INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO - CAMPUS RIO VERDE PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA.

TOLERÂNCIA DE DUAS ESPÉCIES DE JATOBÁ (Hymenaea courbaril L. e Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne) AO GLIFOSATO

Autora: Giselle Santos de Faria Orientador: Prof. Dr. Leandro Carlos

RIO VERDE – GO Fevereiro – 2020

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO - CAMPUS RIO VERDE PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA.

TOLERÂNCIA DE DUAS ESPÉCIES DE JATOBÁ (Hymenaea courbaril L. e Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne) AO GLIFOSATO

Autora: Giselle Santos de Faria Orientador: Prof. Dr. Leandro Carlos

Dissertação apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, Área de dose em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado.

RIO VERDE – GO Fevereiro – 2020

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

Faria, Giselle Santos de Faria TOLERÂNCIA DE DUAS ESPÉCIES DE JATOBÁ (Hymenaea courbaril L. e Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne) AO GLIFOSATO / Giselle Santos de Faria Faria; orientador Leandro Carlos; co-orientador Adriano Jakelaitis. -- Rio Verde, 2020. 63 p. Dissertação (em Ciências Agrarias Agronomia) --Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2020. 1. Fotossíntese. 2. herbicida. 3. anatomia . 4. foliar. I. Carlos, Leandro , orient. II. Jakelaitis, Adriano , co-orient. III. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 n°2376



Repositório Institucional do IF Goiano - RIIF Goiano Sistema Integrado de Bibliotecas

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

[]	Tese		[]	Artigo Científico
[x]	Dissertação		Ĺ Ì	Capitulo de Livro
[]	Monografia – Especialização		[]	Livro
[]	TCC - Graduação		[]	Trabalho Apresentado em Evento
[]	Produto Técnico	e		Educacional - Tipo:

Nome Completo do Autor: Giselle Santos de Faria

Matricula: 2018102310140052

Título do Trabalho: TOLERÂNCIA DE DUAS ESPÉCIES DE JATOBÁ (Hymenaea courbanil L. e Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne) AO GLIFOSATO

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial:	[x] Não [] Sim, justil	fique:				
Informe a data que poderá O documento está sujeito a O documento pode vir a se	i ser disponib a registro de r publicado c	ilizado no RII patente? omo livro?	F Golano): _/_/] Sim] Sim	ļ	x] Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

 o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;

2. obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;

 cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

> Rio Verde 28/04/2020. Local Data

Windle Santo de Sarco Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS-AGRONOMIA

TOLERÂNCIA DE DUAS ESPÉCIES DE JATOBÁ (Hymenaea courbaril L. e Hymenaea stignocarpa Hayne) AO GLIFOSATO

Autora: Giselle Santos de Faria Orientador: Dr. Leandro Carlos

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em, 28 de fevereiro de 2020.

Prof. Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho Avaliador externo IF Goiano – Campus Rio Verde

Prof. Dr. Adriano Jakelaitis Avaliador interno IF Goiano – Campus Rio Verd

Prof. Dr. Leandro Carlos Presidente da banca IF Goiano – Campus Rio Verde

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda graça, sabedoria, inteligência que tem me proporcionado em todos os momentos da vida e o mais importante, pela minha família que me apoia sempre.

Aos meus avos, Sebastiao e Lazara, pelo apoio incondicional e presença nos momentos mais distintos da minha vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/FAPEG), pela concessão da bolsa de estudos e incentivo à pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leandro Carlos, pela orientação, amizade, confiança em mim depositadas.

Aos professores Dr. Sebastião Vasconcelos, Dr. Adriano Jakelaitis, pela disposição e colaboração para que o trabalho fosse realizado da melhor forma possível.

A todos os demais professores e servidores vinculados ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, pelo trabalho e suporte a mim prestados durante o curso.

Ao Octavio, pela verdadeira amizade, sempre se doando sem esperar nada em troca.

Ao Lucas, que me auxiliou nos trabalhos com muita dedicação e competência lhe desejo todo sucesso. À Andreia e Isadora, por toda ajuda prestada.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Giselle Santos de Faria, nascida em 1987 na cidade Rio Verde - Goiás, filha de Claudemir Oliveira Faria e Norma dos Santos Cardoso. No ano de 2013 foi aprovada no vestibular para ingresso no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal Goiano – campus Rio Verde.

Em paralelo à graduação desenvolveu projetos de iniciação científica no Laboratório de Anatomia vegetal no instituto do próprio campus, servindo de base para sua formação acadêmica e despertando seu interesse pela pesquisa científica.

Em 2018, foi aprovada como aluna regular no programa: Mestrado em Ciências Agrárias – Agronomia, da mesma instituição de ensino, curso terminado em 2020.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	iii
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIAÇÕES E UNIDADES	vi
RESUMO	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO capítulo I	6
4 MATERIAL E MÉTODOS	8
5 RESULTADOS	
6. DISCUSSÃO	21
7. CONCLUSÕES	24
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
RESUMO	31
ABSTRACT	32
INTRODUÇÃO capítulo II	
4 MATERIAL E MÉTODOS	35
5 RESULTADOS	40
6. DISCUSSÃO	47
7. CONCLUSÕES	
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1. TOLERÂNCIA DE Hymenaea courbaril L. AO GLIFOSATO

Figura 4. Testes histoquímico com cloreto férrico em folhas de Hymenaea courbaril L. após aplicação diferentes doses crescentes de glifosato. (A) controle, (B) 9.6 g ha⁻¹, (C) 240 g ha⁻¹, (D) 480 g ha⁻¹, (E) 960 g ha⁻¹, (F) 960 g ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) (PP)parênquima paliçádico. (Sp) parênquima esponjoso. Setas epiderme abaxial. Amido. (A-F) de amarelas indicam acúmulo de Barra escala 100

Tab. 1. Caraterizações das espessuras dos tecidos foliares, teste F a 5% de probabilidade para folhas de *Hymenaea courbaril* L. tratadas com glifosato ao logo de dois meses......20

Figura 7. Taxa fotossintética líquida (A), Taxa de transporte de elétrons (B) quântico potencial do fotossistema II (C), Rendimento quântico efetivo do fotossistema II (D) em mudas de *Hymenaea courbaril* um dia após a aplicação de glifosato......21

Figura 8. Compare com a análise anterior: Taxa fotossintética (A) e Taxa transpiratória (B), em mudas de *Hymenaea courbaril* 60 dias após a aplicação de glifosato......21

Capitulo 2. TOLERÂNCIA DE *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne. AO GLIFOSATO.

Figura 8. Compare com a análise anterior	: A-Taxa transpiratória e B-Eficiência de captura
de energia de excitação pelos centros d	e reação abertos do FSII. 60 dias após a aplicação
de glifosato	

SIMBOLO SIGNIFICADO		UNIDADE DE MEDIDA
%	Porcentagem	
Α	Taxa fotossintética	$(\mu mol CO2 m^{-2} s^{-1})$
A/Ci	Relação da taxa fotossintética entre a dose interna de CO2	
AbEp	Epiderme abaxial	μm
AdEp	Epiderme adaxial	μm
Ci/Ca	Razão entre a dose interna e externa de CO ²	
Cm	Centímetro	
DC	Diâmetro do caule	
ETR	Taxa de transporte de elétrons	(µmol m ⁻² s ⁻¹)
F0	Fluorescência mínima	
Fm	Fluorescência máxima	
FSII	Fotossistema II	
gs	Condutância estomática	$(mol H_2O m^{-2} s^{-1})$
IRGA	Analisador de gases no infravermelho	
Н	altura da planta	
L	Litro	
°C	Temperatura em graus Celsius	Graus Celsius
NF	Número de folhas	

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIAÇÕES E UNIDADES.

Ph	Floema	μm
PP	Parênquima paliçádico	μm
q _N	Quenching não fotoquímico	
Rc	Canal secretor	
S	Segundo	
SP	Parênquima esponjoso	μm
μm	Micrômetro	
ΦCO2	Rendimento quântico de assimilação de dióxido de carbono	
Φ FSII	Eficiência de operação do fotossistema II	

RESUMO

FARIA, GISELLE SANTOS Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano
– Campus Rio Verde, fevereiro de 2020. TOLERÂNCIA DE DUAS ESPÉCIES DE
JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L. e *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne) AO
GLIFOSATO Orientador: Leandro Carlos. Coorientador: Adriano Jakelaitis.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a tolerância de Jatobá (Hymenaea courbaril L. e Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne.) submetidas diferentes doses de glifosato. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso, sendo cinco repetições. Foram avaliadas variáveis fisiológicas, anatômicas e morfológicas. Para as trocas gasosas, taxa respiratória e fotossíntese, análise visuais e anatômicas micromorfométricas foram usadas cinco repetições. A unidade experimental foi constituída por uma planta de jatobá em um vaso de 5 L. Os tratamentos foram de 0 (Controle); 9,6; 240; 480; 960 g ha⁻¹ de glifosato, aplicado 90 dias após o transplantio. As avaliações de crescimento relativo em altura, diâmetro do caule e número de folhas foram avaliados no primeiro dia e 60 dias após a aplicação. Não foram constatados sintomas visuais, entretanto as duas espécies apresentaram aumento no diâmetro do caule, queda relativa no número de folhas e na altura na dose de 960 g ha⁻¹. As análises anatômicas de intoxicação pelo glifosato não mostraram alteração e os testes histoquímicos apresentaram resultado negativo para compostos fenólicos, a espécies H. courbaril apresentou acúmulo de amido nas folhas com dose 960 g ha⁻¹, já a espécie *H. stigonocarpa* os resultados foram negativos para amido e compostos fenólicos. As espécies apresentaram comportamento fisiológico semelhante, sendo que H. courbaril teve aumento da taxa fotossintética e no transporte de elétrons e estabilizou após os 60 dias e a espécie H stigonocarpa apresentou queda na taxa transpiratória e de Fv/Fm. Pode-se concluir que as espécie H. stigonocarpa e a H. courbaril são espécies tolerantes e podem sobreviver após o contato com o glifosato não apresentando danos visuais e/ou anatômicos, apresentando incrementos positivos no crescimento e nas características fisiológicas.

PALAVRAS-CHAVES: Fotossíntese, herbicida, anatomia foliar.

ABSTRACT

FARIA, GISELLE SANTOS Goiano Federal Institute of Education, Science and Technology - Rio Verde Campus, February 2020. TOLERANCE OF TWO SPECIES OF JATOBÁ (Hymenaea courbaril L. and Hymenaea stigonocarpa Mart. Ex Hayne) TO GLYPHOSATE Advisor: Leandro Carlos. Co-advisor: Adriano Jakelaitis.

The objective of this work was to evaluate the herbicide glyphosate effect on Hymenaea courbaril L. seedlings. A randomized block design was used and 5 repetitions were used with an experimental unit composed of one jatobá plant in 5L pot. Treatments were: 0 (control); 9.6; 240; 480; 960 g a.ha⁻¹ of glyphosate. Evaluations were performed 24 hours and 60 days after application. Gas exchange, respiration, photosynthesis, visual, anatomical and histochemical evaluations were carried out, where leaves from the middle third were collected, in addition to the growth in relation to the two dates. Visual and anatomical evaluations did not change, regardless of dose and action time, whereas histochemical analysis show an accumulation of starch grains in the mesophyll, adaxial epidermis and abaxial epidermis, which become more accentuated with increased concentration. The analysis of growth and developments showed that the seedlings showed an increase in the stem diameter, a decrease in the leaves number and a quadratic behavior in relation to the increase in height. There was an increase in the photosynthetic rate, in the electron transport rate, in the effective quantum yield of photosystem II and in the effective quantum yield of photosystem II, 24 hours after the glyphosate application The second physiological evaluation, 60 days after application, showed that the photosynthetic rate has a tendency to fall and that the transpiratory rate showed a quadratic behavior. Such results show that the cuticle probably had a protective effect for the plant, and the little absorbed may have had a hormonal effect, favoring the plants. With these studies we can conclude that the species Hymenaea courbaril is able to survive after contact with the glyphosate herbicide, showing no visual and / or anatomical damage, showing positive increases in growth and physiological characteristics.

KEYWORDS: photosynthesis, herbicide, leaf anatomy.

