

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE DUAS
ESPÉCIES ARBÓREAS SOB DERIVA SIMULADA DO HERBICIDA
GLIFOSATO

Autora: Taíza Andressa Vicentini
Orientador: Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho
Coorientadora: Dr^a. Fernanda dos Santos Farnese

RIO VERDE - GO

JUNHO - 2023

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE DUAS
ESPÉCIES ARBÓREAS SOB DERIVA SIMULADA DO HERBICIDA
GLIFOSATO

Autora: Taíza Andressa Vicentini
Orientador: Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho
Coorientadora: Dra. Fernanda dos Santos Farnese

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, Área de concentração em Conservação dos Recursos Naturais.

RIO VERDE - GO
JUNHO - 2023

Dedicatória

Á minha querida mãe e meu pai (*in memoriam*), meus exemplos e incentivadores, que sempre me apoiaram em meus sonhos e projetos. Com todo meu amor e gratidão, por tudo que fizeram por mim ao longo de minha vida, especialmente pela sabedoria nos ensinamentos. Aqui estão os resultados dos seus esforços. Muita gratidão.

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

V633r

Vicentini, Taíza Andressa
RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE DUAS
ESPÉCIES ARBÓREAS SOB DERIVA SIMULADA DO HERBICIDA
GLIFOSATO / Taíza Andressa Vicentini; orientador
Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho; co-orientadora
Fernanda dos Santos Farnese. -- Rio Verde, 2023.
85 p.

Dissertação (Mestrado em Programa de Pós Graduação
em Biodiversidade e Conservação) -- Instituto Federal
Goiano, Campus Rio Verde, 2023.

1. Plantas não-álvoas. 2. Absorção. 3.
Fitointoxicação. 4. Anatomia foliar. I. Vasconcelos
Filho, Sebastião Carvalho, orient. II. Farnese,
Fernanda dos Santos, co-orient. III. Título.

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, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC (graduação) | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Taíza Andressa Vicentini

Matrícula:

2021102310840026

Título do trabalho:

RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE DUAS ESPÉCIES ARBÓREAS SOB DERIVA SIMULADA DO HERBICIDA GLIFOSATO

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 01 /08 /2023

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim 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;

· Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, 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;

· Que 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
Local

01 /08 /2023
Data

Taíza Andressa Vicentini

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

Sebastião C. V. Filho

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 59/2023 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE DUAS ESPÉCIES ARBÓREAS SOB DERIVA
SIMULADA DO HERBICIDA GLIFOSATO

Autora: Taiza Andressa Vicentini

Orientadora: Prof^ª. Dra. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho

TITULAÇÃO: Mestre em Biodiversidade e Conservação - Área de Concentração Conservação dos
Recursos Naturais

APROVADA em 29 de junho de 2023.

Prof. Dr. Leandro Carlos
Avaliador Externo
IF Goiano - Rio Verde

Prof^ª. Dra. Marcela Campanharo
Avaliadora externa
Universidade Federal de Rondônia -
UNIR

Prof. Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho
IF Goiano/Rio Verde

Documento assinado eletronicamente por:

- **Marcela Campanharo, Marcela Campanharo - Professor Avaliador de Banca - Fundação Universidade Federal de Rondônia (04418943000190)**, em 29/06/2023 11:21:37.
- **Leandro Carlos, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 29/06/2023 10:58:55.
- **Sebastiao Carvalho Vasconcelos Filho, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 29/06/2023 10:56:43.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 23/05/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 497192
Código de Autenticação: db41921090



AGRADECIMENTOS

A **Deus**, que nos meus dias mais sombrios me concedeu força e disposição para continuar. Sem Ele, nada disso seria possível.

À minha família, em especial minhas tias (**Neuza Vicentini, Carolina Vicentini, Isabel Vicentini e Ângela Vicentini**), primas (**Claúdia Vicentini, Claudiana Vicentini e Clarice Vicentini**), irmãs do coração (**Beatriz Faustino e Sabrina Ribeiro**), que mesmo de longe, mas sempre em oração por mim, foram essenciais para que eu pudesse prosseguir nessa caminhada. Amo vocês.

Ao Dr. **Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho**, meu professor e orientador, expresso minha gratidão pela confiança e orientação ao longo do meu mestrado, que foram fundamentais para o sucesso deste trabalho.

À minha querida coorientadora. Professora Dr^a **Jaqueline Martins Vasconcelos**, pela colaboração, orientações e amizade. Sou imensamente grata.

À coorientadora Professora Dr^a **Fernanda Farnese dos Santos**, pela parceria e colaboração em várias etapas desta dissertação.

Aos amigos que o IF Goiano proporcionou (**Marco Aurélio Batista, Ana Cláudia Martins, José Augusto Siqueira, Valdeir Martins, Gustavo Daniel, Beatriz Fermino, Ana Veloso, Yanca Gabriele e Giselle Faria**), obrigada pela amizade e apoio nos momentos difíceis, vocês foram essenciais para tornar essa jornada mais leve.

Ao laboratório de Fisiologia Vegetal em nome do professor Dr. **Alan Carlos Costa**, laboratório de Plantas Daninhas em nome do professor Dr. **Adriano Jakelaitis**, e professor Dr. **Leandro Carlos**, pelo apoio na execução desse projeto.

A FAPEG, pela concessão de bolsa de estudos, ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, pela oportunidade desse trabalho.

Apesar dos momentos difíceis, nunca estive só nessa jornada do mestrado. Para que esse

trabalho fosse possível, foi necessário a contribuição de cada um de vocês, de forma direta ou indiretamente. Foi uma experiência enriquecedora e transformadora em minha vida.

A todos, o meu carinho e muito obrigada!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Taíza Andressa Vicentini, filha de Marli Olimpia de Barba Vicentini (*in memorian*) e Diógenes Albino Vicentini (*in memorian*), nasceu em Porto Velho, Estado de Rondônia, em 28 de dezembro de 1996. Concluiu o ensino médio no CTPMII – Colégio Tiradentes da Polícia Militar II unidade de Jaci Paraná – RO no ano de 2014 e iniciou a sua formação acadêmica em 2016, no curso de Bacharelado em Ciências Biológicas pela UNIR – Universidade Federal de Rondônia, Campus Porto Velho, em paralelo a graduação desenvolveu projetos de iniciação científica no LABFISIOVEG - Laboratório de Fisiologia Vegetal, servindo como base para a sua formação acadêmica e despertando seu interesse pela ciência. Finalizou sua graduação em dezembro de 2020, e logo em seguida ingressou no Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* - Mestrado em Biodiversidade e Conservação, no Instituto Federal Goiano Campus Rio Verde no ano de 2021, concluindo e defendendo sua dissertação em 29 de junho do ano de 2023.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	XII
RESUMO GERAL	XIII
ABSTRACT.....	XV
INTRODUÇÃO GERAL.....	16
REFERÊNCIAS.....	20
OBJETIVO GERAL	24
Capítulo 1: RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE <i>Sapindus saponaria</i> L. SOB DERIVA SIMULADA DO HERBICIDA GLIFOSATO.....	25
1. Introdução	26
2. Material e Métodos	28
2.1 <i>Material Vegetal, condições de cultivo e tratamentos.....</i>	<i>28</i>
2.2 <i>Análise de sintomas morfológicos</i>	<i>29</i>
2.3 <i>Avaliação da caracterização morfoanatômica foliar e histoquímica</i>	<i>29</i>
2.4 <i>Trocas gasosas.....</i>	<i>30</i>
2.5 <i>Cálculo da concentração inibitória mínima IC₅₀.....</i>	<i>30</i>
2.6 <i>Fluorescência da Clorofila a.....</i>	<i>31</i>
2.7 <i>Análise estatística</i>	<i>31</i>
3. Resultados.....	32
3.1 <i>Efeito do glifosato sobre a morfologia foliar</i>	<i>32</i>
3.2 <i>Avaliação das alterações anatômicas</i>	<i>34</i>
3.3 <i>Trocas gasosas.....</i>	<i>40</i>
3.4 <i>Determinação da IC₅₀ da taxa fotossintética</i>	<i>43</i>
3.5 <i>Efeito do glifosato na fluorescência da clorofila a</i>	<i>44</i>
4. Discussão.....	46
Conclusões	50
Agradecimentos.....	51
Referências	51
Capítulo 2: TOLERÂNCIA DE <i>Caryocar villosum</i> (AUBL.) PRES. AO GLIFOSATO SOB DERIVA SIMULADA: UMA ABORDAGEM MORFOANATÔMICA E FISIOLÓGICA.....	57
1. Introdução	58
2. Material e métodos.....	60

2.1 <i>Material vegetal, condições de cultivo e tratamentos</i>	60
2.2 <i>Análise de sintomas morfológicos</i>	61
2.3 <i>Avaliação da caracterização morfoanatômica foliar</i>	61
2.4 <i>Trocas gasosas</i>	62
2.5 <i>Fluorescência da Clorofila a</i>	62
2.6 <i>Concentração de clorofila</i>	63
2.7 <i>Análise estatística</i>	63
3. Resultados	63
3.1 <i>Efeito do glifosato sobre a morfologia foliar</i>	63
3.2 <i>Avaliação das alterações anatômicas</i>	64
3.3 <i>Trocas gasosas</i>	68
3.4 <i>Efeito do glifosato na fluorescência da clorofila a</i>	70
3.4 <i>Concentração de clorofila</i>	72
4. Discussão	72
Conclusões	75
Agradecimentos	76
Referências	76
CONCLUSÕES GERAIS	80

ÍNDICE DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 1. Respostas morfoanatômicas e fisiológicas de *Sapindus saponaria* L. sob deriva simulada do herbicida glifosato.

Tabela 1. Efeito do glifosato na espessura dos tecidos foliares de *S. saponaria*, 30 dias após a aplicação de glifosato em diferentes subdoses (0, 24, 48, 96 e 192 g i.a. ha⁻¹).....37

Tabela 2. Taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (*g_s*), e relação entre a concentração interna e externa de CO₂ (*C_i/C_a*) de plantas de *S. saponaria*, após a aplicação de glifosato em diferentes subdoses (0, 24, 48, 96 e 192 g i.a. ha⁻¹).....41

Tabela 3. Rendimento quântico potencial do fotossistema II (*F_v/F_m*), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (*Y_{II}*), taxa relativa de transporte de elétrons (ETR), e coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) de plantas de *S. saponaria*, após a aplicação de glifosato em diferentes subdoses (0, 24, 48, 96 e 192 g i.a. ha⁻¹).....45

CAPÍTULO 2. Tolerância de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pres. a subdoses de glifosato.

Tabela 1. Caracterização das espessuras dos tecidos foliares de *C. villosum*, 30 dias após a aplicação de glifosato em diferentes subdoses (0, 48, 96, 144 e 288 g i.a. ha⁻¹).....67

Tabela 2. Taxa fotossintética (*A*) e taxa transpiratória (*E*) de plantas de *C. villosum*, após a aplicação de glifosato em diferentes subdoses (0, 48, 96, 144 e 288 g i.a. ha⁻¹).....68

Tabela 3. Rendimento quântico potencial do fotossistema II (*F_v/F_m*), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (*Y_{II}*), taxa relativa de transporte de elétrons (ETR), e coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) de plantas de *C. villosum*, após a aplicação de glifosato em diferentes subdoses (0, 48, 96, 144 e 288 g i.a. ha⁻¹).....71

Tabela 4. Efeito das subdoses de glifosato (Subdose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Subdose x tempo) para o teor de clorofila *a*, clorofila *b* e

clorofila total em plantas de <i>C. villosum</i>	72
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1. Respostas morfoanatômicas e fisiológicas de *Sapindus saponaria* L. sob deriva simulada do herbicida glifosato.

- Figura 1.** Sintomas visuais em plantas de *S. saponaria*, após 15 dias de exposição a subdoses crescentes de glifosato: (A e F) Controle, (B e G) 24 (C e H) 48, (D e I) 96, e (E e J) 192 g i.a. ha⁻¹.....33
- Figura 2.** Sintomas visuais em folhas de *S. saponaria*, necroses destacadas por setas vermelhas, após 30 dias de exposição a subdoses crescentes de glifosato: (A) Controle, (B) 24 (C) 48, (D) 96, e (E) 192 g i.a. ha⁻¹. Barra de escala 4 cm.....34
- Figura 3.** Alterações anatômicas em folhas de *S. saponaria*, após 30 dias de exposição à deriva simulada de glifosato em diferentes subdoses. (A) Controle, (B) 24, (C) 48, (D) 96, e (E, F, G e H) 192 g i.a. ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. (Re) redução dos espaços intercelulares. Setas pretas indicam colapso celular e pontos de necrose no limbo foliar. Setas amarelas indicam acúmulo de compostos fenólicos. Ponta de seta apontam alterações na morfologia das células. Asterisco representa rompimento de células do parênquima paliçádico. Barra de escala 50 µm.....36
- Figura 4.** Micromorfometria dos tecidos foliares referentes à epiderme adaxial (A), abaxial (B), parênquima paliçádico (C), parênquima esponjoso (C) e mesofilo (E) de *S. saponaria* em função de subdoses do glifosato em µm.....38
- Figura 5.** Localização histoquímica de amido e compostos fenólicos em folhas de *S. saponaria* submetida a subdoses crescentes do herbicida glifosato 30 dias após a aplicação. Teste com Lugol, para a identificação de amido (A-E) (reação positiva em marrom – seta preta). Teste com Dicromato de Potássio, para a identificação de compostos fenólicos (F-I) (reação positiva em castanho avermelhado – seta amarela). (A, D, F e H) Controle, (E) 48, (B) 96, e (C, G e I)

- 192 g i.a. ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barras de escala: A, B, C, D, E, H e I = 50 µm e F e G = 100 µm.....39
- Figura 6.** Autofluorescência da clorofila (450-490nm). Cloroplastos do mesofilo (Parênquima paliçádico e esponjoso) emitem fluorescência vermelha típica. (A) Controle, (B) 24, (C) 48, (D e F) 96, e (E e G) 192 g i.a. ha⁻¹. Áreas sem a cor vermelha típica emitida pelos cloroplastos, representam degradação da clorofila. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barras de escala: 100 µm.....40
- Figura 7.** Condutância estomática (g_s) em folhas de *S. saponaria* após exposição a subdoses do herbicida glifosato. Os dados são médias de n = 5. Significância ** p<0,01.....41
- Figura 8.** Taxa transpiratória (E) em folhas de *S. saponaria* após exposição a subdoses crescentes do herbicida glifosato. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis.....42
- Figura 9.** Taxa fotossintética (A) em folhas de *S. saponaria* em diferentes dias após a aplicação de subdoses do herbicida glifosato. 1DAA (A), 2DAA (B), 15 DAA (C). Os dados são médias de n = 5. Significância ** p<0,01.....42
- Figura 10.** Relação entre a concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a) em folhas de *S. saponaria* submetidas a subdoses do herbicida glifosato. Os dados são médias de n = 5. Significância ** p<0,01.....43
- Figura 11.** Taxa fotossintética em *S. saponaria* exposta a subdoses crescentes de glifosato. A linha vertical vermelha representa o valor de IC₅₀ (concentração que causa 50% de inibição).....44
- Figura 12.** Rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) (A e B), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y_{II}) (C e D) e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) (E e F) nas plantas de *S. saponaria* em resposta a subdoses crescentes de glifosato e dos dias após aplicação (DAA). Os dados são médias de n=5. A escala de cor, corresponde aos valores de 0 (preto) a 1 (rosa).....45

CAPÍTULO 2. Tolerância de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pres. a subdoses de glifosato.

