



## Efeito do Glifosato no cultivo *in vitro* de *Cattleya nobilior* Rchb. F<sup>1</sup>

Douglas Junior Bertonecelli<sup>2\*</sup>, Guilherme Augusto Cito Alves<sup>2</sup>, Felipe Favoretto Furlan<sup>2</sup>,  
Gustavo Henrique Freiria<sup>2</sup>, Jose Henrique Bizarri Bazzo<sup>2</sup>, Ricardo Tadeu de Faria<sup>2</sup>

10.1590/0034-737X201865020008

### RESUMO

Dentre as técnicas utilizadas pela biotecnologia para multiplicação de mudas de orquídea, o cultivo *in vitro* destaca-se pelo elevado potencial de produção de novas plântulas. A presença de algumas substâncias químicas utilizadas no meio de cultura, dependendo da concentração, pode favorecer ou não o crescimento e o desenvolvimento da planta. Diante do exposto, objetivou-se, com este trabalho, avaliar o efeito do glifosato no cultivo *in vitro* da orquídea *Cattleya nobilior* Rchb. F. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e dez repetições. Os tratamentos foram constituídos de seis concentrações de glifosato (0,0; 8,5; 17,0; 25,5; 34,0 e 42,5 mg L<sup>-1</sup> e.a.), acrescidas ao meio de cultura MS modificado, com metade das concentrações de macronutrientes. As plântulas submetidas às diferentes concentrações de glifosato foram obtidas de sementes germinadas *in vitro*. As avaliações de comprimento e de biomassas secas de parte aérea e de raízes, de número de folhas, de comprimento da folha, de largura da folha, do número de brotos dos teores de clorofilas a, b e de carotenoides foram realizadas 200 dias após o transplântio das plântulas. Dentre os componentes fitométricos analisados, apenas o comprimento, a biomassa seca de raízes e o teor de carotenoides diminuíram com o incremento das doses do herbicida glifosato. Baixas concentrações de glifosato adicionadas ao meio de cultura resultam em efeito hormese, com aumento do crescimento da parte aérea de *Cattleya nobilior* Rchb. F.

**Palavras-chave:** hormese; micropropagação; Orchidaceae.

### ABSTRACT

#### Effect of Glyphosate on *in vitro* culture of *Cattleya nobilior* Rchb. F

Among the techniques used by biotechnology for multiplication of orchid seedlings, the *in vitro* cultivation stands out due to the high production potential of new seedlings. The presence of some chemical substances used in the culture medium, depending on the concentration, may or may not favor the growth and development of the plant. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of glyphosate on the *in vitro* cultivation of the orchid *Cattleya nobilior* Rchb. F. The experimental design was completely randomized, with six treatments and ten replications. The treatments consisted of six concentrations of glyphosate (0.0, 8.5, 17.0, 25.5, 34.0, and 42.5 mg L<sup>-1</sup> a.i.), added to the modified MS culture medium with half the concentrations of macronutrients. Seedlings subjected to different glyphosate concentrations were obtained from seeds germinated *in vitro*. The length and dry biomass measurements of the shoot and root, number of leaves, leaf length, leaf width, number of shoots, chlorophyll a, b, and carotenoid contents were performed 200 days after transplanting of the seedlings. Among the phytometric components analyzed, only the length and dry biomass of root and the carotenoid content decreased with increasing doses of the glyphosate herbicide. Low concentrations of glyphosate added to the culture medium result in hormese effect, with increased growth of *Cattleya nobilior* Rchb. F. shoot.

**Keywords:** hormone; micropropagation; Orchidaceae.

Submetido em 19/07/2017 e aprovado em 23/03/2018.

<sup>1</sup> Este trabalho não é parte de tese de doutorado nem dissertação de mestrado

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Agronomia, Londrina, Paraná, Brasil. dj\_bertoncelli@hotmail.com; guilhermecito@hotmail.com; ffavorettofurlan@gmail.com; gustavo-freiria@hotmail.com; agrobazzo@gmail.com; faria@uel.edu.br

\* Autor para correspondência: dj\_bertoncelli@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae, uma das maiores famílias do reino vegetal, representa o grupo de plantas mais evoluído da ordem Liliiflorae, com aproximadamente 30.000 espécies (Cronquist 1981). O gênero *Cattleya* engloba cerca de 70 espécies e inúmeros híbridos naturais, além de milhares de híbridos artificiais por todo o planeta (Takane *et al.*, 2010).

As *Cattleyas* são encontradas exclusivamente nas Américas Central e do Sul, são consideradas as “rainhas das orquídeas”, por suas flores vistosas, grandes e coloridas, além de apresentarem elevada adaptação a diferentes ambientes (Benzing *et al.* 1982). São cultivadas como plantas ornamentais, pela beleza de suas flores, no mundo inteiro, apresentando extensa importância econômica (Sorace *et al.*, 2009). Dentre as várias espécies, a *Cattleya nobilior* Rchb. F., nativa do Brasil Central, apresenta flores de até 15 cm de diâmetro e cores que variam de branco a roxo-rosado (Watanabe, 2002).

A produção de mudas de orquídeas pode ser realizada por meio de divisão de touceira de plantas adultas, estaquia e sementes. Essas técnicas, entretanto, são consideradas lentas e onerosas, por causa da baixa velocidade de crescimento, do desenvolvimento vegetativo das plantas e da reduzida percentagem de germinação das sementes, o que inviabiliza a multiplicação em larga escala de mudas para a comercialização (Faria *et al.*, 2006).

Uma técnica muito utilizada para contornar esse problema é o cultivo *in vitro*, que torna o processo de multiplicação de orquídeas viável (Stancato & Faria, 1996). Essa estratégia vem sendo utilizada no Brasil, pelos produtores de orquídeas, há mais de 30 anos, o que resultou no aumento da produção de mudas, com elevada qualidade genética e menor custo (Faria *et al.*, 2006).

