

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM FOLHAS DE SOJA APÓS APLICAÇÃO DE HERBICIDAS

CORRÊA, M. J. P.⁽¹⁾; ALVES, P. L. C. A.⁽²⁾; MORO, F. V.⁽²⁾

⁽¹⁾ Departamento de Química e Biologia – UEMA. (98 32441315) mjcorreazea@hotmail.com (autor correspondente)

⁽²⁾ Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária – FCAV/UNESP (16 32092620). (plalves@fcav.unesp.br; fabiola@fcav.unesp.br)

Resumo

A morfologia das plantas, principalmente das folhas, influencia a quantidade do herbicida interceptado e retido, porém, são as características anatômicas destas que praticamente determinam a facilidade com que esses produtos serão absorvidos. Objetivou-se no presente estudo descrever as alterações morfo-anatômicas em folhas de soja (M-SOY 7908 RR) submetida à aplicação de herbicidas. Os tratamentos constaram dos herbicidas: lactofen (168 g ha⁻¹), lactofen + chlorimuron-ethyl + imazethapyr (96 + 10 + 70 g ha⁻¹), glyphosate (1080 g ha⁻¹), glyphosate + imazethapyr (900 + 70 g ha⁻¹) e chlorimuron-ethyl + imazethapyr (10 + 70 g ha⁻¹). Além disso, foi mantida uma testemunha sem aplicação de herbicida. Seis dias após a aplicação dos herbicidas, foram coletados o quinto ou sexto trifólio totalmente expandido das plantas tratadas que apresentavam sinais externos de intoxicação e da testemunha, sendo as amostras da lamina foliar observadas em microscopia de luz. Avaliaram-se as características morfológicas externas e internas das folhas de soja. Os herbicidas lactofen isolado e em mistura com chlorimuron-ethyl, imazethapyr causaram alterações morfológicas externas e internas nas folhas onde foram depositados. As alterações foram observadas na epiderme e mesofilo. O glyphosate isolado e em mistura com imazethapyr e o chlorimuron-ethyl em mistura com imazethapyr não promoveram alterações morfo-anatômicas nas folhas.

Palavras-chave: Glycine max, morfologia vegetal, sintomatologia

Abstract

Plants morphology, mainly of the leaves, it influences the amount of the intercepted and retained herbicide, however, they are the anatomical characteristics that practically determine the easiness with that those products will be absorbed. This work aimed to describe the morfo-anatomical alterations in soybeans leaves varietie (M-SOY 7908 RR) submitted the herbicides application. The treatments consisted of the herbicides: lactofen (168 g ha⁻¹), lactofen + chlorimuron-ethyl + imazethapyr (96 + 10 + 70 g ha⁻¹), glyphosate (1080 g ha⁻¹), glyphosate + imazethapyr (900 + 70 g ha⁻¹) e chlorimuron-ethyl + imazethapyr (10 + 70 g ha⁻¹). It was maintained nontreated herbicide application. Six days after the herbicides application, the fifth or sixth totally expanded leaf were collected of the plants with and without symptoms, as well as the leaves samples observed to light microscopy. External and internal morphologic characteristics were evaluated. The lactofen applied alone and mixture chlorimuron-ethyl, imazethapyr caused external and internal morphological changes in the leaf where it was deposited. The changes was observed to the epiderm and mesophyll. The glyphosate applied alone and mixture imazethapyr and chlorimuron-ethyl + imazethapyr didn't cause morfo-anatomical changes in soybean leaf.

Key Words: Glycine max, plant morphology, sintomatology

Introdução

O controle das plantas daninhas por meio de herbicidas é um dos métodos mais utilizados em cultivos agrícolas, e sua correta utilização evita a redução ou perda de produtividade das culturas devido à minimização da interferência das plantas infestantes.