- Figura 1.** Sintomas visuais em folhas de *C. villosum*, clorose destacada por asterisco e seta vermelha, após 30 dias de exposição a subdoses crescentes de glifosato: (A) Controle, (B) 48 (C) 96, (D) 144, e (E) 288 g i.a. ha⁻¹. Barra de escala 4 cm.....64
- Figura 2.** Cortes anatômicos em folhas de *C. villosum*, após 30 dias de exposição ao glifosato em diferentes subdoses. (A, B, G, H e I) Controle, (C) 48, (D) 96, (E) 144, e (F) 288 g i.a. ha⁻¹

¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. (Fi) fibra. (Xy) xilema. (Ph) floema. (FP) parênquima fundamental. (Tc) Tricoma tector. (Id) idioblasto. Barra de escala (A) 250 μm ; (B, C, D, E, F, G, H) 100 μm ; (I) 30 μm66

Figura 3. Autofluorescência da clorofila (450-490nm). Cloroplastos do mesofilo (Parênquima paliçádico e esponjoso) emitem fluorescência vermelha típica. (A) Controle, (B) 48, (C) 96, (D) 144, e (E e F) 288 g i.a. ha⁻¹. Áreas sem a cor vermelha típica emitida pelos cloroplastos, representam degradação da clorofila. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barras de escala: 100 μm67

Figura 4. Taxa fotossintética (A) em folhas de *C. villosum* em diferentes dias após a aplicação de subdoses do herbicida glifosato. 1DAA (A), 7DAA (B), 15DAA (C). Os dados são médias de n = 5. Significância ** p<0,01.....69

Figura 5. Taxa transpiratória (E) em folhas de *C. villosum* em diferentes dias após a aplicação de subdoses do herbicida glifosato. 1DAA (A), 7DAA (B), 15DAA (C). Os dados são médias de n = 5. Significância ** p<0,01.....70

Figura 6. Rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) (A e B), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y_{II}) (C e D) e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) (E e F) nas plantas de *C. villosum* em resposta a subdoses crescentes de glifosato e dos dias após aplicação (DAA). Os dados são médias de n=5. A escala de cor, corresponde aos valores de 0 (preto) a 1 (rosa).....71

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

SÍMBOLO	SIGNIFICADO	UNIDADE DE MEDIDA
<i>A</i>	Taxa fotossintética	($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
Abep	Epiderme abaxial	μm
Adep	Epiderme adaxial	μm
<i>Ci/Ca</i>	Razão entre a concentração interna e externa de CO_2	
cm	Centímetro	
CV	Coefficiente de Variação	%
DAA	Dias após a aplicação	
<i>E</i>	Taxa de transpiração	($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
ETR	Taxa de transporte de elétrons	($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
Fi	Fibra	μm
<i>Fv/Fm</i>	Rendimento quântico potencial do fotossistema II	
<i>gs</i>	Condutância estomática	($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
Id	Idioblasto	μm
IRGA	Analizador de gases no infravermelho	
NPQ	Coefficiente de extinção não-fotoquímico	
PP	Parênquima paliçádico	μm
SP	Parênquima esponjoso	μm
Tc	Tricoma tector	
μm	Micrômetro	
Xy	Xilema	μm

RESUMO GERAL

VICENTINI, TAIZA ANDRESSA. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, junho de 2023. **Respostas morfoanatômicas e fisiológicas de duas espécies arbóreas sob deriva simulada do herbicida glifosato.** Orientador: Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho. Coorientadora: Dr^a. Fernanda Farnese dos Santos.

O glifosato é um herbicida amplamente utilizado em todo o mundo, mas seu uso pode ter impactos negativos em espécies não-alvo presentes em áreas de vegetação nativa. Neste estudo, o objetivo foi avaliar o efeito do glifosato em duas espécies arbóreas nativas, uma com ampla distribuição no Brasil e outra endêmica da Amazônia. Foram conduzidos dois experimentos, o primeiro simulando a deriva de glifosato na espécie *Sapindus saponaria*, com subdoses de 0, 24, 48, 96 e 192 g i.a. ha⁻¹ e o segundo utilizando a espécie *Caryocar villosum*, com tratamentos de 0, 48, 96, 144 e 288 g i.a. ha⁻¹. As espécies responderam de maneira diferente à exposição ao glifosato. *S. saponaria* apresentou maior sensibilidade, exibindo danos visuais e anatômicos, acúmulo de amido e compostos fenólicos, bem como alterações fisiológicas nos parâmetros de trocas gasosas e nas etapas fotoquímicas, à medida que as subdoses aumentaram. Por outro lado, *C. villosum* demonstrou características de tolerância às subdoses testadas, pois não foram observadas alterações significativas na morfologia, anatomia, teor de pigmentos e fluorescência da clorofila a. No entanto, houveram alterações nos parâmetros de autofluorescência da clorofila, taxa fotossintética (*A*) e taxa transpiratória (*E*). Essas diferenças podem ser atribuídas à presença de barreiras foliares, como tricomas, que possivelmente reduziram a absorção do herbicida. A partir desses resultados destaca-se a importância de considerar as respostas diferenciais das espécies nativas ao glifosato. Enquanto algumas espécies podem ser mais sensíveis e sofrer danos significativos, outras podem apresentar características de tolerância que as protegem dos efeitos tóxicos do herbicida. A compreensão dessas respostas é essencial para

o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficientes e sustentáveis em áreas de vegetação nativa, visando minimizar os impactos negativos do glifosato sobre a biodiversidade.

ABSTRACT

VICENTINI, TAIZA ANDRESSA. Goiano Federal Institute of Education, Science and Technology - Rio Verde Campus, junho de 2023. **Morphoanatomical and physiological responses of two tree species under simulated drift of the herbicide glyphosate.** Advisor: Dr. Vasconcelos Filho, Sebastião Carvalho. Co-advisor: Dr^a. Dos Santos, Fernanda Farnese.

Glyphosate is a widely used herbicide worldwide, but its use can have negative impacts on non-target species in native vegetation areas. In this study, the aim was to evaluate the effect of glyphosate on two native tree species, one with a wide distribution in Brazil and another endemic to the Amazon. Two experiments were conducted, the first simulating glyphosate drift on the *Sapindus saponaria* species, with sub-doses of 0, 24, 48, 96, and 192 g a.i. ha⁻¹, and the second using the *Caryocar villosum* species, with treatments of 0, 48, 96, 144, and 288 g a.i. ha⁻¹. The species responded differently to glyphosate exposure. *S. saponaria* showed higher sensitivity, exhibiting visual and anatomical damage, starch and phenolic compound accumulation, as well as physiological alterations in gas exchange parameters and photochemical steps as the sub-doses increased. On the other hand, *C. villosum* demonstrated tolerance characteristics to the tested sub-doses, as no significant changes were observed in morphology, anatomy, pigment content, and chlorophyll a fluorescence. However, there were changes in chlorophyll autofluorescence parameters, photosynthetic rate (*A*), and transpiration rate (*E*). These differences can be attributed to the presence of leaf barriers, such as trichomes, which possibly reduced herbicide absorption. These results highlight the importance of considering the differential responses of native species to glyphosate. While some species may be more sensitive and suffer significant damage, others may exhibit tolerance characteristics that protect them from the toxic effects of the herbicide. Understanding these responses is essential for the development of more efficient and sustainable management strategies in native vegetation areas, aiming to minimize the negative impacts of glyphosate on biodiversity.

INTRODUÇÃO GERAL

O agronegócio brasileiro é um setor que desempenha importante papel na economia do país, além disso, o Brasil tem ganhado destaque no mercado internacional como produtor e exportador de grãos (Batista; Lopes; Costa, 2022). Somente a safra 2021/22 somou 270,9 milhões de toneladas de produtos agrícolas e a estimativa para 2022/23 é de 309,9 milhões de toneladas, superando os números obtidos na safra anterior (Conab, 2023).

Entretanto, juntamente com o avanço da produção agrícola também tem aumentado o consumo de pesticidas (Carvalho et al., 2017). Sendo o Brasil um dos líderes mundiais na utilização dessas substâncias, no ano de 2017 foram comercializados em seu território o equivalente a 377.196 mil toneladas de ingredientes ativos, no ano seguinte esse número foi superado e foram 549.280,44 toneladas (Souza e Veloso, 2022). Dados disponibilizados pelo IBAMA (2022) indicam que compostos estão sendo intensamente comercializados e que os anos 2020 e 2021 somam uma venda total de 686,35 e 720,87 mil toneladas desses ingredientes ativos, sendo os mais comercializados: Glifosato e seus sais, 2,4-D, Mancozebe, Acefato, Malationa, Cletodim, Enxofre e S-metolacoloro.

Desde 2008, o Brasil lidera o ranking mundial de consumo de agrotóxicos (Carneiro et al., 2020). Com destaque para herbicidas, como a classe de agrotóxico mais utilizada (Costa et al., 2017). Nota-se que tem aumentado o registro e consumo de agrotóxicos no Brasil (Vipievski Junior; Vargas; Bet, 2022). O registro de novos produtos teve aumento significativo a partir do ano de 2016 (Hess e Nodari, 2022). Por meio de dados disponibilizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, observou-se que entre os anos 2000 a 2015 a quantidade de registro de agrotóxicos foi menor que 200, exceto o ano de 2007, que teve um número total de 202. A partir do ano de 2016, esse número aumentou para 277, saltando no ano posterior, 2017 para 404, os anos seguintes também registram aumentos na liberação de novos produtos, sendo 2019, com 475, em 2020, 493, no ano de 2021, 562, em 2022 esse recorde de novos

produtos aprovados foi novamente quebrado, onde no ano em questão o número chegou a 652. Ou seja, até o ano de 2022 foram liberadas 2.182 novas substâncias.

Vale ressaltar que cerca de 80% desses produtos autorizados no Brasil são proibidos em pelo menos três países da OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico). Entre esses países, a Austrália que possui 40% de seu território em condições climáticas semelhantes ao território brasileiro, não são encontrados 114 ingredientes ativos permitidos aqui. Na Índia, país que também possui condições de solo e clima semelhantes ao Brasil, mais de 50% desses produtos registrados com uso autorizado no Brasil são proibidos naquele país (Friedrich et al., 2021). Como exemplo dos ingredientes ativos autorizados para uso no Brasil, estão: Atrazina, acefato, bifentrina, clorotalonil, fomesafem, hexazinona e imazetapir, os quais estão liberados também nos Estados Unidos da América do Norte, mas proibidos em outros países, como: União Europeia, Canadá, Argentina, Austrália e Índia (Menezes et al., 2021).

Os agrotóxicos também chamados de defensivos agrícolas, pesticidas, praguicidas, biocidas ou agroquímicos, entre as funções exercidas está o combate de organismos indesejados, sejam eles insetos, larvas, fungos e carrapatos, bem como o controle de crescimentos de plantas (Inca, 2021). Entretanto, o termo legalmente utilizado no Brasil é pesticida (Vasconcelos, 2018). São classificados de várias maneiras: sendo por sua origem, estrutura química e organismo alvo. Quanto a sua origem, são designados em sintéticos, ou seja, produzidos sinteticamente e os biológicos, oriundos de fontes naturais. Os sintéticos também possuem uma subclassificação, denominados: organoclorado, organofosforado, carbamato, piretróide sintético, ciclodieno, nicotinoide e triazo. No que se refere a sua natureza química, são categorizados em inorgânicos e orgânicos. De acordo com o alvo a que se destinam como: herbicidas (controlam plantas invasoras), inseticidas (insetos), fungicidas (fungos), bactericidas (bactérias), acaricidas (ácaros), nematicidas (nematóides) e raticidas (ratos), (Narendran, Meyyanathan e Babu, 2020).

Os herbicidas são substâncias químicas ou agentes biológicos que têm a capacidade de eliminar ou reduzir o crescimento de certas espécies de plantas (Roman et al., 2005). Dentre os herbicidas disponíveis, aqueles à base de glifosato (HBGs) são os mais amplamente utilizados, tanto no Brasil, quanto no mundo (Benbrook, 2016). O glifosato é um herbicida não seletivo de ação sistêmica, eficaz no controle de plantas daninhas de folhas largas e estreitas (Batista; Pereira; Salomão, 2020). Ele é absorvido pelas folhas e translocado para outras partes da planta através do floema (Singh et al., 2020).

O glifosato atua inibindo a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), interferindo na síntese de aminoácidos aromáticos essenciais para o desenvolvimento e defesa da planta (Zulet González et al., 2020). Embora seja considerado de baixa toxicidade, estudos têm demonstrado efeitos adversos em algumas espécies de plantas após o uso prolongado (Santos et al., 2020). O uso intensivo e descontrolado do glifosato tem levado à contaminação de diversos ecossistemas, causando impactos negativos em animais, plantas e microrganismos (Singh et al., 2020).

Herbicidas não seletivos, como o glifosato, podem apresentar riscos ambientais devido ao processo de deriva, que ocorre quando as gotículas pulverizadas são arrastadas para além da área-alvo, principalmente devido ao vento (Carvalho, 2013). Nas áreas próximas aos campos de cultivo, os depósitos de gotículas por deriva podem variar de 1% a 25% do volume recomendado no campo, dependendo de fatores como equipamentos de aplicação, condições climáticas, distância da borda e vegetação presente (Agostini et al., 2020). Os organismos não-alvo, incluindo água, plantas e animais, podem ser afetados por essa deriva, resultando em riscos adversos (Felsot et al., 2011). O glifosato é particularmente preocupante devido à sua não seletividade e atividade mesmo em baixas doses. Além disso, sua aplicação é realizada várias vezes ao longo do ano durante os processos de cultivo, utilizando equipamentos aéreos e terrestres (Reddy et al., 2010). A extensão dos danos causados pela deriva do glifosato depende da concentração e quantidade do herbicida que atinge as plantas não-alvo (Costa et al., 2009).

Devido ao impacto iminente desses produtos químicos na vegetação, o uso de espécies vegetais bioindicadoras tem se mostrado uma alternativa importante para avaliar os possíveis efeitos na biota e realizar o biomonitoramento (Araujo e Silva, 2021). As plantas apresentam plasticidade fenotípica e respondem de forma flexível às mudanças no metabolismo celular induzidas por condições ambientais variáveis (Fränzle, 2003). Por essa razão, elas são frequentemente utilizadas como bioindicadores da presença de contaminantes no ambiente, fornecendo informações valiosas sobre o impacto desses produtos nos organismos (Andréa, 2008).

Para serem consideradas indicadoras biológicas, diferentes biomarcadores foliares podem ser utilizados, como sintomas visíveis (morfológicos), respostas bioquímicas, fisiológicas, anatômicas e histológicas (Lima et al., 2017). Portanto, a seleção de espécies capazes de indicar os efeitos dos herbicidas nesses organismos é crucial para estabelecer estratégias eficazes de monitoramento do impacto na vegetação nativa. O estudo das espécies *S. saponaria* e *C. villosum* contribuirá para o conhecimento sobre essas árvores diante do

estresse abiótico causado pelos herbicidas, uma vez que são espécies nativas de fácil identificação e amplamente distribuídas no Brasil.

REFERÊNCIAS

- ANDRÉA, M.M. De Bioindicadores ecotoxicológicos de agrotóxicos. 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/Bioindicadores/index.htm>. Acesso em: 1 Jul. 2022.
- Agostini, L.P., Dettogni, R.S., dos Reis, R.S., Stur, E., dos Santos, E.V., Ventorim, D.P., Garcia, F. M., Cardoso, R. C., Graceli, J. B.; Louro, I. D., 2020. Efeitos da exposição ao glifosato na saúde humana: Insights de estudos epidemiológicos e in vitro. *Cienc. Ambiente Total*. 705, 135808. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135808>.
- Araujo, E. P., Silva, K. L. F., 2022. Respostas morfoanatômicas de *Bowdichia virgilioides* (Fabaceae) à deriva de glifosato em agroecossistema do cerrado brasileiro. *Ver. Iberoam. Cienc. Ambient.* 12, 112-124.
- Batista, A., Carlos Vaz Lopes, A., Reinaldo Maracaipe Costa, J., 2022. Gestão de custos na produção agrícola: um estudo na cultura da soja. *Anais do Congresso Brasileiro de Custos - ABC, [S. l.]*. Disponível em: <https://anaiscbc.emnuvens.com.br/anais/article/view/4960>. Acesso em: 20 mar. 2023.
- Batista, C.M., Pereira, P.V., Salomão, P.E.A., 2020. O estudo do consumo do glifosato no município de Teófilo Otoni no período de 2017 e 2018. *Res. Soc. Dev.* 9, 1-16. <https://orcid.org/0000-0002-5351-2427>.
- Benbrook, C.M., 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ. Sci. Eur.* 28, 3. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>.
- Carneiro, F.F., Rigotto, R.M., da Silva Augusto L.G., Friedrich, K., Burigo, A.C., 2020. Um grito contra o silêncio: o Dossiê ABRASCO na luta contra os agrotóxicos, pela Ecologia de Saberes e Agroecologia. *Cadernos Agroecológicos*, 15, 1.
- Carvalho, L. B. *Herbicidas*. Lages: Edição do Autor, 2013. 62 p.