CAPÍTULO 1. TOLERÂNCIA DE Hymenaea courbaril L. AO GLIFOSATO

(Normas de acordo com a revista: Floresta e Ambiente)

Resumo

Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos do herbicida glifosato em mudas de Hymenaea courbaril L. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso sendo cinco repetições cada unidade experimental foi composta por uma planta de jatobá em vaso de 5 L. Os tratamentos foram de 0 (controle); 9,6; 240; 480; 960 g ha⁻¹ de glifosato. As avaliações foram realizadas 24 horas e 60 dias após a aplicação. Foram realizadas avaliações de trocas gasosas, respiração, fotossíntese, visuais, anatômicas e histoquímicas, e foram coletadas folhas do terço médio, além do crescimento em relação as duas datas. As avaliações visuais, anatômicas não apresentaram alterações, independente da dose e no período avaliado, já as histoquímicas apresentam acúmulo de grãos de amidos no mesofilo, epiderme adaxial e epiderme abaxial, que ficam mais acentuados com o aumento da dose. As análises de crescimento e desenvolvimentos mostraram que as mudas apresentaram aumento no diâmetro do caule, queda no número de folhas e comportamento quadrático em relação ao incremento em altura. Ocorreu aumento na taxa fotossintética, na taxa transporte de elétrons, no rendimento quântico efetivo do fotossistema II e no rendimento quântico efetivo do fotossistema II, 24 horas após a aplicação do glifosato. A segunda avaliação fisiológica, 60 dias após a aplicação, mostrou que na taxa fotossintética apresenta tendência à queda e a taxa transpiratória apresentou comportamento quadrático. Tais resultados mostram que provavelmente a cutícula teve efeito protetor para a planta, sendo que o pouco absorvido pode ter tido efeito hormonal, tendo favorecido as plantas. Com estes estudos pode-se concluir que durante o tempo avaliado a espécie Hymenaea courbaril consegue sobreviver após o contato com o herbicida glifosato, não apresentando danos visuais e/ou anatômicos,

apresentando incrementos positivos no crescimento e nas características fisiológicas nas doses testadas.

PALAVRA-CHAVE: fotossíntese, herbicida, anatomia foliar.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the herbicide glyphosate effect on Hymenaea courbaril L. seedlings. A randomized block design was used and 5 repetitions were used with an experimental unit composed of one jatobá plant in 5L pot. Treatments were: 0 (control); 9.6; 240; 480; 960 g a.ha⁻¹ of glyphosate. Evaluations were performed 24 hours and 60 days after application. Gas exchange, respiration, photosynthesis, visual, anatomical and histochemical evaluations were carried out, where leaves from the middle third were collected, in addition to the growth in relation to the two dates. Visual and anatomical evaluations did not change, regardless of dose and action time, whereas histochemical analysis show an accumulation of starch grains in the mesophyll, adaxial epidermis and abaxial epidermis, which become more accentuated with increased concentration. The analysis of growth and developments showed that the seedlings showed an increase in the stem diameter, a decrease in the leaves number and a quadratic behavior in relation to the increase in height. There was an increase in the photosynthetic rate, in the electron transport rate, in the effective quantum yield of photosystem II and in the effective quantum yield of photosystem II, 24 hours after the glyphosate application The second physiological evaluation, 60 days after application, showed that the photosynthetic rate has a tendency to fall and that the transpiratory rate showed a quadratic behavior. Such results show that the cuticle probably had a protective effect for the plant, and the little absorbed may have had a hormonal effect, favoring the plants. With these studies we can conclude that the species Hymenaea courbaril is able to survive after contact with the glyphosate herbicide, showing no visual and / or anatomical damage, showing positive increases in growth and physiological characteristics.

KEYWORDS: photosynthesis, herbicide, leaf anatomy.

INTRODUÇÃO

O Cerrado sendo segundo maior bioma brasileiro, possui mais de sete mil espécies vegetais, sendo 44% endêmicas (Franco, 2014) Apesar da gigantesca biodiversidade, vem sendo alterado, por meio de atividades produtivas e/ou exploratórias em grande escala. Tais atividades visam suprir as necessidades de bem-estar de uso comum. Dessa maneira, quando não seguidas às legislações vigentes, grande impacto é causado para a sustentabilidade, privando o direito público ao ambiente ecologicamente equilibrado para a vida (Freitas, 2011), havendo legalmente a necessidade de restauração.

Grande parte das áreas destinadas à restauração dentro do setor agrícola são pastagens abandonadas ou mal aproveitadas, que prevalece a presença de espécies invasoras. Tais espécies dificultam o crescimento das espécies arbóreas implantadas e da regeneração natural (Resende; Leles, 2017). Uma alternativa para redução da competição das espécies indesejadas nas áreas de recuperação é o uso de controle químico via a utilização de herbicidas, melhorando assim as condições de crescimento das plantas de interesse (Leles et al., 2017).

A ação dos herbicidas nas espécies florestais ainda é pouco estudada, para tanto, é necessário conhecer os efeitos fitotóxicos que os mesmos causam sobre tais espécies. Conhecendo os efeitos, será possível selecionar espécies florestais menos sensíveis a deriva de herbicidas, tais como o glifosato, utilizando-o na recuperação de áreas degradadas e remanescentes de cultura agrícola sob influência de deriva.

Para Leite et al. (2014), o glifosato é um dos herbicidas mais utilizados, em razão de sua alta eficiência no controle de ervas daninhas. Essa alta eficiência tem relação direta com sua elevada capacidade de absorção pelas folhas e caulículos novos, age nos vários sistemas enzimáticos, inibindo o metabolismo de aminoácidos levando à morte da planta.

Entretanto a seletividade não pode ser determinada apenas pela simples verificação de sintomas visuais de intoxicação, pois são conhecidos exemplos de herbicidas que podem reduzir a produtividade das plantas sem produzir efeitos

visualmente detectáveis sendo necessário análises anatômicas e histoquímicas a fim de verificar a presença ou acúmulo de amido e/ou compostos fenólicos (Rodrigues et al., 2018); há também exemplos de herbicidas que provocam injúrias bastante acentuadas, mas que deixam manifestar inteiramente seus potenciais produtivos (Negrisoli et al., 2004).

Os danos provocados pela deriva de glifosato em plantas não alvo dependem da dose e da quantidade do princípio ativo que chega até o sítio de ação (Costa et al., 2009). Para Miller (2016), o principal cuidado que se deve ter para minimizar a deriva de defensivos agrícolas é quanto ao mecanismo de pulverização, relacionada com os diferentes tipos de bicos.

Os efeitos da deriva se dão pelo deslocamento de herbicidas nos locais de aplicação, podendo influenciar os processos fotossintéticos (Machado *et al.*, 2010). O glifosato influência de forma indireta esses processos (Wagner & Merotto Junior, 2014), causando alterações no metabolismo do carbono e indução da fluorescência da clorofila *a* (Zobiole *et al.*, 2011).

Sabe-se que o plantio de espécies florestais nativas como o *Hymenaea courbaril* L, além de visar à recuperação de áreas degradadas e a conservação ambiental ao mesmo tempo atende as demandas da sociedade e encontram subsídio no planejamento ambiental (Baldassarini; Nunes, 2014). Logo, o uso de espécies típicas desse ecossistema e que sejam tolerantes ao herbicida e, é de fundamental importância para os programas de reflorestamentos, e assim, podem aumentar o sucesso adaptativo bem como reduzir os impactos negativos, além de preservar a biodiversidade.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o impacto do herbicida glifosato no crescimento, fisiológia e anatômia do limbo folhar da espécie *H. courbaril* L (jatobá) bem como testar a tolerantes da planta ao herbicida.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento e Condução experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada no Instituto Federal Goiano, Campus de Rio Verde. As mudas de *H. courbaril* foram obtidas em viveiro comercial, sendo replantadas em vasos de 5L, totalizando 25 plantas. Adubação e irrigação foram calculadas visando suprir as necessidades da planta. Após aproximadamente sessenta dias de aclimatação, as plantas foram expostas aos tratamentos que consistiram de diferentes doses do glifosato sendo de 9.6, 240, 480, 960 g ha⁻¹ no experimento.

A aplicação do herbicida glifosato (Roundup Transorb®, 480 g ha⁻¹ do equivalente ácido) foi realizada utilizando pulverizador costal com pressão constante mantida por CO₂ comprimido, munido de barra com quatro pontas de pulverização e bico da série XRTeejet®, tipo leque modelo XR11002 – VP. Aplicou-se 120 L ha⁻¹ de calda. A aplicação foi realizada às oito horas e no momento da aplicação a velocidade do vento era de 1 m s⁻¹, a temperatura média de 18,3°C e umidade relativa de 90%. Os vasos foram transferidos para casa de vegetação após a aplicação dos tratamentos.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 5x2 para cada espécie, sendo cinco doses (0; 9.6, 240, 480, 960 g ha⁻¹) e 2 datas (1 e 60 dias após aplicação), com cinco repetições. Os tratamentos corresponderam a doses de glifosato: 0 (Controle), 9.6, 240, 480, 960 g ha⁻¹. A unidade experimental foi de um vaso contendo uma planta de *Hymenaea courbaril*.

Sintomas foliares visíveis

Durante o experimento, as folhas completamente expandidas foram fotografadas com câmera semiprofissional (Cyber-Shot SONY HX100V) para registrar os sintomas de clorose necrose visíveis na superfície foliar. Para a confecção da prancha foi utilizado a folha que melhor representa o tratamento.

Caracterização morfoanatômica foliar

Para as análises morfoanatômicas foram coletadas amostras foliares de 3 cm² da região central da última folha totalmente expandida de todas as repetições (n=4) de cada tratamento (n=5) das plantas de *Hymenaea courbaril*. Inicialmente as amostras fixadas em Karnovsky (1965), por 24 horas. Após este período, o material vegetal será pré-lavado em tampão fosfato (0,1 M, pH 7,2) e desidratado em série etílica crescente (30% a 100%), pré-infiltrado e infiltrado em historesina (Leica, Alemanha), conforme as recomendações do fabricante.

Posteriormente, as amostras foram seccionadas transversalmente a 5µm de espessura em micrótomo rotativo (Modelo 1508R, Logen Scientific, China) e os cortes corados com azul de toluidina - coloração policromática (0,05% tampão fosfato 0,1 M, pH 6,8) (O'Brien et al., 1964). As imagens foram obtidas através do microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) acoplado com câmera DP-72 utilizando opção de campo claro. Posteriormente, foram realizadas observações morfoanatômicas da epiderme nas faces adaxial e abaxial, parênquima paliçádico, esponjoso e mesofilo.

Teste histoquímico

Os cortes seriados de amostras previamente fixadas em FAA⁷⁰ e SFF e incluídas em historesina. Os tratamentos foram submetidos à reação de compostos fenólicos gerais; reagente de Wagner (Furr & Mahlberg, 1981) e Lugol para amido. Os respectivos controles foram realizados simultaneamente aos testes histoquímicos, conforme procedimento padrão.

Medidas de micromorfometria

As medidas micromorfométricas foram obtidas a partir dos registros das imagens anatômicas e histoquímicas capturadas através do microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) posteriormente usando o software ImageJ (Processamento e Análise de Imagem em Java, v. 1.47, EUA). Foram realizadas medições em dez observações por repetição cinco para cada estrutura avaliada. Através das imagens obtidas será realizado o cálculo da porcentagem de compostos fenólicos através da diferença de contraste, utilizando o software ImageJ (Processamento e Análise de Imagem em Java, v. 1.47, EUA).

Analises de crescimento

Após a aplicação dos tratamentos com glifosato, deu-se início as medições biométricas. As medições foram realizadas mensalmente nas mudas *Hymenaea courbaril*, altura de planta (H) em centímetros considerando o comprimento da haste principal do colo até o ápice do caule e diâmetro do caule (DC) em milímetros, mensurados com régua milimétrica e paquímetro digital, respectivamente, ainda foram contabilizados o número total de folhas expandidas (NF) conforme Delarmelina et al. (2014). Com os valores das diferentes datas foi possível a realização do incremento por período das variáveis analisadas.