Dentre os fatores que favorecem a morfogênese *in vitro*, destacam-se os reguladores de crescimento e outras substâncias químicas que induzem à citocinese, causando alterações na taxa metabólica, na atividade enzimática, na indução e na formação de órgãos, na quebra de dominância apical, na mobilização de nutrientes orgânicos e inorgânicos e no aumento da longevidade de tecidos e órgãos (Oliveira *et al.*, 2007). Normalmente, essas substâncias que induzem a embriogênese são utilizadas em baixas concentrações, pois podem apresentar toxicidade quando em excesso.

Segundo Calabrese & Baldwin (2001), quando um elemento considerado tóxico sobre uma determinada característica biológica apresenta efeito estimulatório, em baixas concentrações, porém com efeito inibitório em altas doses, isso é conhecido como efeito hormese. Os mesmos autores relatam que esse conceito foi, originalmente, definido por apresentar um comportamento bifásico, pelo qual

uma característica biológica é estimulada por subdoses ou baixas doses de um composto e inibida por altas doses dele.

Dentro dessa linha de estudo, têm sido realizadas muitas pesquisas com herbicidas, vários dos quais foram desenvolvidos inicialmente como reguladores de crescimento, comprovando a hipótese do efeito hormese. Como exemplos, tem-se o 2,4-D, originalmente desenvolvido como auxina e que, em doses elevadas, apresenta efeito herbicida (Mousdale & Coggins 1991), e o glifosato, cujo antecessor, o glyphosine, ainda é utilizado como regulador de crescimento, em vários países (Halter, 2009).

Estudo realizado por Godoy (2007) revela que o uso de glifosato em pequenas doses pode estimular os ganhos de massa seca; de tirosina e de carotenoides e aumentam a absorção de fósforo em plantas de soja. Trabalhos realizados com diversas culturas evidenciam o efeito hormese do glifosato, como o crescimento das partes aérea e radicular de *Commelina benghalensis* (Meschede *et al.*, 2007), aumento de matéria verde em milho (Wagner *et al.*, 2003), crescimento inicial em cana-de-açúcar (Silva *et al.*, 2009) e teor de fósforo em folhas de eucalipto (Carbonari *et al.*, 2007).

Por essas razões, objetivou-se, com este trabalho, avaliar o efeito do glifosato no cultivo *in vitro* da orquídea brasileira *Cattleya nobilior* Rchb. F.

## MATERIAL DE MÉTODOS

As plântulas de *Cattleya nobilior* Rchb. F. foram obtidas de sementes germinadas, *in vitro*, em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) modificado, com a metade da concentração de macronutrientes. As sementes utilizadas foram colhidas de cápsulas maduras, provenientes da autopolinização de plantas cultivadas em estufa, localizada a 23°19'42" S, 51°12'11" O, em altitude de 594 m.

Após sessenta dias da realização da semeadura, as plântulas em estágio de protocormo foram subcultivadas em meio de cultura MS modificado, com a metade da concentração dos macronutrientes, acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 7,5 g L<sup>-1</sup> de ágar, com pH ajustado para 5,8 (± 0,2), antes da adição do ágar. Posteriormente, o meio de cultura foi autoclavado em temperatura de 120 °C e pressão de 1,05 Kg cm<sup>-2</sup>, durante 20 minutos. Após autoclavagem o meio foi vertido, sob câmara de fluxo laminar, em frascos de vidro de 250 mL, esterilizados, com cada frasco recebendo 50 mL do meio de cultura.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos e dez repetições. Os tratamentos constaram de seis concentrações de glifosato - glifosato atano 48® (0,0; 8,5; 17,0; 25,5; 34,0 e 42,5 mg L<sup>-1</sup> e.a.) acrescidas ao meio de cultura MS modificado com metade da concentração dos macronutrientes,

sendo que essas concentrações foram baseadas em uma redução de cem vezes a dose comercial. Cada repetição foi formada por um frasco com cinco plântulas. O herbicida adicionado ao meio de cultura foi esterilizado por meio de filtração em membrana millipor (0,45 µm). Após o transplântio das plântulas no meio de cultura, os frascos foram mantidos em sala de crescimento, à temperatura de 25 °C (± 2 °C), sob fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de 25 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Aos 200 dias após o transplântio das plântulas, foram avaliadas as seguintes características fitométricas: comprimento de parte aérea (cm): determinado pela distância do colo da planta até a extremidade superior da maior folha; comprimento de raiz (cm): determinada pela distância do colo da planta até a extremidade da maior raiz; número de folhas: determinado pela contagem de folhas por planta; número de brotos: determinado pela contagem do número de brotos por planta; comprimento da folha (cm): determinado a partir da maior folha, sendo considerada a distância da inserção da folha até a sua extremidade; largura da folha (cm): determinada na maior folha com paquímetro digital; biomassa seca de parte aérea (g): determinada por meio da secagem em estufa com ventilação forçada a 60 °C; biomassa seca de raízes (g): determinada por secagem em estufa com ventilação forçada, a 60 °C.

Os teores de clorofila a, b e carotenoides foram determinados seguindo metodologia descrita por Meschede *et al.* (2011), em que amostras de 0,2 g de tecido foliar fresco foram colocadas em tubos com tampa, contendo 10 mL de acetona 100% (v/v). Os extratos foram filtrados, sendo as leituras realizadas em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 663, 645 e 434 nm para clorofilas a, b e para carotenoides respectivamente. As determinações dos níveis de clorofila (mg gm<sup>-1</sup>) basearam-se nas equações descritas por Whitham *et al.* (1971): clorofila a = (11,24 x A<sub>663</sub> - 2,04 x A<sub>645</sub>), clorofila b = (20,13 x A<sub>645</sub> - 4,19 x A<sub>663</sub>) e carotenoides = (1000 x A<sub>434</sub> - 1,90 Clorofila a - 63,14 Clorofila b)/214, em que A é a absorvância no comprimento de onda indicado.