- Carvalho, M.M.X., Nodari, E.S., Nodari, R.O., 2017. “Defensives” or “pesticides”? A history of the use and perception of pesticides in the state of Santa Catarina, Brazil, 1950-2002. *Hist. Ciênc. Saúde - Manguinhos*, 24, 75-91. <https://doi.org/10.1590/S0104-59702017000100002>.
- Conab. Campanha Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira – grãos: sexto levantamento, março 2023 – safra 2022/2023. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. [file:///C:/Users/vicen/Downloads/site_Boletim_de_Safras6levantamento_r2%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/vicen/Downloads/site_Boletim_de_Safras6levantamento_r2%20(1).pdf). (Acesso em 20 de março de 2023).
- Costa, N.V., 2009. Efeito da deriva simulada de glyphosate no crescimento inicial de plantas de pinhão-manso. *Planta Daninha*, 27, 1105-1110, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582009000500024>.
- Costa, V.I.B., Mello, M.S.C., Friedrich, K., 2017. Exposição ambiental e ocupacional a agrotóxicos e o linfoma não Hodgkin. *Saúde debate*, v. 41, 49-62. <https://doi.org/10.1590/0103-1104201711205>.
- Da Gama, A. L., Veloso, L.H.M., 2022. O GLOBAL E O LOCAL: riscos e desafios das megafusões no setor agroalimentar para a segurança alimentar no Brasil. *Rev. Esc. Sup. Guerra*. 37, 176-188.
- Felsot, A.S., Unsworth, J.B., Linders, J.B.H.J., Roberts, G., Rautman, D., Harris, C., Carazo, E., 2011. Agrochemical spray drift; assessment and mitigation-a review. *J. Environ. Sci. Health B Pestic. Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 46, 1–23. <https://doi.org/10.1080/03601234.2010.515161>.
- Fränzle, O., 2003. Chapter 2 Bioindicators and environmental stress assessment. Elsevier Sci. Ltd. 6, 41–84. [https://doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80132-7](https://doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80132-7).
- Friedrich K., Silveira, G.R., Amazonas, J.C., Gurgel, A.M., Almeida, V.E.S., Sarpa, M., 2021. Situação regulatória internacional de agrotóxicos com uso autorizado no Brasil: potencial de danos sobre a saúde e impactos ambientais. *Cad. Saúde Pública*. 37. [10.1590/0102-311x00061820](https://doi.org/10.1590/0102-311x00061820)
- Ibama. Instituto Brasileiro Do Meio Ambiente e Dos Recursos Naturais Renováveis. Relatórios de comercialização de agrotóxicos. 2022. <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. (Acesso em 20 de março de 2023).
- Inca. Instituto Nacional De Câncer José Alencar Gomes da Silva. Ambiente, trabalho e câncer: aspectos epidemiológicos, toxicológicos e regulatórios. Rio de Janeiro: INCA, 293 p. 2021. https://ninho.inca.gov.br/jspui/bitstream/123456789/4836/1/ambiente_trabalho_e_cancer_-_aspectos_epidemiologicos_toxicologicos_e_regulatorios%20%281%29.pdf. (Acesso em 22

de março de 2023).

- Hess, S.C., Nodari, R.O., 2022. Agrotóxicos no Brasil: Panorama dos produtos aprovados entre 2019 e 2022. *Ambientes Movimento*. 2, 39-52.
- Lima, D.A., Müller, C., Costa, A.C., Batista, P.F., Dalvi, V.C., Domingos, M., 2017. Morphoanatomical and physiological changes in *Bauhinia variegata* L. as indicators of herbicide diuron action. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 141, 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.038>.
- Mapa. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Informações Técnicas. Brasília, 2023. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>. (Acessado em 28 março de 2023).
- Narenderan, S.T., Meyyanathan, S.N., Babu, B., 2020. Review of pesticide residue analysis in fruits and vegetables. Pre-treatment, extraction and detection techniques. *Food Res. Int.* 133, 109141. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109141>.
- Menezes, J.F.F, dos Santos, J.V.P., Dutra, J.A. S. S., Tavares, G.T., Guimarães, H.A., 2021. Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos: análise dos impactos causados na saúde humana e ambiental. *Perspect. Online: Biol. Saúde*. 11, 19-35. 10.25242/8868113720212259.
- Vipievski, J.J.M., Bet, V.T., Vargas, L.P., 2022. Flexibilização dos agrotóxicos no Brasil: a expansão dos registros e do consumo. *Rev. Iniciação Científica (Cesumar)*. 24, 1-22. 10.17765/2176-9192.2022v24n1e10671.
- Reddy, K.N., Ding, W., Zablotowicz, R.M., Thomson, S.J., Huang, Y., Krutz, L.J., 2010. Biological responses to glyphosate drift from aerial application in Non- Glyphosateresistant orn. *Pest. Manag. Sci.* 66, 1148–1154. <https://doi.org/10.1002/ps.1996>.
- Roman, E.S, Vargas, L., Rizzardi, M.A., Hall, L., Beckie, H., Wolf, T.M. 2005. *COMO FUNCIONAM OS HERBICIDAS: da biologia à aplicação*. Passo Fundo, RS: Gráfica Editora Berthier.
- Santos, V.R.S., Crispim Filho, A.J., Santana, M.M., Costa, A.A., Silva, K.L.F., 2020. Análises fisiológicas e morfoanatômicas de *Cenostigma macrophyllum* tul. (fabaceae) submetida a diferentes concentrações de glifosato. *Iberoam. Cienc. Ambient.* 11, 159–173. 10.6008/CBPC2179-6858.2020.005.0017.
- Santos, J.S., Pontes, M.D.S., Grillo, R., Fiorucci, A. R., Arruda, G.J., Santiago, E.F., 2020. Physiological mechanisms and phytoremediation potential of the macrophyte *Salvinia biloba* towards a commercial formulation and an analytical standard of glyphosate. *Chemosphere*. 259, 127417. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127417>.
- Singh, S., Kumar, V., Datta, S., Wani, A. B., Dhanjal, D. S., Romero, R., Singh, J., 2020.

Glyphosate uptake, translocation, resistance emergence in crops, analytical monitoring, toxicity and degradation: a review. *Environ. Chem. Lett.* 18, 663-702. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-00969-z>.

Tiburcio, R.A.S., Ferreira, F.A., Paes, F. A.S.V., Melo, C. A. D., Medeiros, W.N., 2012. Crescimento de mudas de clones de eucalipto submetidos à deriva simulada de diferentes herbicidas. *Rev. Arvore.* 36, 65–73. <https://doi.org/10.1590/S010067622012000100008>.

Vasconcelos, Y. 2018. Agrotóxicos na berlinda. *Pesquisa FAPESP*, São Paulo, ano, 19.

Zulet-González A., Barco-Antoñanzas, M., Gil-Monreal, M., Royuela, M., Zabalza, A., 2020. Increased glyphosate-induced gene expression in the shikimate pathway is abolished in the presence of aromatic amino acids and mimicked by shikimate. *Front. Plant Sci.* 11, 459. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00459>.

OBJETIVO GERAL

O objetivo neste estudo foi investigar o efeito da aplicação da deriva simulada do herbicida glifosato, nas espécies nativas *Sapindus saponaria* e *Caryocar villosum*, por meio de variáveis visuais, morfoanatômicas e fisiológicas.

Capítulo 1: RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DE *Sapindus saponaria* L. SOB DERIVA SIMULADA DO HERBICIDA GLIFOSATO.

(Normas de acordo com a revista: Ecological Indicators)

Resumo

O herbicida glifosato é amplamente utilizado nas culturas agrícolas, o que pode ter um impacto negativo em áreas não cultivadas, resultando em danos ao ambiente, como toxicidade às plantas não-alvo, por meio do processo de deriva, em que parte do agrotóxico se perde no ambiente. As plantas são consideradas bioindicadoras e têm sido utilizadas para delimitar e prever efeitos de substâncias tóxicas no meio ambiente. Neste trabalho o objetivo foi avaliar a intoxicação, variáveis fisiológicas e anatômicas de plantas de saboneteira (*Sapindus saponaria* L.) submetidas à deriva simulada de glifosato. O experimento foi implantado em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, cada repetição composta por 1 planta. Os tratamentos foram 0, 24, 48, 96, e 192 g i.a. ha⁻¹ de glifosato, aplicado 60 dias após o transplântio. Foram avaliados sintomas morfológicos e anatômicos, trocas gasosas e na fluorescência da clorofila *a*. De forma geral, o glifosato promoveu alterações visuais, anatômicas e fisiológicas em *S. saponaria*. Quanto aos danos morfológicos, os principais sintomas observados foram: Clorose, necrose e enrolamento de folhas do ápice, as quais refletiram nas características anatômicas, ocorreram alterações desde a primeira subdose, com danos progressivos de acordo o aumento, sendo mais acentuadas nas duas maiores. Além de alterações nos parâmetros de *A* e *Ci/Ca*, bem como *Fv/Fm*, ETR e *Y_{II}*. A partir dos resultados obtidos com *S. saponaria* é possível que esta planta desempenha papel importante como bioindicadora do herbicida glifosato em organismos não alvo, fornecendo informações sobre sua exposição e impactos ambientais.

Palavras-chaves: plantas não-alvos, herbicida, fitointoxicação, anatomia foliar.

Abstract

The herbicide glyphosate is widely used in agricultural crops, which can have a negative impact on non-cultivated areas, resulting in environmental damage, such as toxicity to non-target plants, through the process of drift, in which part of the agrochemical is lost in the environment. Plants are considered bioindicators and have been used to delimit and predict the effects of toxic substances in the environment. The objective of this study was to evaluate the intoxication, physiological, and anatomical variables of soapberry plants (*Sapindus saponaria* L.) subjected to simulated glyphosate drift. The experiment was implemented in a completely randomized design, with five replicates, each consisting of 1 plant. The treatments were 0, 24, 48, 96, and 192 g a.i. ha⁻¹ of glyphosate, applied 60 days after transplantation. Morphological and anatomical symptoms, gas exchange, and chlorophyll a fluorescence were evaluated. Overall, glyphosate induced visual, anatomical, and physiological alterations in *S. saponaria*. Regarding morphological damages, the main symptoms observed were chlorosis, necrosis, and leaf rolling at the apex, which reflected in anatomical characteristics. Changes occurred from the first subdose, with progressive damages as the dosage increased, being more pronounced in the two highest doses. In addition to alterations in *A* and *Ci/Ca* parameters, as well as *Fv/Fm*, ETR, and *Y_{II}*. Based on the results obtained with *S. saponaria*, it is possible that this plant plays an important role as a bioindicator of the glyphosate herbicide in non-target organisms, providing information about its exposure and environmental impacts.

Key-Words: Non-target plants, herbicide, phytotoxicity, leaf anatomy.

1. Introdução

Os herbicidas desempenham papel fundamental na agricultura brasileira, sendo amplamente empregados no controle de plantas daninhas (Jugulam e Shyam, 2019). O glifosato (N-fosfometil glicina) é o herbicida líder no mercado global de herbicidas, sendo amplamente utilizado no Brasil, devido ao seu amplo espectro de ação e à sua falta de seletividade em relação à cultura da soja (Santos et al., 2020). Esse herbicida é responsável por aproximadamente 60% do mercado global de herbicidas não seletivos (Mercado e Caleño, 2020).

O glifosato exerce sua ação por meio da inibição da atividade da enzima 5-enol-piruvilshiquimato-3-fosfato (EPSP) sintase, responsável pela sexta etapa da via do chiquimato. Essa via metabólica é responsável pela produção dos aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano,

que são essenciais na síntese de compostos aromáticos (Duke, 2018).

Apesar de ser amplamente considerado como de baixa toxicidade, o glifosato apresenta evidências de efeitos negativos no meio ambiente. O uso prolongado do herbicida tem levado ao desenvolvimento de resistência em algumas espécies de ervas daninhas. No contexto agrícola, o glifosato é comumente aplicado por meio de pulverização, sendo absorvido pelas folhas e partes jovens das plantas. No entanto, essa pulverização pode resultar na deriva do herbicida, atingindo plantas não alvo (Santos et al., 2020).

O uso do biomonitoramento é uma estratégia empregada para avaliar os impactos dos herbicidas no meio ambiente (Santos et al., 2020). O biomonitoramento é um método científico utilizado para avaliar o ambiente, incluindo a exposição humana a compostos químicos de origem natural ou sintética. Essa abordagem envolve a coleta e análise de tecidos e fluidos de um organismo individual, com o objetivo de obter informações sobre a qualidade ambiental (Rucandio et al., 2010). A análise da anatomia e fisiologia de plantas expostas a poluentes tem fornecido dados relevantes sobre a condição ambiental em que se encontram (Santos et al., 2020).

A sensibilidade de grande parte das plantas nativas em áreas próximas a atividades agrícolas tem sido pouco explorada e ainda há lacunas no entendimento da relevância ecotoxicológica do glifosato nos ecossistemas, especialmente para plantas não-alvo. Portanto, é de suma importância monitorar os efeitos desse herbicida na vegetação nativa a fim de obter maiores esclarecimentos (Freitas-Silva et al., 2020).

A espécie *S. saponaria*, pertence a família Sapindaceae Juss. Trata-se de uma árvore de médio porte que pode atingir até 6 metros de altura, é conhecida popularmente como saboneteira, sabonete-de-macaco, sabonete-de-soldado, assobio-de-macaco, sabão-de-mico e saboeiro, possui ampla distribuição no Brasil, com registros em quase todo território (Frazão e Somner, 2016). Bastante utilizada por possuir propriedades medicinais em suas raízes e cascas, as quais apresentam propriedades calmantes, adstringentes, antiespasmódicas e antitussígenos, frutos ricos em saponina, um surfactante natural, que pode ser utilizado como sabão, além disso é comumente utilizada na recuperação de áreas degradadas e marginais (Neves et al., 2018). *Allophylus edulis* e *Dodonaea viscosa*, espécies pertencentes a esta família, tem sido identificadas como agentes de biorremediação e fitorremediação para solos contaminados (Nogueira et al., 2011; Castañeda-Espinoza et al., 2023).

Além disso, no estudo conduzido por Rodrigues et al. (2018), a *S. saponaria* foi caracterizada como bioindicadora promissora e altamente eficiente na detecção de ambientes contaminados por Fluoreto de Potássio (KF). Porém, ainda não foram realizados experimentos

com o glifosato. Considerando as propriedades medicinais, de recuperação ambiental e a capacidade da saboneteira como bioindicador de ambientes contaminados, o objetivo neste estudo foi investigar o efeito de subdoses de glifosato, via deriva simulada, por meio de respostas morfoanatômicas e fisiológicas nas folhas de *S. saponaria*.

2. Material e Métodos

2.1 Material Vegetal, condições de cultivo e tratamentos

O presente estudo foi conduzido em casa de vegetação climatizada, do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, Goiás, Brasil (latitude 17° 48' 16'' S, longitude 50° 54' 19'' W e altitude de 753 m). Sementes da espécie *S. saponaria* foram obtidas a partir de 10 plantas adultas em plena produção, localizadas no município de Rio Verde, Goiás, Brasil (latitude 17° 46' 30'' S – longitude 50° 57' 59'' W, e altitude de 784 m) em ambiente urbano. Inicialmente as sementes foram submetidas a uma quebra de dormência de acordo com Cabral et al. (2019), no qual foram imersas em ácido sulfúrico concentrado por 90 minutos e tratadas com fungicida Vitavax®-Thiram (30%), posteriormente foram semeadas em canteiros de areia lavada como substrato.

Aproximadamente 40 dias após a emergência, as plântulas foram transplantadas individualmente para vasos de plástico com capacidade de 5 litros, contendo solo de área não cultivada, na proporção (3:1). De acordo com a análise química e física do solo utilizado possui as seguintes características: pH em CaCl₂ de 5,21; 0,9 mg dm⁻³ de P; 185 mg dm⁻³ de K; 2,81 cmol_c dm⁻³ de Ca; 0,77 cmol_c dm⁻³ de Mg; 4,8 cmol_c dm⁻³ de H+Al; 27,4 g dm⁻³ de matéria orgânica e 46% de saturação por bases. Para adubação foi utilizado 100 mg de N, 300 mg de P, 100 mg de K, 200 mg de Ca, 60 mg de Mg, 40 mg de S, 0,5 mg de B, 1,5 mg de Cu, 0,5 mg de Zn. Foram utilizados como fontes os seguintes sais p.a: NH₄ NO₃, H₃ PO₄, KH₂ PO₄, MgSO₄, CaSO₄ .2H₂ O, Na₂ SO₄, CuSO₄.5H₂O, H₃ BO₃, ZnCl₂. A irrigação foi calculada visando suprir as necessidades da planta, sendo mantida por volta de 60% da capacidade de campo.

Após 60 dias de aclimação, as plantas foram pulverizadas com glifosato nas subdoses de 24, 48, 96 e 192 g i.a. ha⁻¹ correspondendo a 2,5, 5, 10 e 20 % da dose recomendada do produto em espécies de folhas largas, além de um grupo adicional de plantas mantidas como controle. O experimento foi disposto em blocos ao acaso, a unidade experimental foi de um vaso contendo uma planta de *S. saponaria*, com quatro repetições.

O herbicida foi aplicado no início da manhã, utilizando um pulverizador costal com pressão constante mantida por CO₂ comprimido, com barra contendo quatro pontas de pulverização e bico da série (XRTeejet® - tipo leque modelo XR11002-VP). A pressão utilizada foi de 3 kgf cm⁻² e volume de calda de 220 L ha⁻¹. Durante a aplicação a temperatura era de 24,8°C, vento de 1.1 m s⁻¹ e umidade relativa de 80,4%. As plantas foram transferidas para a casa de vegetação após a aplicação dos tratamentos.

2.2 Análise de sintomas morfológicos

Os sintomas morfológicos foram caracterizados a partir de fotografias de toda a superfície das plantas e folhas completamente expandidas de *S. saponaria*, obtidas com câmara digital Canon Rebel t7, monitoradas ao longo do experimento e fotografadas no intervalo de 15 e 30 dias após aplicação (DAA). Para a elaboração da prancha de imagens foram utilizados as plantas e folhas que melhor representassem os efeitos do glifosato no tratamento.