Avaliação da fluorescência da clorofila a

Variáveis da fluorescência da clorofila a foram avaliados com analisador de gases no infravermelho portátil (IRGA) modelo LI-6400 (Li-cor, Nebraska, EUA). A análise da fluorescência mínima (F₀) foi realizada antes do amanhecer através da excitação dos tecidos foliares pela luz vermelha modulada de baixa intensidade (003 µmol fótons m-² s-¹). Para obter a fluorescência máxima (F_m) foram aplicados impulsos de saturação de aproximadamente 8.000 µmol fótons m⁻² s⁻¹ durante 0,8_s. A partir desses valores foi possível determinar o rendimento quântico fotoquímico potencial do fotossistema II (PSII: F_v/F_m = [F_m-F₀]/F_m) (Kitajima & Butler,1975). Após expor as folhas à luz, e obter a fluorescência mínima (F₀) calculada pela forma F_{0'} = F₀/[(F_m - F₀/F_m)+(F₀/F_m')] (Oxborough & Baker 1997). Posteriormente, calcular o quenching não fotoquímico (qN = $[F_m-F_m']/[F_m-F_o]$ (Lichtenthaler *et al.*, 2005) o coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ = $[F_m-F_m']/[F_m')$, taxa aparente de transporte de elétrons (ETR = Φ FSII x PAR x 0,5 x 0,84) (Bilger *et al.*, 1995), em que PAR representa a radiação fotossinteticamente ativa (µmol m -² s ⁻¹) nas folhas, 0,5 é a fração de energia de excitação direcionada ao PSII (Laisk & Loreto, 1996) e 0,84 a absorbância foliar. A eficiência máxima da fotoquímica PSII na luz ($F_{v'}/F_{m'} = [(F_{m'}-F_{o'})/F_{m'}]$) o rendimento quântico da assimilação de CO² (Φ CO²) e a relação da eficiência de operação do fotossistema II (Φ _{PSII}) foram calculados conforme metodologia proposta por (Maxwell & Johnson., 2000).

Trocas gasosas

As trocas gasosas foram medidas simultaneamente com a avaliação da fluorescência da clorofila a na mesma folha da fotossíntese. E, assim registradas as taxas fotossintéticas (A, µmol m⁻² s⁻¹), condutância estomática (gs, mol H₂O m⁻² s⁻¹), e relação entre a dose interna e externa de CO² (*Ci/Ca*) determinadas em folhas totalmente expandidas em sistema aberto, sob luz saturante (1000 µmol m⁻² s⁻¹) e 400 µmol de CO² mol⁻¹ de ar. As avaliações realizadas às 8h e 11h da manhã, sob radiação fotossinteticamente ativa constante (PAR, 1000 µmol de fótons m² s⁻¹) e dose de CO² (~ 415 µmol mol⁻¹), temperatura (~ 25,5 ° C) e umidade relativa (~ 74%) ambientes.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F e ajustados aos modelos de regressão, adotando o nível de significância de 5%. Os modelos foram escolhidos pela simplicidade, significado biológico e pelo coeficiente de determinação. As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa estatístico SISVAR e os gráficos pelo Excel.

5. RESULTADOS

5.1. Avaliação morfológica

Não foi verificado nenhum sintoma visual de dano no limbo foliar em nenhum tratamento, para as duas datas avaliadas (Figura 1).



Fig. 1. Análise morfológica visual nas folhas de *Hymenaea courbaril* L, 1 e 60 dias após Aplicação de glifosato com pulverizador costal com diferentes doses:1 e 60 (A) controle, (B) 9.6 g ha⁻¹ (C) 240 g ha⁻¹, (D) 480 g ha⁻¹, (E) 960 g ha⁻¹. Barra de escala 3 cm.

5.2. Avaliação das alterações anatômicas

A epiderme foliar de *Hymenaea courbaril* L. nas faces adaxial e abaxial, é constituída por células isodiamétricas com paredes anticlinais planas ou ligeiramente convexas e folhas anfiestomáticas. O mesofilo é dorsiventral, composto de uma ou duas camadas de parênquima paliçádico, quatro a cinco camadas de parênquima esponjoso e canais secretores localizados em meio as células do parênquima clorofiliano. As doses de glifosato não ocasionaram alterações na superfície e estrutura foliar de *H. courbaril* L durante o período de análise. Não foram verificadas alterações anatômicas em decorrência da aplicação das doses do herbicida nas duas datas (Figura 2).



Fig. 2. Anatomia das folhas de *Hymenaea courbaril* L. após aplicação de glifosato. 24 horas após aplicação coleta na coluna 1; (A) controle, (B) 9.6 g ha⁻¹, (C) 240 g ha⁻¹, (D) 480 g ha⁻¹, (E) 960 g ha⁻¹. 60 dias após aplicação coleta na coluna 2; (F) controle, 9.6 g ha⁻¹, (G) 240 g ha⁻¹, (H) 480 g ha⁻¹, (I) 960 g ha⁻¹, (J) 960 g ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP)parênquima paliçádico. (Sp) parênquima esponjoso. (SC) canal secretor; (A-P) Barra de escala 200 µm.

5.3. Identificação de grãos de amidos

Não foi observada a presença de grãos de amidos nas células das folhas do tratamento controle em *Hymenaea courbaril* L. (Figura 5. A). Já para as plantas tratadas

com glifosato foram observados acúmulo de grãos de amidos no mesofilo, epiderme adaxial e epiderme abaxial, que ficam mais acentuados com o aumento das doses do glifosato (Figura 5. B-F).



Fig. 3. Acúmulo de amido marcado na cor preta nas folhas em *Hymenaea courbaril* L. após aplicação diferentes doses crescentes de glifosato. (A) controle, (B) 9.6 g ha⁻¹, (C) 240 g ha⁻¹, (D) 480 g ha⁻¹, (E) 960 g ha⁻¹, (F) 960. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP)parênquima paliçádico. (Sp) parênquima esponjoso. Setas amarelas indicam acúmulo de Amido. (A-F) Barra de escala 100 μm.

5.4. Identificação de compostos fenólicos

Não foi observado a presença de compostos fenólicos nas células das folhas de *Hymenaea courbaril* L. tanto tratamento no tratamento controle, quanto nos tratamentos com as doses de glifosato (Figura 4. A-F).



Fig. 4. Testes histoquímico com cloreto férrico em folhas de *Hymenaea courbaril* L. após aplicação diferentes doses crescentes de glifosato. (A) controle, (B) 9.6 g ha⁻¹, (C) 240 g ha⁻¹, (D) 480 g ha⁻¹, (E) 960 g ha⁻¹, (F) 960 g ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (Sp) parênquima esponjoso. (SC) canal secretor. (A-F) Barra de escala 100 μm.

5.6. Medidas de micromorfometrias

Nas análises micromorfométricas não apresentaram diferenças significativas pelo teste F a 5% de probabilidade, para a espessura dos tecidos foliares das plantas de *H. courbaril* L. tanto em relação a aplicação de glifosato quanto em relação ao tempo de aplicação do herbicida. Abaixo são apresentadas as médias das espessuras dos tecidos (Tabela 1).

Dose (g ha ⁻¹)	Folha (µm)	EpAd (µm)	EpAb (µm)	PP (µm)	Sp (µm)	Mesofilo (µm)	CutAd (µm)	CutAb (µm)
0	169,142	15,749	14,649	58,918	74,693	131,322	5,568	5,444
9,6	190,588	18,769	16,365	47,173	108,197	155,439	5,575	5,453
240	165,35	16,053	15,208	47,332	86,243	133,111	5,545	5,455
480	155,117	14,196	13,781	50,842	74,863	121,875	5,665	5,457

960	187,434	1,6436	15,748	51,091	102,571	154,457	5,455	5,423
Medias	173,526	16,241	15,15	51,071	94,548	139,241	5,561	5,4464

Tab. 1. Caraterizações das espessuras dos tecidos foliares, teste F a 5% de probabilidade para folhas de *Hymenaea courbaril* L. tratadas com glifosato ao logo de dois meses. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (Sp) parênquima esponjoso. (CutAd) cutícula adaxial. (CutAb) cutícula abaxial. Escala em μm.

5.7. Avaliação de crescimento e desenvolvimento

A taxa de crescimento relativo a 2 meses após a aplicação do herbicida mostraram que as mudas de *Hymenaea courbaril* L. tratadas com o herbicidas apresentaram engrossamento linear do caule (Figura 5-A), uma queda progressiva no número de folhas novas, principalmente no tratamento com maior dose de glifosato (Figura 5-B) e comportamento quadrático para altura, sendo que o glifosato induziu maior crescimento em doses até 480 g ha⁻¹ (Figura 5-C).



Fig. 5. Taxa de crescimento relativo em diâmetro do caule (A), número de folhas (B) e altura (C) em mudas de *Hymenaea courbaril* 2 meses após a aplicação de glifosato.

5.8. Avaliação fisiológica

As análises fisiológicas das mudas *Hymenaea courbaril* para a data de 24 horas após a aplicação de glifosato resultaram no aumento na taxa fotossintética (Figura 7-A), aumento na taxa transporte de elétrons (Figura 7-B), queda relativa rendimento quântico

potencial do FSII (Figura 7-C) e aumento no rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Figura 7-D).

A segunda avaliação fisiológica feita nas mudas *Hymenaea courbaril* 60 dias após a aplicação mostrou redução na taxa fotossintética (Figura 8-A) afetando principalmente a dose mais alta de glifosato e comportamento quadrático na taxa transpiratória (Figura 8-B).



Fig.7. Taxa fotossintética líquida (A), Taxa de transporte de elétrons (B) rendimento quântico potencial do fotossistema II (C), Rendimento quântico efetivo do fotossistema II (D) em mudas de *Hymenaea courbaril* um dia após a aplicação de glifosato.



Fig.8. Taxa fotossintética (A) e Taxa transpiratória (B), em mudas de *Hymenaea courbaril* 60 dias após a aplicação de glifosato.

6 DISCUSSÃO

Sabe-se que os principais sintomas do glifosato surgem horas após aplicação e são clorose seguida de necrose que ficam mais acentuados de acordo com a dose do princípio ativo em plantas sensíveis (Tuffi Santos et al., 2006). Porém o glifosato não afetou a morfologia e anatomia das folhas de *Hymenaea courbaril* independente da dose do herbicida e o tempo de avaliação.

Tais análises anatômicas na folha podem determinar absorção pela planta, sendo uma ferramenta de importante ajuda na detecção dos danos pelo contato com herbicidas (Costa et al., 2011). No presente estudo não foram observados danos anatômicos nas estruturas foliares avaliadas e o teste histoquímico para detecção de compostos fenólicos não mostrou presença de acúmulo no mesofilo que por sua vez pode indica que as mudas não passaram por estresse oxidativo (Louback et al., 2016).

Costa et al., (2011) também afirmou que é através das avaliações anatômicas que pode-se analisar o mecanismos de defesa e como contribui no entendimento a respeito da barreira que cada espécie impõe a sua penetração. A espécie em estudo possui cutícula foliar espessa, sendo que essa possivelmente é a principal barreira da espécie contra a penetração de agentes externos, minimizando assim a quantidade de princípio ativo absorvido pela planta. Então, a baixa eficácia do glifosato no controle de plantas está relacionada com a baixa absorção e translocação no tecido vegetal (Vitorino e Martins, 2012).

Foi observado um acúmulo de grãos de amido nas células dos parênquimas paliçádico e esponjoso das folhas de *Hymenaea courbaril*, indicando inibição na translocação de carboidratos, como já foram observados em exposição a poluentes atmosféricos (Rodrigues et al., 2018). Esse acúmulo de amido foi apontado como fator responsável pela queda da taxa fotossintética em plantas sob estresse, no caso hídrico, em razão do fenômeno da retroinibição (downregulation) (Araya et al., 2006).

Entretanto, para este estudo constatou-se que após 24 horas da aplicação o glifosato impulsionou a taxa fotossintética das mudas, sendo que a queda na taxa fotossintética tal qual relatada por Araya et al., (2006), só ocorreu na avaliação 60 dias após a exposição do herbicida.

É sabido que absorção do glifosato está relacionada à fitotoxidade foliar e ao grau de absorção através da cutícula e em virtude da espécie apresentar cutícula espessa não ocorreu danos visíveis, nem tampouco danos anatômicos no *Hymenaea courbaril* L. casos que ocorrem a remoção da camada de cera por causa da aplicação do herbicida aumentando consideravelmente a chance de absorção de glifosato (Alves et al., 2014). Yilmaz e Dane (2012) observaram que a cera epicuticular é uma barreira bastante eficaz contra a absorção de herbicidas solúveis em água, como o glifosato.

