



**Universidade Federal de São Carlos**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**Curso de Engenharia Agrônoma**



**ANA CAROLINE DE MELO**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DAS PLANTAS DE CITROS AO  
GLYPHOSATE**

**ARARAS – 2023**



**Universidade Federal de São Carlos**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**Curso de Engenharia Agrônoma**



**ANA CAROLINE DE MELO**

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DAS PLANTAS DE CITROS AO  
GLYPHOSATE**

Monografia apresentada ao Curso de  
Engenharia Agrônoma – CCA – UFSCar para  
a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Marluci da Conceição

**ARARAS – 2023**

**Dedico aos meus pais Pedro e Maria, e ao meu irmão Murilo.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Universidade Federal de São Carlos, por toda estrutura e oportunidades concedidas nos anos de estudos.

Agradeço aos professores, que fizeram parte da minha formação e contribuíram com tanto conhecimento para o meu desenvolvimento profissional.

Agradeço a minha orientadora Dr.<sup>a</sup> Patrícia Marlucci da Conceição, ao meu orientador Dr. Fernando Alves de Azevedo, ao meu coorientador Dr. Rodrigo Martinelli, por toda a oportunidade, suporte e conhecimento que me proporcionaram em todo esse período, sempre que precisei, fornecendo todo o suporte para realização dos meus trabalhos.

Agradeço ao Instituto Agrônomo de Campinas – Centro de Citricultura Sylvio Moreira (IAC/CCSM) e ao GD Citros, em que pude iniciar meus estágios na graduação e fiz parte por quase 4 anos ao longo dessa, por toda oportunidade de conhecimentos, pesquisas e bolsas de iniciações científicas.

Agradeço aos meus pais, Pedro, que infelizmente não está mais presente fisicamente aqui, mas sempre está comigo e a Maria, sem eles nada disso seria possível.

Agradeço também a toda minha família, meu irmão, meus avós, meus tios, meu namorado, por todo apoio, e por fazerem parte da minha trajetória.

Agradeço aos meus amigos, que fizeram toda a diferença nesse período.

**“Para ter um negócio de sucesso, alguém,  
algum dia, teve que tomar uma atitude de  
coragem.”**

**Peter Drucker**

## RESUMO

O controle de plantas daninhas para os citros é oneroso, por ser uma cultura perene, as plantas daninhas convivem ao mesmo tempo e espaço, diminuindo assim as opções de controle. Existe muita especulação sobre as consequências bioquímicas e fisiológicas da interação entre os citros e o glyphosate, e os trabalhos existentes mostram-se incipientes. Objetivou-se com este trabalho avaliar as implicações do uso de glyphosate pelas vias de contato: foliar, solo e plantas daninhas, e a intoxicação das plantas de citros. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, em esquema fatorial triplo (2 tipos de solo x 3 locais de aplicação de glyphosate x 4 doses), três repetições, com avaliações repetidas no tempo. Mudanças de laranja Pêra enxertadas sob limoeiro Cravo foram transplantadas para vasos, parte destes foram semeados com plantas daninhas. Cinco meses após a semeadura das plantas daninhas, estas já estavam desenvolvidas para a aplicação do herbicida. Para realizar a aplicação de glyphosate os vasos foram separados em blocos, nos quais cada bloco ficou dividido de acordo com o local de aplicação (parte aérea dos citros, solo e parte aérea das plantas daninhas) e subdividido de acordo com as doses que seriam aplicadas (36; 360 e 3.600 g ea/ha). Para não ter deriva, ou contato da parte da planta alvo com a não alvo, as plantas de citros ou plantas daninhas foram ensacadas de acordo com a parte que deveria ficar protegida. Foi realizada a quantificação da concentração de ácido chiquímico, o teor de clorofila e o crescimento, biomassa e parâmetros morfológicos de raiz e parte aérea das plantas de citros. Observou-se que a aplicação de glyphosate direcionada as plantas de citros proporcionou os menores resultados para desenvolvimento da cultura e fisiologia da planta, resultando em acúmulo de ácido chiquímico. Com a aplicação direcionada às plantas daninhas, e assim com o controle destas, houve maior desenvolvimento das plantas de citros. A aplicação direcionada ao solo proporcionou resultados insignificantes, e o tipo de solo utilizado, argiloso ou arenoso, não exerceu nenhum tipo de influência. Conclui-se que com as condições deste trabalho, há diferenças significativas entre os locais de aplicação de glyphosate e as doses de herbicida utilizadas.

**Palavras-chave:** herbicida; aplicação; chiquimato; fotossíntese; intoxicação.

## ABSTRACT

Currently, weed control for citrus is more costly, as it is a perennial crop where weeds coexist at the same time and space, thus reducing control options. Also, there are reports of the excessive and inappropriate use of glyphosate by Brazilian citrus growers, which the producers themselves justify due to the current low level of control. Moreover, there is much speculation about the biochemical and physiological consequences of the interaction between citrus and glyphosate, and the existing works are incipient and inconclusive. This study aimed to evaluate the glyphosate implications, elucidating from disturbances in the shikimic acid metabolic route to the identification of the main routes of intoxication between this herbicide and citrus plants. Glyphosate by different routes (leaf, soil, and weeds) was evaluated on two soil types and different doses of glyphosate in Pêra orange tree seedlings. The experimental design was randomized blocks in a triple factorial scheme (2 soil types x 3 glyphosate application sites x 4 doses), three replications, with repeated evaluations over time. As the main results, glyphosate on citrus plants had the worst results for crop development and plant physiology, such as shikimic acid accumulation. At the same time, the application directed at weeds produced the best results since, with the control of these, there was better development of citrus plants, and the application directed at the soil presented insignificant results, regardless of the type of soil. Thus, it is concluded that there are significant differences between the glyphosate application sites and the herbicide doses used.

**Keywords:** herbicide; application; shikimate; photosynthesis; intoxication.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** (A) Plantas de laranjeira Pêra após transplântio, mantidas em casa de vegetação. (B) Aplicação de fertilizantes foliares na copa das plantas de laranja Pêra com pulverizador costal. (Cordeirópolis/SP, fevereiro/2021). .21
- Figura 2.** (A) Plantas de laranjeira Pêra após retirada da camada de palha e complemento de solo. (B) Semeadura das plantas daninhas nos vasos selecionados. (Cordeirópolis/SP, março/2021). .....22
- Figura 3.** Plantas daninhas desenvolvidas, cinco meses após semeadas. (Cordeirópolis/SP, agosto/2021). .....23
- Figura 4.** Vasos devidamente separados em blocos por locais de aplicação (aplicação no solo; na parte aérea de plantas daninhas e na parte aérea das plantas de citros), antes da mesma ser realizada. (Cordeirópolis/SP, agosto/2021.) .....23
- Figura 5.** (A) Vasos embalados com saco plástico, de acordo com o local da aplicação, para evitar deriva. (B) Parte aérea da planta de citros embalada, para a aplicação ser dirigida a parte aérea das plantas daninhas (Cordeirópolis/SP, agosto/2021). .....24
- Figura 6.** (A) Folhas de laranjeira Pêra recortadas em laboratório. (B) Eppendorfs com folhas de laranjeira pêra recortadas, pesadas e armazenadas em 1 mL de HCl 0,25 N para determinação da concentração de ácido chiquímico (Cordeirópolis/SP, setembro/2021). .....25
- Figura 7.** Avaliação do desenvolvimento do sistema radicular das plantas de citros, utilizando o scanner de raízes "Root Scanner CI-600™" .....27
- Figura 8.** Concentração de ácido chiquímico nas folhas, no solo e nas plantas daninhas em vasos de citros sob diferentes doses de glyphosate (g ea ha<sup>-1</sup>) ao longo do tempo. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ), em que as comparações devem ser realizadas somente dentro de cada local de aplicação (Folha, Solo ou Daninha). ns: não significativo ( $p > 0,05$ ). .....28
- Figura 9.** Teores de clorofila (índice SPAD) em função dos diferentes locais de aplicação e doses de glyphosate (g ea ha<sup>-1</sup>) nos vasos de citros, aos 150



dias após aplicação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). ...	30
<b>Figura 10.</b> Crescimento de parte aérea, volume de copa ( $m^3$ ), em função dos diferentes locais de aplicação de glyphosate e diferentes doses ( $g\ ea\ ha^{-1}$ ) do mesmo aos 150 dias após aplicação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). .....	31
<b>Figura 11.</b> Biomassa da parte aérea das plantas de citros, em relação aos diferentes locais de aplicação e as diferentes doses de glyphosate ( $g\ ea\ ha^{-1}$ ), ao fim do experimento (150 DAA). .....	32
<b>Figura 12.</b> Crescimento de parte aérea, diâmetro caule porta-enxerto (mm), em função dos diferentes locais de aplicação de glyphosate e diferentes doses ( $g\ ea\ ha^{-1}$ ) do mesmo aos 150 dias após aplicação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).....	33
<b>Figura 13.</b> Crescimento de parte aérea, diâmetro caule do enxerto (mm), em função dos diferentes locais de aplicação de glyphosate e diferentes doses ( $g\ ea\ ha^{-1}$ ) do mesmo aos 150 dias após aplicação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).....	34
<b>Figura 14.</b> Taxa de crescimento das raízes ( $mm\ dia^{-1}$ ) (diferença entre a avaliação de 150 dias após aplicação #1 com a prévia(0DAA#1)) em função dos diferentes locais de aplicação e doses de glyphosate ( $g\ ea\ ha^{-1}$ ). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).....	35
<b>Figura 15.</b> Biomassa de raízes das plantas de citros, em relação aos diferentes locais de aplicação e as diferentes doses de glyphosate ( $g\ ea\ ha^{-1}$ ), ao fim do experimento (150 DAA). .....	36
<b>Figura 16.</b> Imagens das raízes obtidas através do scanner de raízes “Root Scanner CI-600™” (CID Bio-Science Inc.) aos 150 DAA em relação aos diferentes locais de aplicação e as diferentes doses de glyphosate ( $g\ ea\ ha^{-1}$ ). .....	37

**Figura 17.** (A) Biomassa de parte aérea e (B) biomassa de raiz (g MS planta<sup>-1</sup>), em relação aos diferentes locais de aplicação e as diferentes doses de glyphosate (g ea ha<sup>-1</sup>), ao fim do experimento (150 DAA). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ )..... 38

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Porcentagem média de argila, silte e areia total nos dois tipos de solos, argiloso e arenoso..... 19
- Tabela 2.** Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), matéria orgânica (M.O.), hidrogênio + alumínio (H + Al), soma de bases (SB), capacidade de troca de cátions (CTC) e saturação por bases (V%) nos dois tipos de solo, argiloso e arenoso..... 20

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	13
2.1. Manejo de plantas daninhas em citros .....	13
2.2. Uso do glyphosate na citricultura e suas implicações .....	14
3. OBJETIVOS .....	18
3.1. Objetivo Geral .....	18
3.2. Objetivos específicos.....	18
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	19
4.1. Área utilizada e delineamento experimental.....	19
4.2. Preparo do material vegetal .....	20
4.3. Aplicação do glyphosate.....	22
4.4. Concentração de ácido chiquímico .....	25
4.5. Teores de clorofila .....	26
4.6. Crescimento, biomassa e parâmetros morfológicos de raiz e parte aérea .....	26
4.7. Análise de dados .....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1. Concentração de ácido chiquímico nas folhas de citros.....	28
5.2. Teores de Clorofila .....	29
5.3. Crescimento vegetativo, sistema radicular e massa seca das plantas...	30
6. CONCLUSÃO.....	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41

## 1. INTRODUÇÃO

As plantas daninhas podem afetar tanto direta ou indiretamente a produção e a qualidade dos frutos cítricos, dependendo da idade do pomar, tornando-se responsáveis por perdas econômicas que podem ultrapassar 50% (MARTINELLI et al., 2017; ALCANTARA-DE LA CRUZ et al., 2020). Ao longo dos anos, vários trabalhos mostram que a competição com as plantas daninhas causa perdas de até 40% da produção nos pomares de citros do Brasil (BLANCO e OLIVEIRA, 1978), porém, em um estudo mais recente, verificou-se que essa redução pode chegar até 52% (MARTINELLI et al., 2017).