Os herbicidas podem penetrar nas plantas por suas estruturas aéreas (folhas, caules, flores, frutos e sementes) e subterrâneas (raízes, rizomas, tubérculos, etc) e, também, durante a germinação e a emergência, pela radícula e pelo caulículo (Silva et al., 2000). Contudo, a folha representa a principal rota de entrada dos herbicidas aplicados em pós-emergência nas plantas (Procópio et al., 2003).

Nas folhas, a superfície externa é caracterizada pela presença de epiderme e, nesta, encontram-se estruturas tais como estômatos, tricomas e apêndices. A superfície das folhas, com exceção das aberturas dos estômatos, é recoberta pela cutícula, uma camada lipídica, extracelular, cujo principal componente estrutural é a cutina. A cera epicuticular constitui a interface natural entre as folhas e o meio, tendo como função básica conferir ao vegetal maior resistência à perda d'água e à doenças (Metcalf e Chalk, 1988).

A absorção foliar de herbicidas é um processo complexo, envolvendo a passagem de moléculas de herbicidas da superfície externa da folha, através da cutícula para o interior do tecido (Devine et al., 1993). Herbicidas que diferem em estrutura e polaridade atravessam com maior ou menor dificuldade a cutícula. O mecanismo exato de penetração ainda não é conhecido para todos os produtos, mas admite-se que os compostos não-polares seguem a rota lipofílica e os compostos polares, a rota hidrofílica (Silva et al., 2000).

Diversos pesquisadores têm se preocupado com o estudo das alterações morfológicas em folhas, causadas pela aplicação de herbicidas. Alterações morfológicas externas e internas em folhas de soja três dias após tratamento com lactofen foram observadas por Damião Filho et al. (1992) apenas nos locais onde o herbicida foi depositado. Esses autores relataram que a dose maior (0,36 kg i.a. ha⁻¹) do produto ocasionou necrose às folhas e alterações na epiderme, parênquima, colênquima e nos feixes vasculares adaxiais. .

Tuffi Santos et al. (2008) verificaram que a deriva simulada de quatro formulações comerciais de glyphosate sobre a morfo-anatomia foliar de seis clones de *Eucalyptus grandis* ocasionou clorose e necrose às plantas a partir do quarto dia de exposição, independentemente da formulação utilizada. Os herbicidas ocasionaram plasmólise, colapso celular, hipertrofia e formação de tecido de cicatrização na maioria dos clones estudados, porém, não foram diagnosticadas variações na espessura das folhas.

A morfologia das plantas, principalmente das folhas, influencia a quantidade do herbicida interceptado e retido, porém, são as características anatômicas destas que praticamente determinam a facilidade com que esses produtos serão absorvidos (Hess e Falk, 1990).

De maneira geral, os efeitos de herbicidas sobre os vegetais são inúmeros e ainda não totalmente conhecidos. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi descrever as alterações morfológicas externas e internas nas folhas de soja M-SOY 7908 RR submetida à aplicação de herbicidas.

Material e métodos

O experimento foi instalado em campo no ano agrícola 2006/2007, em solo classificado segundo Andriolli e Centurion (1999) como Latossolo Vermelho eutrófico típico textura muito argilosa A moderado e relevo suave ondulado na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Produção pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - UNESP, localizada no município de Jaboticabal – SP, que se encontra à latitude de 21°15'22"S, longitude de 48°18'58"W Gr. e altitude de 595m.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições, sendo utilizada a cultivar de soja transgênica (M-SOY 7908 RR). A semeadura foi realizada em 8 de dezembro de 2006 no espaçamento de 0,45 m entre linhas, distribuindo-se 21 sementes por metro, sendo utilizados 300 kg ha⁻¹ de 0 - 20 - 20 (NPK). Antes da semeadura, procedeu-se o tratamento das sementes com Thiram (300 ml 100 kg⁻¹ de sementes). Em seguida, as sementes foram inoculadas com 2g de inoculante turfoso por kg de semente.