O grau de fitointoxicação ao herbicida glifosato variar com a espécie estudada, agindo como estimulante para o incremento em altura e diâmetro do caule nas mudas, quando usados em subdoses (Meschede et al, 2008). Tais resultados foram encontrados em estudos com espécies florestais (Velini, et al., 2008; Pereira et al., 2015). A espécie em estudo, por apresentar cutícula espessa cria uma barreira, em que provavelmente somente subdoses do glifosato foram absorvidas, resultado evidenciado pelo maior crescimento das mudas de *Hymenaea courbaril*.

A abscisão foliar, ocorrida no experimento também foi verificado em plantas de eucalipto e provavelmente tem relação com a taxa fotossintética, com o consumo de CO_2 do meio e com o aumento de massa das plantas (Concenço et al., 2008). O estresse fisiológico provocado pelo glifosato induz a produção de etileno, hormônio responsável pela senescência foliar, podendo inibir a clorofila e reduzir o fechamento 48 estomático (Yamada e Castro, 2007).

Com o incremento da dose do herbicida, aumentou-se o nível de intoxicação causando abscisão foliar e, consequentemente, reduzindo a quantidade de folhas e área foliar útil para realização da fotossíntese e pode estar relacionada com a baixa taxa de crescimento das mudas de *Hymenaea courbaril* em dose superior a 480 g e.a. há⁻¹.

Além disso, ocorreu aumento do diâmetro e redução da altura. O glifosato é o único herbicida comercializado no Brasil que atua na enzima EPSPs (5enolpiruvilchiquimato 3- fosfato sintase, na rota de síntese dos aminoácidos aromáticos e do ácido shiquímico localizado na rota do ácido shiquímico que por sua vez é responsável pela biossíntese de compostos fenólicos nas plantas, dentre eles o triptofano, precursor da síntese do ácido indolilacético (AIA), um dos hormônios responsáveis pelo crescimento (Shaner et al., 2012), existindo relação direta entre as subdoses de glifosato, menor dose de AIA na planta, e redução de altura e consequente investimento em diâmetro (Gitti et al., 2011), ocorrido neste trabalho pela minimização .

Tanto na avaliação de um quanto na de 60 dias após a exposição das mudas ao herbicida, o quenching não fotoquímico se manteve estável, indicando que a planta não sofreu estresse. É sabido que o quenching não fotoquímico está envolvido na dissipação do excesso de energia e na regulação do centro de reação do fotossistema II, que por sua vez é um mecanismo de fotoproteção (Yan et al., 2017).

Com 24 horas após a aplicação do glifosato os resultados revelaram que o mesmo promoveu alterações positivas na taxa de transporte de elétrons e após 60 dias os valores voltaram ao normal. Acredita-se que as peroxidases tenham função na eliminação de danos induzidos por herbicidas (Miteva e Bateman, 2005). Adress et al. (2015) relataram que para evitar danos oxidativo, as plantas apresentam defesas antioxidantes que envolvem enzimas, como a peroxidase.

Apesar do rendimento quântico potencial do FSII ter sido afetado incialmente, aos 60 dias após a aplicação mostrou que o glifosato não influencia a eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do FSII independente da dose, dessa maneira está claro que dissipação da energia termal no sistema antena está dentro do normal (Demmig-Adams et al. 1985).

Galli e Montezuma, (2005) relatam que glifosato age inibindo a atividade da enzima 5- enolpiruvilshiquimato-3 fosfato síntese (EPSPS), que catalisa a condensação do ácido shiquímico e do ácido pirúvico, evitando a síntese de três aminoácidos aromáticos - fenilalanina, tirosina e triptofano parando o crescimento da planta, porém no caso específico da espécie *H. courbaril* a grossa camada de cera epicuticular, provavelmente impediu que a dose aplicada realmente penetrasse no tecido, sendo que, somente subdose de glifosato foi absorvida pelas folhas, e essa pequena quantidade de princípio ativo serviu para regar um estresse positivo promovendo incremento nas mudas (Machado et al.,2008; Yamashita et al., 2017), um efeito negativo ao crescimento somente foi verificado na dose 960 g ha ⁻¹ que afetou o número relativo de folhas, além de não ter efeito positivo no incremento relativo de altura. Seriam necessários estudos extras para avaliar se há a presença do ácido shiquimato nas plantas.

7. CONCLUSÕES

Com estes estudos pode-se concluir que a espécie *Hymenaea courbaril* consegue sobreviver após o contato com o herbicida glifosato, não apresentando danos visuais e/ou anatômicos, apresentando incrementos positivos no crescimento e nas características fisiológicas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, R. M., Inacio, E. M., Monquero, P. A., Meneghin, S. P., & Hirata, A., 2014. Leafsurface characterization and the effects of the herbicide saflufenacil on the leaves of weeds. Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 9(4).

Andréa, M. M.; Bioindicadores ecotoxicológicos de agrotóxicos. Instituto Biológico. Comunicado técnico, v. 83, 2008

Araya, T.; Noguchi, K.; Terashima, I. Effects of carbohydrate accumulation on photosynthesis differ between sink and souSCe leaves of Phaseolus vulgaris L. Plant and Cell Physiology, v. 47, n. 5, p. 644-652, 2006

Bai, J., Xu, D. H., Kang, H. M., Chen, K., Wang, G., 2008. Photoprotective function of photorespiration in Reaumuria soongorica during different levels of drought stress in natural high irradiance. Photosynthetica. 46, 232-237. Doi: 10.1007/s11099-008-0037-5.

Baldassarini j. S.; nunes . O.; A intervenção em prol da recuperação de áreas degradadas por erosão hídrica na microbacia hidrográfica da água três unidos no município de vera cruz – sp 2014 Caderno Prudentino de Geografia, Presidente Prudente, n.36, Volume Especial, p.174-190, 2014.

Bilger, W., Schreiber, U., Bock, M., 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. Oecologia. 102, 425–432.

Briantais, J.M.; Vernotte, C.; Picaud, M.; Krause, G.H. Biochimica Biophysica Acta. 548: 128. 1979

Concenço, G. et al. Eficiência fotossintética de biótipos de azevém em condição de competição. Planta Daninha, v. 19, n. 2, p. 247-253, 2008. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010083582008000300015&script=sci_arttext&tl ng=es Acesso em: 27 dez.2019. Carvalho Filho, J. L.S.; Arrigoni-Blank, M. F.; Blank, A. F.; Rangel, M. S. A.; Produção de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes ambientes, recipientes e composições de substratos. **Cerne**, v. 9, n.1, p.109-118, 2003.

CONAB, 2014 Acompanhamento da Safra Brasileira de cana-de-açúcar, v. 1 – Safra 2014/15, n. 3 - TeSCeiro Levantamento, Brasília, dez. 2014. 27p.

Costa, N. V.; Erasmo, E. A. L.; Queiroz, P. A.; Dornelas, D. F.; Dornelas, B. F. Efeito da deriva simulada de glifosato no crescimento inicial de plantas de pinhão-manso. Planta Daninha, v. 27, p. 1105-1110, 2009

Costa, N. V.; Martins, D.; Rodella, R. A.; Rodrigues-Costa, A. C. P. Alterações anatômicas foliares em Eichhornia crassipes submetidas à aplicação de herbicidas. Planta Daninha, v. 29, n. 1, p. 17-23, 2011.

EMBRAPA. Plantas Daninhas. [S. l.], 2017. Disponível em: https://www.embrapa.br/tema-plantas-daninhas/sobre-o-tema. Acesso em: 01 janeiro 2020.

Delarmelina WM, Caldeira MVW, Faria JCT, Gonçalves EO, Rocha RLF. Diferentes Substratos para a Produção de Mudas de Sesbania virgata. Floresta e Ambiente 2014, 21(2): 224-233.

Demmig-Adams, B.; Adams, W.W. Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 43: 599. 1985

De Temmerman, L. *et al.* Biomonitoring of air pollutants with plants - considerations for the future. In: Klumpp, A. Ansel. W. & Klumpp, G. (Eds). Urban air pollution, bioindication and environmental awareness. Göttingen, Cuvillier Verlag, 2004.

Franco, A.C., Rossatto, D.R., de Carvalho Ramos Silva, L. Ferreira, C. S.; Cerrado vegetation and global change: the role of functional types, resouSCe availability and disturbance in regulating plant community responses to rising CO₂ levels and climate warming. Theor. Exp. Plant Physiol (2014) 26: 19. https://doi.org/10.1007/s40626-014-0002-6

Freitas, J. Sustentabilidade: direito ao futuro. Belo Horizonte: Forum, 2011, 340p.

Folini, L. L.; Christoffoleti, P. J.; Carvalho, S. J. P. de. Controle químico deve auxiliar o combate a plantas daninhas. Visão Agrícola, [S.l.], 2006. Disponívelem:https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va06-fitossanidade09.pdf. Acesso em: 27 dez.2019.

Forlani, G.; Mangiacalli, A.; Nielsen, E.; Suardi, C.M. Degradation of the phosphonate herbicide glifosato in soil: evidence for a possible involvement of unculturable microorganism. Soil Biology e Biochemistry, v.31, p.991-997, 1999.

Furr, M.; Mahlberg, P. G. Histochemical analysis of lacticifers and glandular trichomes *in Cannabis sativa*. J Nat. Prod, v. 44, p. 153-159. 1981.

Gabe, M. 1968. Techniques histologiques. Masson & Cie, Paris.

Galli, A. J. B. and Montezuma, M. C. (2005). Glifosato: Alguns aspectos da utilização do Herbicida Glifosato na Agricultura. ACADCOM. 12-49.

Gitti, D. C., Arf, O., Peron, I. B. G., Portugal, J. R., Corsini, D. C. D. C., Rodrigues, R. A. F. GLIFOSATO COMO REGULADOR DE CRESCIMENTO EM ARROZ DE TERRAS ALTAS. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 41, n. 4, p. 500-507, out./dez. 2011

Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. New York, NY: McGraw Book Co.

Karnovsky, M. J. A. formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. Journal of Cell Biology, v. 27, p. 137-138, 1965.

Kitajima, M., Butler, W. L., 1975. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. Biochim. Biophys Acta. 376, 105-115.

Leite; S. M. M; Souza; E. F; Souza, K. F. Efeito de doses de glifosato associado à espalhante adesivo e sulfato de amônio no controle de capim pé-de-galinha e grama seda. UNIMAR CIÊNCIAS, v.23 n. (1-2). p.61-65, 2014.

Leles, P. S. S.; Machado, A. F. L.; Silva, A. P.; Santos, F. A. M. Uso de herbicidas na restauração florestal. In: RESENDE, A. S.; LELES, P. S. S., Eds, Controle de plantas daninhas em restauração florestal. Brasília, DF: Embrapa, 2017. p. 45 – 61.

Lichtenthaler, H. K., Buschamann, C., Knapp, M., 2005. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio RFd of leaves with the PAM fluorometer. Photosynthetica 43, 379–393.

Louback, E., Pereira, T. A. R., Souza, S. R., Oliveira, J. A., Silva, L. C., 2016. Vegetation damage in the vicinity of an aluminum smelter in Brasil. Ecol. Indic. 64, 193-203. Doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.044.

Liu, C.M.; McLean, P.A.; Sookdeo, C.C. Degradation of the herbicide glifosato by members of the family Rhizobiaceae. Applied Environmental Microbiology, v.57, p.1799-1804, 1991.

Machado, A. F. L.; Ferreira, L. R.; Santos, L. D. T.; Ferreira, F. A.; Viana, R. G.; Machado, M. S.; Freitas, F. C. L. Eficiência fotossintética e uso da água em plantas de eucalipto pulverizadas com glifosato. Planta Daninha, v. 28, n. 2, p. 319-327, 2010.

Magalhães, P.C. *et al.* Efeitos de dose reduzidas de glifosato e paraquat simulando deriva na cultura do sorgo. Planta Daninha, v. 19, n. 2, p. 255-262, 2001.

Magnucka, E. G. *et al.* Various effects of the photosystem II – inhibiting herbicides on 5n-alkylresoSCinol accumulation in rye seedlings. Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 116, p. 56-62, 2014.

Maxwell, K., Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. J. Exp. Bot. 345, 659-668. Doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659.