Em cultivos de espécies perenes, as opções de controle de plantas daninhas são mais escassas. Em pomares de citros o controle é realizado basicamente pela roçagem da entrelinha e aplicações de herbicidas dirigidas para a faixa da linha de plantio (MATHEIS; AZEVEDO; VICTÓRIA FILHO, 2020). Os citricultores brasileiros têm preferência pelo controle químico e a grande maioria utiliza somente o herbicida glyphosate [N-(phosphonomethyl)glycine], que possui amplo espectro de controle, tem ação não-seletiva e alta sistemicidade (MYERS et al., 2016). A utilização do herbicida glyphosate desde seu lançamento foi devido à alta eficiência de controle, facilidade de uso, gerando uma boa relação de custo e benefício.

Esse herbicida foi lançado em 1974, sendo que o volume mundial aplicado de herbicidas à base de glyphosate (*Glyphosate-based herbicides* - GBHs) aumentou aproximadamente 100 vezes, devido à aplicação recorrente em resposta ao surgimento de biótipos de plantas daninhas resistentes a este herbicida e à ampla adoção de cultivares resistentes, ou seja, cultivares em que pode se aplicar o herbicida, mas são resistentes a ele (*Round-up Ready*) (MYERS et al., 2016). No caso dos citros, com o uso intensivo, houve aumento de relatos de biótipos de plantas daninhas resistentes e seleção de espécies tolerantes, o que fez com que os produtores utilizassem o glyphosate de maneira indevida, com relatos de alta frequência (quatro ou mais vezes por ano agrícola) e/ou em altas dosagens (acima de 2 kg de equivalente ácido ha<sup>-1</sup>), sendo justificado pelos próprios produtores pela baixa eficácia de controle. Porém muitos produtores não levam em consideração e/ou não tem acesso à

informação sobre duas questões importantes do glyphosate: (i) a possível intoxicação das plantas de citros pelo contato com o herbicida e translocação deste herbicida dentro da planta; e, (ii) a possibilidade da crescente e contínua seleção de biótipos resistentes e espécies tolerantes de plantas daninhas.

Nos pomares de citros o uso contínuo do glyphosate pode implicar em maiores danos à cultura ao longo do tempo devido à fitotoxicidade causada por este herbicida, caracterizada por clorose, queda de folhas pré-formadas, queda de ramos e má formação de brotações (TUCKER, 1977), com perdas significativas para o citricultor, visto que os danos podem permanecer por até dois anos nas plantas de citros (TOTH e MORRISON, 1977).

Entre os herbicidas, o glyphosate é o único que atua na rota do ácido chiquímico, sendo capaz de inibir a enzima EPSP sintase (5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase). Esta enzima catalisa a condensação do ácido chiquímico (mais conhecido como chiquimato) e do fosfato piruvato, inibindo assim a formação de corismato. Este é precursor do ácido salicílico (fitohormônio de defesa) e de três aminoácidos aromáticos [triptofano (Trp), tirosina (Tyr) e fenilalanina (Phe)], que servem como precursores de uma ampla variedade de produtos que tem funções cruciais no desenvolvimento das plantas (HASLAM, 1993; HERRMAN, 1995). Em plantas vasculares, a rota do ácido chiquímico é responsável por mais de 30% do carbono fixado pela fotossíntese (MAEDA e DUDAREVA, 2012).

Uma das maneiras de avaliar a injúria causada pela intoxicação ao glyphosate, é a partir de análises do acúmulo de chiquimato (SINGH e SHANER, 1998). Em citros, somente um aumento temporário de sua concentração foi relatado, em estudo com aplicação de glyphosate em mudas de limão Cravo (GRAVENA et al., 2009) e em plantas de laranja Valência, de 27 meses de idade (GRAVENA et al., 2012). No entanto, em estudo com plantas de laranja Pêra, de 12 anos de idade, as concentrações de chiquimato não se alteraram (MATALLO et al., 2010). Porém, mesmo que as concentrações de chiquimato sejam transitórias, é necessário elucidar se este acúmulo temporário é capaz de afetar, ao longo do tempo, as concentrações dos aminoácidos aromáticos e a fotossíntese, e se há correlação entre os mesmos.

Portanto, o correto manejo de plantas daninhas deve ser realizado não somente a partir de dosagens pré-definidas de um mesmo herbicida, e sim em função das espécies de plantas daninhas dominantes, utilizando herbicidas que não causem fitotoxicidade, em suas dosagens recomendadas, utilizando a rotação de herbicidas e a integração de métodos de controle. Desta forma, este trabalho pode prover informações para um manejo mais sustentável de plantas daninhas em citros, elucidando o manejo de glyphosate, o que pode trazer benefícios para toda cadeia citrícola pela maior sanidade dos pomares.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Manejo de plantas daninhas em citros**

As plantas daninhas são uma das maiores responsáveis pelas perdas dentro do setor citrícola. Assim, o manejo destas, para um bom desenvolvimento dos pomares, é imprescindível, uma vez que elas competem por recursos como: luz, água, espaço, diretamente com as plantas de citros e também podem servir como hospedeiras para patógenos e pragas (CHIAVEGATO, 1986). Nesse sentido, o manejo das plantas daninhas é fundamental e pode-se explorar um potencial benéfico das mesmas. Esse potencial pode inferir em uma melhor qualidade de solo e de sua estrutura, como também em uma melhor ciclagem de nutrientes e até mesmo na redução de custos para o manejo de pragas e doenças (CHRISTOFFOLETI, 2016).

O manejo de plantas daninhas nos pomares de citros é realizado praticamente com a roçagem na entrelinha e com aplicações de herbicidas direcionados para a faixa de plantio. Para a roçagem na entrelinha existem dois métodos, sendo o primeiro deles com a roçadeira convencional, em que se corta a biomassa presente na entrelinha e seu resíduo fica ali mesmo, e o segundo método com a roçadeira ecológica, no qual a biomassa presente é cortada e projetada para a linha de plantio, formando uma camada de palha, que ajuda no manejo de plantas daninhas (AZEVEDO et al. 2012).

Para o manejo das plantas daninhas também pode-se utilizar herbicidas que podem ser aplicados em pré e pós emergência, associado com a roçadora ecológica, permitindo um maior controle. No entanto, um problema relacionado com o uso de herbicidas é que por se tratar de uma cultura perene, há uma menor disponibilidade de químicos que podem ser utilizados para controle ao serem comparados com as culturas anuais, onde pode se fazer o controle nos intervalos de cultivo ou até mesmo fazer a utilização de cultivares resistentes.

Estudos mostram que o controle das plantas daninhas dentro dos pomares citrícolas vem sendo feita pelo uso exaustivo de herbicidas, usando basicamente o glyphosate como forma de controle (MARTINELLI et al. 2017). Esse fato, está relacionado ao elevado custo de mão de obra para outros tipos de controle, como por exemplo o mecânico. O problema relacionado ao uso do



controle químico não acontece apenas pelo fato do relato de espécies resistentes, mas também por conta das espécies tolerantes. Assim, existe a possibilidade do aumento para a pressão de seleção de espécies tolerantes, como aquelas que são tolerantes ao glyphosate, alguns exemplos: trapoeraba (*Commelina benghalensis*), espécies de corda-de-viola (*Ipomoea* spp.), poaia-branca (*Richardia brasiliensis*), entre outras (MONQUERO, 2003).

Para o manejo de plantas daninhas ser realizado de maneira correta, o ideal é que esse manejo seja feito em função das espécies dominantes no sistema de produção. Logo, é imprescindível que seja feito um levantamento da comunidade infestante e a partir desses conhecimentos ser levado em conta a necessidade de controle, se adequando as diferentes condições impostas, sempre visando um bom custo/benefício (VOLL et al., 1995).

Outro método importante, que pode anteceder o manejo para plantas daninhas é a amostragem de banco de sementes do solo, que permitem a identificação e a quantificação da comunidade infestante, assim como sua evolução (MONQUERO e SILVA, 2007). O banco de sementes é o responsável pela reposição das plantas mortas de forma natural ou devido a algum distúrbio imposto (BAKER, 1989), sendo também o responsável por inferir o potencial de novas infestações.

Com o cenário atual do aumento de casos de resistência a herbicidas, é fundamental que o manejo seja realizado desde seu princípio, como por exemplo desde o manejo do banco de sementes de plantas daninhas, a fim de associar esse conhecimento ao uso de herbicidas e ter manejos mais eficazes (NORSWORTHY et al., 2008).

## **2.2. Uso do glyphosate na citricultura e suas implicações**

Um dos herbicidas mais utilizados nos pomares de citros é o glyphosate, onde as aplicações do mesmo são projetadas para a linha de plantio, podendo também ser projetadas para as entrelinhas dos pomares. Trata-se de um herbicida não-seletivo e que se transloca na planta, sendo eficaz até mesmo para as plantas daninhas que são consideradas perenes (DUKE, 2020).

O herbicida glyphosate foi lançado em 1974 e desde seu lançamento até os dias atuais, estima-se que seu uso aumentou aproximadamente 100

vezes, o que pode estar relacionado as taxas de aplicações mais recorrentes desse herbicida, em resposta ao surgimento de plantas daninhas resistentes e a novos padrões de uso (MYERS et al., 2016).