As parcelas experimentais foram constituídas por sete linhas de semeadura, espaçadas de 0,45 m entrelinhas, com 5 m de comprimento cada, resultando numa área de 15,75 m² (3,15 x 5m). Os tratamentos constaram da aplicação dos herbicidas: lactofen (168 g ha⁻¹), lactofen + chlorimuron-ethyl + imazethapyr (96 + 10 + 70 g ha⁻¹), glyphosate (1080 g ha⁻¹), glyphosate + imazethapyr (900 + 70 g ha⁻¹) e chlorimuron-ethyl + imazethapyr (10 + 70 g ha⁻¹). Além disso, foi mantida uma testemunha sem aplicação de herbicida.

Os herbicidas foram aplicados quando a soja encontrava-se com o quinto ou sexto (estádio V6 e V7) trifólio totalmente expandido, segundo escala fenológica proposta por Ritchie et al. (1977). Foi utilizado pulverizador costal, à pressão constante (mantida pelo CO₂ comprimido) de 2,24 kgf cm⁻², munido de barra com seis pontas de pulverização tipo jato plano "Teejet" XR 110.02, espaçados de 0,5 m, com consumo de calda equivalente a 200 L ha⁻¹. No momento da aplicação, registrou-se 34°C de temperatura do ar; 28°C de temperatura do solo; 72% de umidade relativa do ar; ventos leves com velocidade de 2,0 km h⁻¹ e nebulosidade em torno de 80%.

Seis dias após a aplicação (DAA) dos herbicidas, foi coletado o quinto ou sexto trifólio totalmente expandido das plantas tratadas que apresentavam sinais externos de alteração e da testemunha. Os sintomas foram descritos e documentados por meio de fotografias. Para a observação ao microscópio de luz, amostras do folíolo central foram colocadas em frascos de vidro contendo como fixador a solução de formaldeído, ácido acético e álcool etílico – FAA₅₀ (Johansen, 1940), com posterior desidratação em série etílica. Estes materiais foram destinados à preparação de lâminas permanentes, sendo incluídos em parafina. Cortes transversais com 12 µm de espessura foram obtidos com o auxílio de um micrótomo rotativo, corados com safranina aquosa e, posteriormente, as lâminas foram preparadas com resina (bálsamo do Canadá) no Laboratório de

Morfologia Vegetal do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da UNESP. As fotomicrografias foram obtidas em câmera digital acoplada a fotomicroscópio Olympus CX31.

Resultados e discussão

Os danos visuais às folhas de soja pulverizadas com lactofen isolado e em mistura com chlorimuron-ethyl e imazethapyr, aos 6DAA, foram intensos nos folíolos onde foi depositado o produto (Figura 1 B; C) quando comparados à testemunha (Figura 1A). Os sintomas se caracterizaram por bronzeamento, clorose e necrose das lâminas foliares, acompanhadas de deformação (enrugamento) das folhas. Com o decorrer do crescimento das plantas e surgimento de novas folhas não foram mais evidenciados tais sintomas de intoxicação. Damião Filho et al. (1992) relataram sintomas foliares semelhantes em plantas de soja tratadas com 0,18 e 0,36 kg ha⁻¹ de lactofen.

As cloroses observadas podem ser reflexos da degeneração dos cloroplastos e/ou inibição da formação da clorofila ocasionada pelos herbicidas, principalmente os inibidores de Protox (Protoporfirinogênio oxidase), como é o caso do lactofen. Segundo Rodrigues e Almeida (2005), este herbicida é ativado pela luz e destrói as membranas celulares causando necrose e morte dos tecidos.

Não foram evidenciados sintomas visuais de intoxicação nas laminas foliares tratadas com glyphosate isolado e em mistura ao imazethapyr e a mistura de chlorimuron-ethyl ao imazethapyr (Figura 1 D, E, F).

