

# EFEITOS DO GLIFOSATO SOBRE A ANATOMIA DO EPICÓTILO, COTILÉDONES E LIMBO DE FOLHAS PRIMÁRIAS DE PLÂNTULAS DE *Stizolobium aterrimum* PIPER ET TRACY

EDMILSON BIANCHINI<sup>1</sup>  
GRACI MIRIAN CORSO<sup>2</sup>

BIANCHINI, E.; CORSO, G.M. Efeitos do glifosato sobre a anatomia do epicótilo, cotilédones e limbo de folhas primárias de plântulas de *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy. **Semina: Ci. Biol./Saúde**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 22 - 29, jun. 1992.

## RESUMO

Foram estudados os efeitos do glifosato sobre a morfologia dos cotilédones, epicótilo e folhas primárias de plântulas de *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, em condições laboratoriais. As sementes foram germinadas em bandejas plásticas, forradas com papel de filtro, embebido em água. No sexto dia após a semeadura, elas foram transferidas para garrafas de vidro cortadas, contendo água destilada, 0,01; 0,10; 1,00; 10,0 ou 100 mg i.a./l da solução herbicida. As plântulas foram coletadas para análise aos 15 dias após a semeadura. O glifosato inibiu o desenvolvimento do epicótilo a partir da dosagem 1,0 mg i.a./l, alterando anatomicamente o ápice meristemático caulinar, tratado com a maior dosagem do herbicida. Não houve alterações marcantes na região mediana do epicótilo. A partir do tratamento 0,10 mg i.a./l, constatou-se a redução progressiva do desenvolvimento das folhas primárias o que resultou na compactação do mesofilo. O herbicida não alterou o tamanho e a estrutura dos cotilédones, mas inibiu o consumo do material de reserva, nas maiores dosagens.

**PALAVRAS-CHAVE:** Glifosato; *Stizolobium aterrimum*; Anatomia da plântula

## 1 - INTRODUÇÃO

A ação do glifosato, um herbicida não seletivo, sobre plantas, tem sido investigada por muitos pesquisadores. Este herbicida reduz o crescimento de *Zea mays* L. (ALI & FLETCHER, 1978), *Sinapis alba* L. (UOTILA et al., 1980), *Hordeum vulgare* L. (PENN & LYNCH, 1982), *Stizolobium aterrimum* (STEVAUX, 1982) e *Cyperus esculentus* L. (CÂNAL-VILLANUEVA et al., 1985). Os primeiros efeitos visíveis do glifosato é o intumescimento da região basal do caule, seguido pelo desenvolvimento das gemas basais (BAUR, 1979). O herbicida também reduz a expansão foliar e o acúmulo de matéria seca em plantas de *Phaseolus vulgaris* L. (BRECCKE & DUKE, 1980), sugerindo que estas reduções são consequências dos efeitos do herbicida sobre um ou mais processo fisiológicos.

Plantas de *Linum usitatissimum* L., em diferentes estágios de desenvolvimento, quando tratadas com glifosato, apresentam, nos caules, a morte e o colapso de células do floema e do parênquima associado. O tecido cortical apresenta-se reduzido e com áreas necróticas. A aplicação do glifosato, no início da floração destas plantas impede a lignificação das fibras (FRASER et al, 1982).

O mecanismo de ação do glifosato não está claramente estabelecido, atuando na via biossintética dos aminoácidos aromáticos, no qual o sítio molecular de

ação é a enzima 5-enolpivirilshiquimato-3-fosfato sintetase (LEE, 1982; CÂNAL et al., 1987a, b). O herbicida interfere também na atividade da fenilalanina amonialiase - PAL (DUKE et al., 1979 e 1980; CÂNAL et al., 1987a), e nos níveis de compostos hidroxifenólicos (CÂNAL et al., 1987a). Também altera os níveis endógenos de auxinas, podendo elevá-los (CÂNAL et al., 1987b) ou reduzi-los (LEE, 1982), dependendo da espécie vegetal. O herbicida também pode diminuir a taxa fotossintética, devido a redução nos níveis de clorofila (ABU-IRMAILEH & JORDAN, 1978).

STEVAUX (1982) sugere o desenvolvimento de estudos anatômicos de *S. aterrimum*, tratadas com glifosato, a fim de explicar alguns efeitos morfológicos observados externamente. Este trabalho tem por objetivo estudar os efeitos do glifosato, em diferentes dosagens, sobre a anatomia da parte aérea de plântulas de *Stizolobium aterrimum*, em condições laboratoriais.

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregadas seis dosagens de glifosato: 0,00; 0,01; 0,10; 1,00; 10,0 e 100,0 mg/l, calculadas sobre o ingrediente ativo (i.a.). Estas dosagens foram obtidas por diluição, a partir de uma solução mãe, preparada à 100 mg i.a./l, como indicado por STEVAUX (1982).

1 - Departamento de Biologia Animal e Vegetal - CCB/Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, CEP 86051-970, Londrina - Paraná - Brasil

2 - Departamento de Botânica - IB/UNESP, Rio Claro-SP



Sementes de mucuna preta (*Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy) foram lavadas em hipoclorito de sódio comercial a 10%, por 10 minutos, a fim de esterilizar suas superfícies. Posteriormente foram enxaguadas em água corrente, para retirar o excesso. Estas sementes foram colocadas para germinar em bandejas plásticas com 6 cm de altura, 32 cm de largura e 38 cm de comprimento, forradas com papel de filtro embebido em água. As bandejas foram colocadas em uma câmara de germinação com incidência luminosa de 1800 lux, fotoperíodo de 12 horas e temperatura com a média das mínimas de 22,6°C e com a média das máximas de 29°C.