2.3 Avaliação da caracterização morfoanatômica foliar e histoquímica

Os estudos anatômicos foram realizados no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Brasil. Para a caracterização estrutural e histoquímica 30 DAA, amostras foliares de 3 cm² da região central das folhas totalmente expandidas utilizadas nas análises fisiológicas de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* de todas as repetições (n=5) de cada tratamento (n=5) das plantas de *S. saponaria*. As amostras para a microscopia de luz foram fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) 70% (Johansen, 1940), utilizado para a preservação das estruturas celulares.

Para a caracterização de danos estruturais, as amostras armazenadas em FAA 70% foram desidratadas em série etílica crescente (80, 90 e duas vezes a 100%, por 10 minutos cada), pré-infiltrado e incluídas em resina histológica conforme recomendação do fabricante (Historesin, Leica, Heidelberg, Alemanha). As amostras foram seccionadas transversalmente (6 µm de espessura), utilizando um micrótomo rotativo (Modelo 1508R, Logen Scientific, China) e os cortes corados com azul de toluidina 0,05 % em tampão fosfato (0,1 M, pH 6,8) (O'Brien et al., 1964), trata-se de um corante metacromático que permite observar as estruturas das folhas, o qual reage com paredes lignificadas corando-as de azul-esverdeado e com paredes celulósicas corando-as em roxo. Posteriormente, as lâminas foram preparadas em bálsamo do

Canadá.

As imagens foram obtidas utilizando o mesmo microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) acoplado com câmera DP-72 utilizando a opção de campo claro. Em seguida, foram realizadas observações morfoanatômicas da epiderme nas faces adaxial e abaxial, parênquima paliçádico, esponjoso e mesófilo. As medidas micromorfométricas foram obtidas a partir das imagens anteriores com o auxílio do software ImageJ (Processamento e Análise de Imagem em Java, v. 1.47, EUA), um software utilizado para processamento e análise de imagens, que permitiu a medição das diferentes características anatômicas.

Para a caracterização histoquímica, cortes seriados de amostras foram previamente fixadas em FAA70% e incluídas em historesina. Os tratamentos foram submetidos à reação de compostos fenólicos gerais, com o uso de Dicromato de Potássio (Gabe, 1968) e Lugol para amido (Johansen, 1940). O controle foi feito para todos os testes histoquímicos realizados.

Para os estudos de microscopia de fluorescência, os cortes foram obtidos com um micrótomo de mesa modelo LPC e imediatamente fotografadas para evitar a degradação da clorofila, foram obtidas imagens com o microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) acoplado com câmera DP-72, através da excitação UV 330-385, U-MWU2.

2.4. Trocas gasosas

As trocas gasosas das plantas de *S. saponaria* foram mensuradas em folhas completamente expandidas do terceiro nó, após 1, 2 e 15 DAA. Sendo A a taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) através da utilização de um analisador de gases ao infravermelho (IRGA, modelo LI-6400xtr, LI-COR, Lincoln, Nebraska, Estados Unidos). As medições foram realizadas entre 9 h e 11 h da manhã utilizando radiação fotossinteticamente ativa (PAR) constante ($1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), e concentração atmosférica de CO_2 (C_a) ($\sim 415 \mu\text{mol mol}^{-1}$), temperatura ($\sim 24 \text{ }^\circ\text{C}$) e umidade relativa ($\sim 74 \%$) ambiente.

2.5 C\u00e1lculo da concentra\u00e7\u00e3o inibit\u00f3ria m\u00ednima IC_{50}

A concentra\u00e7\u00e3o dos tratamentos que inibe em 50% a taxa fotossint\u00e9tica (IC_{50}) foi obtida

a partir de uma curva dose-resposta, em função da regressão linear, onde o eixo X foi constituído pelas concentrações das subdoses % e o eixo Y os valores das taxas fotossintéticas. Essa variável foi realizada a partir dos dados obtidos após 48 h de aplicação do herbicida (2 DAA), momento em que foram observados os maiores impactos sobre a taxa fotossintética. Para a confecção da curva foi utilizado o programa GraphPad Prisma 7 (GraphPad Software, La Jolla California USA).

2.6 Fluorescência da Clorofila *a*

Foram realizadas aos 15 e 30 DAA, com o auxílio do fluorômetro modulado o Imaging-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany). Os sinais de fluorescência em todos os pontos da área foliar foram capturados através de uma câmera CCD (*Charge Coupled Device*) acoplada ao responsável por fornecer as imagens para o computador. Inicialmente as folhas foram adaptadas ao escuro, com cerca de 30 minutos a esta condição. Foram obtidas: fluorescência inicial (F_0) e fluorescência máxima (F_m) e calculado o rendimento quântico potencial do fotossistema II (FSII), $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (Genty; Briantais; Baker, 1989). Em seguida, as folhas expostas à iluminação actínica, acrescido juntamente com o pulso de luz actínica saturante, sendo possível obter as variáveis da fase lenta de indução da fluorescência como o rendimento quântico efetivo de conversão fotoquímica de energia no FSII (Y_{II}), o coeficiente de extinção não fotoquímica a (Y_{NPQ}) e o rendimento quântico de energia dissipada não regulada no FSII (Y_{NO}). Além disso, o Y_{II} foi utilizado, ainda, para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons, $ETR = Y_{II} \cdot PAR \cdot Abs_{leaf} \cdot 0,5$ (Bilger; Schreiber; Bock, 1995), sendo PAR o fluxo de fótons ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) incidente sobre a folha; Abs_{leaf} o valor correspondente à fração de luz incidente que é absorvida pelas folhas; e 0,5 o valor correspondente à fração de energia de excitação distribuída para o FSII (Laisk e Loreto, 1996).

2.7 Análise estatística

Os dados quantitativos obtidos foram submetidos as análises prévias de normalidade de erros (Teste Shapiro-Wilk). Com a normalidade dos dados confirmada, foi realizada a análise de variância (ANOVA) e ajustados aos modelos de regressão, seguida do teste de Tukey a 5% de probabilidade para determinar diferenças entre os tratamentos e o controle. Quando não

confirmada a normalidade, os dados foram avaliados pelo teste de Kruskal Wallis. As análises estatísticas foram realizadas através do software Assistat versão 7.7 beta (Silva; Azevedo, 2016) e os gráficos pelo excel.

3. Resultados

3.1 Efeito do glifosato sobre a morfologia foliar

As plantas de *S. saponaria* submetidas ao glifosato apresentaram danos visuais a partir de 48 g i.a. ha⁻¹ que variou em função das doses (Fig. 1), a qual retrata os representantes de cada tratamento de forma geral e seu aumento para detalhar a região do ápice das plantas, local com maior incidência de danos visíveis (A e F- 0 controle, B e G- 24, C e H- 48, D e I- 96 e E e J- 192 g i.a. ha⁻¹). Os primeiros sintomas foram observados nas folhas aos 5 dias após a aplicação (DAA), com o surgimento inicial de despigmentação (clorose) leve, principalmente na região marginal e no ápice foliar das plantas tratadas com concentrações superiores a 48 g i.a. ha⁻¹. Posteriormente, observou-se o aparecimento de pontos necróticos, que se propagaram da margem em direção à lâmina foliar. O herbicida afetou principalmente a região jovem da planta, onde foi possível observar clorose leve e distorção dos folíolos jovens. Esses efeitos foram mais acentuados nas concentrações subsequentes de 96 e 192 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 1 D-I e E-J). Além disso, na concentração mais alta testada (192 g i.a. ha⁻¹), ocorreu a abscisão do meristema apical em algumas plantas.

Na Figura 2 observam-se os principais sintomas nas folhas completamente expandidas de *S. saponaria*, com início de pontos com necrose especialmente na região marginal do ápice da folha em 96 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 2 D), já na maior subdose testada 192 g i.a. ha⁻¹, foi possível observar uma intensificação nos sintomas desencadeados pelo herbicida, como cloroses e necroses mais acentuadas, inicialmente nas bordas e ápice e posteriormente meio da lamina foliar (Fig. 2E).

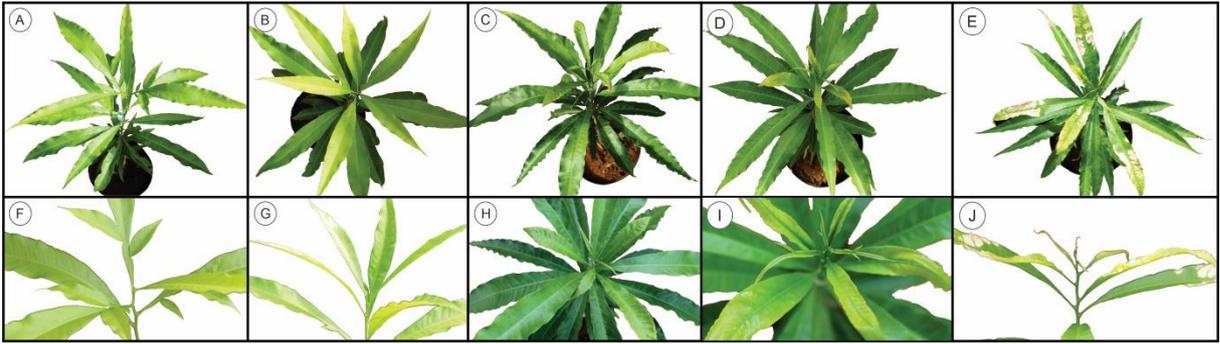


Fig. 1. Sintomas visuais em plantas de *S. saponaria*, após 15 dias de exposição a subdoses crescentes de glifosato: (A e F) Controle, (B e G) 24 (C e H) 48, (D e I) 96, e (E e J) 192 g i.a. ha⁻¹.



Fig. 2. Sintomas visuais em folhas de *S. saponaria*, necroses destacadas por setas vermelhas, após 30 dias de exposição a subdoses crescentes de glifosato: (A) Controle, (B) 24 (C) 48, (D) 96, e (E) 192 g i.a. ha⁻¹. Barra de escala 4 cm.

3.2 Avaliação das alterações anatômicas

Numa secção transversal da lâmina foliar de *Sapindus saponaria* há epiderme unisseriada, com células isodiamétricas de paredes anticlinais planas ou levemente convexas e

folhas hipoestomáticas. O mesofilo do tipo dorsiventral com duas camadas de células e quatro a cinco camadas de parênquima esponjoso (Fig. 3A). O glifosato ocasionou alterações na estrutura foliar *S. saponaria*, com danos progressivos de acordo com as subdoses aplicadas, sendo mais acentuados nas duas maiores subdoses 96 e 192 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 3).

Desde a primeira subdose aplicada, foram observadas alterações na epiderme da face abaxial, onde as plantas tratadas exibiram regiões com células totalmente plasmolisadas (Fig. 3B-C). Na epiderme da face adaxial da folha, os mesmos padrões de danos foram observados nas células, porém, apenas na concentração mais alta (192 g i.a. ha⁻¹), levando ao comprometimento da atividade do tecido (Fig. 3G-H). Tanto o parênquima paliçádico quanto o esponjoso apresentaram deformações no formato das células em resposta ao glifosato (Fig. 3D-H). Foram observados colapsos nas células do parênquima paliçádico (Fig. 3F), hipertrofia das células do parênquima paliçádico e esponjoso, resultando em um aumento do volume celular e redução visual nos espaços intercelulares (Fig. 3E-G). Em outras áreas, ocorreu colapso celular, formando espaços intercelulares, além de alterações no formato das células dos parênquimas (Fig. 3H). Nas concentrações mais altas do glifosato, os danos foram mais intensos, com a formação de necrose e plasmólise generalizadas nas células do mesofilo. Nessas áreas afetadas, tornou-se impossível distinguir entre os parênquimas paliçádico e esponjoso, uma vez que eles se agruparam como um único conjunto de células necrosadas e compactadas (Fig. 3E).

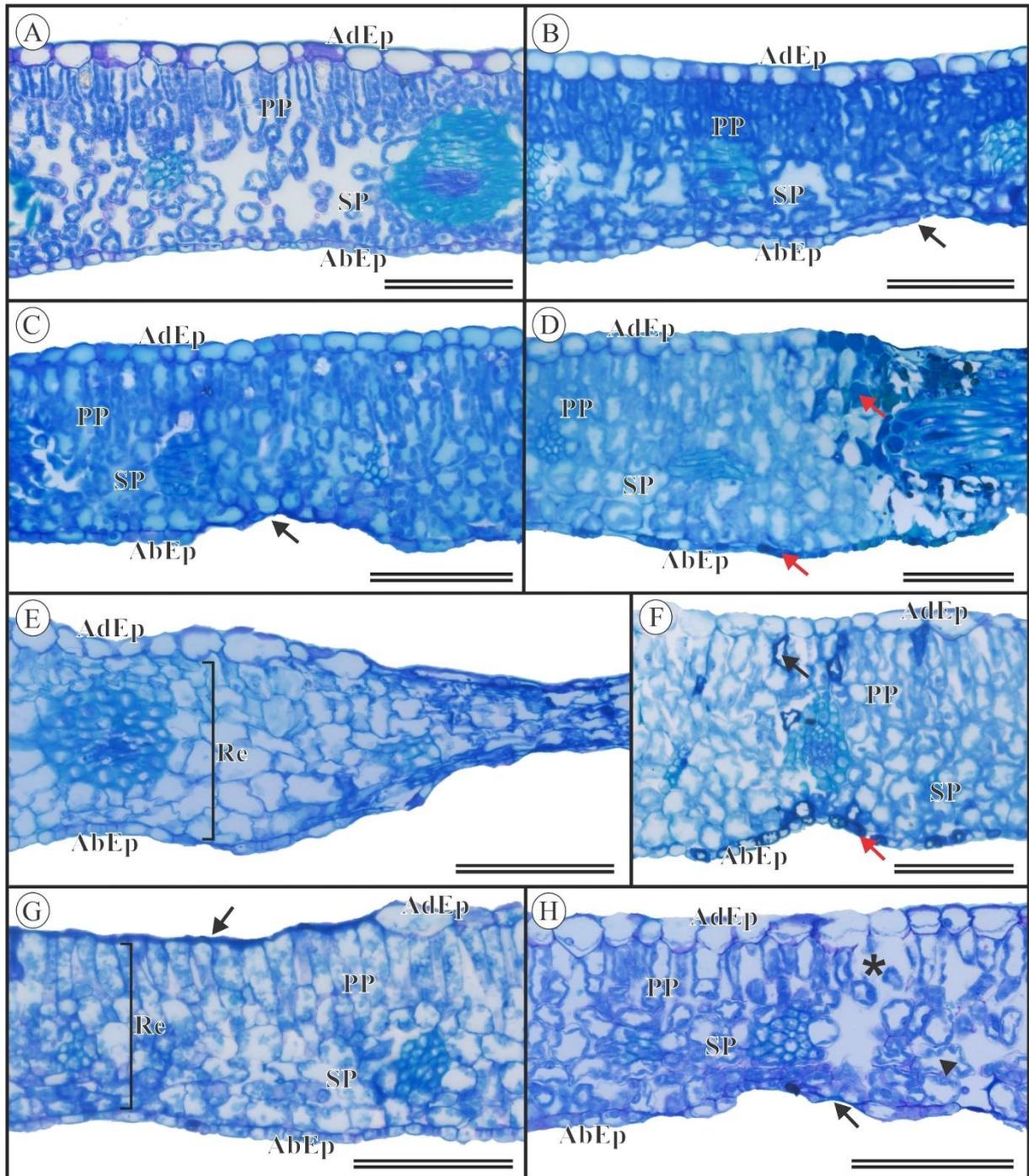


Fig. 3. Alterações anatômicas em folhas de *S. saponaria*, após 30 dias de exposição à deriva simulada de glifosato em diferentes subdoses. (A) Controle, (B) 24, (C) 48, (D) 96, e (E, F, G e H) 192 g i.a. ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. (Re) redução dos espaços intercelulares. Setas pretas indicam colapso celular e pontos de necrose no limbo foliar. Setas na cor vermelha indicam acúmulo de compostos fenólicos. Ponta de seta apontam alterações na morfologia das células. Asterisco representa rompimento de células do parênquima paliçádico. Barra de escala 50 μm.

O glifosato afetou negativamente os tecidos anatômicos de *S. saponaria*, resultando em alterações nos parâmetros quantitativos avaliados (Tabela 1). Em folhas expostas à maior subdose do herbicida (192 g i.a. ha⁻¹), observou-se uma redução na espessura da epiderme adaxial em 65,44% (Fig. 4A). Além disso, a epiderme abaxial apresentou redução nas subdoses de 24, 48, 96 e 192 g i.a. ha⁻¹, com reduções percentuais de 21,60%, 29,35%, 33,93% e 72,66%, respectivamente (Fig. 4B). Os parênquimas paliçádico e esponjoso também mostraram uma redução média em suas espessuras na subdose de 192 g i.a. ha⁻¹, com valores de 54,88% e 38,52%, respectivamente (Fig. 4C-D). Em relação à estrutura mesofílica, houveram diferenças significativas nas subdoses de 48, 96 e 192 g i.a. ha⁻¹, resultando em diminuições de 7,74%, 6,52% e 46,18%, respectivamente, em comparação com o controle (Fig. 4E).