Os dados foram submetidos aos pressupostos paramétricos de normalidade e homocedasticidade de resíduos, pelos testes de Shapiro-Wilk e Hartley (R Core Team, 2012), respectivamente e, posteriormente, à análise de variância. Apresentando significância, os dados foram submetidos à análise de regressão, a 5% de probabilidade de erro utilizando-se o *software* R (R Core Team, 2012). Também foi estimada a correlação de Pearson entre as características avaliadas, e feita a análise de componentes principais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de comprimento de parte aérea ajustaram-se a uma equação quadrática, com ponto de máxima em 10,71

mg L<sup>-1</sup> e.a. de glifosato (Figura 1 A). Carbonari *et al.* (2007), estudando os efeitos da aplicação de glifosato no crescimento inicial de mudas de eucalipto, verificaram que baixas concentrações do herbicida (18 mg a 36 mg L<sup>-1</sup> do i.a.) influenciaram positivamente o crescimento das plantas, com aumento da área foliar e da biomassa fresca.

Estudando o efeito de baixas concentrações de glifosato nos cultivares de soja BRS 232 (susceptível ao glifosato) e BRS 243 (resistente ao glifosato), Godoy (2007) verificou que as concentrações de 18 a 180 g L<sup>-1</sup> do i.a. do glifosato estimularam o crescimento das plantas. Silva *et al.*, (2009) obtiveram resultados positivos com a utilização da concentração de 9 mg L<sup>-1</sup> do i.a. do glifosato sobre as características de crescimento e de desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar variedade SP80-1842.

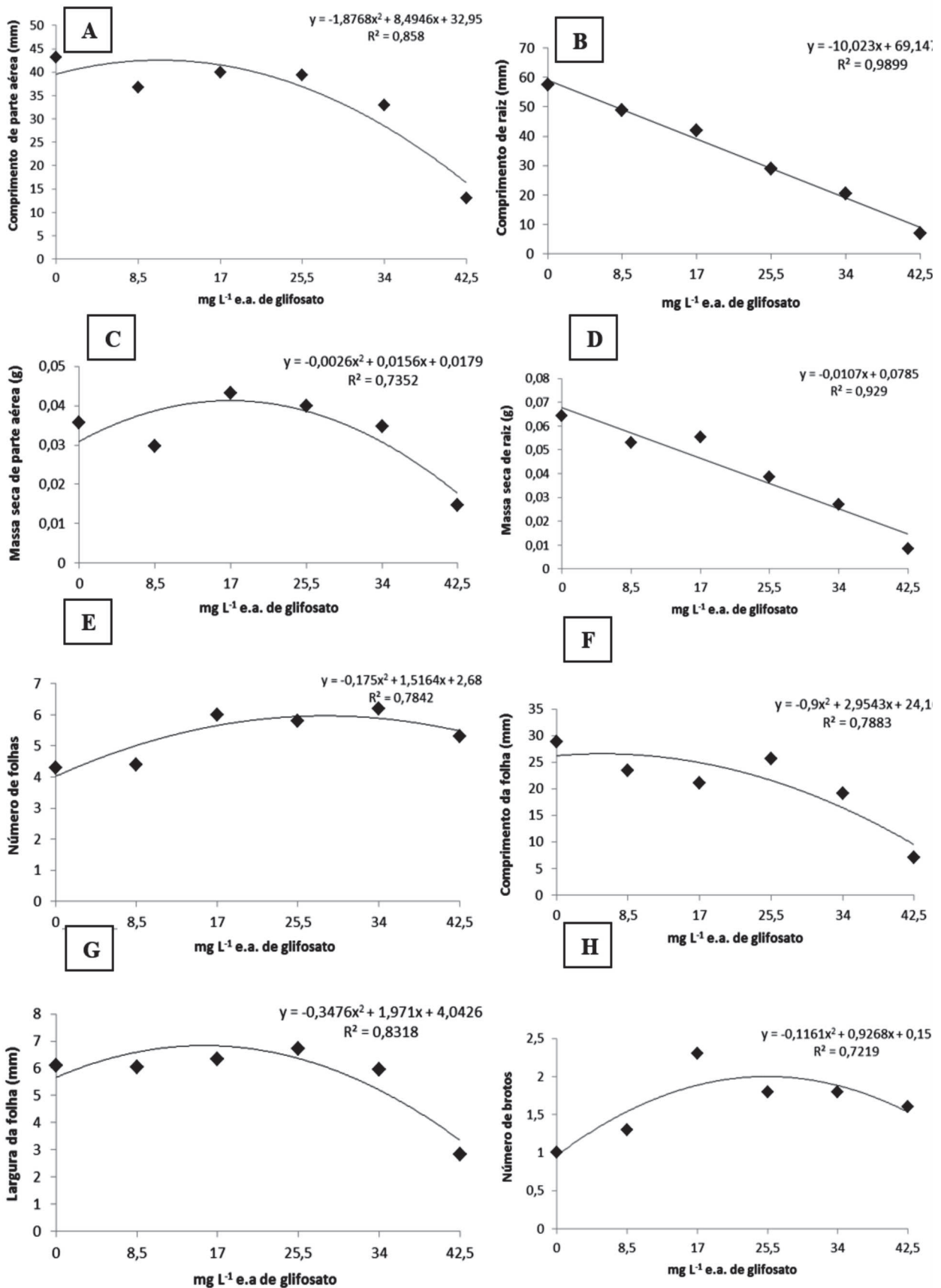
O glifosato atua no metabolismo das plantas por meio da inibição da via do ácido chiquímico, rota responsável pela produção dos precursores da lignina (Schmidt, 1997). A menor síntese de lignina resulta em paredes celulares mais elásticas, o que resulta em maior crescimento longitudinal (Duke *et al.*, 2006). Essa hipótese é confirmada, pela ausência de estímulo de crescimento, em qualquer concentração do herbicida aplicada sobre a soja resistente ao glyphosate, a qual é insensível à enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), não afetando assim a rota do ácido chiquímico (Cedergreen & Olesen, 2010).

Com relação aos dados de comprimento de raiz, observou-se que essa variável apresentou redução linear com o incremento da concentração de glifosato em meio de cultura (Figura 1 B). Isso pode estar relacionado com uma possível redução da produção e da translocação de auxina para as raízes, além de menor teor de giberelinas, causado pelo glifosato.