No sexto dia após o início do experimento, as sementes foram selecionadas, de acordo com o tamanho da raiz primária, em torno de 20 mm. Estas foram transferidas para garrafas de vidro cortadas, pintadas internamente com tinta preta e externamente com tinta prata, a fim de se impedir a entrada de luz. Estes recipientes continham cerca de 500 ml de solução herbicida ou de água destilada e, suas bocas, foram cobertas com gaze, presas com elástico. A gaze era furada com a tesoura e através do orifício, as raízes eram imersas no líquido, sendo que os cotilédones se apoiavam externamente na gaze. Cada garrafa recebeu quatro sementes. Foram feitas cinco repetições de cada dosagem. Estas garrafas foram mantidas na mesma câmara, sendo aeradas duas vezes ao dia. Os recipientes eram completados com água destilada a cada dois dias, mantendo-se um volume de 500 ml.

Quinze dias após o início do experimento fixou-se o ápice e a região mediana do epicótilo, região mediana dos cotilédones e região mediana do limbo das folhas primárias (nervura principal, região das nervuras secundárias e bordo) em Bouin-Hollande. Estes materiais foram desidratados na série etanol-xilol e incluídos em parafina (JOHANSEN, 1940). Os blocos foram seccionados transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo Reichert. Estas seções, com aproximadamente 12 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), foram coradas com azul de astra-fucsina básica (ROESER, 1972), montadas em bálsamo do Canadá e fotografadas em fotomicroscópio Docuval Zeiss-Jena.

As lâminas referentes à região mediana do epicótilo, nervura principal e região das nervuras secundárias das folhas foram analisadas e alguns parâmetros medidos, utilizando-se ocular micrométrica ou retículo, num total de 5 lâminas para cada material analisado. Os parâmetros utilizados foram: a) epicótilo, em seção longitudinal – comprimento e largura das células epidérmicas e comprimentos das células dos parênquimas cortical e medular; b) epicótilo, em seção transversal – área total, número da camadas celulares e espessura do córtex, espessura das camadas de fibras perivasculares, espessura do floema e das camadas de fibras e do conjunto de vasos do xilema; c) folhas, em seção transversal – área total da nervura principal, área do xilema e do floema, espessura do limbo e dos parênquimas paliádico e lacunoso, largura das células epidérmicas adaxiais e abaxiais.

Para análise da epiderme foliar, utilizou-se o método

de impressões em cola Super Bonder sobre lâminas (comunicação pessoal de E. Mark Engleman). Foram utilizadas três folhas primárias por tratamento e impressões de suas faces superior e inferior. Essas impressões foram feitas na região mediana do limbo foliar. As lâminas obtidas foram analisadas, com auxílio de ocular de retículo e foram feitas contagens do número de estômatos, de células mãe de estômatos e de células epidérmicas, por milímetro quadrado ( $\text{mm}^2$ ). Foram contados 30 campos para cada epiderme, sendo 10 campos em cada folha. Com auxílio de ocular micrométrica foram medidos, em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), o comprimento e a largura de 300 estômatos e de 300 células epidérmicas, em cada face, sendo 100 estômatos e 100 células epidérmicas em cada folha.

O conteúdo de proteínas (nitrogênio total) dos cotilédones das plântulas, nos diferentes tratamentos, foi analisado de acordo com o método de Kjeldahl (COLOWICK & KAPLAN, 1957).

Os dados anatômicos foram submetidos a uma análise de variância e suas médias comparadas através do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Estes tratamentos estatísticos também foram aplicados sobre o número de estômatos, células-mãe de estômatos e células epidérmicas. Quando necessário, os dados foram transformados para  $\sqrt{x + 0,5}$  para melhorar a aproximação da distribuição normal. Para verificar possíveis efeitos das dosagens dos herbicidas sobre o tamanho dos estômatos e células epidérmicas utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson.

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

O glifosato reduziu o desenvolvimento do epicótilo e das folhas, a partir da dosagem 1,00 mg i.a./l. O herbicida não afetou o desenvolvimento dos cotilédones, quando comparado à testemunha. O crescimento dos cotilédones envolve apenas a expansão de um órgão já presente no embrião (CUTTER, 1986). Talvez por isso o herbicida não afetou a expansão deste órgão.

O glifosato, aplicado em baixas dosagens apresenta atividade semelhante a um regulador de crescimento, estimulando o crescimento em *Sorghum bicolor* (L.) Moench (BAUR et al., 1977) e *Sinapis alba* (UOTILA et al., 1980). Esta atividade reguladora de crescimento provavelmente está relacionada a uma alteração do balanço hormonal de auxinas-citocininas na planta (BAUR, 1979).

O glifosato causa inibição do crescimento da parte aérea em *Zea mays* (ALI & FLETCHER, 1978), *Glycine max* (L.) Merr. (DUKE et al., 1979 e 1980), *Sinapis alba* (UOTILA et al., 1980), *Hordeum vulgare* (PENN & LYNCH, 1982), *Stizolobium aterrimum* (STEVAUX, 1982), *Cyperus esculentus* (CÂNAL-VILLANUEVA et al., 1985), *Euphorbia esula* L. (MAXWELL et al., 1987) e *Cirsium arvense* (L.) Scop (CARLSON & DONALD, 1988).

