

GLYPHOSATE NO CONTROLE DE BIÓTIPOS DE AZEVÉM E IMPACTO NA MICROBIOTA DO SOLO¹

Glyphosate Application for Italian Ryegrass Biotype Control and Impact on Soil Microbiota

FERREIRA, E.A.², SANTOS, J.B.³, SILVA, A.A.⁴, VARGAS, L.⁵ e REIS, M.R.⁶

RESUMO - Avaliou-se neste trabalho a resistência de azevém (*L. multiflorum*) ao glyphosate e o impacto do controle desses biótipos sobre a respiração e biomassa microbiana do solo. Foram conduzidos dois ensaios: no primeiro foram avaliadas a intoxicação e a massa seca das plantas de biótipos de três populações de azevém: população 1 (reconhecidamente resistente), população 2 (resistência intermediária), e população 3 (sensível ao glyphosate), submetidas a diferentes doses de glyphosate (200, 400, 800, 1.600 e 3.200 g ha⁻¹). No segundo ensaio foram avaliados a massa seca da parte aérea, a altura de plantas, o número de folhas de azevém e a respiração e massa microbiana do solo cultivado com os biótipos resistente e sensível, com e sem aplicação de glyphosate (480 g ha⁻¹). Aos 14 DAT, observou-se morte do biótipo sensível quando tratado com doses a partir de 200 g ha⁻¹ de glyphosate. Nos biótipos resistentes e com nível intermediário de resistência, a toxicidade do glyphosate às plantas de azevém foi de 85% na maior dose avaliada. O biótipo resistente apresentou maior produção de massa seca da parte aérea aos 42 DAT e na rebrota, aos 72 DAT, quando comparado ao biótipo intermediário. O biótipo sensível apresentou maior altura de plantas, número de folhas e massa seca da parte aérea, em comparação ao resistente, quando não tratados com o glyphosate. Não foi observada diferença na atividade microbiana do solo entre os tratamentos avaliados.

Palavras-chave: *Lolium multiflorum*, sensibilidade, herbicida e respiração microbiana.

ABSTRACT - This study aimed to evaluate the resistance Italian ryegrass (*L. multiflorum*) against glyphosate and the impact of the control of these biotypes on soil respiration and microbial biomass. Two essays were conducted: the first evaluated intoxication and dry mass of the plants of biotypes of three Italian ryegrass population (population 1 – resistant; population 2 – intermediary resistance; and population 3 – sensitive to glyphosate) submitted to different glyphosate rates. The second assay evaluated dry matter of the aerial part, plant height, number of leaves and respiration and microbial mass of the soil cultivated with the resistant and sensitive biotypes, with and without glyphosate application (480 g ha⁻¹). At 14 DAA, death of the susceptible biotype was observed, when treated with rates starting from 200 g ha⁻¹ of glyphosate. The resistant and intermediate resistant biotypes showed glyphosate phytotoxicity of 85% at the highest rate evaluated. The resistant biotype presented the highest dry matter production of the aerial part at 42 DAA and during sprouting, at 72 DAA, compared to the intermediary biotype. The sensitive biotype presented higher plant height, number of leaves and dry mass of the aerial part, to the resistant biotype, without glyphosate. No difference was observed in the microbial activity in the soil among the treatments.

Key words: *Lolium multiflorum*, sensibility, herbicide and microbial respiration.

¹ Recebido para publicação em 24.5.2006 e na forma revisada em 4.8.2006.

² Eng.-Agrônomo, Doutorando em Fitotecnia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa – DFT/UFV, 36570-000 Viçosa-MG, <evanderalves@yahoo.com.br>; ³ D.S., Bolsista Pós-doutor em Fitotecnia – DFT/UFV; ⁴ Eng.-Agrônomo D.S., Professor do Departamento de Fitotecnia – DFT/UFV. ⁵ Eng.-Agrônomo D.S., Pesquisador da Embrapa Trigo, Caixa Postal 451, 99001-970 Passo Fundo-RS. ⁶ Mestrando em Fitotecnia – DFT/UFV.



INTRODUÇÃO

O glyphosate é um herbicida não-seletivo de ação sistêmica, usado no controle de plantas daninhas anuais e perenes. É utilizado em culturas para manejo de plantas daninhas em pré-plantio, em pós-emergência em aplicações dirigidas e em pós-emergência total em culturas transgênicas. Atualmente, cerca de 50% do glyphosate comercializado no Brasil é utilizado na soja transgênica.