Meschede, D. K.; Velini, E. D.; Carbonari C. A. Baixas doses de glifosato e seus efeitos no crescimento de Commelina benghalensis. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.7, n.2, p.53-58, jul./dez. 2008

Miller, Paul Matthews, G. A ; Bateman, Roy; MÉTODOS DE APLICAÇÃO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS. [S. l.]: ANDREI, 2016.

Miteva, V. I. & Brenchley, J. E. Detection and isolation of ultrasmall microorganisms from a 120,000-year-old Greenland glacier ice core. Appl Environ Microbiol v.71, p.7806–7818, 2005.

Negrisoli, E.; Velini, E. D.; Tofoli, G. R.; Cavenaghi, A. L.; Martins, D.; Morelli, J. L.; Costa, A. G. F. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência na cultura de cana-de-açúcar tratada com nematicidas. Planta Daninha, v. 22, p.567-575, 2004. https://doi.org/10.1590/S0100-83582004000400011

O'Brien, T.P.; Feder, N. & Mccully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue.Protoplasma59 (2): 368-373. PEARSE, A. G. Histochemistry. Theoretical and applied, analytical technology. 4th Ed. New York, ChuSChill Livingstone, 1985.

Pereira, M. R. R.; Souza, G. S. F.; Fonseca, E. D.; Martins, D. Subdoses de glifosato no desenvolvimento de espécies arbóreas nativas. Biosci. J., Uberlândia, v. 31, n. 2, p. 326-332, Mar./Apr. 2015

Rennenberg, H., Herschbach, C., Polle, A., 1996. Consequences of air pollution on shoot-root interactions. J. Plant Physiol. 148, 269-301.

Resende, A. S.; Leles, P. S. S. O problema do controle de plantas daninhas na restauração florestal. In: Eds, Controle de plantas daninhas em restauração florestal. Brasília, DF: Embrapa, 2017. p. 45 – 61

Robards, A.W. 1978. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In Electron microscopy and cytochemistry of plant cells. (J.L. Hall, ed.), Elsevier, New York.

Rodrigues, A, A.; Filho, S. C. V.; Mendes, G. C.; Müller, C.; Rodrigues, D. A.; Mendes, G. C.; Rehna, L. S.; Costa, A. C.; Vital, R. G.; Sales, J. F. *Sapindus saponaria* bioindicator potential concerning potassium fluoride exposure by simulated rainfall: Anatomical and physiological traits. Ecological Indicators. V89. P. 552-558. 2018.

Rueppel, M. L.; Brightwell, B. B.; Schaefer, J. Metabolism and degradation of glifosato in soil and water. Journal of Agriculture and Food Chemistry, v.25, p.517-528, 1977. Santos, J.B.; Ferreira. E.A.; Oliveira, J.A.; Silva, A.A.; Fialho, C.M.T. Efeito de formulações na absorção e translocação do glifosato em soja transgênica. Planta Daninha, v. 25, n. 2, p. 381-388, 2007.

Schreiber, U.; Bilger, W.; Hormann, H.; Neubauer, C. In: **Photosynthesis: a comprehensive treatise**. (ed.) Raghavendra, A.S.. Cambridge University Press, Cambridge, 1998. 320

Silva Junior, J. M. Por uma classe média rural forte. Revista AGROBRASIL – Balanço Brasileiro do Agronegócio 2016/17, Santa Cruz do Sul, v.1, 2016.

Shaner, D. L.; Lindenmeyer, R. B.; Ostlie, M. H. What have the mechanisms of resistance to glifosato taught us? Pest Management Science, v. 68, n. 1, p. 3-9, 2012. http://dx.doi.org/10.1002/ps.2261

Tuffi Santos, L.D., Iarema, L., Thadeo., M. Ferreira., F.A., Meira, R.M.S.A. Características da epiderme foliar de eucalipto e seu envolvimento com a tolerância ao glifosato. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 24, n. 3, p. 513-520, 2006.

Valentini, R., Epron, D., De Angelis, P., Matteucci, G., Dreyer, E., 1995. In situ estimation of net CO2 assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (Q. cerris L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. Plant. Cell. Environ. 18, 631 -640. Doi: 10.1111/j.13653040.1995.tb00564.x.

Velini, E.D.; Alves.E.; Godoy, C M.; Meschede, D. K.; Sousza, R. T.; Duke, S.O.; Glifosato applied at low doses can stimulate plant growth. **Pest Management Science.** v.65, n.4, p.317-460, 2008. <u>https://doi.org/10.1002/ps.1562</u>

Vencill, W. K., Nichols, R. L., Webster, T. M., Soteres, J. K., Smith, C. M., Burgos, N. R., Johnson, W. G. and McClelland, M. R. (2012)a. Herbicide Resistance: Toward an Understanding of Resistance Development and the Impact of Herbicide-Resistant Crops. WSSA.

Vitorino, H.S.; Martins, D. Efeito do défi cit hídrico na efi ciência de herbicidas e nas características bioquímicas de Ipomoea grandifolia. Planta Daninha, Viçosa, v.30, n.1, p.185-191, 2012.

Wagner, J. F. e Merotto Junior, A. Parâmetros fisiológicos e nutricionais de cultivares de soja resistentes ao glifosato em comparação com cultivares isogênicas próximas. Ciência Rural, v.44, n.3, 2014.

Yamada, T.; Castro, P.R.C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas.International plant nutrition institute. Piracicaba: Informações Agronômicas, 2007. 24p. (Boletim Técnico 119).

Yamashita, O. M.; Orsi, J.V.N; Resende, D.D; Mendonça, F. S; Campos, O. R; Massaroto, J. A; Carvalho, M. A. C; Koga, P. S; Peres, W. M; Alberguin, A; Deriva simulada de herbicidas em mudas de *Coffea canephora*. Scientia Agraria Paranaensis – SAP Mal. Cdo. Rondon, v. 12, n. 2, p. 148-156, 2013.

Yamashita, O.M; Silva, G.B; Rondon Neto, R. M; Campos, O. R; Peres, W.M; Interferência de subdoses de glifosato no desenvolvimento de plantas jovens de nim. Nativa, Sinop, v.5, n.3, p.163-168, mai./jun. 2017. Pesquisas Agrárias e Ambientais DOI: 10.5935/2318-7670.v05n03a02 <u>http://www.ufmt.br/nativa</u>

Yan, H., Wu, L., Filardo, F., Yang, X., Zhao, X., Fu, D. Sinais químicos e hidráulicos regulam o comportamento estomático e a atividade fotossintética do milho durante a seca progressiva. Acta Phisiologiae Plantarum, vol. 39, n.6, pp.125. 2017 http://dox.doi.org/10.1007/s11738-017-2418-5.

Yilmaz, G., & Dane, F., 2012. Phytotoxicity Induced by Herbicide and Surfactant on stomata and epicuticular wax of Wheat. Romanian Biotechnological Letters, 17(6), 7757-7765

Zobiole, L. H. S.; Kremer, R. J.; Oliveira Junior, R. S.; Constantin, J. Glifosato affects chlorophyll, nodulation and nutrient accumulation of "second generation" glifosato-resistant soybean (Glycine max L.). Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 99, p. 53-60, 2011

Capítulo 2.

TOLERÂNCIA DE Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne AO GLIFOSATO

(Normas de acordo com a revista: Floresta e Ambiente)

Resumo

Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos do herbicida glifosato em mudas de Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso e utilizando cinco repetições com unidade experimental composta por uma planta de H. stigonocarpa em vaso de 5 L. Os tratamentos foram de 0 (controle); 9,6; 240; 480; 960 g ha⁻¹ de glifosato. As avaliações foram realizadas 24 horas e 60 dias após a aplicação. Foram realizadas avaliações de trocas gasosas, respiração, fotossíntese, visuais, anatômicas e histoquímicas, e foram coletadas folhas do terço médio, além do crescimento em relação as duas datas. As avaliações visuais, anatômicas e histoquímicas não apresentaram alterações, independente da dose e tempo de ação. As análises de crescimento mostraram que as mudas apresentaram aumento no diâmetro do caule, quedas no número de folhas e incremento em altura. Um dia após a aplicação do glifosato, ocorram aumentos nas taxas fotossintética, de transporte de elétrons e transpiratória e no rendimento efetivo do fotossistema II. Já aos 60 dias após a aplicação, as plantas apresentaram redução na taxa transpiratória e redução no Fv/Fm. Tais resultados mostram que a cutícula teve efeito protetor para a planta, sendo que as subdoses são absorvidas e podem ter tido efeito hormonal, tendo favorecido as plantas. Com estes estudos pode-se concluir que a espécie Hymenaea stigonocarpa consegue sobreviver após o contato com o herbicida glifosato, não apresentando danos visuais e/ou anatômicos, apresentando incrementos positivos no crescimento e nas características fisiológicas.

PALAVRAS-CHAVES: Fotossíntese, herbicida, anatomia foliar.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the glyphosate herbicide effect on Hymenaea stigonocarpa Mart seedlings. ex Hayne. A randomized block design was used and 5 replicates were used with an experimental unit composed of one H. stigonocarpa plant in 5L pots. The treatments were: 0 (control); 9.6; 240; 480; 960 g a.ha⁻¹ of glyphosate. Evaluations were performed 24 hours and 60 days after application. Gas exchange, respiration, photosynthesis, visual, anatomical and histochemical evaluations were carried out, where leaves from the middle third were collected, in addition to the growth in relation to the two dates. Visual, anatomical and histochemical evaluations did not change, regardless of dose and action duration. Growth analysis showed that the seedlings showed an increase in stem diameter, falls in leaves number and an increase in height. One day after the glyphosate application, there are increases in photosynthetic, electron transport and transpiratory rates and in the effective yield of photosystem II, already at 60 days after application, the plants showed a reduction in transpiratory rate and a reduction in Fv / Fm. Such results show that the cuticle had a protective effect for plant, and the underdoses are absorbed and may have had a hormonal effect, favoring the plants. With these studies we can conclude that the species Hymenaea stigonocarpa is able to survive after contact with the glyphosate herbicide, with no visual and / or anatomical damage, with positive increases in growth and physiological characteristics.

KEYWORDS: photosynthesis, herbicide, leaf anatomy.

INTRODUÇÃO

O glifosato é um dos herbicidas mais utilizados no mundo e vem sendo comercializado há mais de 35 anos (Schrübbers *et al.*, 2014). É um herbicida muito utilizado no controle de ervas daninhas, para eliminá-las em estádio inicial de desenvolvimento (Monsanto, 2018), agindo em plantas sensíveis bloqueando a atividade da enzimática, interrompendo a atividade da enzima plastídica 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato síntese (EPSPS). A rota do shiquimato é interrompida pelo herbicida e dessa forma não ocorre a biossíntese dos aminoácidos aromáticos essenciais fenilalanina, tirosina e triptofano que são indispensáveis na síntese de proteínas, divisão celular e crescimento da planta e levando à morte (Santos et al., 2007; França et al., 2010; Ferreira et al., 2018).

A deriva de herbicidas é um problema atual e causa graves prejuízos em espécies não alvos as culturas. O grau de injúria e os sintomas dependem de diversos fatores como a espécie cultivada não alvo, o estádio de desenvolvimento, o clima, a dose e a quantidade de princípios ativos que chegam à planta (Rigoli et al., 2008; Pereira et al., 2010). Por isso, o uso de herbicida no controle químico precisa ser baseado em critérios rígidos, levando em consideração custo, eficiência, bem como, a segurança ambiental e humana, devendo ser integrado no controle de plantas daninhas (Bianchi et al., 2014)

Pesquisas com "deriva simulada" de herbicidas permitiram avaliar efeitos como injúria queda no crescimento e até mesmo a morte da planta pela ação do glifosato (Tuffi Santos et al., 2009; Machado et al., 2010). Os principais sintomas visuais observados após a intoxicação são a clorose seguida de necrose da planta (França et al., 2010). Os danos devido à fitointoxicação são a forma instantânea na identificação da ocorrência de efeitos no metabolismo das plantas (Wagner e Merotto Junior, 2014).

A fotossíntese pode ser afetada pelos herbicidas deslocados do local de aplicação pela deriva (Machado et al., 2010). O glifosato influência de forma indireta os processos fotossintéticos (Wagner e Merotto Junior, 2014).