A alta frequência de uso dos herbicidas, e a utilização de altas dosagens tem causado o aumento da seleção de plantas daninhas com biótipos resistentes, uma vez que há o uso exaustivo do mesmo mecanismo de ação. Dentro dos pomares de citros do Brasil já existem relatos de várias espécies de plantas daninhas com resistência à herbicidas, como no caso do picão preto [*Bidens pilosa* (L.)] (ALCÁNTARA-DE LA CRUZ et al. 2016); buva [*Conyza canadensis* (L.) Cronquist], capim-amargoso [*Digitaria insularis* (L.) Mez ex Ekman] (HEAP, 2021), e outras.

MARTINELLI et al. (2022) realizaram um levantamento com citricultores de diversas regiões produtoras do Brasil sobre o manejo de plantas daninhas. Dos participantes, 98% afirmaram utilizar glyphosate, sendo que 36% não utilizam outros herbicidas e 73% aplicam doses acima de 1000 g ea ha<sup>-1</sup>. Dentre os que utilizavam outros herbicidas, 56% aplicavam entre 1000 e 1500 g ea ha<sup>-1</sup>, 6% de 1500 a 2000 g ea ha<sup>-1</sup> e 11% acima de 2000 g ea ha<sup>-1</sup>. Em relação à frequência de aplicação por ano agrícola, 11% aplicavam uma vez, 47% aplicavam duas vezes, 22% três vezes, 9% quatro vezes e 11% aplicam de cinco ou mais vezes, sendo que houve relatos de até 10 aplicações por ano agrícola. MARTINELLI et al. (2022) destacam que a maioria dos participantes entrevistados foram de médio a grandes produtores, e a falta de informação sobre as implicações do uso excessivo de glyphosate e das alternativas de controle para pequenos produtores pode ser ainda mais preocupante.

O uso inadequado de equipamentos de pulverização, o uso excessivo de glyphosate (em termos de doses e frequência de aplicação), o contato direto entre as plantas daninhas e as folhas dos citros e a deriva accidental são as principais causas dos prejuízos causados pelo herbicida glyphosate, sendo muito desses prejuízos a intoxicação causada a planta não alvo, no caso os citros. A deriva é particularmente preocupante, pois além de reduzir a eficácia da aplicação, pode afetar culturas vizinhas. Vários fatores contribuem para a deriva de herbicida, incluindo o tamanho das gotas que saem do pulverizador, a altura

da ponta de pulverização, a velocidade de operação da aplicação, as condições climáticas e a formulação utilizada (VANELLA et al., 2011).

Além da deriva que pode ocorrer entre a planta daninha e a cultura, existem outras formas de contato entre as plantas alvo e não-alvo, como a exsudação de raízes interespecíficas em contato, a decomposição de resíduos de plantas tratadas e a absorção radicular de glyphosate em alguns tipos de solo. Essas formas de contato podem ser particularmente problemáticas para os citros, que convivem com as plantas daninhas durante todo o ciclo de cultivo (NEUMANN et al., 2006; TEFAMARIAM et al., 2009).

O glyphosate tem um mecanismo de ação único, pois é o único herbicida que pode inibir a enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase (EPSP) por competir com o sítio de ligação do substrato fosfoenolpiruvato (PEP). A EPSP catalisa a condensação do chiquimato-3-fosfato e do PEP na rota do ácido chiquímico, inibindo a formação de corismato, que é um precursor do ácido salicílico, bem como de três aminoácidos aromáticos essenciais para a síntese de proteínas e divisão celular nas regiões meristemáticas da planta: fenilalanina (Phe), triptofano (Trp) e tirosina (Tyr) (HERRMANN, 1995). A Phe é um substrato para a via do fenilpropanoide, que produz muitos produtos secundários de plantas, incluindo antocianinas, lignina, promotores e inibidores de crescimento e compostos fenólicos, muitos dos quais ajudam a proteger a planta contra doenças e pragas. O Trp é um precursor do ácido indolilacético (AIA), um hormônio vegetal necessário para a expansão celular, manutenção da dominância apical e muitos outros processos regulatórios, enquanto a Tyr é um precursor de alcaloides de isoquinolina, betalaínas de pigmento e quinonas (plastoquinona) (MAEDA e DUDAREVA, 2012).

O bloqueio da rota do ácido chiquímico pode levar a um acúmulo de altos níveis desse ácido, o que pode ter implicações fisiológicas nas plantas, já que cerca de 30% do carbono fixado pelas plantas é derivado dessa rota (HASLAM, 1993; MAEDA e DUDAREVA, 2012). Portanto, a análise do acúmulo de ácido chiquímico pode ser utilizada como bioindicador da injúria causada pelo herbicida glyphosate (SINGH e SHANER, 1998). No entanto, em estudos com a aplicação de glyphosate em mudas de limão Cravo, foi relatado apenas um efeito transitório na concentração do ácido chiquímico, enquanto em pomares adultos

de laranja Pêra e em pomares recém-plantados de laranja Valência, as concentrações não foram afetadas (GRAVENA et al., 2009; MATALLO et al., 2010; GRAVENA et al. 2012). É importante destacar que esses estudos avaliaram os efeitos do glyphosate em um curto espaço de tempo e não consideraram os efeitos a longo prazo.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Avaliar as implicações do uso de glyphosate pelas vias de contato foliar, via solo e via plantas daninhas, e a intoxicação das plantas de citros.

#### **3.2. Objetivos específicos**

1. Avaliar a utilização de glyphosate por diferentes vias (foliar, solo e plantas daninhas) determinando a concentração de ácido chiquímico e os teores de clorofila nas plantas de citros;

2. Avaliar o desempenho do crescimento e acúmulo de biomassa da parte aérea e do sistema radicular das plantas de citros após a utilização de glyphosate.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Área utilizada e delineamento experimental

O projeto foi conduzido, em casa de vegetação, no Centro de Citricultura Sylvio Moreira – Instituto Agronômico (CCSM/IAC) (22°27'35" S, 47°24'28" O), localizado na cidade de Cordeirópolis/SP.

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial triplo (2 tipos de solo x 3 locais de aplicação do glyphosate x 4 doses), três repetições, e com avaliações repetidas no tempo. Cada unidade experimental foi constituída por um vaso de 15 L com uma planta de citros. Oitenta vasos foram preenchidos com solo proveniente de pomares comercial de citros, sendo 40 com solo “argiloso” e 40 com solo “arenoso”.

A fim de caracterizar os solos utilizados no experimento, foram realizadas análises físicas (Tabela 1) e químicas (Tabela 2) destes solos. A análise física foi feita no laboratório do IAC, e nela analisou-se o solo argiloso coletado no Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, e o solo arenoso coletado na área sob pomar localizado no Sítio Lagoa Bonita, Mogi Mirim – SP. Os resultados da análise física dos solos argiloso e arenoso demonstraram teores compatíveis de argila, silte e areia (Tabela 1), para os dois tipos de solos, possibilitando classificá-los como: muito argiloso e franco-arenoso, respectivamente.

**Tabela 1.** Porcentagem média de argila, silte e areia total nos dois tipos de solos, argiloso e arenoso.

Frações minerais	Tipos de solo			
	Argiloso		Arenoso	
	(%)		(%)	
	Média	DP	Média	DP
Argila	63,70	0,70	20,97	1,18
Silte	22,00	0,51	4,00	0,88
Areia Total	14,30	0,22	75,03	1,94

A análise química dos solos foi realizada no laboratório da UFSCar – Campus Araras. Os resultados da análise química (Tabela 2) demonstraram que ambos os solos apresentam alta saturação por bases (V%), com valores considerados adequados para a cultura dos citros. Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) estão próximos entre os dois solos e considerados adequados para o cultivo de citros.

**Tabela 2.** Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), matéria orgânica (M.O.), hidrogênio + alumínio (H + Al), soma de bases (SB), capacidade de troca de cátions (CTC) e saturação por bases (V%) nos dois tipos de solo, argiloso e arenoso.

Atributos avaliados	Tipos de solo			
	Argiloso		Arenoso	
	Média	DP	Média	DP
P Resina (mg dm <sup>-3</sup> )	51,33	3,30	65,33	3,40
M. O. (g dm <sup>-3</sup> )	44,00	0,82	45,00	2,83
pH (CaCl <sub>2</sub> )	5,10	0,00	5,53	0,19
K	5,30	0,16	6,27	0,76
Ca	39,67	2,62	51,33	2,49
Mg (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	23,00	1,41	18,00	0,82
H + Al	32,33	0,94	16,33	2,49
SB	67,97	4,16	75,60	3,36
CTC	100,30	3,71	91,93	0,92
V (%)	67,67	2,05	82,33	2,87

Em metade dos vasos, instalaram-se minirrizotrons para posterior avaliação do desenvolvimento do sistema radicular.

#### 4.2 Preparo do material vegetal

Mudas de laranja Pêra (*Citrus sinensis* L. Osbeck), enxertadas sob limoeiro Cravo (*Citrus limonia* Osbeck), foram produzidas no CCSM/IAC e transplantadas para os vasos em dezembro/2020. Após o transplante dos citros, o solo de todos os vasos foi coberto com 100 gramas de palha de *Urochloa*

*ruzizensis* (Figura 1 A), visando manter a umidade do solo. As plantas foram mantidas irrigadas.



**Figura 1.** (A) Plantas de laranjeira Pêra após transplântio, mantidas em casa de vegetação.(B) Aplicação de fertilizantes foliares na copa das plantas de laranja Pêra com pulverizador costal. (Cordeirópolis/SP, fevereiro/2021).

Para que as plantas se igulassem em tamanho foi feita a poda manual destas e foi aplicado fertilizantes foliares: SS 220, Man Flexi Cálcio, Magnum e K Top com pulverizador costal (Figura 1 B). Posteriormente foi realizada a retirada da palhada e o vaso foi complementado com solo (Figura 2 A), para que pudesse ser realizada a semeadura das plantas daninhas nos 24 vasos selecionados, nos quais foram semeados: *Commelina benghalensis*; *Conyza canadensis*; *Digitaria insularis* e *Urochloa decumbens* (10 sementes vaso<sup>-1</sup> espécie<sup>-1</sup>), realizado em março de 2021 (Figura 2 B).





**Figura 2.** (A) Plantas de laranja Pêra após retirada da camada de palha e complemento de solo. (B) Semeadura das plantas daninhas nos vasos selecionados. (Cordeirópolis/SP, março/2021).

#### **4.3. Aplicação do glyphosate**

Cinco meses após a semeadura das plantas daninhas, estas já estavam desenvolvidas para a aplicação do herbicida (Figura 3). Para realizar a aplicação, os vasos foram separados em blocos (Figura 4), nos quais cada bloco ficou dividido de acordo com o local de aplicação (parte aérea dos citros, solo e parte aérea das plantas daninhas) e subdividido de acordo com as doses que seriam aplicadas (36; 360 e 3.600 g ea/ha).