Tabela 1. Efeito do glifosato na espessura dos tecidos foliares de *S. saponaria*, 30 dias após a aplicação de glifosato em diferentes subdoses (0, 24, 48, 96 e 192 g i.a. ha⁻¹).

Subdoses Glifosato	Ep. Adaxial (μm)	Ep. abaxial (μm)	P. paliçádico (μm)	P. esponjoso (μm)	Mesofilo (μm)
0 g i.a. ha ⁻¹	18,92	8,52	70,61	63,64	130,25
24 g i.a. h ⁻¹	16,52	6,68	68,95	64,09	130,60
48 g i.a. ha ⁻¹	14,96	6,02**	65,70	57,97	120,18
96 g i.a. ha ⁻¹	14,12	5,63**	61,86	63,15	121,76
192 g i.a. ha ⁻¹	6,54**	2,33**	31,86*	39,13	70,11*
Tukey	**	**	*	*	*
CV (%)	22,29	20,07	26,22	24,12	24,33

Os asteriscos na mesma coluna indicaram diferenças significativas (* $p \leq 0,05$) e significativas (** $p \leq 0,01$) em relação ao controle de acordo com o teste de tukey.

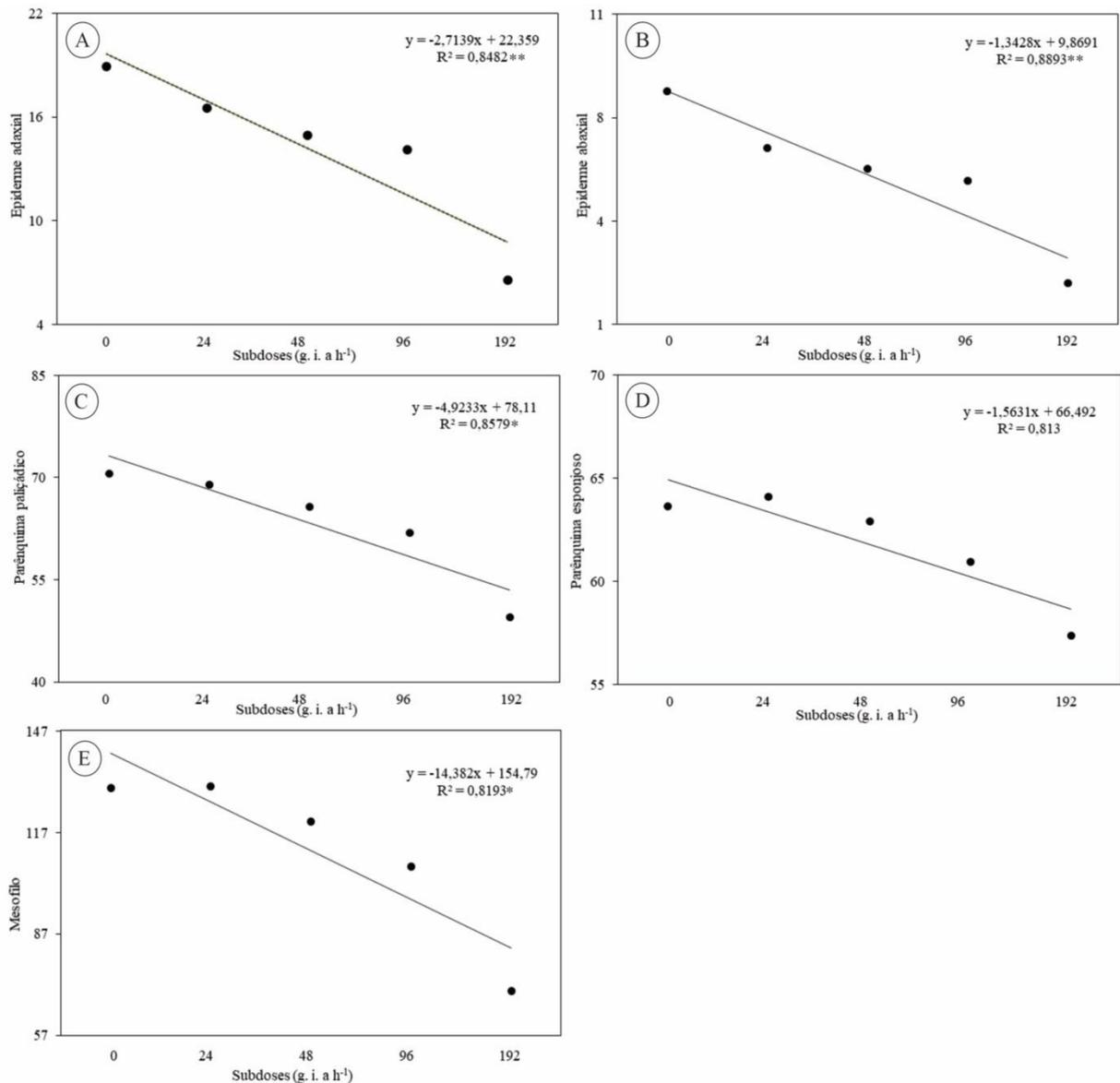


Fig. 4. Micromorfometria dos tecidos foliares referentes à epiderme adaxial (A), abaxial (B), parênquima paliçádico (C), parênquima esponjoso (C) e mesofilo (E) de *Sapindus saponaria* em função de subdoses do glifosato em μm .

Ao reagir com Lugol, foi observada a presença de grãos de amido nas células dos parênquimas das folhas de *S. saponaria*, incluindo o grupo controle (Fig. 5A e D). No entanto, o acúmulo de amido foi menos intenso quando comparado com as plantas tratadas com glifosato (Fig. 5B, C e F).

O teste com cloreto de potássio revelou um acúmulo de compostos fenólicos apenas nas duas maiores subdoses do glifosato. Nas células epidérmicas, esse acúmulo foi observado na subdose de 96 g i.a. ha⁻¹ e nas células parenquimáticas e epidérmicas na subdose de 192 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 5G e I), em comparação com o grupo controle (Fig. 5F e H).

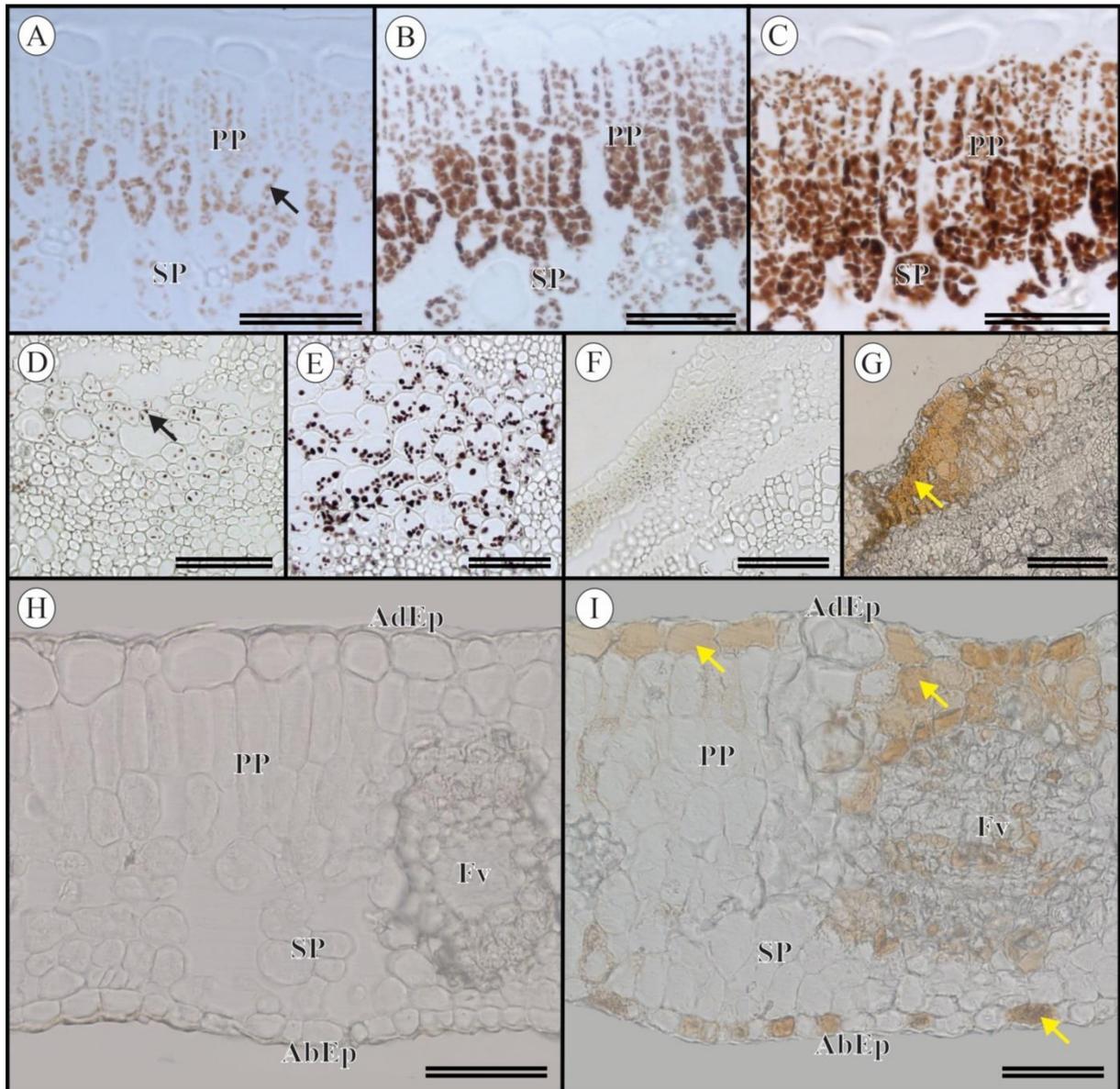


Fig. 5. Localização histoquímica de amido e compostos fenólicos em folhas de *Sapindus saponaria* submetida a subdoses crescentes do herbicida glifosato 30 dias após a aplicação. Teste com Lugol, para a identificação de amido (A-E) (reação positiva em marrom – seta preta). Teste com Dicromato de Potássio, para a identificação de compostos fenólicos (F-I) (reação positiva em castanho avermelhado – seta amarela). (A, D, F e H) Controle, (E) 48, (B) 96, e (C, G e I) 192 g i.a. ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barras de escala: A, B, C, D, E, H e I = 50 μm e F e G = 100 μm.

Com os resultados de fluorescência da clorofila (Fig. 6), foi demonstrado um dano progressivo, com mudança leve da intensidade da fluorescência clorofila *a*, até mesmo em 24 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 6B), sendo os danos intensificados juntamente com o aumento na subdose, como

é possível observar em 48 e 96 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 6C e D), com menor intensidade da fluorescência em 48 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 6C) em relação as anteriores e perda de praticamente toda a fluorescência típica emitida em 96 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 6D) e (Fig. 6F), é possível observar ponto de necrose da região marginal da folha. As Figuras 6E e G, representam a maior subdose 192 g i.a. ha⁻¹ mostrando também regiões de necrose e clorose, onde não é possível visualizar a coloração avermelhada tipicamente emitida pela clorofila sem danos.

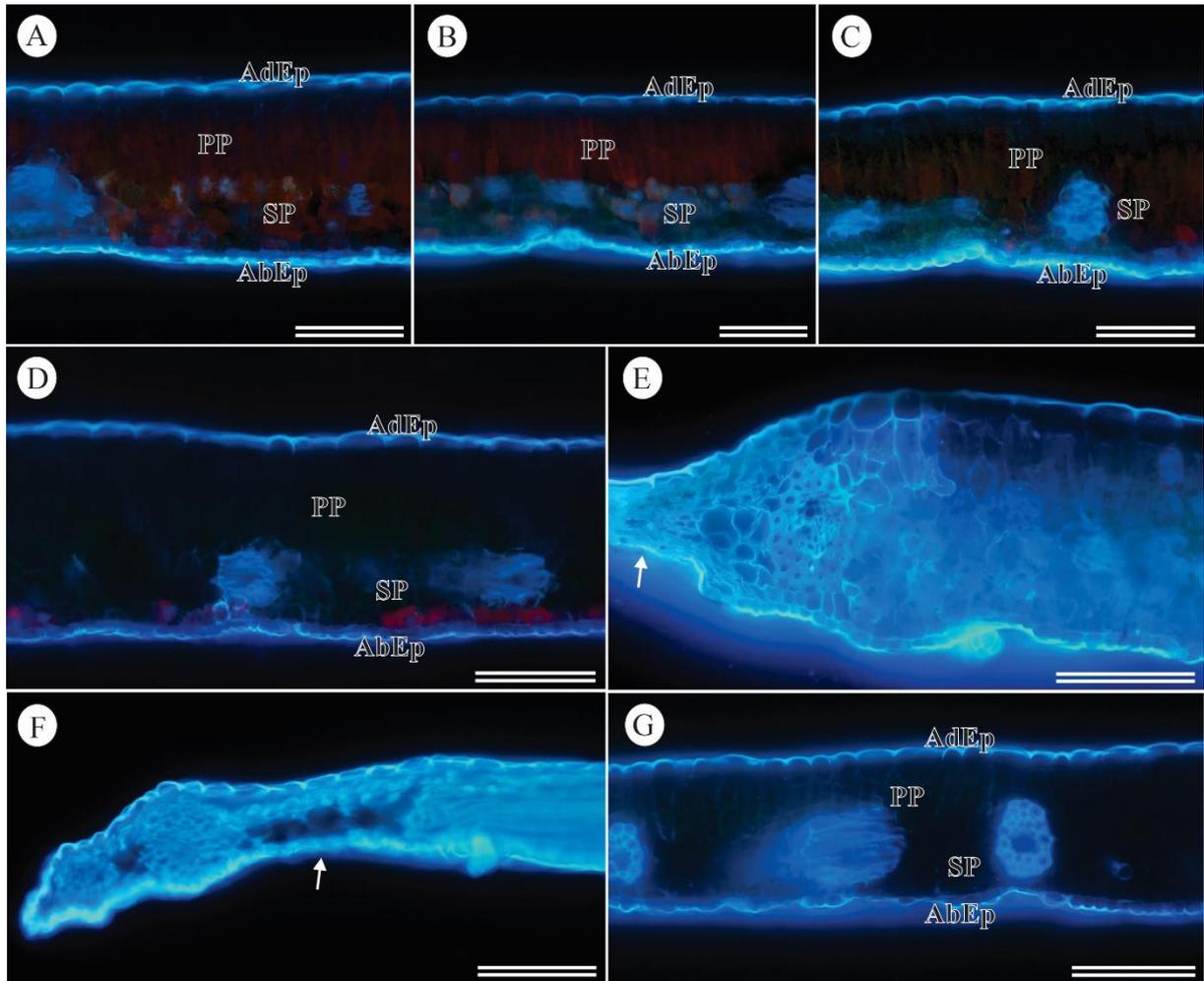


Fig. 6. Autofluorescência da clorofila (450-490nm). Cloroplastos do mesofilo (Parênquima paliçádico e esponjoso) emitem fluorescência vermelha típica. (A) Controle, (B) 24, (C) 48, (D e F) 96, e (E e G) 192 g i.a. ha⁻¹. Áreas sem a cor vermelha típica emitida pelos cloroplastos, representam degradação da clorofila. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barras de escala: 100 μm.

3.3 Trocas gasosas

A través da análise de variância foi possível observar que o glifosato promoveu efeitos significativos nas variáveis A e C_i/C_a em relação as subdoses do herbicida, bem como dias após a aplicação e relação subdose e dias após a aplicação nas plantas de *S. saponaria* (Tabela 1). Para a variável g_s , ocorreu o efeito isolado das subdoses de glifosato, não sendo significativo em relação a interação com o tempo decorrido após a aplicação. Os dados obtidos de E , não apresentaram normalidade, sendo necessário aplicar uma análise não paramétrica, utilizando o teste de Kruskal Wallis, o qual demonstrou diferença significativa entre os tratamentos, quando comparado ao controle, bem como em relação ao tempo das análises, sendo 48h, ou seja, 2 DAA com os menores números observados para essa variável (Fig. 7).

Tabela 2. Taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s) e relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) de plantas de *S. saponaria* sob deriva simulada de glifosato.

Fonte de Variação	A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	g_s ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	C_i/C_a
Subdose	**	**	*
Dias	**	ns	**
Subdose x Dias	**	ns	**
CV(%)	8,90	11,58	4,06

ns = não significativo; (* $p \leq 0,05$) significativo ao nível de 5%, ** ($p \leq 0,01$) significativo ao nível de 1% pelo teste de tukey.