As plântulas tratadas com 0,01; 0,10; 1,0 e 10,0 mg i.a./l de glifosato não apresentaram alterações do ápice meristemático caulinar, quando comparadas à testemunha



(Fig. 1A). No tratamento 100 mg i.a./l observou-se modificações estruturais das células meristemáticas, que se apresentaram hipertrofiadas e vacuoladas (Fig. 1B).

O não desenvolvimento do epicótilo e das folhas primárias ocorreu provavelmente devido a interrupção das divisões celulares no meristema apical caulinar, já verificada em *Glycine max*, após a aplicação do herbicida, por VAUGHN & DUKE (1986). AUDUS (1976) também afirma que o herbicida afeta os meristemas, causando anormalidades de crescimento. As células meristemáticas apicais de rizomas de *Pteridium esculentum*, tratadas com glifosato, se apresentam vacuoladas (HALLAM, et al., 1987).

As alterações das células meristemáticas podem ser devidas a mudanças no balanço hormonal da planta, provocadas pelo herbicida. Provavelmente resultantes do aumento nos níveis endógenos de auxinas, como citado por CÂNAL et al., (1987b).

A dosagem 0,01 mg i.a./l de glifosato não apresentou alterações marcantes, na região mediana do epicótilo, quando comparado à testemunha. Observou-se somente uma redução significativa, ao nível de 5%, da área total do epicótilo (Tabela 1). Nas dosagens 0,1; 1,0 e 10,0 mg i.a./l, houve aumento significativo da área total do epicótilo, em função do incremento significativo da espessura do córtex, devido, em parte, a uma elevação do número de camadas celulares. Nestas dosagens houve também redução do comprimento das células epidérmicas, comparado à testemunha (Tabela 1). Na região medular, do tratamento 10 mg i.a./l, observou-se hiperplasia com células parenquimáticas menores e ligeiramente mais curtas que as células da testemunha (Tabela 1). Para todos os tratamentos, não se constatou alterações significativas das fibras perivasculares e dos tecidos vasculares (Tabela 1).

**TABELA 1 - VALORES MÉDIOS DE 5 REPETIÇÕES DE ALGUNS PARÂMETROS ANATÔMICOS DO EPICÓTILO DE PLÂNTULAS DE *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO, TRATADAS COM FLIFOSATO.**

PARÂMETROS	DOSAGENS ( mg i.a./l)				
	0,00	0,01	0,10	1,00	10,0
área total (mm <sup>2</sup> ).	1,786 <sup>a</sup>	1,531 <sup>b</sup>	2,393 <sup>c</sup>	2,784 <sup>d</sup>	2,088 <sup>e</sup>
largura células epidérmicas (mm).	0,010 <sup>a</sup>	0,010 <sup>a</sup>	0,012 <sup>ab</sup>	0,013 <sup>ab</sup>	0,015 <sup>b</sup>
comprimento células epidérmicas (mm).	0,077 <sup>a</sup>	0,065 <sup>ab</sup>	0,052 <sup>b</sup>	0,048 <sup>b</sup>	0,055 <sup>b</sup>
número camadas celulares córtex.	4,670 <sup>a</sup>	5,000 <sup>a</sup>	6,670 <sup>ab</sup>	8,000 <sup>b</sup>	8,670 <sup>b</sup>
espessura córtex (mm).	0,192 <sup>a</sup>	0,152 <sup>a</sup>	0,357 <sup>b</sup>	0,480 <sup>b</sup>	0,504 <sup>b</sup>
comprimento células do córtex (mm).	0,178 <sup>a</sup>	0,136 <sup>ab</sup>	0,140 <sup>ab</sup>	0,130 <sup>b</sup>	0,146 <sup>ab</sup>
espessura camadas fibras perivasculares (mm).	0,030 <sup>a</sup>	0,031 <sup>a</sup>	0,033 <sup>a</sup>	0,040 <sup>a</sup>	0,027 <sup>a</sup>
espessura do floema (mm).	0,081 <sup>a</sup>	0,079 <sup>a</sup>	0,073 <sup>a</sup>	0,089 <sup>a</sup>	0,096 <sup>a</sup>
espessura do xilema conjunto vasos (mm).	0,107 <sup>a</sup>	0,099 <sup>a</sup>	0,099 <sup>a</sup>	0,115 <sup>a</sup>	0,087 <sup>a</sup>
espessura do xilema conjunto fibras (mm).	0,051 <sup>a</sup>	0,045 <sup>a</sup>	0,043 <sup>a</sup>	0,047 <sup>a</sup>	0,033 <sup>a</sup>
comprimento células medulares (mm).	0,154 <sup>a</sup>	0,139 <sup>a</sup>	0,148 <sup>a</sup>	0,147 <sup>a</sup>	0,136 <sup>a</sup>

Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (teste de Tukey). A dosagem 100 mg i.a./l inibiu o desenvolvimento do epicótilo.



Em plantas de *Linum usitatissimum* pulverizadas com glifosato, ocorre marcantes alterações estruturais no caule, dentre as quais redução dos tecidos corticais (FRASER et al., 1982). Estas alterações não ocorreram em plântulas de *S. aterrimum*, possivelmente, em virtude da forma de aplicação do herbicida, do estágio de desenvolvimento e da própria planta, pois segundo DAVIS & HARVEY (1980) as leguminosas são relativamente resistentes ao glifosato.