Sabe-se que a biossíntese de ácido indolacético (AIA) é inibida pela ação do glifosato, pois essa molécula interrompe a produção de corismato e de triptofano, importantes precursores desse fitormônio (Taiz & Zeiger, 2013). O glifosato afeta ainda o AIA, por meio do aumento da oxidação desse hormônio, processo decorrente do bloqueio da formação de compostos fenólicos, os quais são inibidores da enzima AIA-oxidase, o que resulta em menor nível de AIA livre nos tecidos (Yamada & Castro, 2007), além de restringir o transporte basípeto da auxina (Baur, 1979).

O decréscimo da quantidade de auxina na planta influencia negativamente a concentração de ácido giberélico nos tecidos vegetais, já que a auxina está envolvida na biossíntese da giberelina (Ross & O'Neil, 2001). Este fato, provavelmente, também pode ter interferido na redução do comprimento de raiz.

Porém, a redução do crescimento de raiz pelo uso do glifosato pode não causar efeito negativo sobre a aclimatização das mudas, pois, segundo Mayer *et al.*



**Figura 1:** Comprimento de parte aérea (A), comprimento de raiz (B), massa seca de parte aérea (C), massa seca de raízes (D), número de folhas (E), comprimento de folhas (F), largura de folhas (G) e número de brotos (H) de plântulas de *Cattleya nobilior* Rchb. F. submetidas à adição de glifosato em meio de cultura ½ MS semissólido, 200 dias após o transplantio.

(2008), raízes de plantas cultivadas *in vitro* são fracas e pouco funcionais, uma vez que seu diâmetro e seu sistema vascular são reduzidos, sendo que, no momento em que essas plantas são aclimatizadas, novas raízes são formadas e as formadas no cultivo *in vitro* cessam o crescimento, sendo pouco eficientes. Pierik (1990), estudando o cultivo *in vitro* de plantas superiores, também observou que as raízes provenientes do cultivo *in vitro* são fracas e pouco funcionais. Mayer *et al.* (2008), estudando a anatomia de raízes da orquídea *Cymbidium* Hort., cultivadas *in vitro* e *ex vitro*, concluíram que as estruturas das plantas *in vitro* não influenciam a sobrevivência durante a aclimatização.

Os dados de massa seca de parte aérea adequaram-se a uma função quadrática, com ponto de máxima em 17,00 mg L<sup>-1</sup> e.a. de glifosato (Figura 1C). Esse resultado indica o efeito hormese do glifosato, em baixas concentrações, no desenvolvimento inicial de *C. nobilior*. O maior desenvolvimento da parte aérea pode estar relacionado com o fato de que baixas doses de glifosato possivelmente aumentam a condutância estomática (Carvalho & Alves, 2011), o que favorece a fixação de carbono (Cedergreen & Olesen, 2010) e o conseqüente aumento de massa.

Os dados de incremento de massa seca de parte aérea podem também estar vinculados ao fato de o glifosato, quando utilizado em baixas concentrações, promover a paralisação parcial da enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintetase (EPSPS), levando a planta a um acúmulo de chiquimato e de ácido quínico nos vacúolos, o que resulta em perda do controle de retroalimentação do fluxo de carbono na rota do chiquimato, sendo essa rota responsável por aproximadamente 35 e 20% da matéria seca da planta e do carbono fixado pela fotossíntese (Kruse *et al.*, 2000), respectivamente.

Yoshida (1969) afirma haver relação linear positiva entre o crescimento vegetal e o teor de ácido quínico em plantas, pois, em seu estudo, foi verificado o estiolamento em mudas de feijão e de trigo, e indução de brotação de coníferas, quando a concentração desse ácido foi máxima, o que permite concluir que o ácido quínico e o ácido chiquímico são ativamente metabolizados durante o crescimento das plantas.

Velini *et al.* (2008) observaram que a aplicação de baixas concentrações de glifosato bloqueou parcialmente a produção da enzima EPSPS, o que estimulou o crescimento de eucalipto, pinus, milho e soja convencional. Meschede *et al.* (2011) também relatam que a aplicação de baixas concentrações de glifosato em eucalipto reduziu a atividade da enzima EPSPS, o que elevou a concentração de ácido chiquímico, implicando maior taxa de crescimento de plantas jovens.

Os dados de massa seca de raiz ajustaram-se a uma função linear decrescente, em resposta ao aumento da

concentração do glifosato no meio de cultura (Figura 1D). A redução dessa característica ocorreu, possivelmente, pelo efeito do glifosato sobre o AIA, que pode ter diminuído o teor desse fitormônio na plântula, acarretando queda da massa da raiz, já que a auxina é responsável pelo desenvolvimento das raízes (Taiz & Zeiger, 2013). Esse mesmo fato ocorreu com a variável comprimento de raízes (Figura 1B), o que sugere que a redução do ritmo do alongamento das raízes pode ter influenciado negativamente sua massa seca.

Os dados de número de folhas adequaram-se a uma equação quadrática com ponto de máxima em 28,24 mg L<sup>-1</sup> e.a. de glifosato (Figura 1E). Esse resultado está possivelmente relacionado com a baixa relação entre os fitormônios auxina/citocinina, pela aplicação do glifosato, o qual inibe a formação de AIA. Neste sentido, a maior proporção de citocinina encontrada nos tecidos vegetais, estimula o desenvolvimento das gemas laterais, o que eleva o número de folhas.

Os dados de comprimento de folha adequaram-se a uma função quadrática, com ponto de máxima em 5,44 mg L<sup>-1</sup> e.a. de glifosato (Figura 1F). Os de largura da folha ajustaram-se a uma função quadrática, com ponto de máxima em 15,60 mg L<sup>-1</sup> e.a. de glifosato (Figura 1G). O aumento da expansão foliar nas menores concentrações de glifosato pode estar relacionado com o maior acúmulo de massa seca de parte aérea (Figura 1C), que também aumentou por causa do efeito hormese do herbicida.