Outra ferramenta importante que ajuda na detecção dos danos por causa do contato com herbicidas é a avaliação anatômica na folha, que determina absorção pela planta.

Dessa maneira contribuindo para o entendimento com respeito a barreira que cada espécie impõe para sua penetração (Costa et al., 2011). As alterações micromorfológicas ocorrem antes dos danos visuais (Tuffi Santos et al., 2009).

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e vem sofrendo alteração por causa da ampliação das fronteiras agrícolas pelo aumento da demanda de carne e grãos para exportação, promovendo esgotamento dos recursos naturais (MMA, 2009). Tais alterações fazem do cerrado um dos principais ecossistemas tropicais da Terra, sendo um hotspots para a preservação da biodiversidade do nosso planeta (Myers et al., 2000).

Devido a essa alteração do bioma, as espécies nativas, passam a ocupar ambientes próximos com as culturas agrícolas, estando sujeitas a ação dos herbicidas, passando por exposição constante, ocasionada pela ação dos ventos e pela proximidade física, e tem ocasionado danos ao meio ambiente (Yamashita *et al.*, 2013).

A *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex_Hayne é uma árvore de grande porte de ocorrência natural no domínio Cerrado. (Lorenzi, 2002; Carvalho filho *et al.*, 2003). Possuem folhas com epidermes adaxial e abaxial revestidas por cutícula bastante espessa, também foi constatado a presença de glândulas oleíferas de localização subepidérmica (Jorge et al., 2006). Essas estruturas anatômicas estão envolvidas na diminuição da quantidade de herbicida efetivamente absorvida pelas plantas. O glifosato possui pouca afinidade a lipídios, consequentemente as ceras epicuticulares com grande quantidade de compostos apolares constituem barreira para a penetração desse herbicida (Machado et al., 2009; Gandini et al., 2014).

Com base em resultados semelhantes é possível buscar novas tecnologias de plantio para recuperação do cerrado, seja para controle de plantas daninhas em cultivo ou mesmo implantação de cinturões de proteção dos fragmentos de matas nativas existentes em áreas agrícolas (Botelho et al. 2017).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o impacto do herbicida glifosato no crescimento, fisiológia e na anatomia do limbo folhar da espécie *H. stignocarpa* bem como testar a tolerância da planta ao herbicida.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Conduções do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação climatizada no Instituto Federal Goiano, Campus de Rio Verde. As mudas de *H. stigonocarpa* foram obtidas em viveiro comercial, sendo replantadas em vasos de 5L, totalizando 25 plantas. Adubação e irrigação foram calculadas visando suprir as necessidades da planta. Após, aproximadamente sessenta dias de aclimatação, as plantas foram expostas aos tratamentos que consistiram de diferentes doses do glifosato, 9.6, 240, 480, 960 g ha⁻¹.

A aplicação do herbicida glifosato (Roundup Transorb®, 480 g ha⁻¹ do equivalente ácido) foi realizada utilizando pulverizador costal com pressão constante mantida por CO₂ comprimido, munido de barra com quatro pontas de pulverização e bico da série XRTeejet®, tipo leque modelo XR11002 – VP. Aplicou-se 120 L ha⁻¹ de calda. A aplicação foi realizada às oito horas e no momento da aplicação a velocidade do vento era de 1 m s⁻¹, a temperatura média de 18,3°C e umidade relativa de 90%. Os vasos foram transferidos para casa de vegetação após a aplicação dos tratamentos.

Sintomas foliares visíveis

Durante o experimento, as folhas completamente expandidas foram fotografadas com câmera semiprofissional (Cyber-Shot SONY HX100V) para registrar os sintomas visíveis na superfície foliar. Para a confecção da prancha foi utilizada a folha que melhor representa o tratamento.

Caracterização morfoanatômica foliar

Para as análises morfoanatômicas foram coletadas amostras foliares de 3 cm² da região central da última folha totalmente expandida de todas as repetições (n=4) de cada tratamento (n=5) das plantas de *H. stigonocarpa*. Inicialmente as amostras fixadas em

Karnovsky (1965), por 24 horas. Após este período, o material vegetal será pré-lavado em tampão fosfato (0,1 M, pH 7,2) e desidratado em série etílica crescente (30% a 100%), pré-infiltrado e infiltrado em historesina (Leica, Alemanha), conforme as recomendações do fabricante.

Posteriormente, as amostras foram seccionadas transversalmente a 5µm de espessura em micrótomo rotativo (Modelo 1508R, Logen Scientific, China) e os cortes corados com azul de toluidina - coloração policromática (0,05% tampão fosfato 0,1 M, pH 6,8) (O'Brien et al., 1964). As imagens foram obtidas através do microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) acoplado com câmera DP-72 utilizando opção de campo claro. Posteriormente, foram realizadas observações morfoanatômicas da epiderme nas faces adaxial e abaxial, parênquima paliçádico, esponjoso e mesofilo.

Testes histoquímicos

Os cortes seriados de amostras previamente fixadas em FAA⁷⁰ e SFF e incluídas em historesina. Os tratamentos foram submetidos à reação de compostos fenólicos gerais cloreto ferrico (Furr & Mahlberg, 1981) e Lugol para amido. Os respectivos controles foram realizados simultaneamente aos testes histoquímicos, conforme procedimento padrão.

Medidas de micromorfometria

Obtidas a partir das imagens capturadas usando o software ImageJ (Processamento e Análise de Imagem em Java, v. 1.47, EUA). Foram realizadas medições em dez observações por repetição para cada estrutura avaliada. Utilizando o software ImageJ (Processamento e Análise de Imagem em Java, v. 1.47, EUA).

Após a aplicação dos tratamentos com glifosato, deu-se início as medições biométricas. As medições foram realizadas mensalmente nas mudas *H. stigonocarpa*, altura de planta (H) em centímetros considerando o comprimento da haste principal do colo até o ápice do caule e diâmetro do caule (DC) em milímetros, mensurados com régua milimétrica e paquímetro digital, respectivamente, ainda foram contabilizados o número total de folhas expandidas (NF) conforme Delarmelina et al. (2014). Com os valores das diferentes datas foi possível a realização do incremento por período das variáveis analisadas.

Avaliação da fluorescência da clorofila a

Variáveis da fluorescência da clorofila foram avaliadass com analisador de gases no infravermelho portátil (IRGA) modelo LI-6400 (Li-cor, Nebraska, EUA). A análise da fluorescência mínima (F₀) foram realizada antes do amanhecer através da excitação dos tecidos foliares pela luz vermelha modulada de baixa intensidade (003 µmol fótons m-² s-¹). Para obter a fluorescência máxima (F_m) foram aplicados impulsos de saturação de aproximadamente 8.000 µmol fótons m⁻² s⁻¹ durante 0,8s. A partir desses valores foi possível determinar o rendimento quântico fotoquímico potencial do fotossistema II (PSII: $F_v/F_m = [F_m-F_o]/F_m$) (Kitajima & Butler, 1975). Após expor as folhas à luz, e obter a fluorescência mínima ($F_{0'}$) calculada pela forma $F_{0'} = F_0/[(F_m - F_0/F_m) + (F_0/F_m')]$ (Oxborough & Baker 1997). Posteriormente, calcular o quenching não fotoquímico (qN = $[F_m-F_m]/[F_m-F_o]$ (Lichtenthaler *et al.*, 2005) o coeficiente de extinção não fotoquímico $(NPQ = [F_m - F_m']/F_{m'})$, taxa aparente de transporte de elétrons (ETR = Φ FSII x PAR x 0,5 x 0,84) (Bilger et al., 1995), em que PAR representa a radiação fotossinteticamente ativa (µmol m -² s ⁻¹) nas folhas, 0,5 é a fração de energia de excitação direcionada ao PSII (Laisk & Loreto, 1996) e 0,84 a absorbância foliar. A eficiência máxima da fotoquímica PSII na luz $(F_{v'}/F_{m'} = [(F_{m'}-F_{o'})/F_{m'}])$ o rendimento quântico da assimilação de CO^2 (ΦCO^2) e a relação da eficiência de operação do fotossistema II (Φ_{PSII}) foram calculados conforme metodologia proposta por (Maxwell & Johnson., 2000).

As trocas gasosas foram medidas simultaneamente com a avaliação da fluorescência da clorofila a na mesma folha da fotossíntese. E assim, registradas as taxas fotossintéticas (A, µmol m⁻² s⁻¹), condutância estomática (gs, mol H₂O m⁻² s⁻¹), e relação entre a dose interna e externa de CO² (*Ci/Ca*) determinadas em folhas totalmente expandidas em sistema aberto, sob luz saturante (1000 µmol m⁻² s⁻¹) e 400 µmol de CO² mol⁻¹ de ar. As avaliações realizadas às 8h e 11h da manhã, sob radiação fotossinteticamente ativa constante (PAR, 1000 µmol de fótons m² s⁻¹) e dose de CO² (~ 415 µmol mol⁻¹), temperatura (~ 25,5°C) e umidade relativa (~ 74%) ambientes.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F e ajustados aos modelos de regressão, adotando o nível de significância de 5%. Os modelos foram escolhidos pela simplicidade, significado biológico e pelo coeficiente de determinação. As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa estatístico Sisvar e os gráficos pelo Excel.

5. RESULTADOS

5.1. Avaliação morfológica

O tratamento controle, assim como os demais tratamentos não apresentaram danos na estrutura nem alterações morfológicas foliar de *H. stigonocarpa* (Figura 1).



Fig. 1. Morfologia das folhas de *H. stigonocarpa*. 1 e 60 dias após aplicação de glifosato em diferentes doses: controle (A), 9.6 g ha⁻¹ (B), 240 g ha⁻¹ (C), 480 g ha⁻¹ (D) e 960 g ha⁻¹ (E). Barra de escala 3 cm.

5.2. Avaliação das alterações anatômicas

A epiderme foliar de *H. stigonocarpa*, nas faces adaxial e abaxial, é constituída por células isodiamétricas com paredes anticlinais planas ou ligeiramente convexas e folhas anfiestomáticas. O mesofilo é dorsiventral, composto de uma ou duas camadas de parênquima paliçádico, quatro a cinco camadas de parênquima esponjoso e canais secretores localizados entre as células do parênquima clorofiliano. Nas duas datas avaliadas o glifosato não afetou a anatomia foliar de *H. stigonocarpa* Hayne (Figura 2).



Fig. 2. Cortes anatômicos de folhas de *H. stigonocarpa* após aplicação de glifosato. 24 horas após aplicação coleta na coluna 1; (A) controle, (B) 9.6 g ha⁻¹, (C) 240 g ha⁻¹, (D) 480 g ha⁻¹, (E) 960 g ha⁻¹. E na coluna 2 60 dias após aplicação coleta na coluna 2; (F) controle, 9.6 g ha⁻¹, (G) 240 g ha⁻¹, (H) 480 g ha⁻¹, (I) 960 g ha⁻¹, (J) 960 g ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP)parênquima paliçádico. (Sp) parênquima esponjoso. (SC) canal secretor; (A-P) Barra de escala 200 μm.

5.3. Identificação de grãos de amidos

Não foi observada a presença de grãos de amido no mesofilo, epiderme adaxial epiderme abaxial de folhas de *H. stigonocarpa* H. independente da dose de glifosato utilizada no estudo (Figura 5).



Fig. 3. Teste histoquímico com lugol em folhas de *H. stigonocarpa* submetidas à diferentes doses de glifosato. (A) controle, (B) 9.6 g ha⁻¹, (C) 240 g ha⁻¹, (D) 480 g ha⁻¹, (E) 960 g ha⁻¹, (F) 960 g ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP)parênquima paliçádico. (Sp) parênquima esponjoso (SC) canal secretor. (A-F) Barra de escala 100 μ m.

5.4. Identificação de compostos fenólicos

Não foi observado a presença de compostos fenólicos nas células das folhas do tratamento controle de *H. stigonocarpa* bem como nos demais tratamentos (Figura 4).