Em visão frontal das duas faces da epiderme, não foram observadas diferenças marcantes entre os diversos tratamentos. O herbicida não alterou, significativamente, o número de estômatos, em relação à testemunha. Entretanto, o número de células epidérmicas adaxiais variou significativamente, ao nível de 5%. A dosagem 0,01 mg i.a./l estimulou o aumento do número de células epidérmicas, quando comparada à testemunha e ao tratamento 0,1 mg i.a./l (Tabela 2) sendo menores que as da testemunha e do tratamento 0,1 mg i.a./l (Tabela 3). Na superfície abaxial, a dosagem 1,0 mg i.a./l aumentou, significativamente ( $P \leq 0,05$ ), o número de células-mães de estômatos, quando comparado à testemunha e à dosagem 0,1 mg i.a./l (Tabela 2).

O coeficiente de correlação de Pearson mostra que não houve correlação entre os tratamentos e o tamanho dos estômatos e das células epidérmicas, tanto para a face adaxial quanto para a abaxial. Por apresentarem folhas primárias reduzidas ou não desenvolvidas, não foram analisados os materiais das dosagens 10,0 e 100 mg i.a./l de glifosato.

**TABELA 2 - NÚMERO MÉDIO DE ESTÔMATOS (1), CÉLULAS-MÃE DE ESTÔMATOS (2) E DE CÉLULAS EPIDÉRMICAS (3), POR MILÍMETRO QUADRADO (MM<sup>2</sup>), NA REGIÃO MEDIANA DE FOLHAS PRIMÁRIAS DE PLÂNTULAS DE *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO, TRATADAS COM DIFERENTES DOSAGENS (mg i.a./l) DE GLIFOSATO. OS DADOS FORAM OBTIDOS A PARTIR DA CONTAGEM DE 30 CAMPOS PARA CADA FACE EPIDÉRMICA DE 3 FOLHAS PRIMÁRIAS.**

DOSAGEM	FACE ADAXIAL			FACE ABAXIAL		
	1	2	3	1	2	3
0,00	113,3 <sup>a</sup>	33,3 <sup>a</sup>	1319,7 <sup>ab</sup>	326,7 <sup>a</sup>	46,7 <sup>a</sup>	1610,7 <sup>ab</sup>
0,01	113,0 <sup>a</sup>	43,3 <sup>a</sup>	1588,0 <sup>c</sup>	327,0 <sup>a</sup>	93,0 <sup>ab</sup>	1839,0 <sup>a</sup>
0,10	93,3 <sup>a</sup>	26,7 <sup>a</sup>	1171,7 <sup>a</sup>	343,3 <sup>a</sup>	46,7 <sup>a</sup>	1553,0 <sup>b</sup>
1,00	83,0 <sup>a</sup>	53,0 <sup>a</sup>	14,47,0 <sup>bc</sup>	357,0 <sup>a</sup>	100 <sup>b</sup>	18,45,0 <sup>a</sup>

Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (teste de

Tukey). Os tratamentos 10 e 100 mg i.a./l não foram analisados por apresentarem folhas reduzidas e não desenvolvidas, respectivamente.

**TABELA 3 - TAMANHO MÉDIO DOS ESTÔMATOS (1) E DE CÉLULAS EPIDÉRMICAS (2), EM MICRÔMETRO ( $\mu$ m), NA REGIÃO MEDIANA DE FOLHAS PRIMÁRIAS DE PLÂNTULAS DE *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO TRATADAS COM DIFERENTES DOSAGENS (mg i.a./l) DE GLIFOSATO. OS DADOS FORAM OBTIDOS A PARTIR DE 300 ESTÔMATOS E 300 CÉLULAS EPIDÉRMICAS CONTADOS A PARTIR DE 3 FOLHAS PRIMÁRIAS.**

DOSAGENS	FACE ADAXIAL		FACE ABAXIAL	
	1	2	1	2
0,00	15,2 x 8,0	42,7 x 26,4	16,2 x 8,4	40,1 x 23,9
0,01	15,1 x 8,2	38,0 x 24,4	16,6 x 8,6	38,6 x 22,3
0,10	16,2 x 8,5	45,3 x 28,5	17,4 x 9,1	43,0 x 24,5
1,00	14,9 x 7,9	40,1 x 24,5	16,4 x 9,1	36,5 x 21,3

Os tratamentos 10 e 100 mg i.a./l não foram analisados por apresentarem folhas reduzidas e não desenvolvidas, respectivamente.

Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas, entre os tratamentos, em relação à nervura principal (Tabela 4), verificou-se que as dosagens 0,1 e 10,0 mg i.a./l do herbicida, induziram redução da área total da nervura, área total do xilema e do floema, principalmente a 10 mg i.a./l. As dosagens 0,01 e 1,0 mg i.a./l estimularam o aumento da área dos parâmetros mencionados, quando comparadas com a testemunha. Não há na literatura consultada, nenhum estudo da ação do glifosato sobre a estrutura das nervuras foliares.

Com referência ao limbo das folhas primárias, observou-se nos tratamentos com glifosato, uma tendência de uniformização das células epidérmicas que vão adquirindo forma tabular, à medida que se aumentou as dosagens, quando comparado à testemunha, a qual apresenta epiderme irregular e papilosa, em cuja face superior veri-



ficou-se células lenticulares. Não houve alterações significativas ( $P \leq 0,05$ ) na altura das células epidérmicas, bem como na espessura do limbo e dos parênquimas paliçádico e lacunoso, quando comparado à testemunha (Tabela 4).

de amido (Fig. 2D, F e Tabela 5). As células do parênquima de reserva também apareceram hipertrofiadas. A partir da dosagem 1,0 mg i.a./l observou-se uma gradual aglomeração de proteínas, formando "gotículas" (Fig 2D, f). A redução do consumo do material de reserva estava