**Figura 3.** Plantas daninhas desenvolvidas, cinco meses após sementeas. (Cordeirópolis/SP, agosto/2021).



**Figura 4.** Vasos devidamente separados em blocos por locais de aplicação (aplicação no solo; na parte aérea de plantas daninhas e na parte aérea das plantas de citros), antes da mesma ser realizada. (Cordeirópolis/SP, agosto/2021.)

Para não haver deriva, ou contato da parte da planta alvo com a não alvo, as plantas de citros ou plantas daninhas foram ensacados de acordo com a parte que deveria ficar protegida (Figura 5 A). Nos vasos em que a aplicação seria direcionada as plantas daninhas, toda a parte aérea dos citros ficou ensacada (Figura 5 B). Na aplicação direcionada a parte aérea das plantas de

citros, a parte aérea das plantas daninhas fora ensacada. Quando a aplicação foi direcionada ao solo, em que não se tinha plantas daninhas, ensacou-se a parte aérea das plantas de citros.



**Figura 5.** (A) Vasos embalados com saco plástico, de acordo com o local da aplicação, para evitar deriva. (B) Parte aérea da planta de citros embalada, para a aplicação ser dirigida a parte aérea das plantas daninhas (Cordeirópolis/SP, agosto/2021).

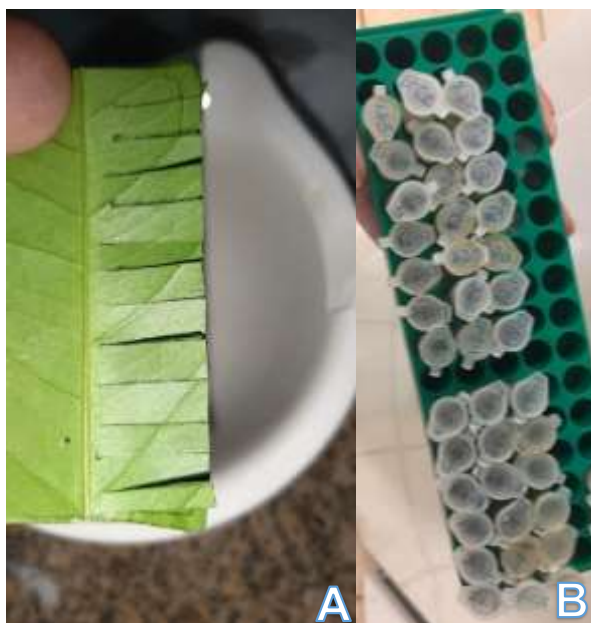
Em laboratório, foi realizado o preparo das soluções usadas para aplicação via diluição seriada, em base 10. Foram separados 4 béqueres de 500 ml, onde no béquer 1 foi adicionado 475 ml de água e 25 ml de glyphosate (RoundUp Original, 360 g equivalente ácido  $\text{ha}^{-1}$ ) e realizou-se a homogeneização, totalizando 500 ml de solução A. Retirou dessa solução A, 50 ml e adicionou ao béquer 2 que já havia sido preenchido com 450 ml de água, totalizando 500 ml de uma nova solução, que vamos chamar de solução B. Da solução B foram retirados 50 ml e adicionados a um terceiro béquer, também preenchido com 450 ml de água, totalizando, portanto, 500 ml de solução C e por fim, ao quarto béquer também preenchido com 450 ml de água, foi adicionado 50 ml da solução C, totalizando 500 ml da última solução utilizada, a solução D.

Em seguida, foi realizado a aplicação nas unidades experimentais, que já estavam separadas em blocos por locais de aplicação e com as devidas proteções, conforme já mencionado. Duas aplicações foram realizadas, sendo

que ap#1 foi realizada no primeiro dia do experimento, enquanto a segunda (ap#2) foi realizada aos 60 dias após a primeira aplicação (DAA#1).

#### 4.4. Concentração de ácido chiquímico

A quantificação da concentração de ácido chiquímico nas plantas de citros foi realizada aos 0, 15, 30, 60, 90 e 150 dias após a primeira aplicação (DAA#1) do herbicida. Para isto, foram coletadas duas folhas de mediana maturação, do terço mediano da planta de citros (folhas-dreno). Essas folhas foram cortadas de forma quadriculada em pedaços menores, formando sub-amostras de 50 mg de tecido foliar fresco que foram alocadas em eppendorfs com 1 mL de HCl 0,25 N (Figura 6 A e B) posteriormente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a  $-40^{\circ}\text{C}$ , para posterior análise.



**Figura 6.** (A) Folhas de laranja Pêra recortadas em laboratório. (B) Eppendorfs com folhas de laranja pêra recortadas, pesadas e armazenadas em 1 mL de HCl 0,25 N para determinação da concentração de ácido chiquímico (Cordeirópolis/SP, setembro/2021).

Para a análise, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente e depois incubadas durante 45 min a  $37^{\circ}\text{C}$ . Alíquotas de 50  $\mu\text{L}$  foram transferidas para novos tubos contendo 200  $\mu\text{L}$  de ácido periódico 0,25% (p/v) m-periodato de sódio 0,25% (p/v). As amostras foram novamente incubadas a  $37^{\circ}\text{C}$  por 30 min, e após foram adicionados 200  $\mu\text{L}$  de hidróxido de sódio 0,6 N

+ sulfito de sódio 0,22 N e, por fim, homogeneizadas. Volumes de 300  $\mu\text{L}$  foram transferidos para cubetas espectrofotométricas contendo 600  $\mu\text{L}$  de água destilada. A absorbância foi medida no comprimento de onda de 380 nm em um espectrofotômetro de arranjo de diodos (HP 8425A, Palo Alto, CA, EUA). Uma amostra com três repetições técnicas foi analisada por unidade experimental. A concentração de ácido chiquímico foi determinada como  $\mu\text{mol}$  de ácido chiquímico  $\text{g}^{-1}$  tecido fresco, e os resultados demonstrados como concentração relativa de ácido chiquímico (à testemunha).

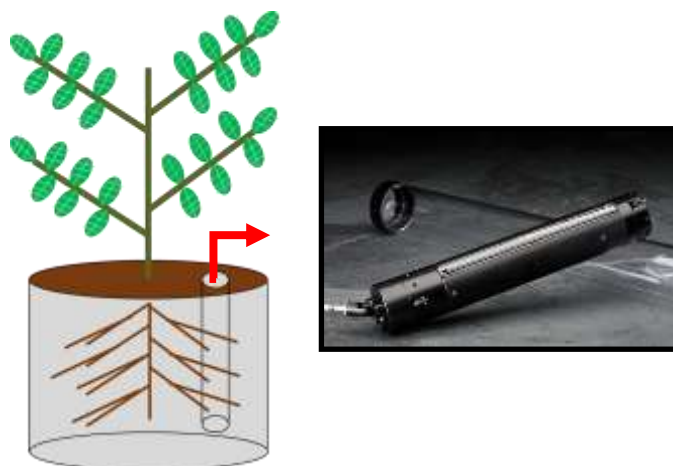
#### **4.5. Teores de clorofila**

Ao fim do experimento, aos 150 DAA#1, o teor de clorofila foi determinado utilizando o método não-destrutivo, utilizando clorofilômetro SPAD-502 (Minolta Corporation LTDA, Japão), realizando por planta, duas leituras em folhas no terço mediano, sendo padronizada a terceira e quarta folha de ramos.

#### **4.6. Crescimento, biomassa e parâmetros morfológicos de raiz e parte aérea**

O crescimento das plantas foi avaliado no início (0DAA#1) e no término do experimento (150 DAA#1), mensurando o diâmetro do caule da copa com paquímetro digital a 10 cm acima da linha de enxertia, e altura e diâmetro da copa, com régua graduada. Ao término do experimento, as plantas foram divididas em folhas, ramos, troncos e raízes para obtenção de massa seca (estufa à  $60 \pm 3^\circ\text{C}$ ; 72 horas).

Para visualização e avaliação do desenvolvimento do sistema radicular das plantas de citros, foi utilizado o *scanner* de raízes “Root Scanner CI-600™” (CID Bio-Science Inc.). Aos 0 e 150 DAA#1 foram realizadas as capturas das imagens do sistema radicular das plantas de citros, sendo realizadas por tubo de acesso: de 0-20 cm de profundidade (Figura 7). As imagens foram analisadas no software RootSnap!® (CID BioScience Inc.), obtendo-se os dados de comprimento do sistema radicular (SMIT et al., 2000).



**Figura 7.** Avaliação do desenvolvimento do sistema radicular das plantas de citros, utilizando o scanner de raízes “Root Scanner CI-600™”

Assim, com os dados iniciais e finais de comprimento de raiz, foi obtida a taxa de crescimento diária de raízes, pela diferença entre as datas.

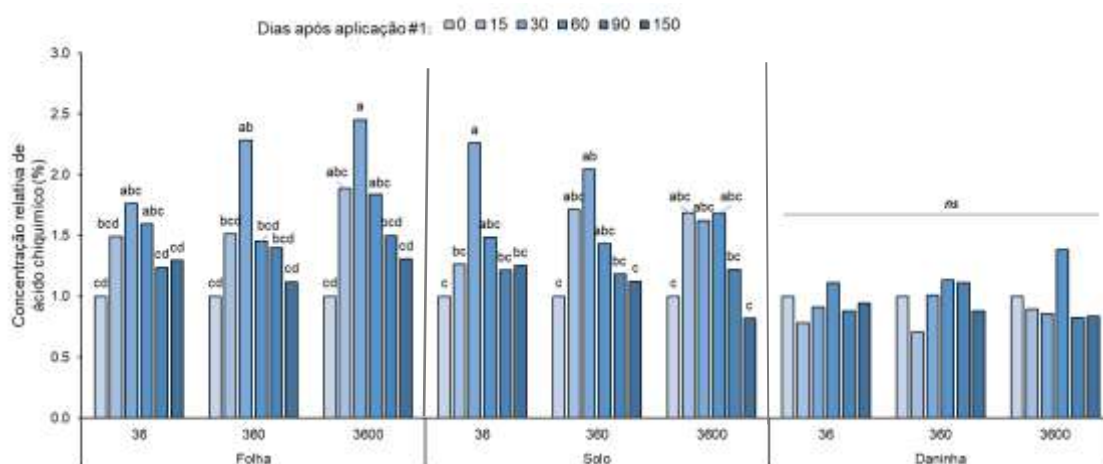
#### 4.7. Análise de dados

Todos os dados foram submetidos à análise de normalidade, análise de variância (ANAVA) pela via modelo linear mistos com medidas repetidas no tempo, e posterior teste de comparação múltipla de médias pelo teste de Tukey (*Honestly Significant Difference* - HSD;  $\alpha = 0,05$ ). Todas as análises foram realizadas pelo software R (v 4.1.0). Os pacotes *lme4* e *lmerTest* foram utilizados para a modelagem da ANAVA (BATES et al., 2015; KUZNETSOVA et al., 2017), e para o teste de Tukey foi utilizado o pacote *emmeans* (LENTH et al., 2018). Para resumir os resultados de Tukey, foi utilizado o método *Compact Letter Display* do pacote *multcomp* (HOTHORN et al., 2016).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Concentração de ácido chiquímico nas folhas de citros

Para o acúmulo de ácido chiquímico (*Shk*), verificou-se que houve diferença significativa em relação aos locais de aplicação e a concentração encontrada do mesmo ( $p < 0,05$ ; Figura 8), porém, sem efeito quanto ao tipo de solo ( $p > 0,05$ ). A resposta do efeito de acúmulo de *Shk* variou entre o local de aplicação e as dosagens de glyphosate ao longo do tempo, nem sempre com resposta proporcional as dosagens.