Dentre as principais espécies daninhas suscetíveis ao glyphosate de grande importância econômica, destaca-se o azevém (*Lolium multiflorum*). Esta é uma gramínea de ciclo anual que constitui atualmente um dos principais problemas em lavouras de inverno e de soja transgênica no Sul do Brasil, devido ao aparecimento de biótipos resistentes ao glyphosate.

O primeiro caso de *Lolium multiflorum* resistente ao glyphosate foi relatado por Perez & Kogan (2002), identificado em pomares no Chile, que vinham recebendo, em média, três aplicações desse herbicida por ciclo durante os últimos 10 anos. No Brasil, a presença de biótipos resistentes dessa espécie ao glyphosate foi confirmada em lavouras de culturas anuais e em pomares do Rio Grande do Sul (Roman et al., 2004).

No Brasil, como no Chile, aplicações repetidas e continuadas de glyphosate para controle da vegetação foram consideradas a principal causa da seleção dos biótipos resistentes. O uso repetido de glyphosate deve-se, principalmente, ao fato de que esse produto apresenta alta eficiência para o azevém e diversas outras espécies e custo relativamente baixo.

Uma espécie de planta daninha pode adquirir resistência ao herbicida por diversos mecanismos: absorção ou translocação diferencial, metabolismo diferencial, alteração na enzima-alvo, compartimentalização ou seqüestro e por possuir maior capacidade de exsudação do composto para o ambiente (Vargas et al., 2005).

Diversos autores têm observado a exsudação do glyphosate em cultivos celulares (Hetherington et al., 1998). Também em experimentos nos quais este herbicida é aplicado nas folhas seus efeitos têm sido observados

nas plantas adjacentes que compartilham a mesma zona radicular (Coupland & Lutman, 1982). Resultados semelhantes também foram observados por Linder et al. (1964), que verificaram que algumas plantas são capazes de exsudar no solo substâncias aplicadas via parte aérea. Acredita-se que esses compostos exsudados pelas plantas ao solo podem causar efeitos na microbiota deste, fazendo, assim, com que os biótipos que liberarem maior quantidade de compostos sejam mais impactantes no ambiente.

No presente trabalho teve-se como objetivo avaliar a sensibilidade de biótipos de azevém ao glyphosate e os possíveis efeitos da exsudação radicular desses biótipos na respiração e massa microbiana do solo.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho constou de dois ensaios em condições controladas quanto a irrigação e tratos culturais. As plantas de azevém foram cultivadas em vasos contendo seis litros de substrato composto de Argissolo Vermelho-Amarelo (Tabela 1). Nos dois ensaios, o delineamento adotado foi o de blocos casualizados (DBC), com quatro repetições.

No primeiro ensaio foram avaliadas a fitotoxicidade do herbicida e a produção de massa seca dos biótipos de três populações de azevém em função de doses crescentes de glyphosate. Cada população era constituída por biótipos com suspeita de níveis diferentes de resistência: população 1 (reconhecidamente resistente), população 2 (resistência intermediária) e população 3 (sensível ao glyphosate). Foram cultivadas três plantas em cada vaso e, aos 30 dias após a emergência (DAE), elas foram aspergidas com 200, 400, 800, 1.600 e 3.200 g ha⁻¹ de glyphosate. O índice de intoxicação de plantas (fitotoxicidade) foi avaliado aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após aplicação dos tratamentos (DAT), atribuindo-se notas variando de zero a 100%, em que zero corresponde à ausência de toxidez e 100% à morte total da planta. O acúmulo de massa seca da parte aérea foi determinado por ocasião da colheita do ensaio, aos 42 DAT. Foi avaliada também a massa seca na rebrota das plantas de azevém, aos 72 dias após a aplicação dos tratamentos.



Tabela 3 - Respiração microbiana aos 7, 14 e 21 dias; carbono da biomassa microbiana, medido aos 21 dias após tratamento; e quociente metabólico (qCO_2)

Tratamento	Respiração			CBM	qCO_2
	7 DAT	14 DAT	21 DAT		
	(µg CO_2 g ⁻¹ de solo dia)			(µg CO_2 g ⁻¹ de solo)	
Resistente com herbicida	111,37a	134,75a	158,13a	221,50a	1,84a
Resistente sem herbicida	134,75a	158,13a	119,38a	248,05a	2,08a
Sensível com herbicida	138,87a	107,25a	158,13a	305,76a	1,44a
Sensível sem herbicida	107,25a	183,13a	169,00a	304,07a	1,60a
CV %	26,9	24,7	20,5	29,3	30,1

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No segundo ensaio foram avaliados os efeitos da aplicação do glyphosate (dose recomendada de 480 g ha⁻¹) sobre a altura de plantas, o número de folhas e a massa seca dos biótipos das populações resistente e sensível. Os tratamentos constituíram-se da combinação de dois biótipos de azevém (sensível e resistente) e da aplicação ou não do glyphosate, totalizando quatro tratamentos.