Fig. 4. Testes histoquímico com cloreto férrico em folhas de *H. stigonocarpa* após aplicação das diferentes doses crescentes de glifosato. (A) controle, (B) 9.6 g ha⁻¹, (C) 240 g ha⁻¹, (D) 480 g ha⁻¹, (E) 960 g ha⁻¹, (F) 960 g ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (Sp) parênquima esponjoso. (SC) canal secretor; (A-F) Barra de escala 100 μ m

5.6. Avaliação de crescimento e desenvolvimento

Ao analisar a taxa de crescimento relativo para as plantas de *H. stigonocarpa*, foi possível verificar que o diâmetro apresentou comportamento quadrático positivo, sendo que todos os tratamentos foram melhores que a testemunha (figura 5-A), já o crescimento relativo de folhas novas e o crescimento relativo em altura apresentaram comportamento quadrático negativo (Figura 5-B e 5-C).



Fig. 5. Incrementos em diâmetro do caule (mm) (A), número de folhas (B) e altura (cm) (C), em mudas de *H. stigonocarpa*, 2 meses após aplicação de glifosato.

5.7. Medidas de micromorfometria

Nas análises micromorfométricas, o efeito das doses do glifosato não foram significativo pelo teste F a 5% de probabilidade para a espessura dos tecidos foliares das plantas de *H. stigonocarpa*. Abaixo são apresentadas as médias para as características avaliadas (Tabela 1).

Dose (g ha ⁻¹)	Folha (µm)	EpAd (µm)	EpAb (µm)	PP (µm)	Sp (µm)	Mesofilo (µm)	CutAd (µm)	CutAb (µm)
0	197,942	18,205	15,966	72,709	89,408	162,538	4,432	4,476
9,6	190,423	15,572	13,880	62,629	92,383	156,323	4,327	4,346
240	187,893	17,859	14,424	61674	91,780	155,280	4,482	4,48
480	190,650	17,608	15,550	60,023	97,129	156,010	4,566	4,586
960	174,924	18,083	17,003	44,906	94,928	13,8994	4,489	4,489
Medias	188,366	17,465	15,364	60,388	93,126	153,829	4,486	4,475

Tab. 1. Caraterizações das espessuras dos tecidos foliares, teste F a 5% de probabilidade para folhas de *Hymenaea stigonocarpa* tratadas com glifosato ao longo de dois meses. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (Sp)

parênquima esponjoso. (CutAd) cutícula adaxial. (CutAb) cutícula abaxial. Escala em μ m.

5.7. Avaliação fisiológica

As análises fisiológicas das mudas *H. stigonocarpa*, um dia após a aplicação de glifosato, apresentaram comportamento quadrático positivo para taxa fotossintética (Figura 7-A), na taxa transporte de elétrons (Figura 7-B), na taxa transpiratória (Figura 7-C) e no rendimento quântico efetivo do fotossistema II. (Figura 7-D), exceto para taxa transpiratória, em que houve aumento somente até a dose 240, todas as doses do glifosato aumentaram os valores das características supracitadas, em relação à testemunha.

A segunda avaliação fisiológica, feita nas mudas *H. stigonocarpa* 60 dias após a aplicação, foi observado que a taxa transpiratória diminui com as doses mais altas de glifosato (Figura 8-A) e o rendimento quântico potencial do fotossistema II apresentou comportamento quadrático em que a maior dose apresentou menores valores em relação ao demais tratamentos (Figura 8-B).



Fig.7. Análise fisiológicas das mudas de *H. stigonocarpa*. A- Taxa fotossintética, B- Taxa transportadora de elétrons, C-Taxa transpiratória, D-Rendimento quântico efetivo do fotossistema. Um dia após a aplicação de glifosato.



Fig.8. Analise fisiológicas das mudas de *H. stigonocarpa*. Taxa transpiratória (A) e Rendimento quântico potencial do FSII (B), 60 dias após a aplicação de glifosato.

6. DISCUSSÃO

O glifosato não afetou a morfologia e anatomia das folhas de *H. stigonocarpa* independente das doses do herbicida e o tempo de avaliação. Há relatos de plantas daninhas cujo mecanismo de tolerância aos herbicidas se dá pela baixa absorção e/ou translocação do herbicida ao sítio de ação (Székács e Darvas, 2012; Alcántara et al., 2016)

Sabe que os principais sintomas do glifosato surgem horas após aplicação e são clorose seguida de necrose e ficam mais acentuados de acordo com a dose do princípio ativo em plantas sensíveis e esses sintomas foram ausentes durante o período de análise e das doses. Ferreira et al (2019) relataram resultados diferentes em folhas de *Digitaria insularis*.

Costa et al., (2011) relatou que análises anatômicas nas folhas são ferramentas importantes que ajudam na detecção dos danos causados pelo contato com herbicidas pois, esses podem determinar absorção pela planta. Entretanto, para este trabalho não foram observados danos anatômicos nas estruturas foliares avaliadas.

Os testes histoquímicos apresentando resultados negativos para detecção de compostos fenólicos e amidos, por tanto não há presença de acúmulo nos limbos foliares analisados, estes resultados indicam que a espécie não passou por estresse oxidativo (Louback et al., 2016). Como não foi observada a presença de acúmulo de grãos de amido nas folhas de *H. stigonocarpa*, indicando que a translocação de carboidratos não foi prejudicada, como já foram observadass em espécies expostas a diversos poluentes atmosféricos (Rodrigues et al., 2018).

Através das avaliações anatômicas pode-se analisar o mecanismo de defesa e como contribui no entendimento a respeito da barreira que cada espécie impõe a sua penetração (Costa et al., 2011). No caso da *H. stignocarpa* constatou-se que a principal barreira de proteção é a espessura da cutícula na folha que minimiza o quanto de princípio ativo a planta absorve.

O glifosato é um dos herbicidas mais estudados pela comunidade científica nos últimos quinze anos (DUKE, 2018). A fitotoxidade foliar glifosato está relacionada a absorção através da cutícula, caso em que ocorrem a remoção da camada de cera pela aplicação do herbicida aumentando a chance de absorção de glifosato (Alves et al., 2014) razão pela qual a espécie não apresentou danos visíveis e, ou anatômicos no *H. stigonocarp*. Yilmaz e Dane (2012), observaram que a cera epicuticular é uma barreira bastante eficaz contra a absorção de herbicidas solúveis em água, como o glifosato. Por esse motivo, provavelmente, somente subdoses do glifosato foram absorvidas pelas plantas.

O quenching não fotoquímico não foi afetado com a aplicação de glifosato, logo a dissipação da energia não radiativa 24 horas e aos 60 dias após a exposição das mudas ao herbicida, não foi afetada. Sabemos que o quenching não fotoquímico está envolvido na dissipação do excesso de energia e na regulação do centro de reação do fotossistema II, que por sua vez é um mecanismo de fotoproteção (Yan et al., 2017), com isso pode-se afirmar o glifosato não provocou estresse nas plantas.

O glifosato promoveu engrossamento do caule. O diâmetro do colo é uma das características cuja análise permite indicar a capacidade de uma muda para sobreviver no campo e deve ser utilizado como um dos melhores indicadores para a qualidade da muda e consequentemente a sobrevivência em campo (Sturion, 1981; Daniel et al., 1997). O engrossamento do caule é um parâmetro importante para gerar maior resistência da planta e aguentar o peso das folhas e frutos (OKA, 2017).

O tal crescimento pode estar relacionado em primeiro momento a ocorrência de alterações positivas nas taxas fotossintética, de transporte de elétrons, transpiratória e no rendimento quântico efetivo do fotossistema II. O aumento dessas taxas influenciam de forma positiva as plantas, isso tudo está relacionado ao grau de absorção em que baixas doses tenham efeito hormonal, como já foi relatado por Pereira et al., (2015) em outras espécies florestais e dessa maneira promovendo efeito positivo do engrossamento do caule (Yamashita et al., 2017).

O aumento inicial na taxa transpiratória após 24 horas já foi apontando como mecanismo de compensação de desfolhamento (Jucá et al., 2020), que por sua vez não conseguiu se manter durante os 60 dias, houve queda progressiva sugerindo que a capacidade da planta de absorver água suficiente para repor aquela consumida no processo transpiratório, conforme já foi mostrado outros (Jucá et al., 2010; Silva et al., 2015).

O desfolhamento provavelmente pode estar relacionado com a menor produção em altura das plantas, fato intensificado pela diminuição da taxa transpiratória e do rendimento quântico potencial do fotossistema II, verificados aos 60 dias após a aplicação de glifosato. A abscisão foliar já foi relacionada com a redução da capacidade fotossintética (Binotto et al. 2016; Mielke & Schaffer 2010), com o incremento da dose do herbicida, aumentando o nível de intoxicação causando abscisão foliar e, consequentemente, a redução de folhas, a fotossíntese está relacionada a queda na taxa de crescimento das mudas de *H. stigonocarpa*. A desfolha reduz a oferta de carboidratos para plantas, ocorrendo em seguida, alta demanda dos fotoassimilados (Srisook et al., 2015). Assim, acredita-se que algo semelhante tenha ocorrido com o *H. stigonocarpa* do cerrado em que a demanda energética para o crescimento vegetal não foi atendida nas doses mais altas de glifosato.

Galli e Montezuma, (2005) relatam glifosato age inibindo da atividade da enzima 5- enolpiruvilshiquimato-3 fosfato sintase (EPSPS), que catalisa a condensação do ácido shiquímico e do ácido pirúvico, evitando a síntese de três aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano influenciando negativamente o crescimento da planta como aconteceu nas plantas tratadas, que tiveram seu crescimento afetado. Resultados semelhantes sugerem que aparentemente as plantas tiveram um efeito inicial positivo para o crescimento, porém para as maiores doses, a presença do glifosato afetou o aparato foliar das plantas afetando negativamente o crescimento em altura. Entretanto seriam necessários estudos extras para avaliar se há a presença do ácido shiquímico nas plantas.

7. CONCLUSÕES

Com estes estudos pode-se concluir que a espécie *Hymenaea stignocarpa* consegue sobreviver após o contato com o herbicida glifosato, não apresentando danos visuais e/ou anatômicos independente da dose utilizada e do tempo de avaliação do experimento.

A espécie apresentou aumento gradual nos incrementos de crescimento em diâmetro e redução gradual nos incrementos de folhas novas e altura.

Ocorreu aumento inicial nas taxas fotossintética, de transporte de elétrons e transpiratória, bem como no rendimento quântico efetivo do fotossistema II.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de ambas espécies serem tolerantes a *Hymenaea courbaril* L respondeu melhor a exposição do glifosato em relação a espécie *Hymenaea stigonocarpa*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alcántara, R., Fernadez, P., Smeda, R. J., Alves, P. L., & Prado, R. (2016). Response of *Eleusine indica* and *Paspalum distichum* to glifosato following repeated use in citrus groves. Crop Protection, 79, 1-7. doi: 10.1016/j.cropro.2015.09.027

Alves, R. M., Inacio, E. M., Monquero, P. A., Meneghin, S. P., & Hirata, A., 2014. Leafsurface characterization and the effects of the herbicide saflufenacil on the leaves of weeds. Brazilian Journal of Agricultural Sciences/**Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, 9(4).

Almeida, E. R. Plantas medicinais brasileiras: conhecimentos populares e científicos. São Paulo: Hemus, 1993, 341 p.

Bianchi, M.A.; RissardI, M.A.; Vargas. L. **Manejo de plantas danunhas em cereais de inverno**. In Manejo de Plantas Daninhas nas Culturas Agricolas. São Carlos: RiMa editora, p 68-79,2014

Binotto, B., Antoniazzi, A.P., Neumann, G.M., Sausen, T.L. & Budke, J.C. 2016. Tolerância de plântulas de *te* Vell. à diferentes amplitudes e intensidades de inundação. **Ciência Florestal** 26: 1339- 1348

Botelho, R. A.; Pinheiro, A.; Silva, L.; Silva, S. P. M.; Souza, M. D.; Oliveira, O. E. Diversidade de Formigas (Hymenoptera: Formicidae) em Frutos de Jatobazeiro *Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae) no Município de Santo Antônio do Leverger, Mato Grosso. Biodiversidade - V.16, N1, pág. 202, 2017.

Carvalho Filho, J. L.S.; Arrigoni-Blank, M. F.; Blank, A. F.; Rangel, M. S. A.; Produção de mudas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) em diferentes ambientes, recipientes e composições de substratos. **Cerne**, v. 9, n.1, p.109-118, 2003.

Concenço, G. et al. Eficiência fotossintética de biótipos de azevém em condição de competição. **Planta Daninha**, v. 19, n. 2, p. 247-253, 2008. <u>http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-</u>

83582008000300015&script=sci_arttext&tlng=es Acesso em: 27 dez.2019.