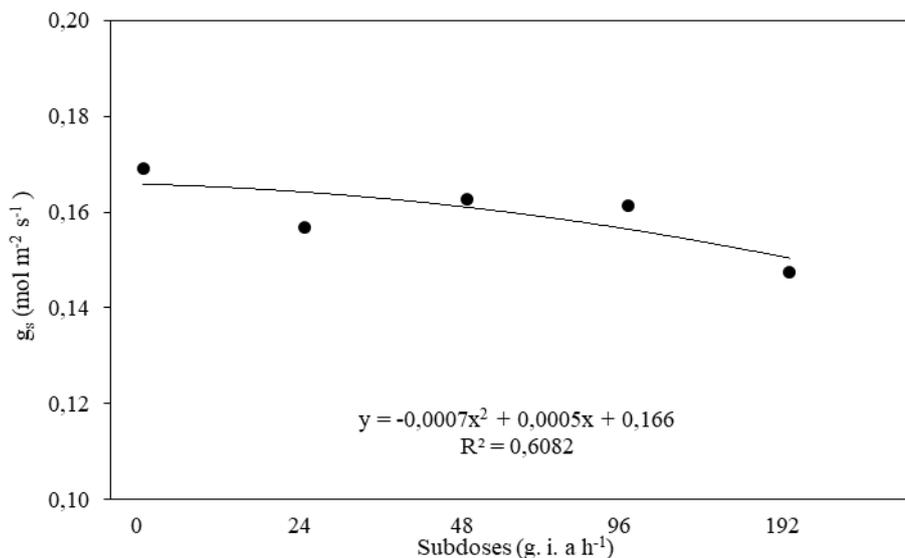


Fig. 7. Condutância estomática (g_s) em folhas de *S. saponaria* após exposição a subdoses do herbicida glifosato. Os dados são médias de $n = 5$. Significância ** $p < 0,01$.

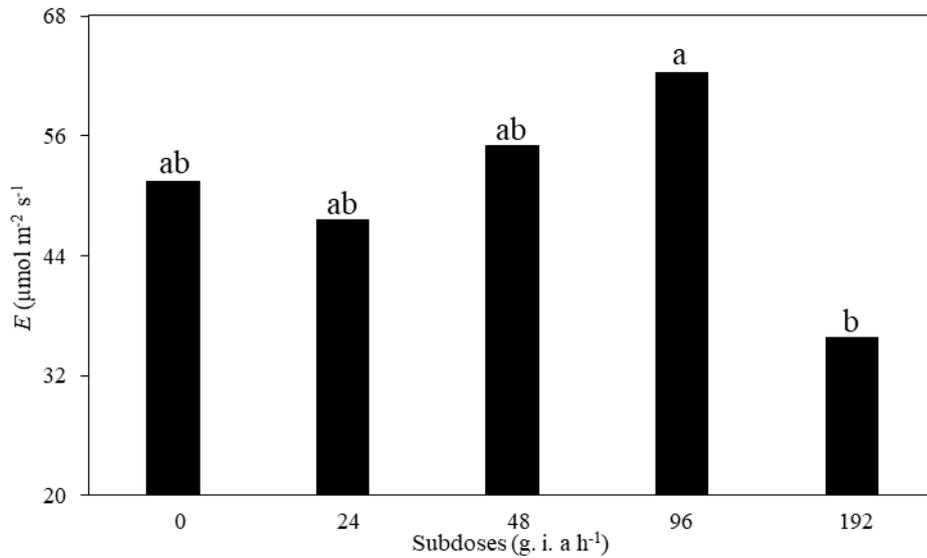


Fig. 8. Taxa transpiratória (E) em folhas de *S. saponaria* após exposição a subdoses crescentes do herbicida glifosato. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal Wallis.

S. saponaria apresentou redução significativa na A quando submetida a diferentes subdoses do herbicida glifosato, efeito esse intensificado com o aumento da subdose em função do tempo (Fig. 8A-C), principalmente no 2DAA (Fig. 8B), entretanto na avaliação de 15 DAA, foi possível observar uma tendência a estabilização, inclusive nas maiores subdoses (Fig. 8C).

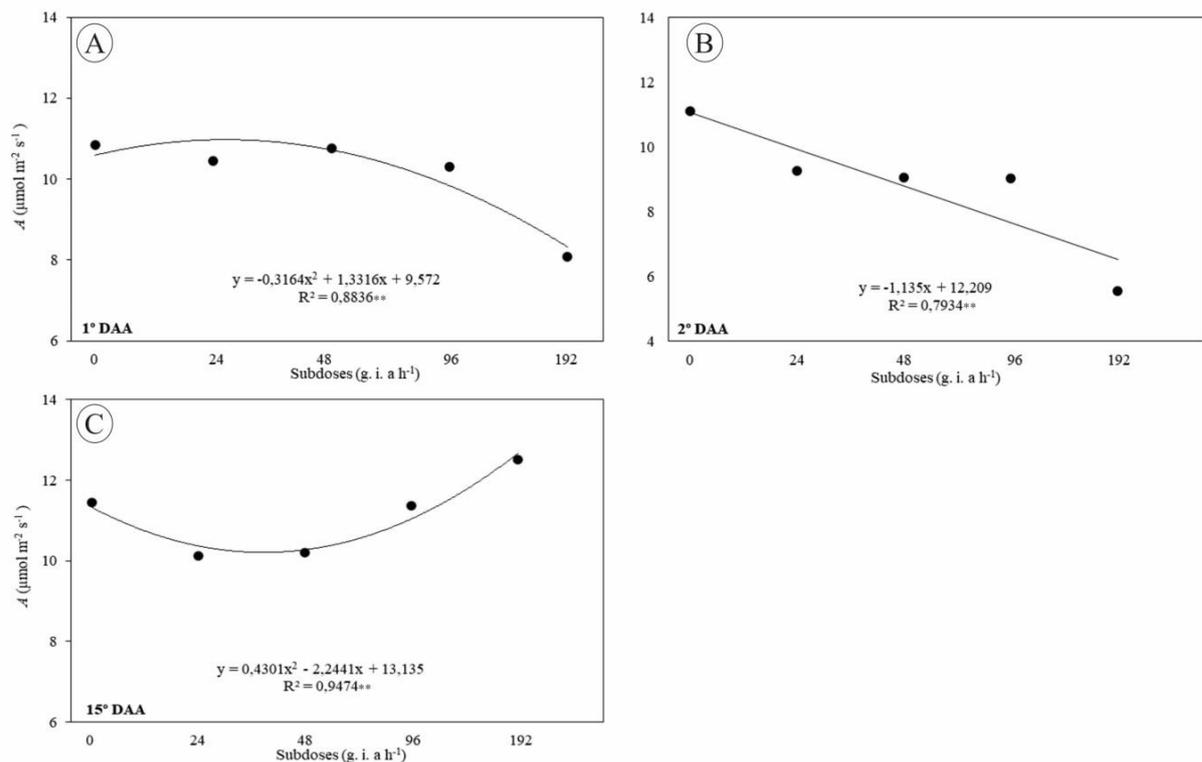


Fig. 9. Taxa fotossintética (A) em folhas de *S. saponaria* em diferentes dias após a aplicação de subdoses do herbicida glifosato. 1DAA (A), 2DAA (B), 15DAA (C). Os dados são médias de $n = 5$. Significância ** $p < 0,01$.

De modo inverso ao observado em A, C_i/C_a aumentou de maneira linear com o aumento das subdoses de glifosato, 2DAA (Fig. 9B) e com o passar dos dias é possível observar uma tendência a estabilizar (Fig. 9C).

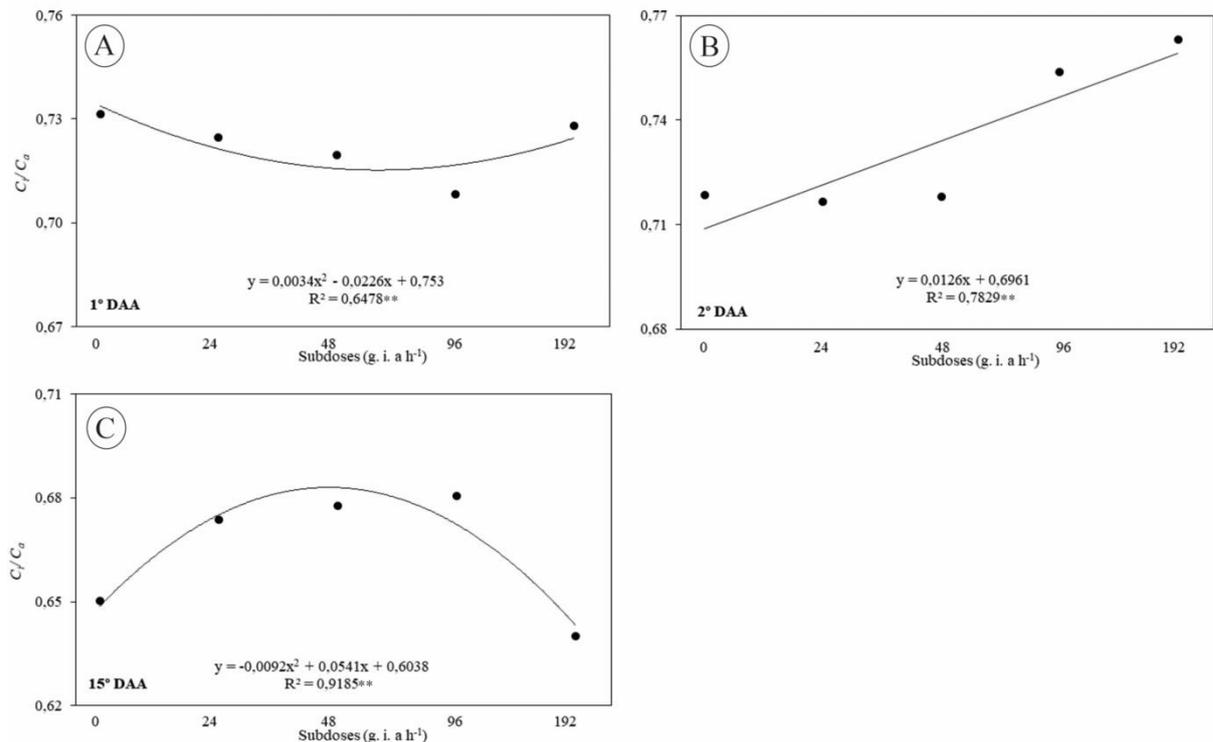


Fig. 10. Relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) em folhas de *S. saponaria* submetidas a subdoses do herbicida glifosato. 1 dia após a aplicação (DAA) (A), 2DAA (B), 15DAA (C). Os dados são médias de $n = 5$. Significância ** $p < 0,01$.

3.4 Determinação da IC_{50} da taxa fotossintética

A toxicidade de glifosato para *S. saponaria* foi expressa no IC_{50} - 48h, calculado com base na assimilação líquida de CO_2 , por representar um processo central no metabolismo vegetal. O IC_{50} foi de 18.15%, ou seja, 174,24 g i.a. ha⁻¹, indicando que nessa dessa subdose ocorreu uma inibição de 50% da taxa fotossintética nas plantas de *S. saponaria* (Fig. 6).

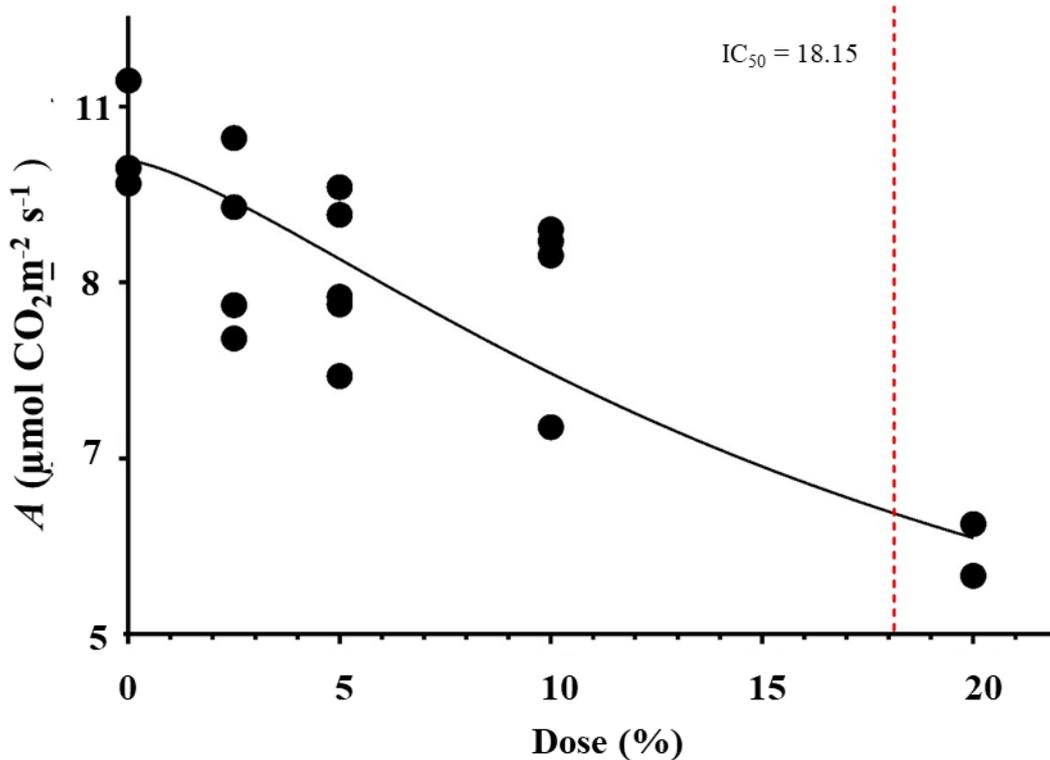


Fig. 11. Taxa fotossintética em *S. saponaria* exposta a subdoses crescentes de glifosato. A linha vertical vermelha representa o valor de IC_{50} (concentração que causa 50% de inibição).

3.5 Efeito do glifosato na fluorescência da clorofila a

A partir da análise de variância, verificou-se que o efeito do herbicida foi significativo para a variável ETR. Já F_v/F_m e Y_{II} , foi observado efeito das subdoses e do tempo em dias após aplicação. O NPQ, variou apenas em função do tempo. Entretanto em relação as subdoses não houve diferença (Tabela 1).

Tabela 3. Análise de variância para determinação do efeito das subdoses de glifosato (Subdose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Subdose x tempo) para o rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y_{II}), taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) e coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) de plantas de *S. saponaria*. Significância da ANOVA * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ns = não significativo

Fonte de Variação	<i>Fv/Fm</i>	Y_{II}	ETR	NPQ
Subdose	**	**	**	ns
Dias	**	**	**	**
Subdose x Dias	ns	ns	*	ns
CV (%)	3,78	6,80	5,44	48,47

O glifosato diminuiu a razão *Fv/Fm* e Y_{II} em função do aumento das subdoses e dias avaliados, sendo mais intenso nas duas maiores subdoses (96 e 192 g i.a. ha⁻¹) (Fig. 5A e B) e (Fig. 5C e D). ETR também reduziu durante os dias e em função das subdoses do herbicida em relação ao controle (Fig. 5E e F).