Aos 14 DAT foram avaliadas as características massa seca da parte aérea, altura de plantas e número de folhas, bem como a respiração e biomassa microbiana do solo nos diferentes tratamentos. Para esta avaliação (respiração e biomassa microbiana), amostras de solos aos 14 DAT de cada vaso foram incubadas por 21 dias, mantendo-se a umidade do solo em torno de 65% da capacidade de campo. A temperatura ambiente foi monitorada ao longo do período de incubação, variando entre 23 e 25 °C. Em cada época de avaliação (7, 14 e 21 dias após o início da incubação), estimou-se a respiração microbiana do solo, por meio da quantidade de CO_2 evoluído, o qual foi capturado em frascos contendo 100 mL de NaOH (0,25 mol L⁻¹). Para captar o ar utilizou-se sistema contínuo de fluxo de ar (isento de CO_2 e umidade), por meio da pré-filtração do ar e passagem deste em colunas contendo micropérolas de NaOH. Procedeu-se então à titulação indireta do hidróxido de sódio com HCl (0,25 mol L⁻¹), em que o excesso de NaOH que não reagiu com o CO_2 evoluído foi quantificado. Após a última avaliação, aos 21 dias de incubação, determinou-se o carbono da biomassa microbiana (CBM) pelo método descrito por Vance et al. (1987), utilizando-se, em lugar

do clorofórmio (fumigação), forno de microondas (irradiação) (Islam & Weil, 1998).

Também foi determinado o coeficiente metabólico (qCO_2), por meio da relação entre o CO_2 acumulado ao longo de 20 dias (σg g⁻¹) e o C total da biomassa microbiana (σg g⁻¹).

Os dados foram submetidos à análise de variância. No primeiro experimento utilizou-se a análise de regressão com significância de 1% pelo teste F para a interpretação dos resultados e, no segundo, o teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se intoxicação acima de 60% nas plantas do biótipo considerado resistente, nas doses entre 800 e 3.200 g ha⁻¹ de glyphosate, sendo a maior intoxicação observada aos 14 DAT (Figura 1). Contudo, para todas as doses do herbicida, verificou-se recuperação das plantas, sendo observada, aos 42 DAT, apenas intoxicação leve – em torno de 5% – na maior dose aplicada (Figura 1). Vargas et al. (2004), trabalhando com biótipos de azevém sensível e resistente ao glyphosate tratados com elevadas doses, também constataram elevada intoxicação (80%) aos 45 DAT para o biótipo resistente. Resultados semelhantes também foram obtidos por Perez & Kogan (2002), os quais observaram que biótipos de *Lolium multiflorum* sobreviveram a doses de até 4.320 g ha⁻¹ de glyphosate.

O biótipo de azevém considerado intermediário também apresentou intoxicação elevada ao glyphosate nas doses entre 400 e



3.200 g ha⁻¹, atingindo valores máximos aos 14 DAT (80% na dose de 3.200 g ha⁻¹). Todavia, verificou-se a partir dessa data recuperação gradativa das plantas, chegando a apenas 5% de intoxicação aos 42 DAT (Figura 2).

Com relação ao biótipo sensível, foi observada morte da planta pelo glyphosate aos 14 DAT mesmo na menor dose aplicada (200 g ha⁻¹) (Figura 3), confirmando também os resultados obtidos por Vargas et al. (2004).

Observou-se queda na produção de massa seca dos biótipos resistente e intermediário com o incremento da dose de glyphosate. Nas doses entre 200 e 800 g ha⁻¹ a queda na produção de massa seca foi inferior a 20%; já na maior dose avaliada a produção de massa seca decresceu 75% no biótipo resistente e 45% no biótipo com nível intermediário de resistência (Figura 4). A maior redução no acúmulo de massa seca da parte aérea do biótipo intermediário confirma sua maior sensibilidade ao herbicida, quando comparado com o biótipo resistente. Roman et al. (2004) constataram pequena redução na massa seca de biótipos considerados resistentes de azevém na dose de 5.760 g ha⁻¹; para o biótipo sensível, esses autores observaram menor produção de massa seca das plantas de azevém, não chegando a matá-las na maior dose testada.