**Figura 8.** Concentração de ácido chiquímico nas folhas, no solo e nas plantas daninhas em vasos de citros sob diferentes doses de glyphosate (g ea ha<sup>-1</sup>) ao longo do tempo. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ), em que as comparações devem ser realizadas somente dentro de cada local de aplicação (Folha, Solo ou Daninha). ns: não significativo ( $p > 0,05$ ).

Pode-se observar que a aplicação de glyphosate realizada nas folhas das plantas de citros, expressaram o maior acúmulo de *Shk*, principalmente em sua maior dose aos 30 dias após aplicação, e esse padrão de acúmulo se manteve para as outras doses (36 e 360 g ea ha<sup>-1</sup>) na mesma data (Figura 8). Já para a aplicação realizada no solo, o acúmulo de *Shk* também foi observado de forma mais expressiva aos 30 dias após aplicação, no entanto, a maior concentração de *Shk* foi encontrada na menor dosagem de aplicação de glyphosate, o que se manteve para a dose de 360 g ea ha<sup>-1</sup>, mas não se aplica

para a maior dose aplicada, em que aos 30 dias após aplicação houve um declínio da concentração de *Shk*.

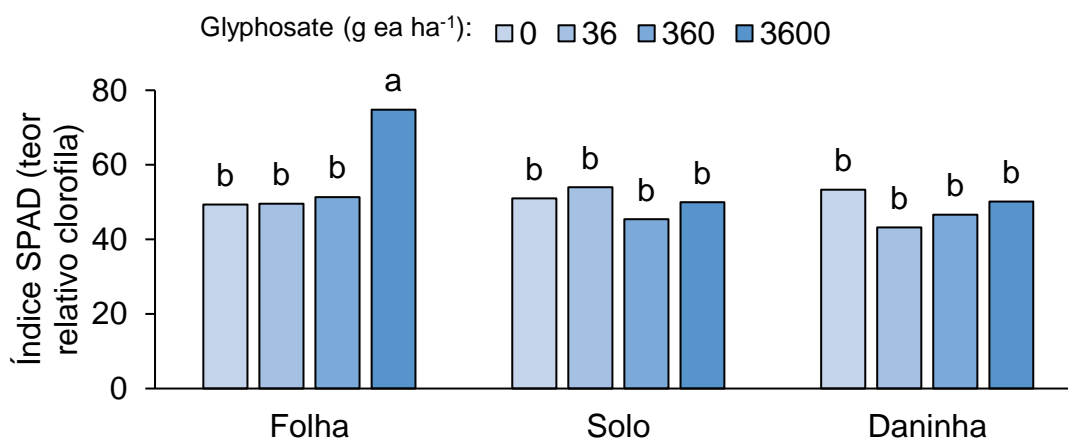
Esses resultados podem ser explicados devido ao fato do glyphosate ser um inibidor da enzima 5-enolpiruvilshikimate-3-fosfato sintase (EPSPs) que faz com que aconteça o acúmulo de *Shk*, que ocorre como consequência da desregulação de sua rota (HERRMAN, 1995). Além disso, é importante ressaltar o acúmulo significativo de *Shk*, que se manifestou com maior intensidade aos 30 DAA#1. Esse fenômeno pode ser comparado a outros estudos realizados, que pela primeira vez documentam o acúmulo de *Shk* a longo prazo nas plantas cítricas (MARTINELLI et al., 2022). Como consequência desse acúmulo, observa-se uma redução na fotossíntese líquida, aparentes diminuições no transporte de elétrons e na assimilação de CO<sub>2</sub>, sugerindo a ocorrência de danos fotooxidativos e um aumento na fotorrespiração (MARTINELLI et al., 2022). Outro aspecto relevante a ser destacado é o acúmulo observado de *Shk* após a aplicação no solo, evidenciando a capacidade de translocação do herbicida ao longo da planta. Essa alta capacidade de translocação do glyphosate tem impactos significativos, afetando, por exemplo, toda a região meristemática das plantas de citros. Isso ressalta a importância de compreender a extensão do efeito do herbicida e suas possíveis consequências no desenvolvimento e crescimento das plantas cítricas (MARTINELLI et al., 2022).

Ademais, em relação a segunda aplicação de glyphosate realizada em outubro de 2021, após dois meses da primeira aplicação do herbicida pode-se inferir que os resultados não foram significativos. Sendo que não houve acúmulo da concentração de ácido chiquímico após esta aplicação e as avaliações realizadas posteriormente mostram isso. O acúmulo, como mencionado anteriormente pode ser visto principalmente aos trinta dias após a primeira aplicação.

## **5.2. Teores de Clorofila**

Observou-se diferença significativa nos resultados entre os diferentes locais de aplicação e as doses de glyphosate utilizadas ( $p < 0,05$ ; Figura 9). Os níveis de clorofila variaram de acordo com o local de aplicação e a quantidade de herbicida utilizada, mas nem sempre de forma proporcional.





**Figura 9.** Teores de clorofila (índice SPAD) em função dos diferentes locais de aplicação e doses de glyphosate (g ea ha<sup>-1</sup>) nos vasos de citros, aos 150 dias após aplicação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

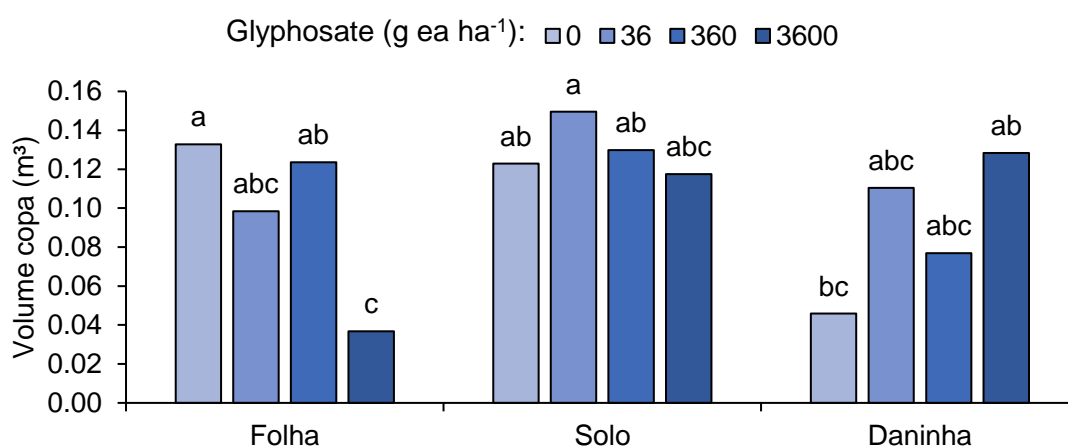
Para a aplicação realizada nas folhas de citros, observou-se maior teor de clorofila relacionado com a maior dose de glyphosate aplicada (3600 g ea ha<sup>-1</sup>), não havendo diferença estatística entre as demais doses e os teores encontrados (Figura 9).

Assim, os resultados obtidos podem ser explicados com o auxílio de estudos publicados, que mostram que os danos causados pelo acúmulo de ácido chiquímico devido as altas doses de glyphosate, tendem a demandar uma maior energia luminosa da planta para ser absorvida e conseqüentemente ter uma maior quantidade de clorofila, como já mencionado em outros estudos, para outras culturas, como no caso do café (DA ROCHA PINHO et al., 2021). Outro ponto relevante a ser considerado, é que isto pode estar relacionado a danos no metabolismo da planta, que, por sua vez, afetam a fotossíntese, em que parte da energia absorvida pela planta não é utilizada para assimilação de CO<sub>2</sub>, apontando, portanto, danos no metabolismo primário das plantas de citros (MARTINELLI et. al, 2022).

### 5.3. Crescimento vegetativo, sistema radicular e massa seca das plantas

Para aplicação de glyphosate direcionada as folhas das plantas de citros, houve decréscimo do volume de copa na maior dose de aplicação do herbicida (3600 g ea ha<sup>-1</sup>), mostrando permanência dos efeitos do herbicida

mesmo após um longo período de aplicação (150 dias após aplicação) (Figura 10).

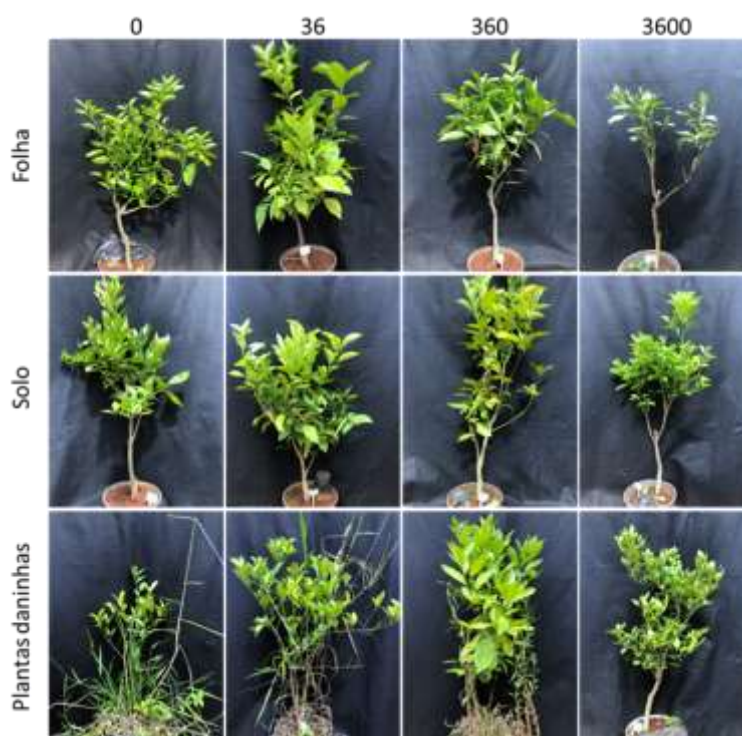


**Figura 10.** Crescimento de parte aérea, volume de copa (m<sup>3</sup>), em função dos diferentes locais de aplicação de glyphosate e diferentes doses (g ea ha<sup>-1</sup>) do mesmo aos 150 dias após aplicação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

Esses dados, acima mencionados, podem ser explicados pelo fato de que quando há o acúmulo de chiquimato, há uma queda da fotossíntese, relacionado ao fato do pior desempenho do carbono, além do aumento da fotorrespiração, e do dreno de carbono (MONACO, 2002). No entanto, para a aplicação de glyphosate direcionada ao solo, não houve diferença entre as doses aplicadas e para a aplicação direcionada somente as plantas daninhas, pode se notar o contrário da aplicação direcionada as folhas das plantas de citros, sendo que nos vasos onde se tinham as plantas daninhas e não fora aplicado o herbicida (dose 0) o desenvolvimento da planta de citros foi prejudicado, resultando em um menor volume de copa, já para aqueles em que se tinha as plantas daninhas e a maior dosagem do herbicida, se teve um maior desenvolvimento da planta de citros e maior volume de copa apresentado (Figura 10).