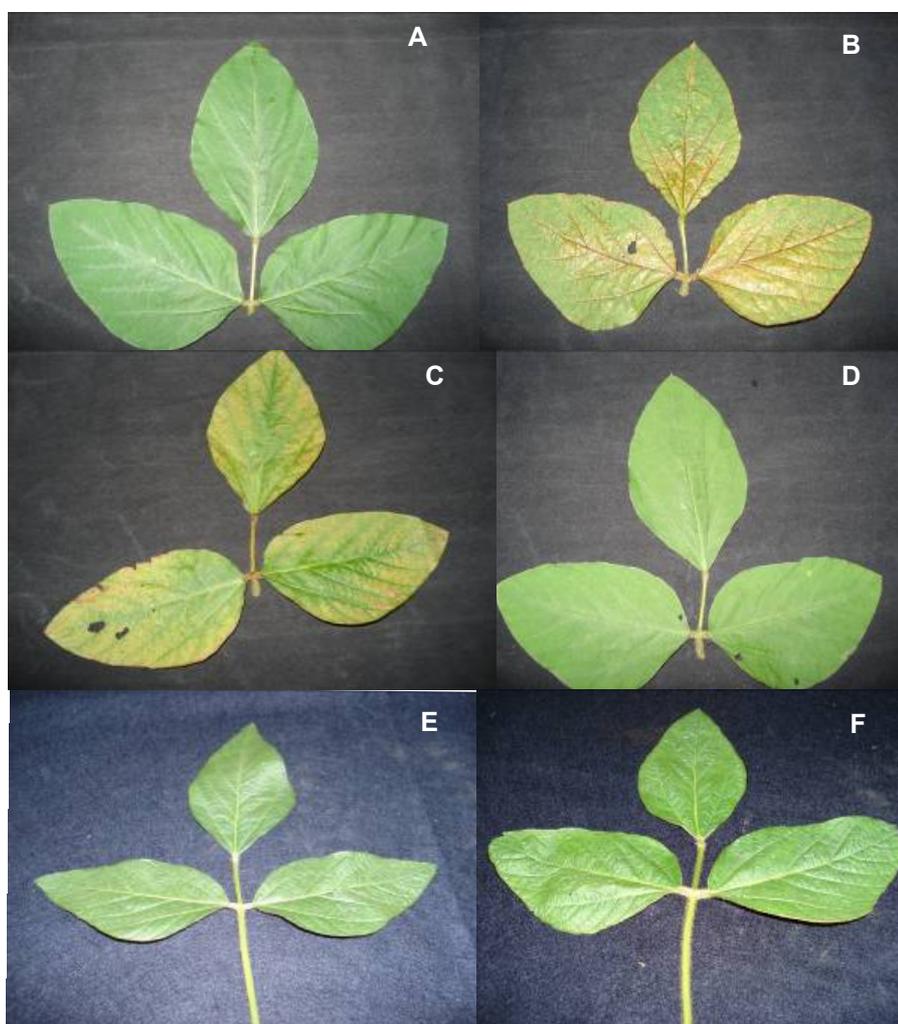


Figura 1 - Sinais macroscópicos de intoxicação causados por herbicidas em folhas de soja, aos 6 DAA. A) testemunha; B) lactofen; C) lactofen + chlorimuron-ethyl + imazethapyr; D) glyphosate; E) glyphosate + imazethapyr; F) chlorimuron-ethyl + imazethapyr.

Em relação às características anatômicas, a nervura mediana, em secção transversal da testemunha mostra-se côncava na epiderme adaxial e convexa na abaxial. Ocorre colênquima angular nas duas faces da folha, sendo mais desenvolvido adaxialmente. A epiderme é unisseriada,

com paredes anticlinais sinuosas. O mesofilo é dorsiventral formado por parênquimas paliçádico e lacunoso. O parênquima paliçádico, bisseriado e localizado adaxialmente, é constituído por células estreitas, alongadas e justapostas. O parênquima lacunoso, localizado abaxialmente, é formado por células com forma e tamanho irregulares e espaços intercelulares mais conspícuos. O sistema vascular da nervura mediana está constituído por dois feixes vasculares colaterais, um maior, em forma de arco, com o floema voltado para a face abaxial, e outro menor em disposição inversa ao primeiro, isto é, com floema voltado para face adaxial. Células esclerenquimáticas delimitam externamente o floema (Figura 1A).