Na rebrota das plantas, a redução de massa seca para os dois biótipos (resistente e intermediário) de *Lolium multiflorum* em consequência do herbicida foi ainda maior para a maior dose de glyphosate (3.200 g ha⁻¹), chegando a aproximadamente 45% para o biótipo resistente e 10% para o intermediário (Figura 5).

No segundo ensaio, os biótipos resistente e sensível de azevém diferiram com relação às características altura de plantas, número de folhas e massa seca da parte aérea (Tabela 2). Na ausência de glyphosate, o biótipo sensível apresentou maior altura de plantas, número de folhas e massa seca da parte aérea aos 35 DAT (Figura 2). Isso pode significar que o biótipo sensível em condições normais, isento da aplicação de glyphosate, é mais competitivo que o biótipo resistente, sendo, dessa forma, dominante na população. Segundo Christoffoleti et al. (2002), quando o herbicida não é aplicado, o maior crescimento

do biótipo sensível impede que o biótipo resistente, mais adaptado, ocupe o nicho ecológico; no entanto, quando o herbicida é aplicado, há ausência do biótipo sensível e, portanto, o biótipo resistente desenvolve-se, mesmo com menor taxa de crescimento que o suscetível.

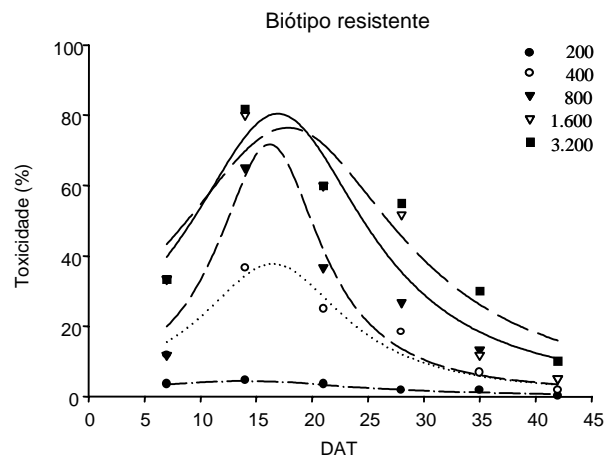


Figura 1 - Evolução da toxicidade provocada pelo herbicida glyphosate aplicado nas doses de 200 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 4,3823/[1+((X-13,9191)/12,0196)^2]$ R² = 0,96), 400 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 37,7346/[1+((X-16,4718)/7,8904)^2]$ R² = 0,96), 800 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 71,7435/[1+((X-16,1915)/5,6968)^2]$ R² = 0,95), 1.600 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 80,4632/[1+((X-16,9464)/9,8051)^2]$ R² = 0,93) e 3.200 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 76,4592/[1+((X-17,8318)/12,3536)^2]$ R² = 0,91) no biótipo resistente.

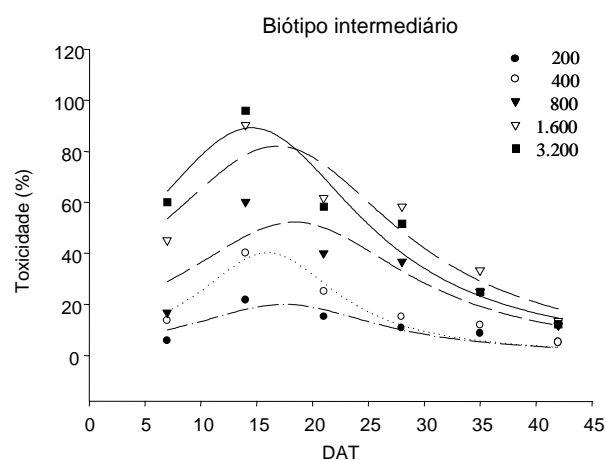


Figura 2 - Evolução da toxicidade provocada pelo herbicida glyphosate aplicado nas doses de 200 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 19,9612/[1+((X-17,4436)/10,4779)^2]$ R² = 0,89), 400 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 40,2301/[1+((X-15,9839)/7,7569)^2]$ R² = 0,96), 800 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 52,1698/[1+((X-18,3667)/12,6709)^2]$ R² = 0,84), 1.600 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 81,9602/[1+((X-16,8430)/13,4726)^2]$ R² = 0,92) e 3.200 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 89,2821/[1+((X-14,5676)/12,1650)^2]$ R² = 0,96) no biótipo intermediário.