As fotos tiradas ao fim do experimento corroboraram com os resultados obtidos nas análises, refletindo visualmente as observações feitas. No que diz respeito à biomassa da parte aérea das plantas de citros, foi constatado que, quando o glyphosate foi aplicado diretamente nas folhas das

plantas, houve uma redução proporcional na biomassa, à medida que a dose do herbicida aumentou (Figura 11). Por outro lado, ao analisar a aplicação do herbicida no solo, não foram observadas diferenças significativas na biomassa da parte aérea para as diferentes doses utilizadas. Para a aplicação direcionada às plantas daninhas, ocorreu o inverso do observado na aplicação direcionada às folhas; ou seja, quanto maior a dose do herbicida, maior foi o desenvolvimento da biomassa da parte aérea (Figura 11).

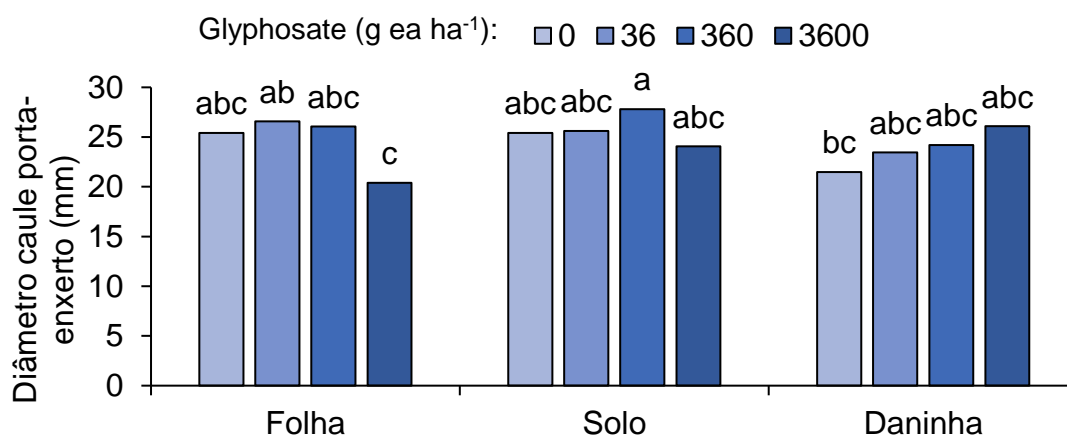


**Figura 11.** Biomassa da parte aérea das plantas de citros, em relação aos diferentes locais de aplicação e as diferentes doses de glyphosate ( $\text{g ea ha}^{-1}$ ), ao fim do experimento (150 DAA).

Nesse sentido, pode se dizer que houve uma relação direta entre desenvolvimento de volume de copa e biomassa de parte aérea, em que, onde se encontrou maior volume de copa, também fora encontrado maior biomassa de parte aérea.

Pode se observar também como parâmetro de crescimento de parte aérea, o crescimento do caule, observando a diferença entre o crescimento do diâmetro do caule do porta enxerto e o diâmetro do caule do enxerto (Figura 12 e 13). Para o diâmetro do caule do porta enxerto, em que a aplicação foi direcionada as plantas de citros, houve um decréscimo do crescimento destes

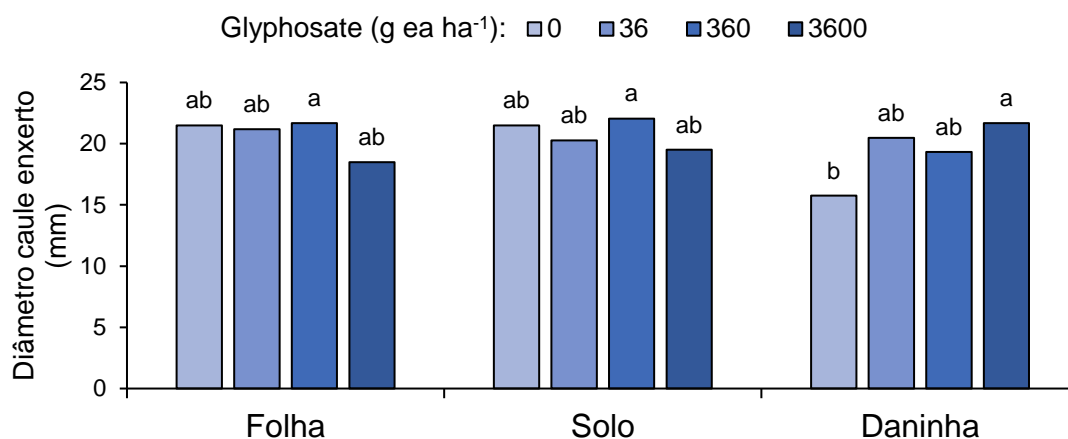
para a maior dosagem de herbicida glyphosate utilizada (3600 g ea ha<sup>-1</sup>). Já para os diâmetros do caule de porta enxertos da aplicação direcionada ao solo das plantas de citros, pode se dizer que não houve diferença estatística ao se fazer relação entre as diferentes doses de herbicida aplicadas (Figura 12).



**Figura 12.** Crescimento de parte aérea, diâmetro caule porta-enxerto (mm), em função dos diferentes locais de aplicação de glyphosate e diferentes doses (g ea ha<sup>-1</sup>) do mesmo aos 150 dias após aplicação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

No entanto, o mesmo não ocorre para os diâmetros de caule de porta enxertos em que a aplicação de glyphosate foi direcionada as plantas daninhas, sendo que, houve um melhor desenvolvimento desses, a partir do incremento da dose de glyphosate, controlando portanto, mais as plantas daninhas que competiam com as plantas de citros, permitindo um melhor desenvolvimento dessas na presença do herbicida (Figura 12).

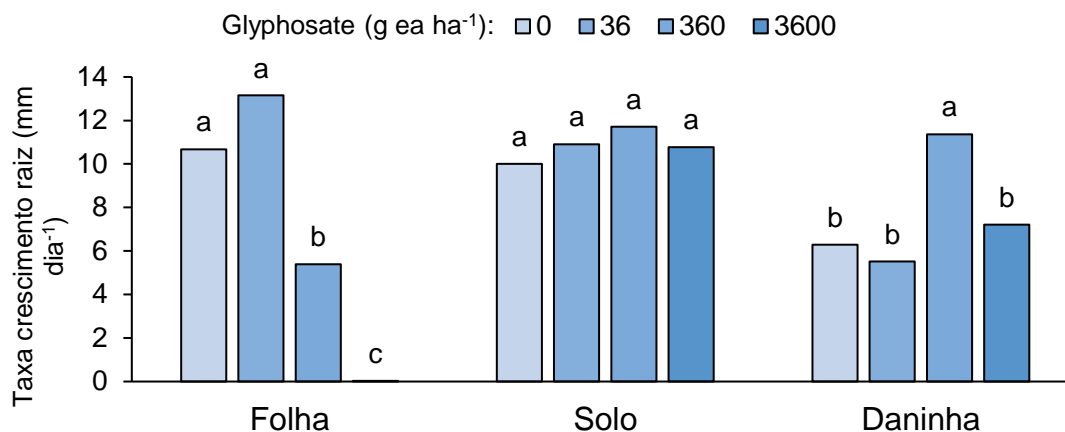
Para o diâmetro do caule do enxerto, em relação a aplicação direcionada as folhas das plantas de citros, pode se observar um declínio do diâmetro do caule na maior dose de aplicação do herbicida, no entanto, não teve diferença estatística entre as doses aplicadas (Figura 13). Já para a aplicação de glyphosate que foi direcionada ao solo, observa se que não houve um padrão em relação as doses e ao tamanho do diâmetro, não havendo diferença estatística entre elas.



**Figura 13.** Crescimento de parte aérea, diâmetro caule do enxerto (mm), em função dos diferentes locais de aplicação de glyphosate e diferentes doses (g ea ha<sup>-1</sup>) do mesmo aos 150 dias após aplicação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

Por sua vez, para a aplicação de glyphosate direcionada as plantas daninhas, pode se perceber diferença estatística entre as doses, em que a dose 0, apresenta diferença em relação a maior dose de herbicida (3600 g e a ha<sup>-1</sup>), uma vez que, onde houve o controle das plantas daninhas e o herbicida foi absorvido por elas, observou se melhor desenvolvimento do diâmetro do caule do enxerto (mm) (Figura 13).

Para o crescimento do sistema radicular houve diferença entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ; Figura 14). Para a aplicação dirigida as folhas das plantas de citros, com a maior dose de glyphosate (3600 g ea ha<sup>-1</sup>), a taxa de crescimento das raízes foi praticamente mínima, principalmente ao ser comparada com a taxa de crescimento das raízes nas demais doses. Para a aplicação de herbicida direcionada ao solo, não houve diferença estatística entre as doses e a quantidade de raízes presentes nelas foi bem semelhantes para todos os tratamentos.