Costa, N. V.; Martins, D.; Rodella, R. A.; Rodrigues-Costa, A. C. P. Alterações anatômicas foliares em *Eichhornia crassipes* submetidas à aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, v. 29, n. 1, p. 17-23, 2011.

Costa, N. V.; Erasmo, E. A. L.; Queiroz, P. A.; Dornelas, D. F.; Dornelas, B. F. Efeito da deriva simulada de glifosato no crescimento inicial de plantas de pinhão-manso. **Planta Daninha**, v. 27, p. 1105-1110, 2009

Daniel, O.; Vitorito, C.T.; Alovisi, A.A.; Massochin, L.; Tokura, A.M.; Reispinheiro, E.; Ferreira de Souza, E. Crescimento de mudas de *Acacia mangium* willd em resposta a aplicação de diferentes fontes de fosforo. Revista árvore-Sociedade de Investigações Florestais (Viçosa-Brasil). (1997). v. 21(3) p.323-327.

Delarmelina, W. M.; CALDEIRA M. V. W.; FARIA J.C.T.; GONÇALVES E. O, ROCHA R. L. F.; Diferentes Substratos para a Produção de Mudas de *Sesbania virgata*. Floresta e Ambiente 2014, 21(2): 224-233.

Duke, S. O. The history and current status of glifosato. Pest Management Science, v. 74, n. 5, p. 1027-1034, 2018.

França, A. C.; Freitas, M. A. M.; Fialho, C. M. T.; Silva, A. A.; Reis, M. R.; Galon, L.; Victoria Filho, R. Crescimento de cultivares de café Arábica submetidos a doses do glifosato. **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 599-607, 2010.

Ferreira, S. D.; Exteckoetter, V.; Gibbert, A. M.; Barbosa, J. A.; Costa, N. V. Biological cycle of susceptible and glifosato-resistant sourgrass biotypes in two growth periods resistentes. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 36, p. 1–9, 2018.

Ferreira, S. D. Resistência ao glifosato em biótipos de *Digitaria insularis* e nível de dano econômico em soja e milho. 2019. 179 f. Tese (Doutorado em agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2019.

Folini, L. L.; Christoffoleti, P. J.; Carvalho, S. J. P. de. Controle químico deve auxiliar o combate a plantas daninhas. Visão Agrícola, [S.l.], 2006 .Disponível em: https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va06-fitossanidade09.pdf. Acesso em: 27 dez.2019.

Furr, M.; Mahlberg, P. G. Histochemical analysis of lacticifers and glandular trichomes *in Cannabis sativa*. J Nat. Prod, v. 44, p. 153-159. 1981.

Galli, A. J. B. and Montezuma, M. C. (2005). Glifosato: Alguns aspectos da utilização do Herbicida Glifosato na Agricultura. ACADCOM. 12-49.

Gandini, E. M. M; Santos, J. B; Gandini, A. M. M; Reynaldo Campos Santanna & Daniel Valadão da Silva (2014) Seletividade de herbicidas e rizosférico Microbial Atividade em Hymenaea corbaril L. Mudas, Comunicações em Solos e análise de plantas, 45: 17, 2235-2246, DOI: 10.1080 / 00103624.2014.931415

GoSChov, D. L.; Palmeirim, J. M.; Jaramillo, M.; Ascorra, C. F. Dispersal of seeds of *Hymenaea courbaril* (Fabaceae) in a logged rain forest in the Peruvian Amazonian. Acta Amazônica, vol. 34, n. 2, p. 251-259, 2004.

Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. New York, NY: McGraw Book Co.

Jorge, N.; Ramalho, V. C.; Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. Revista Química Nova. Quím. Nova vol.29 no.4 São Paulo July/Aug. 2006 <u>https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000400023</u>

Jucá, A. C. C; Castro, G. L. S; Sousa, D. P; Conceição, S. S; Ribeiro, R. C.; Lins, P. M. P.; Carvalho, L. L. B.; Carvalho, L. L. B; Batista, T. F. V; Crescimento e fotossíntese de dois materiais genéticos do coqueiro submetidos a desfolha artificial. Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais, v.11, n.1, p.63-71, 2020. DOI: http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.001.0007

Larson, k.c. & whitham, t.g. 1997. Competition between gall aphids and natural plant sinks: plant aSChitecture affects resistance to galling. **Oecologia** 109:575-582

Lichtenthaler, H. K., Buschamann, C., Knapp, M., 2005. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio RFd of leaves with the PAM fluorometer. Photosynthetica 43, 379–393.

Lorenzi, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil, vol.1, Nova Odessa: Editora Plantarum, v. 1, 2002. 368p.

Louback, E., Pereira, T. A. R., Souza, S. R., Oliveira, J. A., Silva, L. C., 2016. Vegetation damage in the vicinity of an aluminum smelter in Brasil. Ecol. Indic. 64, 193-203. Doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.044.

Lopes, B. G; Classificação das variações, tamanho ótimo de paSCela e curva de crescimento para experimento com eucalipto. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Facudade de Engenharia de Ilhas Solteiras, 2019.

Kitajima, M., Butler, W. L., 1975. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. Biochim. Biophys Acta. 376, 105-115.

Karnovsky, M. J. A. formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. Journal of Cell Biology, v. 27, p. 137-138, 1965.

Machado, A.F.L.; Ferreira, L.R.; Santos, L.D.T.; Santos, J.B.; Ferreira, F.A.; Viana, R.G. Absorção, translocação e exudação radicular de glifosato em clones de eucalipto. Planta Daninha, v. 27, n. 3, p. 549-554, 2009.

Machado, A. F. L.; Ferreira, L. R.; Santos, L. D. T.; Ferreira, F. A.; Viana, R. G.; Machado, M. S.; Freitas, F. C. L. Eficiência fotossintética e uso da água em plantas de eucalipto pulverizadas com glifosato. Planta Daninha, v. 28, n. 2, p. 319-327, 2010

Maxwell, K., Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. J. Exp. Bot. 345, 659-668. Doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659.

Mielke, M.S. & Schaffer, B. 2010. Photosynthetic and growth responses of *Eugenia uniflora* L. seedlings to soil flooding and light intensity. Environmental and Experimental Botany 68: 113-121.

MMA - Ministério do Meio Ambiente. Relatório Técnico de Monitoramento do Desmatamento no Bioma Cerrado, 2002 a 2008: Dados Revisados. Novembro, 2009.

Myers, N., R.A. Mittermeier, C.G. Mittermeier, G.A.B. DA Fonseca & J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature, 403: 853-858.

MONSANTO DO BRASIL. 2018. Disponível em: < http://www.monsanto.com.br/>Acesso em: 19 jan. 2018.

O'Brien, T.P.; Feder, N. & Mccully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue.Protoplasma59 (2): 368-373. PEARSE, A. G. Histochemistry. Theoretical and applied, analytical technology. 4th Ed. New York, ChuSChill Livingstone, 1985.

Oka, J.M. Crescimento e acúmulo de nutrientes em pimenteira-de-cheiro (Capsicum chinense Jacquin) cv. Lupita, em Manaus, AM. 2017. 113 f. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017.

Pereira, M. R. R.; Rodrigues, A. C. P.; Costa, N. V. da; Martins, D.; Klar, A. E.; Silva, M. R. da. Efeito da deriva de glifosato sobre algumas características fisiológicas em plantas de eucalipto. INTESCIENCIA, v. 35 n.4, 2010.

Pereira, M. R. R.; Souza, G. S. F.; Fonseca, E. D.; Martins, D. Subdoses de glifosato no desenvolvimento de espécies arbóreas nativas. Biosci. J., Uberlândia, v. 31, n. 2, p. 326-332, Mar./Apr. 2015

Pimentel, C. et al. Características fotossintéticas de *Phaseolus vulgaris* L. Hoehnea, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 273-279, 2011.

Rigoli, R. P.; Fontana, L. C.; Figueredo, S. S.; Noldin, J. A. Resposta de plantas de beterraba (*Beta vulgaris*) e de cenoura (*Daucus carota*) à deriva simulada de glifosato e clomazone. **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 451-456, 2008

Rodrigues, A, A.; Filho ,S C. V.; Mendes, G. C.; Müller, C.; Rodrigues, D. A.; Mendes, G. C.; Rehna, L. S.; Costa, A. C.; Vital, R. G.; Sales, J. F. Sapindus saponaria bioindicator potential concerning potassium fluoride exposure by simulated rainfall: Anatomical and physiological traits. Ecological Indicators. V89. P. 552-558. 2018.

Santos, J.B.; Ferreira. E.A.; Oliveira, J.A.; Silva, A.A.; Fialho, C.M.T. Efeito de formulações na absorção e translocação do glifosato em soja transgênica. **Planta**

Silva, f. G.; dutra, w. F. Dutra, a. F. De oliveira, i. M.; filgueiras, l. M. B.; melo, A. S.. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi, v.19, n.10, p.946-952, 2015. **Daninha**, v. 25, n. 2, p. 381-388, 2007.

Schrübbers, Lars C. Glifosato spray drift in *Coffea arabica* Sensitivity of coffee plants and possible use of shikimic acid as a biomarker for glifosato exposure. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 115, p. 15-22, 2014.

Srisook, w.; lim, c.; oh, e. U.; yi, k.; kim, s.; park, k. S.; song, K. J.. Effect of Artificial Defoliation on Cane Regrowth and Fruit Development in 'Jecy Gold' Kiwifruit. Hort. Environ. Biotechnol., v.56, n.1, p.22-26, 2015. DOI: http://doi.org/10.1007/s13580-015-0119-9

Sturion, J. A. Influência do recipiente e do método de semeadura na formação de mudas de Mimosa *scabrella Bentham*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 2, p. 69-88, 1981.

Székács, A.; Darvas, B. 2012. Forty years with glifosato. In: M.N. Hasaneen, editor, Herbicides-properties, synthesis and control of weeds. InTech, 247–284. doi: 424–43310.5772/32491

Tuffi Santos, L. D.; Sant'anna-Santos, B. F.; Meira, R. M. S. A.; Ferreira, F. A.; TibuSCio, R. A. S. T.; Silva, E. C. F. Micromorfologia foliar na análise da fitotoxidez por glifosato em Eucalyptus grandis. Planta Daninha, v. 27, n. 4, p. 711-720, 2009.

Yan, H., Wu, L., Filardo, F., Yang, X., Zhao, X., Fu, D. Sinais químicos e hidráulicos regulam o comportamento estomático e a atividade fotossintética do milho durante a seca progressiva. Acta Phisiologiae Plantarum, vol. 39, n.6, pp.125. 2017 http://dox.doi.org/10.1007/s11738-017-2418-5.

Yamashita, O. M.; Orsi, J.V.N; Resende, D.D; Mendonça, F. S; Campos, O. R; Massaroto, J. A; Carvalho, M. A. C; Koga, P. S; Peres, W. M; Alberguin, A; Deriva simulada de herbicidas em mudas de *Coffea canephora*. Scientia Agraria Paranaensis – SAP Mal. Cdo. Rondon, v. 12, n. 2, p. 148-156, 2013.

Yamashita, O.M; Silva, G.B; Rondon Neto, R. M; Campos, O. R; Peres, W.M; Interferência de subdoses de glifosato no desenvolvimento de plantas jovens de nim. Nativa, Sinop, v.5, n.3, p.163-168, mai./jun. 2017. Pesquisas Agrárias e Ambientais DOI: 10.5935/2318-7670.v05n03a02 http://www.ufmt.br/nativa

Yilmaz, G., & Dane, F., 2012. Phytotoxicity Induced by Herbicide and Surfactant on stomata and epicuticular wax of Wheat. Romanian Biotechnological Letters, 17(6), 7757-7765

Vencill, W. K., Nichols, R. L., Webster, T. M., Soteres, J. K., Smith, C. M., Burgos, N. R., Johnson, W. G. and McClelland, M. R. (2012)a. Herbicide Resistance: Toward an Understanding of Resistance Development and the Impact of Herbicide-Resistant Crops. WSSA.

Wagner, J. F. e Merotto Junior, A. Parâmetros fisiológicos e nutricionais de cultivares de soja resistentes ao glifosato em comparação com cultivares isogênicas próximas. Ciência Rural, v.44, n.3, 2014.