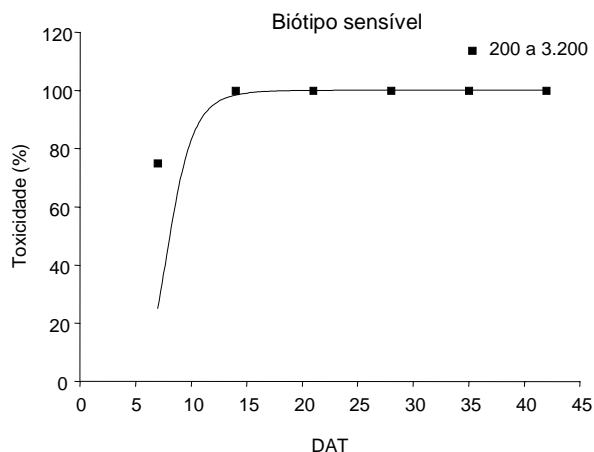


Figura 3 - Evolução da toxicidade provocada pelo herbicida glyphosate aplicado nas doses de 200, 400, 800, 1.600 e 3.200 g ha⁻¹ ($\hat{y} = 100,0227/[1+(X/8,1122)^{-7,4525}]$ R² = 0,99) no biótipo sensível.

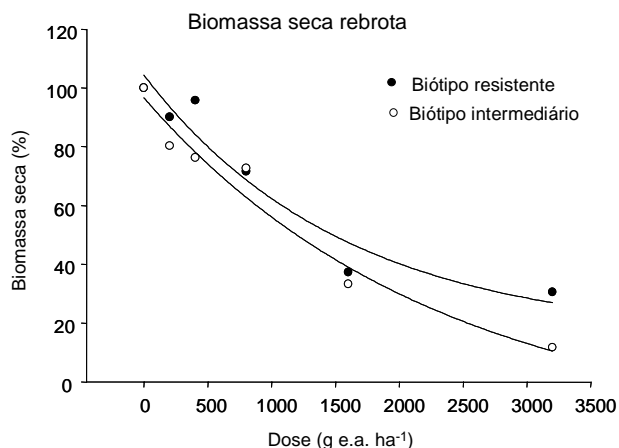


Figura 5 - Porcentagem de biomassa seca na rebrota dos biótipos resistente ($\hat{y} = 15,3859+88,9054e^{-0,0006X}$ R² = 0,97) e intermediário ($\hat{y} = 17,5723+114,1529e^{-0,0004X}$ R² = 0,98) submetidos a diferentes doses de glyphosate, aos 72 dias após tratamento.

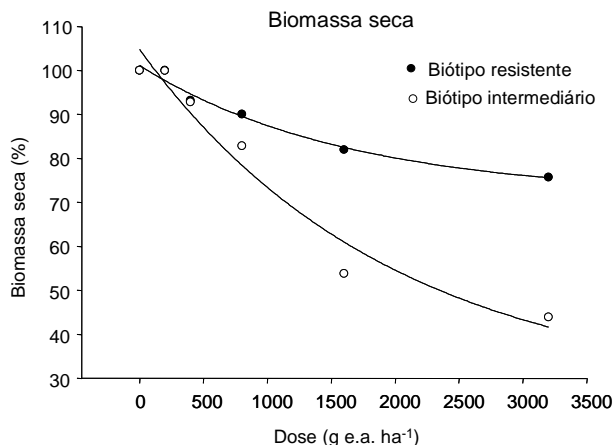


Figura 4 - Porcentagem de biomassa seca dos biótipos resistente ($\hat{y} = 71,4839+29,6274e^{-0,0006X}$ R² = 0,99) e intermediário ($\hat{y} = 26,4610+78,2904e^{-0,0005X}$ R² = 0,97) submetidos a diferentes doses de glyphosate¹, aos 42 dias após tratamento.

Não foi observada diferença na respiração microbiana do solo aos 7, 14 e 21 dias (Tabela 3) quando este estava sendo cultivado por biótipos suscetíveis e resistentes. Também, Tuffi Santos et al. (2005), trabalhando com exsudação de glyphosate em *Eucalyptus grandis* em solos argilosos e arenosos, não observaram alterações na atividade microbiana nos solos argilosos devido ao uso de glyphosate. Este resultado pode ser atribuído ao fato de o glyphosate se apresentar fortemente adsorvido aos colóides de argila. Outra possibilidade seria a não-exsudação do glyphosate pelo sistema radicular dos biótipos resistente e sensível de azevém.