**TABELA 4 - VALORES MÉDIOS DE 5 REPETIÇÕES DE ALGUNS PARÂMETROS ANATÔMICOS DE FOLHAS PRIMÁRIAS DE PLÂNTULAS DE *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO, TRATADAS COM GLIFOSATO.**

PARÂMETROS	DOSAGENS (mg i.a./l)				
	0,00	0,01	0,10	1,00	10,0
área total nervura principal (mm <sup>2</sup> ).	0,372 <sup>ab</sup>	0,565 <sup>a</sup>	0,384 <sup>ab</sup>	0,486 <sup>ab</sup>	0,212 <sup>b</sup>
área total xilema (mm <sup>2</sup> ).	0,030 <sup>ab</sup>	0,034 <sup>ab</sup>	0,022 <sup>ab</sup>	0,039 <sup>a</sup>	0,009 <sup>b</sup>
área total floema (mm <sup>2</sup> ).	0,048 <sup>ab</sup>	0,058 <sup>a</sup>	0,036 <sup>ab</sup>	0,049 <sup>ab</sup>	0,020 <sup>b</sup>
largura células epidérmicas adaxiais (mm).	0,012 <sup>a</sup>	0,012 <sup>a</sup>	0,014 <sup>a</sup>	0,013 <sup>a</sup>	0,010 <sup>a</sup>
largura células epidérmicas abaxiais (mm).	0,007 <sup>a</sup>	0,007 <sup>a</sup>	0,008 <sup>a</sup>	0,008 <sup>a</sup>	0,010 <sup>a</sup>
espessura limbo (mm).	0,086 <sup>ab</sup>	0,086 <sup>ab</sup>	0,077 <sup>b</sup>	0,085 <sup>ab</sup>	0,099 <sup>a</sup>
espessura parênquima paliçádico (mm).	0,028 <sup>a</sup>	0,029 <sup>a</sup>	0,023 <sup>a</sup>	0,027 <sup>a</sup>	0,025 <sup>a</sup>
espessura parênquima lacunoso (mm).	0,039 <sup>ab</sup>	0,039 <sup>ab</sup>	0,031 <sup>b</sup>	0,037 <sup>ab</sup>	0,054 <sup>a</sup>

Letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (teste de Tukey). O tratamento 100 mg i.a./l inibiu o desenvolvimento das folhas primárias.

Nos tratamentos 0,01 e 0,1 mg i.a./l, ocorreu a formação de taninos na epiderme, aumentando o conteúdo celular - flobafenos.

O aumento das dosagens levou a uma gradual compactação do mesofilo, pelo aumento do número de células e redução dos espaços intercelulares, não havendo formação de cristais de oxalato de cálcio nas extensões das nervuras secundárias (Fig. 1F), quando comparado à testemunha (Fig. 1E). O herbicida alterou a estrutura das células do parênquima paliçádico, à medida que as dosagens foram aumentadas, passando de cônica para cilíndrica. Não houve modificações estruturais no bordo das folhas primárias nos diversos tratamentos.

Os tratamentos 0,01 e 0,10 mg i.a./l de glifosato estimularam o consumo do material de reserva dos cotilédones (Fig. 2B), enquanto que os demais tratamentos inibiram o consumo (Fig. 2C, D, F e Tabela 5), quando comparado à testemunha (Fig. 2A, E e Tabela 5). No tratamento 1,0 mg i.a./l a inibição refere-se a proteínas, uma vez que os grãos de amido são pouco numerosos (Fig 2C e Tabela 5). Na dosagem 10 mg i.a./l ocorreu redução do consumo de amido e as células apareceram hipertrofiadas em relação à testemunha. Em 10 mg i.a./l houve consumo, relativamente pequeno, de proteínas e de grãos

relacionada a inibição do desenvolvimento das plântulas.

**TABELA 5 - TEOR DE PROTEÍNAS ENCONTRADAS EM COTILÉDONES DE PLÂNTULAS DE *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, COM 15 DIAS DE DESENVOLVIMENTO, TRATADAS COM GLIFOSATO.**

TRATAMENTOS	PROTEÍNA BRUTA %
sementes não embebidas	23,12
testemunha	7,26
glifosato 0,01 mg i.a./l	7,38
glifosato 0,10 mg i.a./l	5,44
glifosato 1,00 mg i.a./l	10,53
glifosato 10,0 mg i.a./l	13,82
glifosato 100 mg i.a./l	16,42

HALLAM et al. (1987) encontraram marcantes alterações estruturais em frondes imaturas de *Pteridium esculentum*, após o tratamento com o glifosato. Células epidérmicas superiores apresentavam-se com o citoplasma



destruído e células paliçádicas colapsadas, com depósitos fenólicos. Posteriormente os demais tecidos eram afetados. Colapso de células também foi verificado em folhas de *Agropyron repens* (L.) Beauv. (CAMPBELL et al., 1976).

O herbicida provavelmente produziu uma alteração no balanço hormonal de *S. aterrimum*, a qual provocou interrupções nas divisões celulares, afetando o crescimento. Este balanço hormonal alterado, juntamente com outros processos afetados pelo herbicida, tais como, a via biossintética dos aminoácidos aromáticos, provavelmente, provocaram também desorganização dos meristemas, resultando em alterações anatômicas.

Sugere-se a realização de novas pesquisas sobre alterações anatômicas e ultra-estruturais provocadas pelo

uso deste herbicida, associadas a estudos sobre o balanço hormonal das plantas tratadas.