De acordo com Pincelli-Souza (2014), a aplicação de subdoses de glifosato em cana-de-açúcar não bloqueia completamente a ação da enzima EPSPS, além de não inibir totalmente a rota do chiquimato, a qual é precursora da síntese do ácido indolacético (AIA), responsável pela expansão celular, além de estar também relacionado com a síntese de giberelinas, ou seja, a planta ainda pode ser estimulada à promover expansão e alongação celular. Esses incrementos validam a teoria de efeito de dose-resposta, como descrito por Velini *et al.* (2008), que relatam a ocorrência de estímulos ao crescimento vegetal, quando o herbicida glifosato é aplicado em baixas doses (variando de 9 a 180 mg e.a. L<sup>-1</sup>), e a redução do crescimento, quando aplicadas concentrações mais elevadas.

Os dados de número de brotos adequaram-se a uma equação quadrática com ponto de máxima em 25,41 mg L<sup>-1</sup> e.a. de glifosato (Figura 1H). Assim, como para o número de folhas (Figura 1E), acredita-se que este fato pode estar relacionado com a menor relação auxina/citocinina, o que estimula o desenvolvimento de gemas laterais. Segundo Velini *et al.* (2012), alterações na atividade da enzima EPSPs, pela aplicação de glifosato, como maturador, em cana-de-açúcar, pode resultar em efeito secundário, com quebra da dominância apical e com brotação de gemas laterais.

Outra hipótese para o aumento do número de brotações em baixas concentrações de glifosato pode estar relacionada com o fato de a aplicação do herbicida aumentar a absorção de fósforo, elemento que está diretamente ligado à divisão celular.

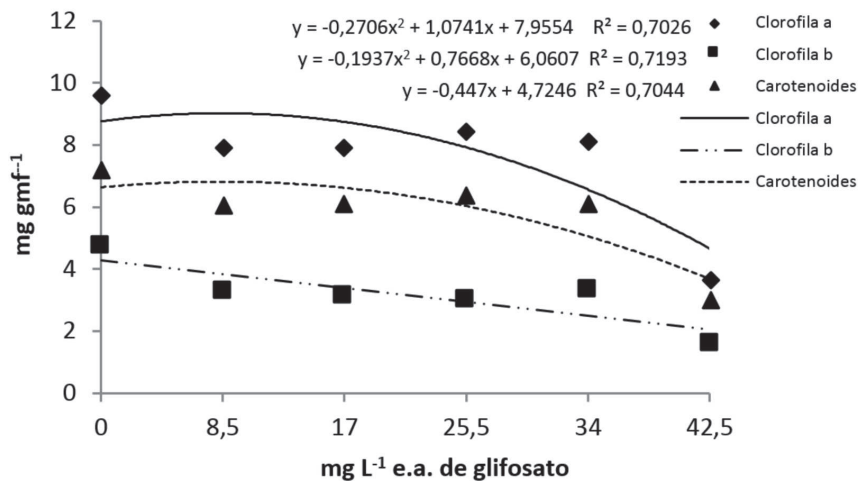
Algumas pesquisas já comprovaram que a aplicação de subdoses de glifosato causa a indução de genes responsáveis pelo transporte de fósforo para o interior das células vegetais (Carbonari *et al.*, 2007; Godoy, 2007). Segundo Tomaz (2009), a aplicação de baixas concentrações de glifosato aumenta o número de perfilhos em cana-de-açúcar, sendo esse resultado atribuído ao incremento do teor de fósforo na planta.

Os dados de teor de clorofila b ajustaram-se a uma função linear decrescente, em resposta ao incremento da concentração do glifosato em meio de cultura; já os teores de clorofila a e de carotenoides adequaram-se a equações quadráticas, com ponto de máxima em 8,33 e 8,32 mg L<sup>-1</sup> e.a. de glifosato, respectivamente (Figura 2).

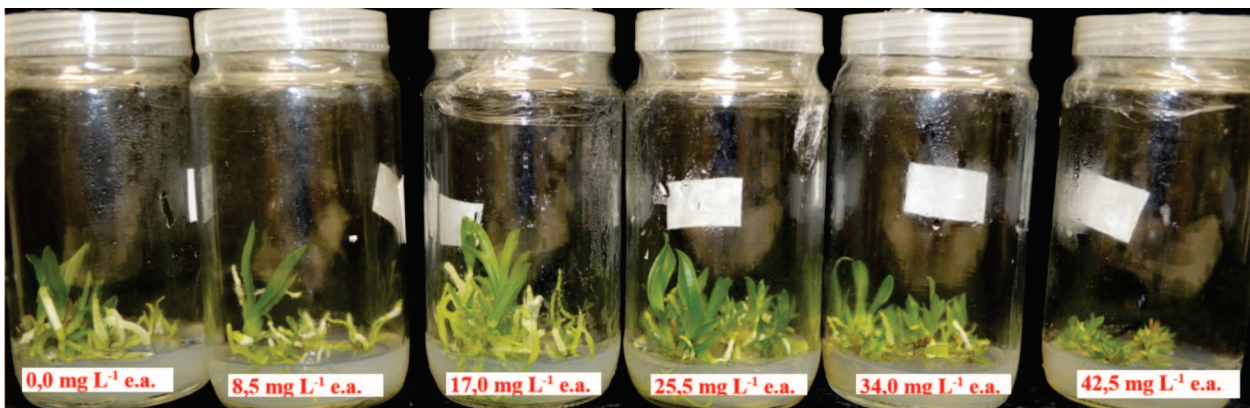
A redução do teor de clorofila pode estar relacionada com a inibição da síntese de seu precursor, o ácido aminolevulinato, ou com a maior degradação do pigmento pelo glifosato (Carvalho & Alves, 2011). Segundo Galli & Montezuma (2005), a diminuição da atividade da enzima EPSPS, pela aplicação do glifosato, reduz a síntese de clorofila.

De acordo com Pereira *et al.*, (2016), o glifosato pode inibir a absorção de manganês (Mn), elemento envolvido na reação de fotólise da água e evolução de O<sub>2</sub> no sistema fotossintético; na formação de clorofila; na estrutura, no funcionamento e na multiplicação de cloroplastos, além de realizar o transporte eletrônico e ser requerido para a atividade de algumas desidrogenases, descarboxilases, quinases, oxidases e peroxidases (Vitti *et al.*, 2006).