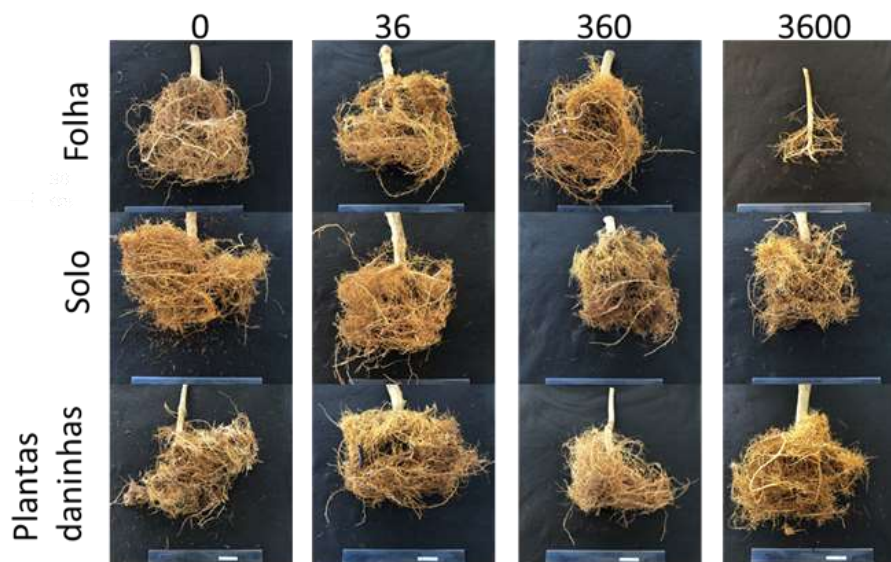
**Figura 14.** Taxa de crescimento das raízes (mm dia<sup>-1</sup>) (diferença entre a avaliação de 150 dias após aplicação #1 com a prévia(0DAA#1)) em função dos diferentes locais de aplicação e doses de glyphosate (g ea ha<sup>-1</sup>). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

Para a aplicação de glyphosate direcionada as plantas daninhas nos vasos de citros, a segunda maior dose (360 g ea ha<sup>-1</sup>) foi aquela em que houve melhor desenvolvimento das raízes das plantas de citros, o que pode estar relacionado com o fato do herbicida ter eliminado as plantas daninhas e permitido um melhor desenvolvimento da cultura do citros, o que não ocorre para a maior dose utilizada (3600 g ea ha<sup>-1</sup>), onde o próprio herbicida utilizado pode ter sido prejudicial ao desenvolvimento das raízes pela alta dose (Figura 14).

Portanto, há uma relação entre o uso do herbicida e suas diferentes doses em relação à fisiologia da planta, que tem seu desenvolvimento acometido pela translocação do glyphosate. Mesmo que, já seja de conhecimento que o herbicida transloca na folha e acomete os meristemas da cultura, a absorção de glyphosate no solo ainda é desconhecida, contudo, existem estudos que mostram resíduos do glyphosate e de seus produtos no solo, que podem explicar o mal desenvolvimento do sistema radicular mesmo quando a maior dose de herbicida foi utilizada para a aplicação nas folhas de citros (FUCHS et al., 2022).

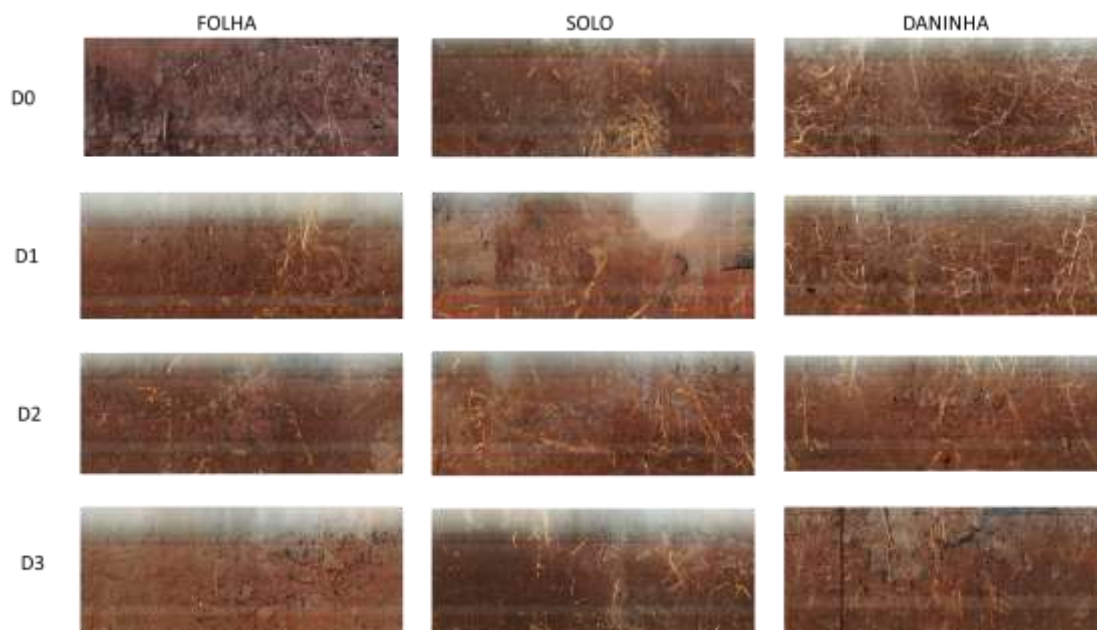
Ao término do experimento, ao analisar as fotos das raízes das plantas após serem lavadas e secas, pôde-se confirmar o que foi observado nos resultados obtidos (Figura 15). Notavelmente, quase não houve diferença entre os diversos tratamentos utilizados, com a maior discrepância sendo observada

na aplicação de glyphosate diretamente nas folhas, na dose mais elevada (3600 g ea ha<sup>-1</sup>), resultando no menor desenvolvimento da biomassa radicular (Figura 15).



**Figura 15.** Biomassa de raízes das plantas de citros, em relação aos diferentes locais de aplicação e as diferentes doses de glyphosate (g ea ha<sup>-1</sup>), ao fim do experimento (150 DAA).

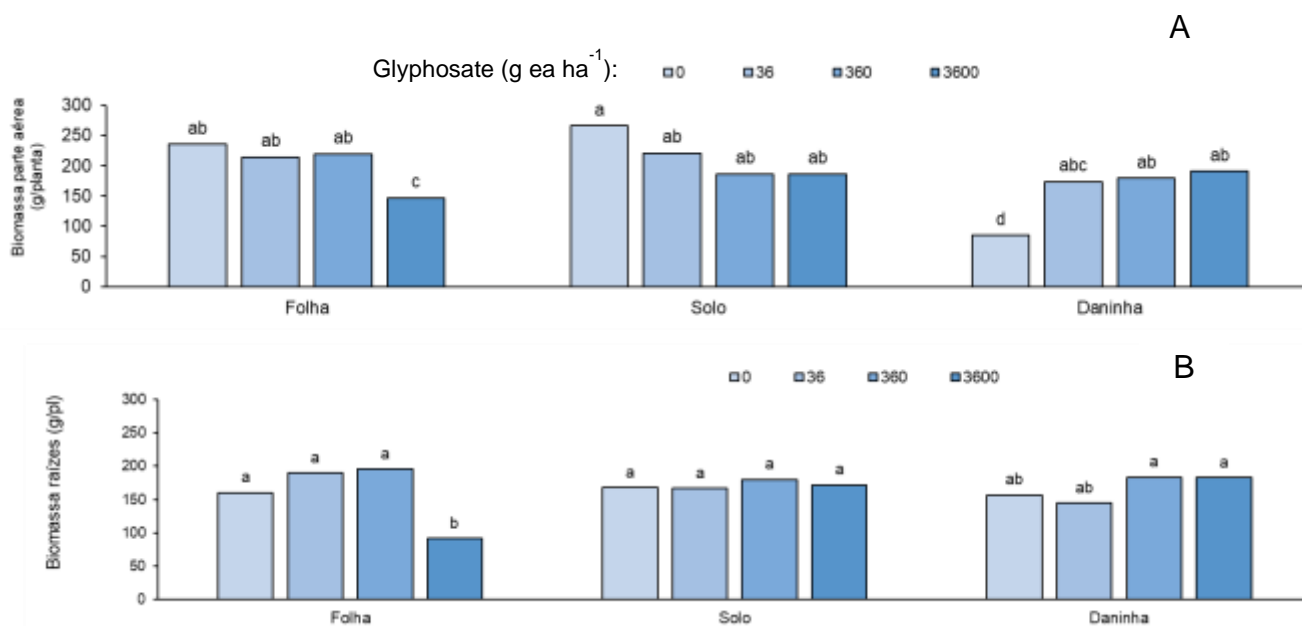
O mesmo, também foi visível para as imagens obtidas através do scanner de raízes “Root Scanner CI-600™” (CID Bio-Science Inc.) aos 150 DAA#1 (Figura 16).



**Figura 16.** Imagens das raízes obtidas através do scanner de raízes “Root Scanner CI-600™” (CID Bio-Science Inc.) aos 150 DAA em relação aos diferentes locais de aplicação e as diferentes doses de glyphosate ( $\text{g ea ha}^{-1}$ ).

Para a análise de acúmulo de biomassa, pode se observar como parâmetros a biomassa da parte aérea e a biomassa da raiz ( $p < 0,05$ ; Figura 17 A e B). Para a aplicação dirigida as folhas das plantas de citros, a biomassa da parte aérea teve um decréscimo com o aumento da dose de herbicida utilizada (Figura 17 A), e o mesmo ocorre para a biomassa de raiz, em que a maior dose de glyphosate remete a uma menor biomassa ( $\text{g MS planta}^{-1}$ ) de raízes observadas aos 150 dias após aplicação (Figura 17 B). Para a aplicação direcionada ao solo, por sua vez, pode se observar que há um decréscimo da biomassa da parte aérea, no entanto, ocorre uma estabilidade depois, e independentemente do aumento da dose de herbicida utilizada, não há mais interferência na biomassa da parte aérea. Para a biomassa de raiz, pode se dizer que não houve diferença entre os tratamentos utilizados (Figura 17 B).





**Figura 17.** (A) Biomassa de parte aérea e (B) biomassa de raiz (g MS planta<sup>-1</sup>), em relação aos diferentes locais de aplicação e as diferentes doses de glyphosate (g ea ha<sup>-1</sup>), ao fim do experimento (150 DAA). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pela diferença honestamente significativa do teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

Já para a aplicação de glyphosate direcionada as plantas daninhas, em relação a biomassa de parte aérea, pode se observar que, a uma determinada dose, há uma estabilidade e a dose utilizada faz com que se tenha uma boa relação entre uso do glyphosate para controle de plantas daninhas e biomassa de parte aérea (g MS planta<sup>-1</sup>) (Figura 17 A). No entanto, a relação aplicação de herbicida nas plantas daninhas e biomassa de raiz não apresenta resultados significativos, não havendo diferença entre os tratamentos (Figura 17 B).

