate_in_Commelina_benghalensis_L_and_Cyperus_rotundus_L.
- Santos Junior, A., Freitas, F.C.L., Santos, I.T., Silva, D.C., Paixão, G.P., Sedyama, C.S., 2019. Management Of *Commelina benghalensis* with saflufenacil in shaded environments. *Planta Daninha* 37, e019178088. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582019370100051>.
- Schrübbbers, L.C., Valverde, B.E., Sørensen, J.C., Cedergreen, N., 2014. Glyphosate spray drift in *Coffea arabica* – sensitivity of coffee plants and possible use of shikimic acid as a biomarker for glyphosate exposure. *Pestic. Biochem. and Physiol.* 115, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.08.003>.
- Silva, L.N.L., Muniz, C.C., Oliveira Junior, E.S., Ignácio, Á.R.A., 2020. Revisão sistemática: toxicidade do herbicida glifosato com contaminação in vivo em peixes. *Res., Soc. and Dev.* 9, e98996711. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.6711>.
- Soares, C., Pereira, R., Martins, M., Tamagnini, P., Seródio, J., Moutinho-Pereira, J., Cunha, A., Fidalgo, F., 2020. Glyphosate-dependent effects on photosynthesis of *Solanum lycopersicum* L.- An ecophysiological, ultrastructural and molecular approach. *J. of Hazard. Mater.* 398, 122871. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122871>.
- Tiago, J.P.F., Sicupira, L.C., Barros, R.E., Pinho, G.P. de, Silvério, F.O., 2020. Simultaneous and direct determination of glyphosate and AMPA in water samples from the hydroponic cultivation of eucalyptus seedlings using HPLC-ICP-MS/MS. *J. of Environ. Sci. and Health, Part B* 55, 558–565. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1733369>.
- Ubierna, N., Sun, W., Kramer, D.M., Cousins, A.B., 2013. The efficiency of C₄ photosynthesis under low light conditions in *Zea mays*, *Miscanthus x giganteus* and *Flaveria bidentis*: Efficiency of light-limited C₄ photosynthesis. *Plant, Cell & Environ.* 36, 365–381. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02579.x>.
- Vazquez-Garcia, J.G., Palma-Bautista, C., Rojano-Delgado, A.M., De Prado, R., Menendez, J., 2020. The First Case of Glyphosate Resistance in Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.). *Europe Plants* 9, 313. <https://doi.org/10.3390/plants9030313>
- Vivancos, P.D., Driscoll, S.P., Bulman, C.A., Ying, L., Emami, K., Treumann, A., Mauve, C., Noctor, G., Foyer, C.H., 2011. Perturbations of Amino Acid Metabolism Associated with Glyphosate-Dependent Inhibition of Shikimic Acid Metabolism Affect Cellular Redox Homeostasis and Alter the Abundance of Proteins Involved in Photosynthesis and Photorespiration. *Plant Physiol.* 157, 256–268. <https://doi.org/10.1104/pp.111.181024>.
- Yannicari, M., Tambussi, E., Istilart, C., Castro, A.M., 2012. Glyphosate effects on gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of two *Lolium perenne* L. biotypes with differential herbicide sensitivity. *Plant Physiol. and Biochem.* 57, 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.05.027>.
- Zha, T.-S., Wu, Y.J., Jia, X., Zhang, M.Y., Bai, Y.J., Liu, P., Ma, J.Y., Bourque, C.P.-A., Peltola, H., 2017. Diurnal response of effective quantum yield of PSII photochemistry to irradiance as an indicator of photosynthetic acclimation to stressed environments revealed in a xerophytic species. *Ecological Indicators* 74, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.11.027>.
- Zobiole, L.H.S., Krenchinski, F.H., Albrecht, A.J.P., Pereira, G., Lucio, F.R., Rossi, C., Rubin, R.D.S., 2016. Controle de capim-amargoso perenizado em pleno florescimento. *Revista Brasileira de Herbicidas* 15, 157. <https://doi.org/10.7824/rbh.v15i2.474>

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento sobre a liberação do glyphosate via exsudação radicular e a influência do sombreamento nesse processo é de grande importância para o manejo químico e a segurança ambiental no uso desse herbicida.

O processo de exsudação radicular se mostra dependente da espécie, uma vez que é possível se verificar a eliminação radicular do glyphosate em mudas de eucalipto, porém esse processo não ocorre em *D. insularis*.

A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao ICP-MS/MS possibilitou identificar e quantificar a exsudação radicular em mudas de eucalipto em concentrações entre 1,47 e 1,54 $\mu\text{g L}^{-1}$. Essas concentrações podem exercer efeito de subdose e estimular o desenvolvimento radicular de bioindicador, o que também comprova a eficiência no método químico de detecção.

O sombreamento não teve interferência no processo de exsudação radicular, porém proporcionou controle mais rápido de *D. insulares* pelo glyphosate. O herbicida proporcionou controle efetivo na espécie, mesmo em baixas doses, o que pode estar relacionado às boas condições de cultivo proporcionadas pela hidroponia, o que parece facilitar a ação do herbicida.

O glyphosate causa evidente comprometimento fisiológico em mudas de eucalipto e *D. insulares*, porém as primeiras podem-se recuperar após o dano do glyphosate.