#### 4 - CONCLUSÕES

O glifosato estimula o crescimento do epicótilo, nas dosagens 0,01 e 0,1 mg i.a./l e reduz a partir da dosagem 1,0 mg i.a./l, em relação à testemunha. As folhas são inibidas a partir do tratamento 0,1 mg i.a./l, enquanto que as dimensões dos cotilédones não são influenciadas.

A dosagem 100 mg i.a./l do herbicida altera a estrutura do ápice caulinar, mas não provoca alterações estruturais drásticas na região mediana do epicótilo. Não há influência marcante do herbicida na estrutura das folhas primárias. A partir do tratamento 1,0 mg i.a./l, há inibição do consumo do material de reserva dos cotilédones.

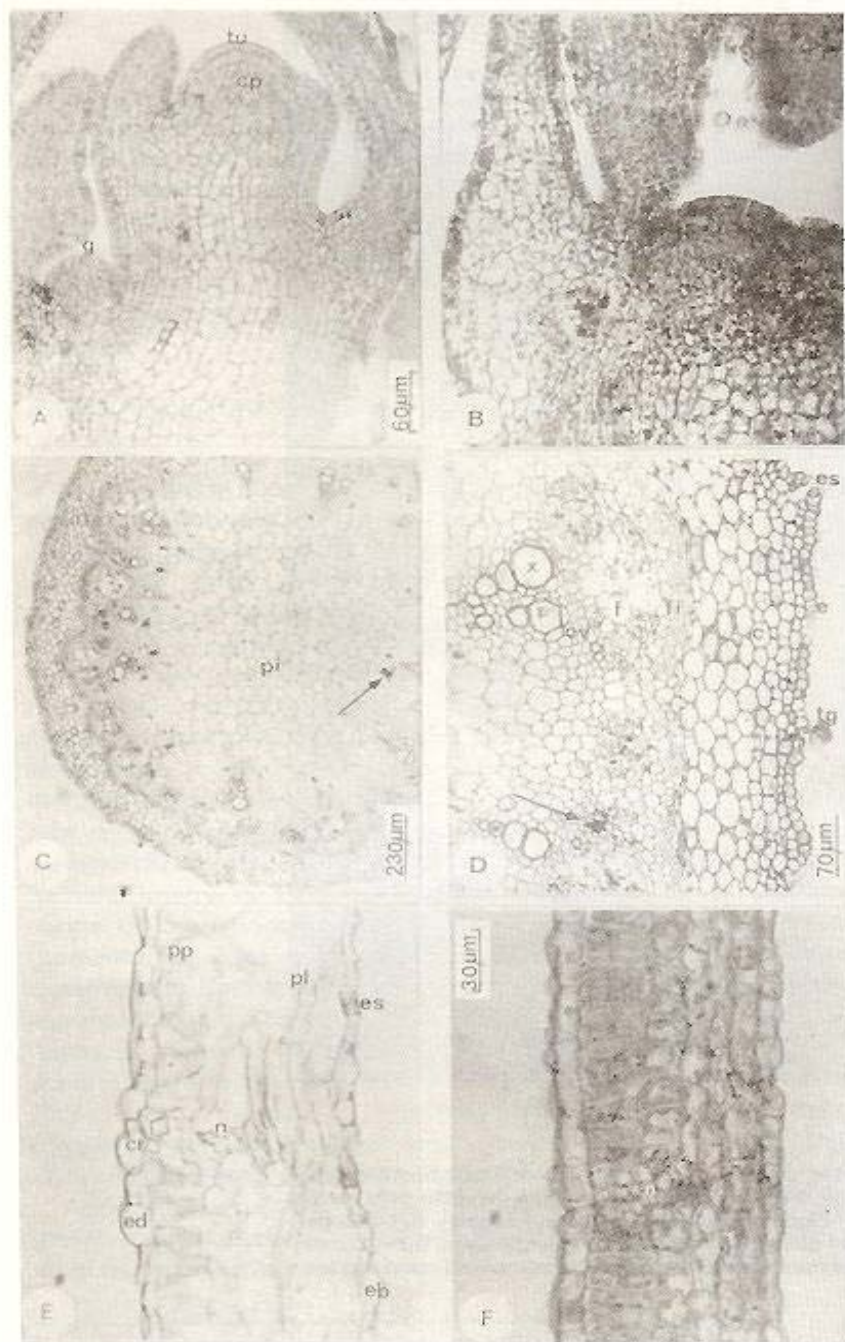
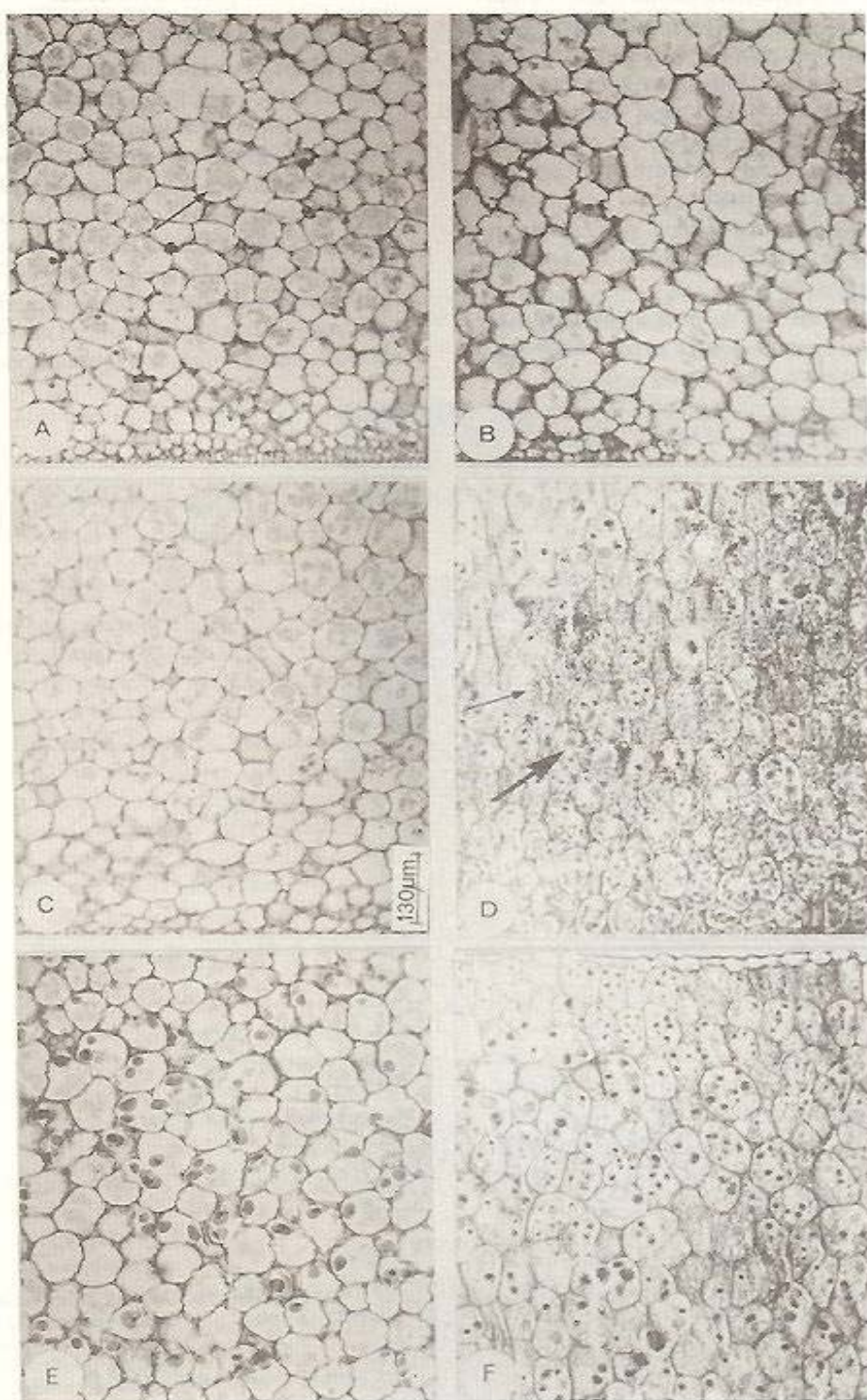