Cedergreen (2008), trabalhando com a cultura da cevada, atribuiu o aumento do crescimento das plantas tratadas com subdoses de glifosato à teoria da compensação entre as raízes e a parte aérea. Outra hipótese para explicar

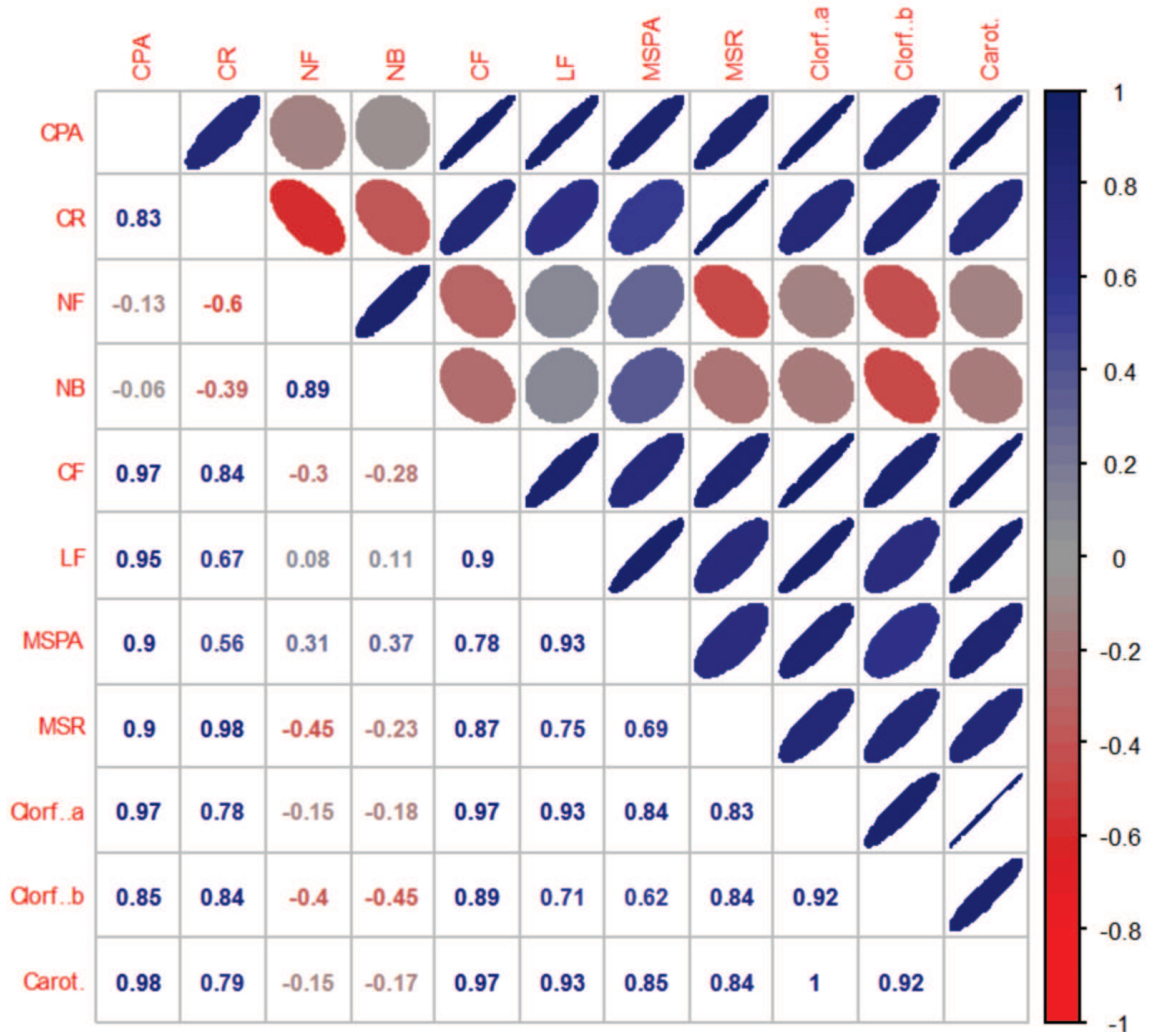


**Figura 2:** Teores de clorofila a, clorofila b e de carotenoides de plântulas de *Cattleya nobilior* Rchb. F. submetidas à adição de glifosato em meio de cultura ½ MS semis-sólido, 200 dias após o transplantio.

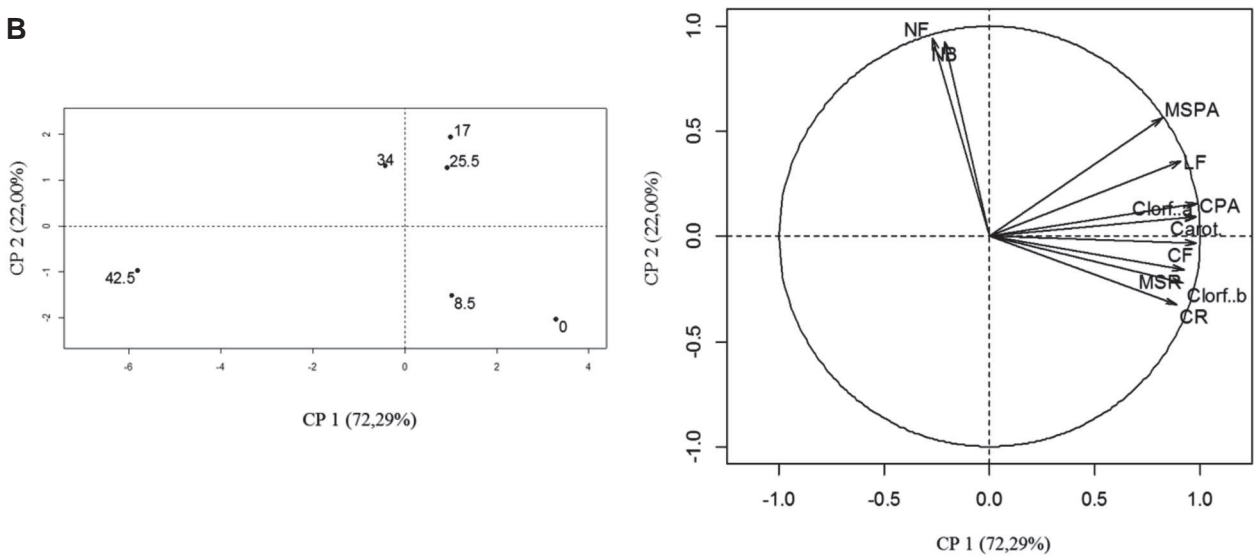


**Figura 3:** Plântulas de *Cattleya nobilior* Rchb. F. submetidas à adição de glifosato em meio de cultura ½ MS semissólido, 200 dias após o transplantio.