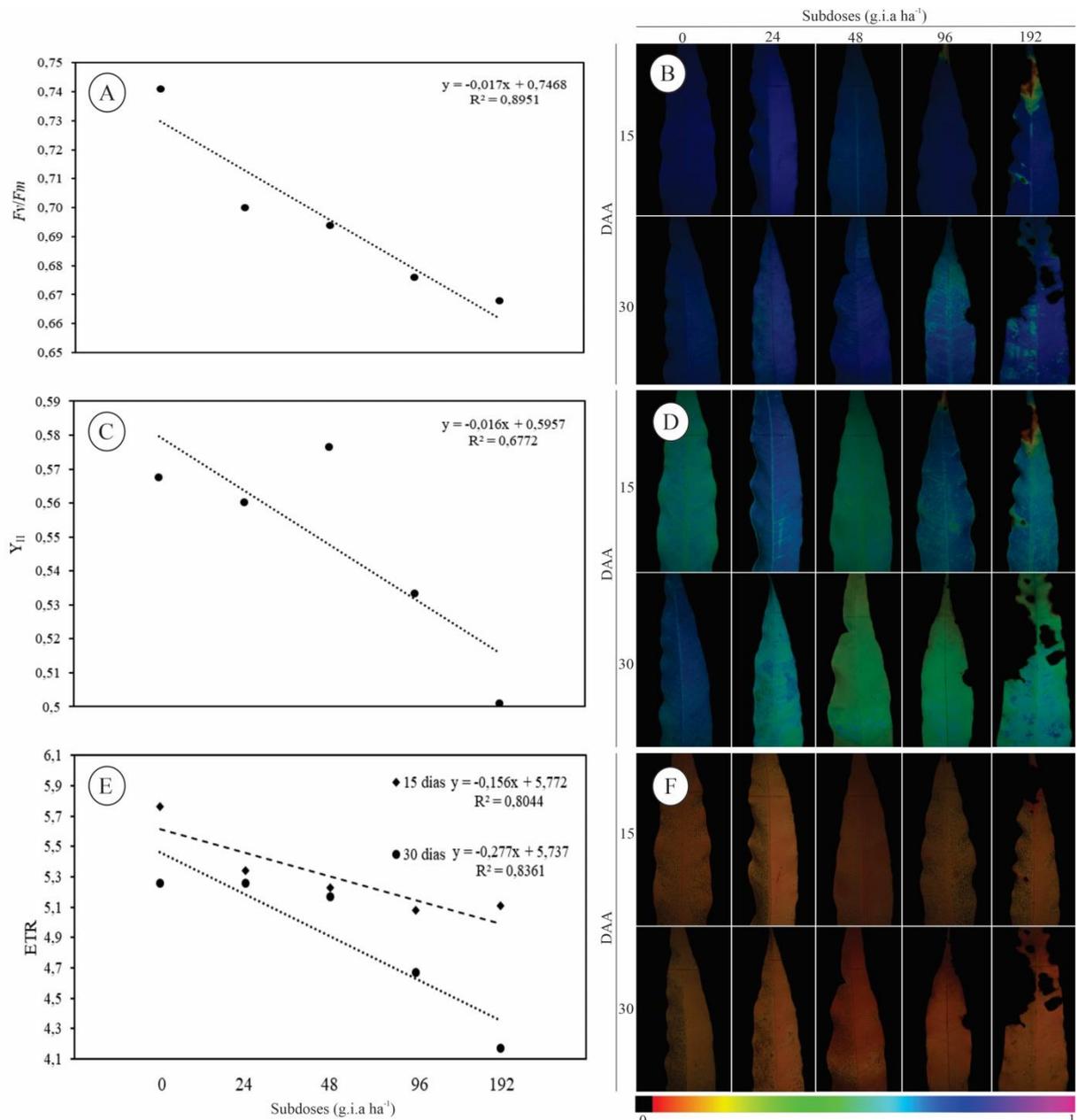


Fig. 12. Rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) (A e B), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y_{II}) (C e D) e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) (E e F) nas plantas de *S. saponaria* em resposta a subdoses crescentes de glifosato e dos dias após aplicação (DAA). Os dados são médias de $n=5$. A escala de cor, corresponde aos valores de 0 (preto) a 1 (rosa).

4. Discussão

Os sintomas observados nas plantas de *S. saponaria* foram clorose e necrose e enrugamento de folhas jovens. Sabe-se que glifosato é absorvido nas folhas e em tecidos verdes. Ou seja, nas regiões clorofiladas das plantas é translocado principalmente pelo floema para os tecidos meristemáticos (Rigoli et al., 2008) e os sintomas morfológicos visuais frequentemente observados após a aplicação do glifosato são cloroses e necroses, além de enrugamento e malformações (Yamada e Castro, 2007). Sintomas semelhantes foram relatados por Machado et al. (2013) em estudo com quatro espécies florestais nativas (*Plathymenia reticulata*, *Bowdichia virgilioides*, *Kielmeyera lathrophyton* e *Solanum lycocarpum*), no trabalho realizado por Silva et al. (2016) com *Caryocar brasiliense* e Cruz et al. (2021) em *Eugenia uniflora*.

O enrugamento e malformação, especialmente em áreas de rebrota, são sintomas frequentemente associados à ação do glifosato e esses sintomas foram observados também no presente estudo com a espécie *S. saponaria*. A absorção do glifosato ocorre gradualmente através do simplasto e sua translocação direciona-se aos fotoassimilados no interior da planta. Por esse motivo, os primeiros sintomas, como clorose, estreitamento foliar e necrose, são observados nas regiões de crescimento e demanda da planta (Reis et al., 2018). A mudança na coloração e o surgimento de necroses observados e descritos nesse estudo podem relacionar-se às alterações na clorofila ou degradação da mesma (Taiz e Zeiger, 2009) ou às modificações nos cloroplastos (Campbell; Evans; Reed, 1976). As injúrias causadas por esse herbicida se desenvolvem lentamente, primeiramente ocorre a clorose nos tecidos meristemáticos e posteriormente surge a necrose (Marchi; Marchi; Guimarães, 2008).

Em estudos realizados também com esse herbicida em outras espécies foi observado o aumento de intoxicações com acréscimo das doses, a exemplo das espécies *Caryocar brasiliense* Camb. (Silva et al., 2016), *Genipa americana* L. (Gusmão; Rondon-Neto; Yamashita, 2011), *Aspidosperma desmanthume* (Rondon-Neto et al., 2011), *Jatropha curcas* (Costa et al., 2009). Em alguns casos, as plantas podem não apresentar sintomas visuais de

intoxicação, mas podem ter o crescimento e desenvolvimento comprometidos (França et al., 2013). Diferentemente de outras plantas que podem apresentar tolerância quando submetidas a diferentes subdoses de glifosato, como foi possível observar no trabalho de Pereira et al. (2015) utilizando diferentes subdoses do herbicida (7,5, 15, 30 e 60 g e.a ha⁻¹) nas espécies *Psidium cattleianum* (araçá-amarelo), *Citharexylum myrianthum* (pau-viola) e *Cedrela odorata* (cedrinho), onde não foram observadas fitointoxicações e sim aumento na altura e diâmetro nas subdoses de 30 e 60 g e.a ha⁻¹, bem como no estudo realizado por Faria et al. (2022), utilizando a espécie *Hymenaea courbaril* L. A diferença na resistência aos herbicidas em dicotiledôneas está relacionada com a capacidade de metabolismo de cada uma delas (Roman et al., 2007).

Foram identificadas modificações nas características anatômicas de *S. saponaria* em resposta ao glifosato, mesmo em subdoses que não apresentavam sintomas visíveis. A análise da anatomia revelou alterações estruturais, ressaltando a importância dessa ferramenta diagnóstica como um meio sensível de detectar e caracterizar danos causados por poluentes sobre as estruturas das plantas. Assim como relatado por Santos et al. (2020) em *Cenostigma macrophyllum* tul. e Cruz et al. (2021) em *Eugenia uniflora*, revelaram alterações nas plantas, mesmo naquelas que não manifestaram sintomas visíveis.

Os herbicidas podem causar danos anatômicos de várias maneiras, incluindo a interação entre a superfície foliar e as gotas do produto, bem como a translocação interna do herbicida dentro da planta após a absorção (Cruz et al., 2021). Neste estudo, foram observados danos nas epidermes adaxial e abaxial, com plasmólise das células epidérmicas. Em estudos anteriores, Lima et al. (2017) destacaram que a face adaxial da folha, devido ao maior contato com o herbicida, tende a apresentar lesões mais severas, como ruptura e perda da continuidade da epiderme. É importante ressaltar que a epiderme é um tecido que atua como interface de contato com o meio externo, desempenhando um papel crucial na proteção contra agentes bióticos e abióticos, além de regular as trocas gasosas, hídricas e nutricionais com o ambiente (Javelle et al., 2010).

Danos na epiderme abaxial foram observados em plantas de *S. saponaria* já nas primeiras subdoses. Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2020) em folhas de *Cenostigma macrophyllum* expostas ao glifosato. Essa espécie também é descrita como hipoestomática e os pesquisadores concluíram que os danos e a redução na espessura observada são atribuídos ao glifosato, indicando um efeito nos estômatos e resultando no fechamento dos mesmos. A permeabilidade dos herbicidas pelos estômatos está relacionada à cutícula que cobre as células-guarda. Essa cutícula é mais fina e possui menor teor de cera epicuticular, o que a torna uma barreira menos resistente a entrada desses produtos (Hess e Falk,

1990).

A translocação do glifosato dentro da planta pode resultar em modificações celulares (Freitas-Silva et al., 2020). A exposição das plantas ao herbicida glifosato tem sido associada a diversas alterações, como mudanças na morfologia das células, colapso celular, hiperplasia, plasmólise e desorganização dos parênquimas paliçádico e esponjoso, conforme observado neste estudo. Esses achados estão em concordância com outros estudos realizados em *Caryocar brasiliense* por Silva et al. (2016), em *Cenostigma macrophyllum* tul. por Santos et al. (2020) e em *Eugenia uniflora* por Cruz et al. (2021), nos quais foram observadas lesões causadas pelo contato com herbicidas.

Foi observada redução na espessura de todos os tecidos anatômicos foliares, o que pode ser atribuído ao impacto do glifosato na biossíntese de aminoácidos aromáticos essenciais das plantas. Esse desequilíbrio pode resultar na perda de carbono, o qual desempenha papel fundamental em processos celulares importantes, incluindo a formação da parede celular (Machado et al., 2013).

O aumento do acúmulo de grãos de amido, evidenciado por meio do teste histoquímico de lugol, pode ser atribuído a barreiras físicas que afetaram a translocação desses carboidratos através do floema, resultando em sua acumulação. Esses achados estão em consonância com as observações feitas por Cruz et al. (2021) em *Eugenia uniflora*.

Por meio da análise de cloreto de potássio também foi confirmada a presença de compostos fenólicos em certas regiões dos tecidos de *S. saponaria* na subdose mais elevada (192 g i.a. ha⁻¹) de glifosato. O acúmulo de fenóis, por sua vez, indica uma resposta ao estresse oxidativo. Durante situações de estresse, as plantas podem gerar espécies reativas de oxigênio (ROS), as quais devem ser eliminadas para evitar danos (Bloem et al., 2020). Os herbicidas à base de glifosato também afetam a síntese de compostos fenólicos (Timms e Wood, 2020). Visto que, esse herbicida atua na rota do ácido chiquímico responsável pela biossíntese de aminoácidos aromáticos, como tirosina, triptofano e fenilalanina (Santos et al., 2020). Essa rota é a principal via de formação dos compostos fenólicos, convertendo os carboidratos em aminoácidos aromáticos, incluindo a fenilalanina. Esse aminoácido desempenha um papel intermediário na biossíntese da maioria dos compostos fenólicos (Bezerra et al., 2020).

Os resultados da análise de autofluorescência da clorofila a foram semelhantes aos observados por Santos et al. (2020), evidenciando modificações na intensidade da emissão da autofluorescência da clorofila, principalmente nas duas maiores subdoses. No mesmo estudo, foram conduzidas análises da autofluorescência da clorofila, permitindo identificar possíveis danos na clorofila *a*.

A fotossíntese não é o principal alvo do glifosato nas plantas (Rezende-Silva et al., 2022). Entretanto, nesse estudo, o glifosato desencadeou efeitos negativos nos parâmetros de trocas gasosas (A e C_i/C_a), onde ocorreu diminuição da taxa fotossintética (A) e aumento da concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) nas duas maiores subdoses. O aumento na proporção C_i/C_a em *S. saponaria* exposta ao glifosato, assim como a queda em A , indica possível redução na assimilação de carbono no ciclo de Calvin, talvez devido ao comprometimento das enzimas que fazem parte desse processo.

No estudo realizado por Santos et al. (2020) sobre as reações de *Cenostigma macrophyllum* ao glifosato, foi observado aumento na proporção C_i/C_a , indicando a possível inativação da enzima Rubisco, que consequentemente resultou na acumulação de CO_2 no mesofilo foliar, afetando as células guarda e levando ao fechamento dos estômatos, impactando diretamente a fotossíntese da planta em questão. Também já foi apontado que o glifosato pode diminuir o conteúdo de rubisco celular, principalmente por induzir decréscimos na expressão da subunidade maior dessa enzima (Ahsan et al., 2008).

O maior impacto nessas variáveis foram registrados 2 dias após a aplicação do herbicida (2DAA), com valores mais baixos para a taxa fotossintética (A), representados pelo IC_{50} , que indica a concentração na qual a fotossíntese é reduzida em 50% (Vieira et al., 2021). Essa redução na taxa fotossintética pode resultar em danos às plantas, considerando o papel fundamental da fotossíntese no metabolismo vegetal. Embora a curva de IC_{50} não exibiu o formato sigmoidal característico (Gadagkar e Call et al., 2014), possivelmente como resultado do forte impacto do glifosato sobre o processo fotossintético nas plantas de saboneteira.

As medidas de fluorescência da clorofila a realizadas indicam que o glifosato pode ter causado danos na etapa fotoquímica, visto foi observado alterações significativas, principalmente nas duas maiores subdoses, indicando que ocorreu fotoinibição nessa espécie. Na fotoinibição, a capacidade fotossintética é reduzida devido à exposição excessiva de energia luminosa além da capacidade de dissipação fotoquímica (Mateos-Naranjo, 2013). A queda na taxa de assimilação de CO_2 (A) em *S. saponaria* pode estar associada ao impacto negativo desse herbicida sobre o aparato fotoquímico, visto que o glifosato pode promover danos funcionais e estruturais no aparato fotoquímico das plantas (Santos et al., 2020), como observado por Rezende-Silva et al. (2022), em duas espécies do Cerrado, sendo que *Pouteria torta* demonstrou redução no rendimento quântico potencial do PSII (F_v/F_m).

A relação F_v/F_m trata-se do “quenching” fotoquímico da fotossíntese, a qual refere-se à quantidade de energia que é interceptada pela folha e utilizada na etapa fotoquímica da fotossíntese e que pode ser destinada a uma correspondente assimilação do CO_2 (Ortíz, 2004).

Muitos autores verificaram danos ocasionados por herbicidas observando diminuição na razão F_v/F_m , Y_{II} e ETR, como Lima et al. (2017) trabalhando com a espécie *Bauhinia variegata* L, e Rezende-Silva et al. (2022), no estudo com duas espécies do Cerrado, *Pouteria torta* e *Alibertia edulis*.

A energia que não é utilizada em processos fotossintéticos pode ser dissipada na forma de calor, processo chamado como dissipação não fotoquímica (NPQ) (Proto, 2012). No presente estudo com *S. saponaria*, mesmo que houve um declínio dos parâmetros de F_v/F_m , Y_{II} e ETR, a dissipação de energia em forma de calor, não foi significativa. Dessa forma, a relação entre os efeitos visuais, anatômicos e fisiológicos sugere que a saboneteira pode ser considerada uma possível bioindicadora do glifosato, mesmo em subdoses, conforme demonstrado neste estudo.

Apesar dos efeitos negativos observados nos parâmetros morfológicos, fisiológicos e anatômicos de *S. saponaria* em resposta à aplicação de glifosato, mesmo em subdoses e na ausência de danos visíveis, foi observada uma tendência de normalização nos parâmetros de trocas gasosas na terceira avaliação, realizada 15 dias após a aplicação. O estágio de desenvolvimento e o tipo de planta podem influenciar a sensibilidade das espécies-alvo e não-alvo aos herbicidas, como mencionado por Ferreira et al. (2023). Visto que foram utilizadas mudas ainda em desenvolvimento, no presente estudo. No entanto, a aplicação repetida desses produtos ao longo do ano em um curto período de tempo pode causar efeitos negativos sobre esses organismos, o que torna necessário realizar experimentos mais longos com aplicações repetidas. Isso permitirá determinar se as plantas são capazes de estabilizar e normalizar os danos ocasionados em seus parâmetros, que podem comprometer sua sobrevivência.

Conclusões

A aplicação de subdoses de glifosato nas plantas de *S. saponaria* desencadeou alterações visuais, anatômicas e fisiológicas. Os resultados obtidos indicam que mesmo em doses menores, o glifosato teve efeitos negativos na viabilidade celular, como evidenciado pelas alterações anatômicas, bem como nos parâmetros de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*. Além disso, a presença de compostos fenólicos e o acúmulo de amido, verificados por meio de testes histoquímicos, sugerem a resposta da planta ao estresse oxidativo causado pelo herbicida.

Os achados neste estudo destacam a planta *S. saponaria* como um potencial bioindicador de glifosato em estudos de monitoramento ambiental. A capacidade da planta em

responder às subdoses de glifosato, demonstrada por meio das alterações observadas, indica sua sensibilidade e habilidade em refletir a presença desse herbicida no ambiente.

Apesar da tendência de estabilização dos parâmetros de trocas gasosas observada 15 dias após a aplicação é necessário realizar pesquisas adicionais com a utilização de aplicações repetidas. Isso permitirá compreender os mecanismos de resposta específicos dessas plantas, uma vez que o glifosato é frequentemente aplicado várias vezes ao ano, em intervalos curtos de tempo. O estudo desses mecanismos é crucial para uma avaliação mais completa dos efeitos do herbicida e para entender se as plantas têm a capacidade de se recuperar completamente dos danos causados, o que tem implicações importantes para sua sobrevivência no ambiente.