FIGURA 1 - Seções longitudinais medianas (A, B) e transversais (C-F) de plântulas de *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, com 15 dias de desenvolvimento. A,B-ápice meristemático caulinar; C,D-região mediana do epicótilo; E,F-região mediana do limbo das folhas primárias. A,E-testemunha; B-100 mg i.a./l de glifosato; C,D-F-10 mg i.a./l de glifosato. c-córtex, cp-corpo, cr-cristais, cv-câmbio vascular, e-epiderme, eb-epiderme abaxial, ed-epiderme adaxial, es-estômatos, f-floema, fi-fibras, g-gemas, n-nervuras de menor calibre, pi-medula, pl-parênquima lacunoso, pp-parênquima paliçádica, tg-tricoma glandular, tu-túnica, x-xilema. As setas indicam células tanferas.





**FIGURA 2** - Seções transversais dos cotilédones de plântulas de *Stizolobium atrovirens* Piper et Tracy, com 15 dias de desenvolvimento. A-D-região próxima da epiderme abaxial; E,F-região próxima da epiderme adaxial. A,E-testemunha; B-0,10 mg i.a./l de glifosato; C-1,00 mg i.a./l de glifosato; D,F-100,0 mg i.a./l de glifosato. Setas maiores indicam grãos de amido e as menores, proteínas.



BIANCHINI, E.; CORSO, G.M. Effects of glyphosate upon the anatomy of the epicotyl, cotyledon and primary leaves of seedlings of *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy. **Semina: Ci. Biol./Saúde**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 22 - 29, June 1992.

#### ABSTRACT

The effects of the glyphosate upon the morphology of the cotyledons, epicotyl and primary leaves of seedlings of *Stizolobium aterrimum* Piper et Tracy, were studied under laboratory conditions. Seeds were germinated in plastic trays covered with filter paper, soaked in water. On the sixth day after sowing, the seeds were transferred to glass cut bottles containing distilled water or 0.01; 0.10; 1.00; 10.0 ou 100.0 mg a.i./l solutions of the glyphosate. The seedlings were collected for analyses 15 days after sowing. Inhibition in the development of the epicotyl occurred above the dosage of 1.00 mg a.i./l of glyphosate, with concomitant anatomical alterations of the shoot apical meristem when treated with the greatest dosage of glyphosate. The herbicide did not significantly alter structures in the middle region and did not alter the size and structure of the cotyledons but inhibited the consumption of reserve material when at the greatest dosages. Above the level of 0.10 mg a.i./l, it began a progressive reduction in the development of the primary leaves, which caused a compaction of the mesophyll.