Tabela 2 - Altura de plantas, número de folhas e biomassa seca da parte aérea nos biótipos sensível e resistente, aos 35 dias após emergência

Biótipo	Altura das plantas	Número de folhas	Biomassa seca
	(cm)	(UN)	(g)
Sensível	51,75 a	57,75 a	15,63 a
Resistente	45,00 b	35,25 b	10,36 a
CV (%)	3,77	15,53	25,00

Médias seguidas por mesma letra em uma coluna não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Com relação ao carbono da massa microbiana do solo, não foi observada diferença entre os tratamentos, com os dados variando entre 221,5 e 305,76 $\sigma\text{g g}^{-1}$ de solo (Tabela 3). A relação entre respiração microbiana e carbono da biomassa microbiana do solo, denominada quociente respiratório ($q\text{CO}_2$), também não foi diferente entre os tratamentos, evidenciando que não existe diferença no equilíbrio do sistema solo entre os tratamentos, ou seja, o impacto dos biótipos tratados com glyphosate sobre a microbiota do solo foi semelhante.

Conclui-se que a dose de 3.200 g ha⁻¹ de glyphosate não controlou o biótipo resistente e de resistência intermediária a esse herbicida, porém provocou redução na produção de massa seca da parte aérea. O decréscimo de produção de massa seca da parte aérea foi mais severo no biótipo intermediário do que no resistente.



Tabela 3 - Respiração microbiana aos 7, 14 e 21 dias; carbono da biomassa microbiana, medido aos 21 dias após tratamento; e quociente metabólico (qCO₂)

Tratamento	Respiração			CBM	qCO ₂
	7 DAT	14 DAT	21 DAT		
	(µg CO ₂ g ⁻¹ de solo dia)			(µg CO ₂ g ⁻¹ de solo)	
Resistente com herbicida	111,37a	134,75a	158,13a	221,50a	1,84a
Resistente sem herbicida	134,75a	158,13a	119,38a	248,05a	2,08a
Sensível com herbicida	138,87a	107,25a	158,13a	305,76a	1,44a
Sensível sem herbicida	107,25a	183,13a	169,00a	304,07a	1,60a
CV (%)	26,9	24,7	20,5	29,3	30,1

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Isso comprova a ocorrência de níveis diferentes de resistência entre os biótipos. A dose de 200 g ha⁻¹ foi suficiente para controlar 100% das plantas sensíveis. Com relação à atividade microbiana no solo, os biótipos resistente e sensível, com ou sem a aplicação de herbicida, apresentaram resultados semelhantes, sem efeito do herbicida aplicado nas plantas sobre a microbiota do solo.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro na execução deste trabalho.

LITERATURA CITADA

CHRISTOFFOLETI, P. J. Curvas de dose-resposta de biótipos resistente e suscetível de *Bidens pilosa* L. aos herbicidas inibidores da ALS. **Sci. Agric.**, v. 59, p. 513-519, 2002.

COUPLAND, D.; LUTMAN, P. Investigations into the movement of glyphosate from treated to adjacent untreated plants. **Ann. Appl. Biol.**, v. 101, p. 315-321, 1982.

HETHERINGTON, P. et al. The absorption, translocation and distribution of the herbicide glyphosate in maize expressing the CP-4 transgene. **J. Exp. Bot.**, v. 50, p. 1567-1576, 1999.

ISLAM, K. R.; WEIL, R. R. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. **Biol. Fertil. Soils**, v. 27, p. 408-416, 1998.

LINDER, P. J.; MITCHELL, J. W.; FREEMAN, G. D. Persistence and translocation of exogenous regulating compounds that exude from roots. **J. Agric. Food Chem.**, v. 12, p. 437-438, 1964.

PEREZ, A.; KOGAN, M. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. **Weed Res.**, v. 43, p. 12-19, 2002.

ROMAN, E. S. et al. Resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 301-306, 2004.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. **Planta Daninha**, v. 23, p. 143-152, 2005.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. **Soil Biol. Biochem.**, v. 19, p. 703-707, 1987.

VARGAS, L. et al. Alteração das características biológicas dos biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) ocasionada pela resistência ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 23, p. 153-160, 2005.