As amostras das folhas pulverizadas com lactofen; lactofen + chlorimuron-ethyl + imazethapyr apresentaram alterações estruturais. A epiderme da superfície adaxial foi destruída e as células do parênquima paliçádico aparecem em colapso, ocorrendo plasmólise, apenas nos locais onde o produto foi aplicado (Figura 2 B e C). Porém, os tecidos condutores permaneceram intactos. De maneira geral, as lesões ocasionadas pelos herbicidas, revelaram-se pelo colapso de células da epiderme adaxial e perda da integridade estrutural das células do parênquima paliçádico adjacente. Isto pode ser explicado, segundo Rizzardi et al. (2004), pela baixa ou ausência de translocação do lactofen nas folhas, ficando retidos nas partes mais superficiais. Resultados semelhantes foram obtidos por Damião Filho et al. (1992) em plantas de soja submetidas a três doses de lactofen.

Os demais tratamentos químicos não ocasionaram alterações anatômicas às folhas como pode ser observado na Figura 2 (D, E, F).

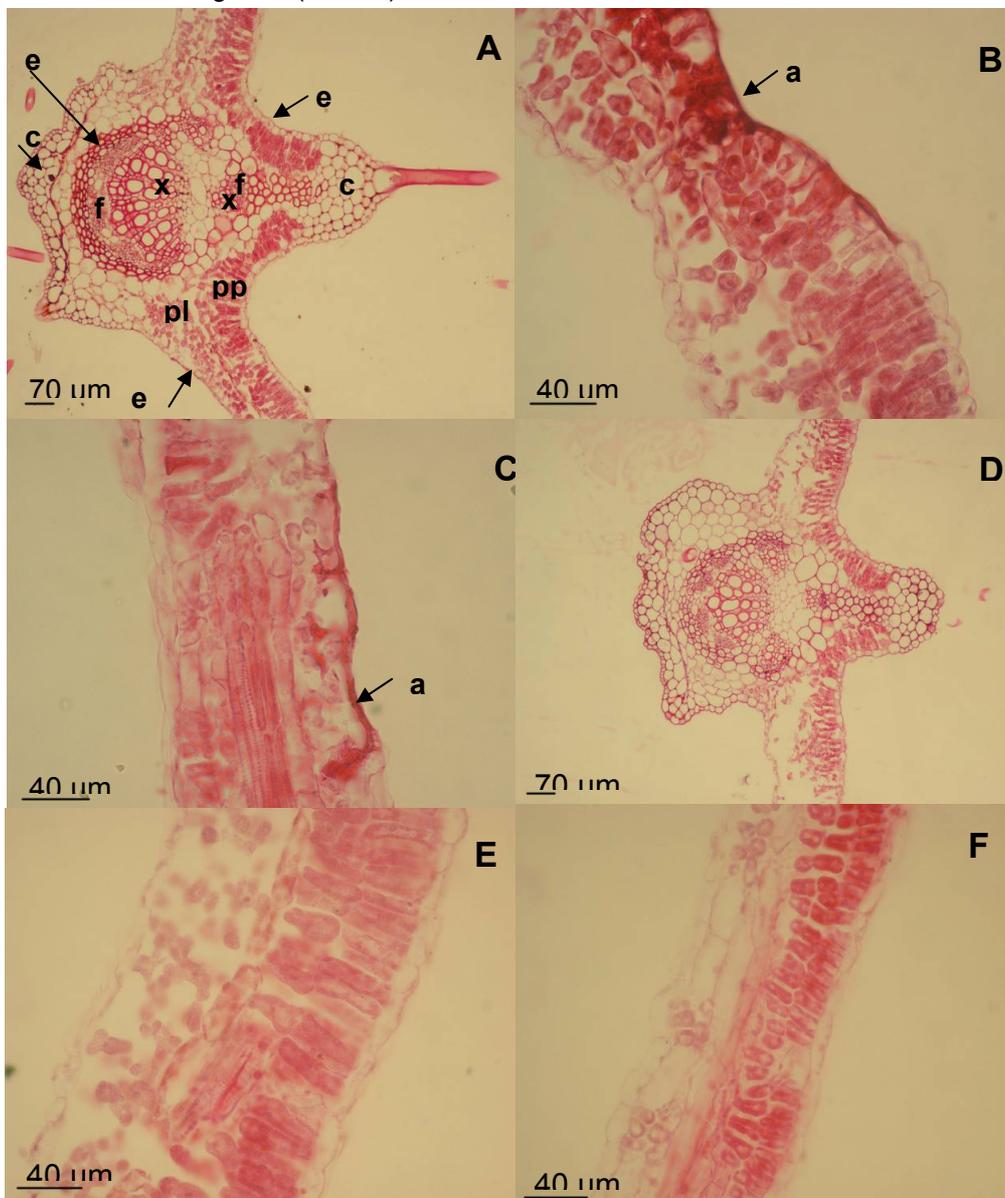


Figura 2 – Secções transversais do folíolo central de folhas de soja submetidas a aplicação de herbicidas. A - testemunha; B - lactofen; C - lactofen + chlorimuron-ethyl + imazethapyr; D - glyphosate; E - glyphosate + imazethapyr; F - chlorimuron-ethyl + imazethapyr. D - F: secções com ausência de sintomas ocasionados pelos herbicidas. ed – epiderme adaxial; eb – epiderme abaxial; pp – parênquima paliçádico; pl – parênquima lacunoso; x – xilema; f – floema; e – esclerênquima. c – colênquima. a – destruição da epiderme e parênquima paliçádico.

Literatura citada

ANDRIOLI, I.; CENTURION, J.F. Levantamento detalhado dos solos da Faculdade de Ciências agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 27, 1999. Brasília. **Anais**, Brasília: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1999. p. 32.