**KEY-WORDS:** Glyphosate; *Stizolobium aterrimum*; Seedling anatomy.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUHRMAILEH, B.E.; JORDAN, L.S. Some aspects of glyphosate action in purple nutsedge (*Cyperus rotundus*). *Weed Sci.*, v. 26, n. 1, p. 700-703, nov. 1978.
- ALI, A.; FLETCHER, R.A. Phytotoxic action of glyphosate and amitrole on corn seedlings. *Can. J. Bot.*, v. 56, p. 2196-2202, 1978.
- AUDUS, J.L. *Herbicides, physiology, biochemistry, ecology*. 2. ed. London: Academic Press, 1976. v. 1, 608p.
- BAUR, J.R. Reduction of glyphosate-induced tillering in sorghum (*Sorghum bicolor*) by several chemicals. *Weed Sci.*, v. 27, n. 1, p. 69-73, jan. 1979.
- BAUR, J.R. BOVEY, R.W. & VEECH, J.A. Growth responses in sorghum and wheat induced by glyphosate. *Weed Sci.*, v. 25, n. 3, p. 238-240, may, 1977.
- BRECKE, B.J.; DUKE, W.B. Effect of glyphosate on intact bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) and isolated cells. *Plant Physiol.*, v. 66, p. 656-659, 1980.
- CAMPBELL, W.F.; EVANS, J.O. REED, S.C. Effects of glyphosate on chloroplast ultrastructure of quackgrass mesophyll cells. *Weed Sci.*, v. 24, n. 1, p. 22-25, jan. 1976.
- CÁNAL, M.J.; TAMES, R.S.; FERNÁNDEZ, B. Effects of glyphosate on phenolic metabolism in yellow nutsedge leaves. *Physiol. Plant.*, v. 69, p. 627-632, 1987a.
- . Glyphosate-increased levels of indole-3-acetic acid in yellow nutsedge leaves correlate with gentisic acid levels. *Physiol. Plant.*, v. 71, p. 384-388, 1987b.
- CÁNAL-VILLANUEVA, M.J.; FERNÁNDEZ MUÑIZ, B. TAMES, R.S. Effects of glyphosate on growth and the chlorophyll and carotenoid levels of yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*). *Weed Sci.*, v. 33, n. 6, p. 751-754, nov. 1985.
- CARLSON, S.J. & DONALD, W.W. Glyphosate effects on canada thistle (*Cirsium arvense*) roots, roots buds and shoots. *Weed Res.*, v. 28, p. 37-45, 1988.
- COLOWICK, S.P.; KAPLAN, N.O. *Methods in enzymology*. New York: Academic Press, 1957. v. 4, p. 428-487.
- CUTTER, E.G. *Anatomia vegetal: células e tecidos*. 2. ed. São Paulo: Roca, 1986. 304p.
- DAVIS, C.; HARVEY, R.G. Reversal of glyphosate toxicity to alfalfa calli phenylalanine and tyrosine. *Weed Abst.*, v. 29, n. 2, p. 574, 1980.
- DUKE, S.O.; HOAGLAND, R.E.; ELMORE, C.D. Effects of glyphosate on metabolism of phenolic compounds. IV - Phenylalanine ammonia-lyase activity, free amino acids, and soluble hydroxyphenolic compounds in axes of light-grown soybeans. *Physiol. Plant.*, v. 46, p. 307-317, 1979.
- . Effects of glyphosate on metabolism of phenolic compounds. V-L-  $\alpha$  aminoxy-  $\beta$  phenylpropionic acid and glyphosate effects on phenylalanine ammonia-lyase in soybean seedlings. *Plant Physiol.*, v. 65, p. 17-21, 1980.
- FRASER, T.W.; COURTNEY, A.D.; HARVEY, B.M.R. Pre-harvest retting of flax: a light microscope study of the effects of glyphosate treatment on the maturation of stem tissues. *Ann. Appl. Biol.*, v. 101, n. 3, p. 533-537, 1982.
- HALLAM, N.D.; HERRMANN, C.; RICHARDSON, R.G. Effects of asulam and glyphosate on the leaves and rhizomes of *Pteridium esculentum*. *Plant Prot. Q.*, v. 2, n. 2, p. 59-66, 1987.
- JOHANSEN, D.A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- LEE, T.T. Mode of action of glyphosate in relation to metabolism of indole-3-acetic acid. *Physiol. Plant.*, v. 54, p. 289-294, 1982.
- MAXWELL, B.D.; FOLEY, M.E.; FAY, P.K. The influence of glyphosate on bud dormancy in leafy spurge (*Euphorbia esula*). *Weed Sci.*, v. 35, n. 1, p. 6-10, jan. 1987.
- PENN, D.J.; LYNCH, J.M. Toxicity of glyphosate applied to roots of barley seedlings. *New Phytol.*, v. 90, p. 51-55, 1982.
- ROESER, K.R. Die nadel der schwarzkiefer massenprodukt und kunstwerk der natur. *Mikrokosmos*, v. 61, n. 2, p. 33-36, 1972.
- STEVAUX, M.C.S. *Alguns efeitos do glifosato e do 2,4-D sobre o crescimento inicial da mucuna preta (Stizolobium aterrimum Piper et Tracy)*. Salvador, 1982. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia. Universidade Federal da Bahia.
- UOTILA, M.; EVJEN, K. & IVERSEN, T.H. The effects of glyphosate on the development and cell ultrastructure of white mustard *Sinapis alba* L. seedlings. *Weed Res.*, v. 20, p. 153-158, 1980.
- VAUGHN, K.C. & DUKE, S.O. Ultrastructural effects of glyphosate on *Glycine max* seedlings. *Pestic. Biochem. Physiol.*, v. 26, p. 56-65, 1986.

Recebido para publicação em 30/10/1991