A



B



**Figura 4:** Coeficientes de correlação de Pearson (A) e análise de componentes principais (B), entre as variáveis comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento da folha (CF), largura da folha (LF), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR), clorofila a (Clorf. a), clorofila b (Clorf. b) e carotenoides (Carot.) de plântulas de *Cattleya nobilior* Rehb. F. submetidas à adição de glifosato em meio de cultura ½ MS semissólido, 200 dias após o transplântio.

o crescimento das plantas, pode estar relacionada com o aumento das taxas fotossintéticas, pelo maior aproveitamento de luz ou maior eficiência de fixação de carbono, graças à expansão dos órgãos da parte aérea da planta (Cedergreen & Olsen, 2010).

Como foi observado neste trabalho, baixas concentrações de glifosato (variando de 5,44 a 17,00 mg L<sup>-1</sup> e.a.) em meio de cultura, resultam em efeito hormese, com o herbicida estimulando o crescimento e o desenvolvimento da parte aérea. Entretanto, o aumento da concentração do glifosato no meio de cultura, causa decréscimo do comprimento e da massa seca de raízes, nas características de parte aérea, bem como nos teores de clorofilas e de carotenoides de plântulas de *C. nobilior*.

Calabrese *et al.* (1999) afirmam que a planta, quando exposta a um agente estressor externo, reage a essa situação, dentre outras formas, por meio do maior desenvolvimento vegetativo, sendo esta uma característica adaptativa do sistema biológico, na busca de compensar os danos causados pelo estresse. Contudo, os mesmos autores ressaltam que os estímulos podem variar nas plantas de acordo com a intensidade do estresse, sendo que estímulos fracos aceleram a atividade fisiológica e estímulos fortes cessam essa atividade. Na Figura 3, é possível observar o desenvolvimento das plantas no meio de cultura.

De acordo com a correlação de Pearson (Figura 4A), observa-se correlação positiva entre comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, comprimento da folha e largura da folha, massa seca de raízes e parte aérea, de clorofilas a e b e de carotenoides. Já o número de folhas apresentou correlação positiva com número de brotos.

Pode-se inferir que essa alta correlação positiva entre número de brotos e número de folhas esteja relacionado com o fato de o glifosato reduzir a relação auxina/citocinina, causada pela inibição da síntese de AIA. Essa maior relação de citocinina estimulou o desenvolvimento das gemas laterais e, conseqüentemente, resultou em maior número de folhas e brotos.

De acordo com a análise de componentes principais (Figura 4B), é possível observar que as menores concentrações (0 e 8,5 mg L<sup>-1</sup> e.a.) de glifosato formaram um grupo e as concentrações intermediárias formaram um segundo grupo (17; 25,5 e 34 mg L<sup>-1</sup> e.a.) por outro lado, a maior concentração (42,5 mg L<sup>-1</sup> e.a.) de glifosato ficou isolada dos outros dois grupos, apresentando correlação inversa com todas as variáveis analisadas.

O número de brotos (NB) e o número de folhos (NF) apresentaram correlação com a concentração de 34 mg L<sup>-1</sup> e.a glifosato, porém não apresentaram correlações com as outras variáveis analisadas. A massa seca de parte aérea (MSPA) e a largura da folha (LF) apresentaram baixa correlação com as concentrações de 17 e 25,5 mg L<sup>-1</sup> e.a. glifosato.

Baixas concentrações de glifosato podem ser utilizadas para melhorar o desenvolvimento inicial de *C. nobilior*, quando cultivado *in vitro*, obtendo-se, assim, plantas de melhor qualidade e mais resistentes ao período de aclimatização.

## CONCLUSÕES

Dentre os componentes fitométricos analisados, o comprimento de raiz, a massa seca de raízes e o teor de clorofila b apresentaram redução com o incremento das concentrações do glifosato.

Baixas concentrações de glifosato adicionadas ao meio de cultura ½ MS resultam em efeito hormese, com aumento do crescimento da parte aérea de *Cattleya nobilior* Rchb. F.

## REFERÊNCIAS

- Baur JR (1979) Effect of glyphosate on auxin transport in corn and cotton tissues. *Plant Physiology*, 63:882-886.
- Benzing DH, Ott DW & Friedman WE (1982) Roots of *Sobralia macrantha* (Orchidaceae): structure and function of the velamen-exodermis complex. *American Journal of Botany*, 69:508-614.
- Calabrese EJ & Baldwin LA (2001) Hormesis: a generalizable and unifying hypothesis. *Critical Reviews in Toxicology*, 31:353-424.
- Calabrese EJ, Baldwin LA & Holland CD (1999) Hormesis: A highly generalizable and reproducible phenomenon with important implications for risk assessment. *Risk Analysis*, 19:261-281.
- Carbonari C, Meschede DK & Velini ED (2007) Efeitos da aplicação de glyphosate no crescimento inicial de mudas de eucalipto submetidas a dois níveis de adubação fosfatada. In: Simpósio Internacional sobre Glyphosate, Botucatu. Anais, FEPAF. p.68-70.
- Carvalho LB & Alves PLC (2011) Efeitos do glyphosate na fotossíntese do cafeeiro. In: Simpósio Internacional sobre Glyphosate, Botucatu. Anais, FEPAF. p.86-89.
- Cedergreen N (2008) Is the growth stimulation by low doses of glyphosate sustained over time? *Environmental Pollution*, 156:1099-1104.
- Cedergreen N & Olesen CF (2010) Can glyphosate stimulate photosynthesis? *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96:140-148.
- Cronquist A (1981) An integrated system of classification of flowering plants. New York, Columbia University Press. 1262p.
- Duke SO, Cedergreen N, Velini ED & Belz RG (2006) Hormesis: Is it an important factor in herbicide use and allelopathy? *Outlooks on Pest Management*, 17:29-33.
- Faria RT, Dalio RJD, Unemoto LK & Silva GL (2006) Propagação *in vitro* de *Oncidium baueri* Lindl. (Orchidaceae) sem uso de ágar. *Acta Scientia Agronomica*, 28:71-74.
- Galli AJB & Montezuma MC (2005) Alguns aspectos da utilização de glyphosate na agricultura. São Paulo, ACADCOM Gráfica e Editora. 66p.
- Godoy MC (2007) Efeitos do glyphosate sobre o crescimento e absorção de fósforo pela soja. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, São Paulo. 53p.