DAMIÃO FILHO, C.F.; CORSO, G.M.; ANDRADE, V.M.M. Efeitos do herbicida lactofen sobre três cultivares de soja. I – Alterações morfológicas externas e internas de folhas. **Planta Daninha**, v. 10, n.1-2, p. 17-24, 1992.

DEVINE, M. D.; DUKE, S. O.; FEDTKE, C. Foliar absorption of herbicides. In: DEVINE, M. D.; DUKE, S. O.; FEDTKE, C. (Ed.). **Physiology of herbicide action**. New Jersey: Englewood Cliffs, 1993. cap. 11, p. 29-52.

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

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York, MacGraw-Hill Book Co. 1940, 523 p.
METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaf and stem**. 2. ed . 1, Oxford, Clarendon Press, 1988, 276 p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaf and stem**. 2. ed . 1, Oxford, Clarendon Press, 1988, 276 p.

PROCÓPIO, S.O. et al. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III – Galisonga parviflora, Crotalaria incana, Conyza bonariensis e Ipomoea cairica. **Planta Daninha**, v. 21, n.1, p. 1-9, 2003.

RITCHIE, S.W. et al. **How a soybean plant develops**. Ames: Yowa State University of Science and Technology, 1977. 20 p. (Special Report, 53).

RIZZARDI, M. A. et al. Aspectos gerais do manejo e controle de plantas daninhas. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. (Ed.). **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 105-144.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. de. **Guia de herbicidas**. 5. ed. Londrina, 2005. 592 p.

SILVA, A.A. et al. **Controle de plantas daninhas**. Brasília: ABEAS, 2000. 260p.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Danos visuais e anatômicos causados pelo glyphosate em folhas de *Eucalyptus grandis*. **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 9 – 16, 2008.