A utilização do herbicida ao longo do experimento apresenta sua pior relação quando o contato direto do glyphosate ocorre com as folhas das plantas de citros. Nessa comparação, observa-se um desenvolvimento inferior da cultura em todos os parâmetros avaliados. Por outro lado, os tratamentos que envolviam a presença de plantas daninhas apresentaram os maiores resultados encontrados. Quanto à aplicação no solo, os resultados foram os menos expressivos entre os diferentes tratamentos analisados, além de que o tipo de

solo utilizado, sendo ele o arenoso ou o argiloso não exerceu nenhum tipo de influência. Essa constatação destaca a importância de avaliar criteriosamente os métodos de aplicação do herbicida e considerar os efeitos sobre a cultura e a presença de plantas indesejadas para um manejo adequado e eficaz nos pomares de citros.

Tudo isso, pode ser explicado pela translocação do glyphosate e de como o uso do herbicida, principalmente acima das doses recomendadas afeta a fisiologia da planta, como por exemplo pela inibição de três aminoácidos que são essenciais para a síntese de proteínas e divisão celular nas regiões meristemáticas da planta (HERRMANN, 1995).

## 6. CONCLUSÃO

Com as condições deste trabalho, conclui-se que há diferenças significativas entre os locais de aplicação de glyphosate e as doses de herbicida utilizadas. Houve acúmulo de chiquimato ao longo do tempo. Os menores resultados em relação ao desenvolvimento da cultura foram observados quando a via de contato direta do herbicida, principalmente em suas maiores doses (360 e 3600 g ea ha<sup>-1</sup>), foram as folhas das plantas de citros, no entanto, onde as aplicações foram direcionadas as plantas daninhas obtiveram os maiores resultados. A aplicação direcionada ao solo, por sua vez, apresentou resultados insignificantes, independentemente da dose utilizada, e o tipo de solo utilizado, argiloso ou arenoso, não exerceu nenhum tipo de influência.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R., AMARAL, G. S., OLIVEIRA, G. M., RUFINO, L. R., AZEVEDO, F. A., CARVALHO, L. B. e SILVA M. F. G. F. Glyphosate Resistance in *Amaranthus viridis* in Brazilian Citrus Orchards. **Agriculture**, v. 10, n. 7, p. 304, 2020.

ALCANTARA-DE LA CRUZ, Ricardo et al. Mecanismos de locais alvo e não-alvo desenvolvidos por populações de mendigos peludos (*Bidens pilosa* L.) resistentes ao glifosato do México. **Fronteiras na ciência das plantas**, v. 7, p. 1492, 2016.

AZEVEDO, F. A., ROSSETO, M. P., SCHINOR, E. H., MARTELLI, I. B. e PACHECO, C. A. Influence of inter-rows management in Sweet Orange 'Pera' productivity. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v 34, n 1, p 134-142, 2012.

BAKER, H.G. Some aspects of the natural history of seed banks. In Leck, M. A. Parker, V. T. e Simpson, R. L (Eds.), **Ecology of soil seed banks**, p. 5-19, 1989.

BATES, D. et al. Fitting linear mixed-effects models using lme4. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, p. 1-48, 2015.

BLANCO, H.G. & OLIVEIRA, D.A. Estudos dos efeitos da época de controle do mato sobre a produção de citrus e a decomposição da flora daninha. **Arq Inst Biol**, v. 45, p. 25-36, 1978.

CHIAVEGATO, L. G. Biologia do ácaro *Brevipalpus phoenicis* em citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 21, n. 8, p. 813-816, 1986.

CHRISTOFFOLETI, P. J., NICOLAI, M., LÓPEZ-OVEJERO, R. F., BORGATO, E. A., NETTO, A. G., E DE MELO, M.S.C. Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas: Termos e Definições Importantes. In P. J. Christoffoleti e M. Nicolai (4ed.), **Aspectos de Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas**, p.11-32, 2016.

DA ROCHA PINHO, L. G., BARRETO, H. X. M., BITENCOURT, L. L., CHISTÉ, L., & MERCIER, B. M. M. B. M. (2021). REVERSÃO DA FITOTOXIDEZ POR GLIFOSATO COM APLICAÇÃO DE AMINOÁCIDOS EM MUDAS DE CAFÉ

CONILON (*Coffea canephora* P.) CLONE LB. 1 DEMUNER. **Revista Ifes Ciência**, v. 7, n. 1, p. 01-11, 2021.

FUCHS, B., LAIHONEN, M., MUOLA, A., SAIKKONEN, K., DOBREV, P. I., VANKOVA, R., & HELANDER, M. A glyphosate-based herbicide in soil differentially affects hormonal homeostasis and performance of non-target crop plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 787958, 2022.

GRAVENA, R., VITÓRIA FILHO, R., ALVES, L.C.A, MAZZAFERA, P. & GRAVENA, A.R. Low glyphosate rates do not affect *Citrus limonia* (L.) Osbeck. **Pest Management Science: anteriormente Pesticide Science**, v. 65, n. 4, p 420–425, 2009.

GRAVENA, R., VITÓRIA FILHO, R., ALVES, L.C.A, MAZZAFERA, P. & GRAVENA, A.R. Glyphosate has low toxicity to citrus plants growing in the field. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 92, n. 1, p. 119-127, 2012.

HASLAM, E. Shikimic Acid: Metabolism and Metabolites. **(No title)**, 1993.

HEAP, Ian. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Disponível em: [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org), 2010. Acessado em: 31 de julho, 2021.

HERRMANN, Klaus.M. The Shikimate Pathway: Early Steps in the Biosynthesis of Aromatic Compounds. **The Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 907-919, 1995.

HOTHORN, T., BRETZ, F., WESTFALL, P., HEIBERGER, R. M., SCHUETZENMEISTER, A., SCHEIBE, S., & HOTHORN, M. T. Package 'multcomp'. **Simultaneous inference in general parametric models. Project for Statistical Computing, Vienna, Austria**, 2016.

KUZNETSOVA, Alexandra; BROCKHOFF, Per B.; CHRISTENSEN, Rune HB. Pacote lmerTest: testes em modelos lineares de efeitos mistos. **Jornal de software estatístico**, v. 82, p. 1-26, 2017.

LENTH, R., SINGMANN, H., LOVE, J., BUERKNER, P. & HERVE, M. Emmeans: estimated marginal means, aka least-squares means. **R Package Version**, v. 1, n. 1, p. 3, 2018.

MAEDA, H. e DUDAREVA, N. The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 73-105, 2012.

MARTINELLI, R., MONQUERO, P., FONTANETTI, A., CONCEIÇÃO, P. & AZEVEDO, F. Ecological Mowing: An Option for Sustainable Weed Management in Young Citrus Orchards. **Weed Technology**, v. 31, n. 2, p. 260-268, 2017.

MARTINELLI, R., RUFINO JR, LR, DE MELO, AC, ALCANTARA-DE LA CRUZ, R., DA SILVA, JR, BOARETTO, RM, ... & DE AZEVEDO, FA. O uso excessivo de glifosato interrompe cronicamente a via do chiquimato e pode afetar a fotossíntese e a produtividade das árvores cítricas. **Chemosphere**, v. 308, p. 136468, 2022.

MARTINELLI, R., RUFINO, L.R., ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R., DA CONCEIÇÃO, P M., MONQUERO, P. A., DE AZEVEDO, F.A. Glyphosate Excessive Use Affects Citrus Growth and Yield: The Vicious (and Unsustainable) Circle in Brazilian Orchards. **Agronomy**, v. 12, n. 2, p. 453, 2022.

MATALLO, M.B., ALMEIDA, S.D.B., CERDEIRA, A.L., FRANCO, D.A.S., LUCHINI, L.C., MOURA M.A.M. & DUKE, S.O. Monitoramento do ácido chiquímico no manejo de plantas daninhas com glifosato em pomar comercial de citros. **Arq. Inst. Biol**, v, 77, p. 355-358, 2010.

MATHEIS, H. A. S. M., DE AZEVEDO, F. A., & Victória Filho, R. Adubação verde no manejo de plantas daninhas na cultura de citros. **Citrus Research & Technology**, v. 27, n. 1, p. 0-0, 2020.

MONACO, T. J., WELLER, S. C. E ASHTON, F. M. **Weed science: principles and practices**. 4.ed. John Wiley e Sons, 1991.

MONQUERO, P.A. Dinâmica populacional e mecanismos de tolerância de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, p. 99, 2003.

MONQUERO, P.A. e SILVA, A. Levantamento fitossociológico e banco de sementes das comunidades infestantes em áreas com culturas perenes. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 29, n. 3, p. 315-321, 2007.

MYERS, J. P., ANTONIOU, M. N., BLUMBERG, B., CARROLL, L., COLBORN, T., EVERETT, L. G. & VANDENBERG, L. N. Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. **Environmental Health**, v. 15, n. 1, p. 1-13, 2016.

NEUMANN, G., KHOLLS, S., LANDSBERG, E., STOCK-OLIVEIRA SOUZA, K. e YAMADA, T. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 20, p. 963-969, 2006.

NORSWORTHY, J. K., KORRES, N. E. e BAGAVATHIANNAN, M. V. Weed seedbank management: Revisiting how herbicides are evaluated. **Weed Science**, v. 66, n. 4, p. 415-417, 2008.

SINGH, B.K. & SHANER, D.L. Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate-resistant plants. **Weed Technology**, v. 12, p. 527-530, 1998.

SMIT, A. L., GEORGE, E. & GROENWOLD, J. Root observations and measurements at (transparent) interfaces with soil. In A. L. Smit, A. G. Bengough, C. Engels, M. Van Noordwijk, S. Pellerin, & S. C. Van De Geijn (Eds.), **Root methods: a handbook**, p. 235-271, 2000.

TESFAMARIAM, T., BOTT, S., CAKMAK, I., RÖMHELD, V. e NEUMANN, G. Glyphosate in the rhizosphere - Role of waiting times and different glyphosate binding forms in soils for phytotoxicity to non-target plants. **European Journal of Agronomy**, v. 31, n. 3, p. 126-132, 2009.

TOTH, J. & MORRISON, G. Glyphosate drift damages fruit trees. **Agricultural Gazette of New South Wales**, v. 88, p. 44-45, 1977.

TUCKER, D. P. H. Glyphosate injury symptom expression in citrus. **HortScience**, v. 12, p. 498-500, 1977.

VANELLA, G., SALYANI, M., BALSARI, P., FUTCH, S. H., e SWEEB, R. D. A method for assessing drift potential of a citrus herbicide applicator. **HortTechnology**, v. 21, n. 6, p. 745-751, 2011.

VOLL, E., GAZZIERO, D. L. P. e KARAN, D. Dinâmica de populações de *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchic. Sob manejos de solo e de herbicidas. I. Sobrevivência. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, p. 1387-1396, 1995.