- Halter S (2009) História do herbicida agrícola glyphosate. In: Velini ED (Ed.) Glyphosate. Botucatu, FEPAF. p.11-16.
- Kruse ND, Trezzi MM & Vidal RA (2000) Herbicidas inibidores da EPSPs: revisão de Literatura. Revista Brasileira de Herbicidas, 1:139-146.
- Mayer JLS, Ribas LLF, Bona C & Quoirin M (2008) Anatomia comparada das folhas e raízes de *Cymbidium* Hort. (Orchidaceae) cultivadas ex vitro e in vitro. Acta Botânica Brasileira, 22:323-332.
- Meschede DK, Velini ED, Carbonari CA & Silva JRM (2011) Alteração fisiológica da cana-de-açúcar pela aplicação de glyphosate e sulfometuron-methyl. Planta Daninha, 1:413-419.
- Meschede DK, Carbonari CA & Velini ED (2007) Efeito de subdoses de glyphosate sobre o crescimento e desenvolvimento de *Commelina benghalensis*. In: Simpósio Internacional Sobre Glyphosate, Botucatu. Anais, FEPAF. p.65-67.
- Mousdale DM & Coggins JR (1991) Amino acid synthesis. In: Kirkwood RC (Ed.) Target sites for herbicide action. New York, Premium Press. 327p.
- Murashige T & Skoog FA (1962) Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15:473-497.
- Oliveira LM, Paiva R, Santana JRF, Nogueira RC, Soares FP & Silva LC (2007) Efeito de citocininas na senescência e abscisão foliar durante o cultivo in vitro de *Annona glabra* L. Revista Brasileira de Fruticultura, 29:25-30.
- Pereira CS, Bevilacqua UC, Souza TV, Matte WD & Chapla MV (2016) Phytotoxicity in transgenic soybean treated with glyphosate doses. Scientific Electronic Archives, 3:52-61.
- Pierik RLM (1990) Cultivo in vitro de las plantas superiores. 3ª ed. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. 120p.
- Pincelli-Souza RP (2014) Hormesis de glyphosate em cana-de-açúcar. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, São Paulo. 75p.
- R Development Core Team (2012) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acessado em: 20 de abril de 2017.
- Ross J & O'Neil D (2001) New interactions between classical plant hormones. Trends in Plant Science, 6:2-4.
- Schmidt RR (1997) Classification of herbicides according to mode of action. In: Brighton Crop Protection Conference – Weeds, Brighton. Proceedings, HRAC. p.1133-1140.
- Silva MDA, Aragão NC, Barbosa MDA, Jeronimo EM & Carlin SD (2009) Efeito hormótico de glyphosate no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar. Bragantia, 1:973-978.
- Sorace M, Faria RT, Batista Fonseca IC, Yamamoto LY & Fonseca Sorace MA (2009) Alternative substrata for xaxim on culture of *Cattleya intermedia* X *Hadrolaelia purpurata* (Orchidaceae). Semina: Ciências Agrárias, 30:771-778.
- Stancato GC & Faria RT (1996) In vitro growth and mineral nutrition of the lithophytic orchid *Laelia cinnabarina* Batem. (Orchidaceae) I: effects of macro and microelements. Lindleyana, 11:41-43.
- Taiz L & Zeiger E (2013) Fisiologia vegetal. 5ª ed. Porto Alegre, Artmed. 918p.
- Takane RJ, Yanagisawa SS & Pivetta KFL (2010) Cultivo moderno de orquídeas: Cattleya e seus híbridos. Fortaleza, UFC. 179p.
- Tomaz HVQ (2009) Fontes, doses e formas de aplicação de fósforo na cana-de-açúcar. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo. 93p.
- Velini ED, Carbonari ED, Meschede DK & Trindade MLB (2012) Modo de ação do glyphosate. In: Velini ED, Carbonari ED, Meschede DK & Trindade MLB (Eds.) Glyphosate: uso sustentável. Botucatu, FEPAF. 213p.
- Velini ED, Alves E, Godoy MC, Meschede DK, Souza RT & Duke SO (2008) Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. Pest Management Science, 64:489-496.
- Vitti GC, Oliveira DB & Quintino TA (2006) Micronutrientes na cultura da cana-de-açúcar. In: Segato SV, Pinto AS, Jendiroba E & Nóbrega JCM (Eds.) Atualização em produção de cana-de-açúcar. p.121-138.
- Yamada T & Castro PBC (2007) Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agrônômicas. International Plant Nutrition Institute, 1:1-32.
- Yoshida S (1969) Biosynthesis and conversion of aromatic amino acids in plants. Annual Review Plant Physiology, 20:41-62.
- Wagner R, Kogan M & Parada AM (2003) Phytotoxic activity of root absorbed glyphosate in corn seedlings (*Zea mays* L.). Weed Biology Management, 3:228-232.
- Watanabe D (2002) Orquídeas: manual de cultivo. São Paulo, Associação Orquídfila de São Paulo. 296p.
- Whitham FH, Blaydes DF & Devlin RM (1971) Experiment in plant physiology. New York, Van Nostrand Company. 236p.