Portanto, a pesquisa contínua nessa área é fundamental para fornecer informações adicionais sobre os efeitos do glifosato em plantas e para desenvolver estratégias de manejo mais eficazes e sustentáveis no uso de herbicidas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano (IFGoiano-RV) pelo apoio financeiro e disponibilidade de infraestrutura. TA Vicentini agradece a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pela bolsa de estudo concedida.

Referências

- Andréa, M. M. de Bioindicadores ecotoxicológicos de agrotóxicos. 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/Bioindicadores/index.htm>. Acesso em: 1 Julho 2022.
- Bezerra, J.D.C., França, S.A., Nascimento Júnior, J.R.S., Castro, F.M., Silva, N.V., Barbosa, S.N., 2020. Biossíntese de lignina em plantas submetidas ao déficit hídrico. Pubvet. 14, 132. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n9a653.1-14>.
- 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. Oecol. 102, 425-432. <https://www.jstor.org/stable/4220978>.
- Bloem, E., Gerighausen, H., Chen, X., Schnug, E. 2020. The potential of spectral measurements

- for identifying glyphosate application to agricultural fields. *Agronomy*. 10, 1409. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091409>.
- Cabral, A.L., Sales, J.D.F., Barbosa, K.F., Rodrigues, A.A., Filho, S.C.V., 2019. Dormancy breakage and germination in *Sapindus saponaria* L. seeds as a function of temperature and germination substrate. *Semina: Ciênc. Agrár.* 40, 3345–3358. 10.5433/1679-0359.2019v40n6Supl3p3345.
- Campbell, W.F., Evans, J.O., Reed, S.C., 1976. Effects of glyphosate on chloroplast ultrastructure of quackgrass mesophyll cells. *Weed Sci.* 24, 22-25. 10.1017/S0043174500065346.
- Carlos, L., Venturin, N., Macedo, R.L.G., Higashikawa, E.M., Garcia, M.B., Farias, E.D.S., 2014. Growth and mineral nutrition in seedlings of pequi subjected to nutrient deprivation. *Cienc. Florest.* 24, 13-21. <https://doi.org/10.5902/1980509813318>.
- Costa, N.V., Erasmo, E.A.L., Queiroz, P.A., Dornelas, D.F., Dornelas, B.F., 2009 Efeito da deriva simulada de glyphosate no crescimento inicial de plantas de pinhão-manso. *Planta Daninha*. 27, 1105–1110. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582009000500024>.
- Castañeda-Espinoza, J., Salinas-Sánchez, D.O., Mussali-Galante, P., Castrejón-Godínez, M. L., Rodríguez, A., González-Cortazar, M., Zamilpa-Álvarez, A., Tovar-Sánchez, E. 2023. *Dodonaea viscosa* (Sapindaceae) as a phytoremediator for soils contaminated by heavy metals in abandoned mines. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 30, 2509-2529. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22374-5>.
- Cruz, C.E.S., De Freitas-Silva, L., Ribeiro, C., Da Silva, L.C., 2021. Physiological and morphoanatomical effects of glyphosate in *Eugenia uniflora*, a Brazilian plant species native to the Atlantic Forest biome. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28, 21334-21346. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12003-4>.
- Duke, S.O., 2018. The history and current status of glyphosate. *Pest Manag. Sci.* 74, 1027-1034. 10.1002/ps.4652.
- Faria, G.S., Carlos, L., Jakelaitis, A., Filho, S.C.V., Lourenço, L.L., Costa, A.M., Gonçalves, I.A., 2022. Tolerance of *Hymenaea courbaril* L. to glyphosate. *Ecotoxicol.* 30, 1-10. 10.1007/s10646-021-02499-y.
- Ferreira, M.F., Torres, C., Bracamonte, E., Galetto, L., 2023. Glyphosate affects the susceptibility of non-target native plant species according to their stage of development and degree of exposure in the landscape. *Sci. Total Environ.* 865, 161091. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161091>.
- França, A.C., Carvalho, F.P., Fialho, C.M.T., D'Antonino, L., Silva, A.A., Santos, J.B., Ferreira,

- L.R., 2013. Deriva simulada do glyphosate em cultivares de café Acaia e Catucaí. *Planta daninha*. 31, 443-451. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582013000200023>.
- Frazão, A., Somner, G.V., 2016. Sapindaceae em um remanescente de Floresta Estacional Semidecidual no município de Engenheiro Paulo de Frontin, RJ, Brasil. *Hoehnea*. 43, 437-459. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-11/2016>.
- Freitas-Silva, L., Araújo, T.O., Nunes-Nesi, A., Ribeiro, C., Costa, A.C., Silva, L.C. 2020. Evaluation of morphological and metabolic responses to glyphosate exposure in two neotropical plant species. *Ecol. Indic.* 113, 106246. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106246>.
- Gabe, M., 1968. *Techniques histologiques*. Masson e Cie, Paris, 1113.
- Gadagkar, S. R., e Call, G. B., 2014. Computational tools for fitting the Hill equation to dose–response curves. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 71, 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2014.08.006>
- Genty, B., Briantais, J.M., Baker, N.R., 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. biophys. Acta*. 990, 87-92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9).
- Gusmão, G.A., Rondon Neto, R.M., Yamashita, O.M., 2011. Deriva simulada de glyphosate em plantas jovens de jenipapo (*Genipa americana* L.). *Rev. Bras. Herbic.* 10, 13. <https://doi.org/10.7824/rbh.v10i1.91>.
- Hess, F.D., Falk, R.H., 1990. Herbicide deposition on leaf surfaces. *Weed Sci.* 38, 280- 288.
- Javelle, M, Vernoud, V., Rogowsky, P.M., 2010. Epidermis: the formation and functions of a fundamental plant tissue. *New Phytol.* 189, 17–39. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03514.x>.
- Johansen, D.A., 1940. *Plant microtechnique*, Editorial McGraw Hill, London, UK, 523.
- Jugulam, M., e Shyam, C., 2019. Non-target-site resistance to herbicides: Recent developments. *Plants*. 8, 417. <https://doi.org/10.3390/plants8100417>.
- Laisk, A., Loreto, F., 1996. Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence. *Plant Physiol.* 110, 903-911. [10.1104/pp.110.3.903](https://doi.org/10.1104/pp.110.3.903).
- Lima, D.A., Müller, C., Costa, A.C., Batista, P.F., Dalvi, V.C., Domingos, M., 2017. Morphoanatomical and physiological changes in *Bauhinia variegata* L. as indicators of herbicide diuron action. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* v. 141, 242–250. [10.1016/j.ecoenv.2017.03.038](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.038).
- Machado, V.M., Santos, J.B., Pereira, I.M., Lara, R.O., Cabral, C.M., Amaral, C.S., 2013. Sensibilidade de mudas de espécies florestais nativas ao glyphosate. *Biosci. J.* 29, 1941-1951.

- Marchi, G., Marchi, E.C.S., Guimarães, T.G. Herbicidas: Mecanismos de ação e uso. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 36p. Embrapa Cerrados. Documentos, 227.
- Mateos-Naranjo, E., e Perez-Martin, A., 2013. Effects of sub-lethal glyphosate concentrations on growth and photosynthetic performance of non-target species *Bolboschoenus maritimus*. *Chemosphere*. 93, 2631-2638. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.094>.
- Mercado, S.A.S., e Caleño, J.D.Q., 2020. Cytotoxic evaluation of glyphosate, using *Allium cepa* L. as bioindicato. *Sci. Total Environ.* 700, 134452. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134452>.
- Mukhopadhyay, S., Dutta, R., e Das, P. 2020. A critical review on plant biomonitors for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in air through solvent extraction techniques. *Chemosphere*. 251, 126441. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126441>
- Neves, M.I.R.S., Araújo Neto, J.C.D., Ferreira, V.M., Silva, C.B.D., Melo Júnior, J.L., Melo, L.D., Farias, A.S., Galvão, E.R., Silva, V.S.G., 2018. Morphometric characterization and seed dormancy overcoming of *Sapindus saponaria* L. *J. Agr. Sci.* 10, 329-341. [10.5539/jas.v10n7p329](https://doi.org/10.5539/jas.v10n7p329).
- Nogueira, L., Inckot, R.C., Santos, G.D.O., Souza, L.A.D., Bona, C. 2011. Phytotoxicity of petroleum-contaminated soil and bioremediated soil on *Allophylus edulis*. *Rodriguesia*. 62, 459-466. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201162302>.
- O'Brien, T.P., Feder, N., Mccully, M. E., 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*. 59, 368-373. <https://doi.org/10.1007/BF01248568>.
- Ortíz, C.E.R. Avaliação fisiológica de plantas de urucum (*Bixa orellana* L.). Tese. Universidade Federal de Viçosa.
- Pereira, M. R. R., Souza, G.S.F., Martins, E.D.F.D., 2015. Subdoses de glyphosate no desenvolvimento de espécies arbóreas nativas. *Biosci. J.* 31, 326-332. <https://doi.org/10.14393/bj-v31n2a2015-21924>.
- Proto, K.S.S.S., 2012. Efeitos do glifosato nas características morfofisiológicas de duas espécies nativas do Cerrado. Dissertação. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.
- Reis, L.A.C., Carvalho, F.P., França, A.C., Francino, D.M.T., Pinto, N.A.V.D., Freitas, A.F., 2018. Leaf morphoanatomy and biochemical variation on coffee cultivars under drift simulation of glyphosate. *Planta Daninha*. 36. [10.1590/S0100-83582018360100149](https://doi.org/10.1590/S0100-83582018360100149).
- Rezende-Silva, S. L., Costa, A. C., Nunes Vaz Pedroso, A., Batista, P. F., Crispim-Filho, A.J., Almeida, G. M., Nascimento, K.J.T., Ferreira, L.L., Domingos, M., Silva, A.A. 2022. Morphophysiological indicators of the glyphosate action on Brazilian savanna plants: a

- multivariate analysis. *Acta. Physiol. Plant.* 44, 73. <https://doi.org/10.1007/s11738-022-03409-3>.
- Rigoli, R.P., Fontana, L.C., Figueredo, S.S., Noldin, J.A., 2008. Resposta de plantas de beterraba (*Beta vulgaris*) e de cenoura (*Daucus carota*) à deriva simulada de glyphosate e clomazone. *Planta Daninha.* 26, 451-456. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582008000200022>.
- Rodrigues, A.A., Vasconcelos Filho, S.C., Müller, C., Rodrigues, D.A., Mendes, G.C., Rehn, L.S., Costa, A.C., Vital, R.G., Fátima Sales, J., 2018. *Sapindus saponaria* bioindicator potential concerning potassium fluoride exposure by simulated rainfall: Anatomical and physiological traits. *Ecol. Indic.* 89, 552-558. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.02.043>.
- Roman, E.S., Beckie, H., Vargas, L., Hall, L., Rizzardi, M.A., Wolf, T.M., 2007. Como funcionam os herbicidas– da biologia a aplicação (p 158). Passo Fundo: Berthier.
- Rondon Neto, R.M., 2011. Fitotoxicidade de perobamica (*Aspidosperma desmanthum*) submetidas à deriva de glyphosate. *Rev. Bras. Herbic.* 10, 103-109. <https://doi.org/10.7824/rbh.v10i2.108>.
- Rucandio, M.I., Petit-Domínguez, M.D., Fidalgo-Hijano, C., García-Giménez, R. 2011. Biomonitoring of chemical elements in an urban environment using arboreal and bush plant species. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 18, 51-63. [10.1007/s11356-010-0350-y](https://doi.org/10.1007/s11356-010-0350-y).
- Santos, V.R.S., Crispim Filho, A.J., Santana, M.M., Costa, A.C., Silva, K.L.F., 2020. Análises fisiológicas e morfoanatômicas de *Cenostigma macrophyllum* tul. (fabaceae) submetida a diferentes concentrações de glifosato. *Rev. IberoAm. Cienc. Ambient.* 11, 159–173. [10.6008/CBPC2179-6858.2020.005.0017](https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.005.0017).
- Silva, F.A.S., Azevedo, C.A.V., 2016. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. *Afr. J. Agric. Res.* 11, 3733-3740. [10.5897/AJAR2016.11522](https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11522).
- Silva, L.Q., Araújo, A.C.F., Almeida, G.M., Crispim Filho, A.J., Costa, A.C., Jakelaitis, A., 2016. Modificações fisiológicas em folhas de pequi (*Caryocar brasiliense*) causadas pela aplicação de glyphosate. *Rev. Bras. Herbic.* 15, 165-174. <https://doi.org/10.7824/rbh.v15i2.472>.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2009. *Fisiologia vegetal*. 4. ed. Porto Alegre, Artmed. 819 p.
- Timms, K.P., Wood, L.J., 2020. Sub-lethal glyphosate disrupts photosynthetic efficiency and leaf morphology in fruit-producing plants, red raspberry (*Rubus idaeus*) and highbush cranberry (*Viburnum edule*). *Glob. Ecol. Biogeogr.* 24, e01319. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01319>.
- Vieira, L.A., Alves, R.D., Menezes-Silva, P.E., Mendonça, M.A., Silva, M. L., Silva, M. C., Farnese, F. S., 2021. Water contamination with atrazine: is nitric oxide able to improve *Pistia stratiotes* phytoremediation capacity?. *Environ. Pollut.* 272, 115971.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115971>.

Yamada, T., Castro, P.R.C., 2007. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. IPNI-Informações Agronômicas.119, 1-32.

Capítulo 2: TOLERÂNCIA DE *Caryocar villosum* (Aubl.) Pres. AO GLIFOSATO SOB DERIVA SIMULADA: UMA ABORDAGEM MORFOANATÔMICA E FISIOLÓGICA.

(Normas de acordo com a revista: Ecological Indicators)

Resumo

O glifosato é o herbicida mais amplamente utilizado globalmente, porém sua aplicação indiscriminada e excessiva pode ocasionar sérios danos ambientais, incluindo toxicidade para organismos não-alvo, como plantas, devido à deriva. Neste estudo, investigamos o efeito do glifosato na morfologia, anatomia e fisiologia de plantas de piquiá (*Caryocar villosum*) expostas à deriva simulada do herbicida. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições e subdoses de 0, 48, 96, 144 e 288 g i.a. ha⁻¹, aplicadas 60 dias após o transplântio. Avaliamos sintomas morfológicos, características anatômicas, trocas gasosas, teor de pigmentos e fluorescência da clorofila *a*. Observamos que as características visuais, anatômicas, teor de pigmentos e fluorescência da clorofila *a* não apresentaram alterações significativas, independentemente do tempo e subdose avaliados. No entanto, os parâmetros de autofluorescência da clorofila *a* (*A* e *E*) foram afetados nas plantas expostas a subdoses de glifosato. Apesar das alterações em algumas variáveis, constatamos que *C. villosum* demonstrou tolerância ao glifosato, possivelmente devido à presença de barreiras anatômicas foliares, como tricomas, que podem ter reduzido a absorção do herbicida. Esses resultados contribuem para melhor compreensão dos efeitos do glifosato em plantas não-alvo e destacam a importância das barreiras anatômicas na mitigação dos danos causados por herbicidas.

Palavras-chave: Amazônia, absorção, herbicida, anatomia foliar, barreiras foliares.

Abstract

Glyphosate is the most widely used herbicide globally, but its indiscriminate and excessive application can lead to serious environmental damages, including toxicity to non-target organisms such as plants, due to drift. In this study, we investigated the effect of glyphosate on the morphology, anatomy, and physiology of *Caryocar villosum* plants exposed to simulated herbicide drift. The experiment was conducted in a completely randomized design with five replicates and sub-doses of 0, 48, 96, 144, and 288 g a.i. ha⁻¹, applied 60 days after transplantation. We evaluated morphological symptoms, anatomical characteristics, gas exchange, pigment content, and chlorophyll *a* fluorescence. We observed that visual characteristics, anatomical features, pigment content, and chlorophyll *a* fluorescence did not show significant changes, regardless of the evaluated time and sub-dose. However, the parameters of chlorophyll *a* autofluorescence (*A* and *E*) were affected in plants exposed to glyphosate sub-doses. Despite the alterations in some variables, we found that *C. villosum* demonstrated tolerance to glyphosate, possibly due to the presence of leaf anatomical barriers, such as trichomes, which may have reduced herbicide absorption. These results contribute to a better understanding of glyphosate effects on non-target plants and highlight the importance of anatomical barriers in mitigating herbicide damage.

Key-Words: Amazon, absorption, herbicide, leaf anatomy, leaf barriers.

1. Introdução

A Amazônia, com sua vasta extensão de aproximadamente 5 milhões de km², é considerada a maior floresta tropical do planeta, ocupando cerca de 49,3% do território brasileiro nas regiões Norte e Centro-Oeste (Da Silva et. al., 2019). Desempenha um papel fundamental na regulação do clima, pois sua vegetação realiza a evapotranspiração e atua como um importante sequestrador de carbono (Domingues e Bermann, 2012). Adicionalmente, a Amazônia desempenha papel crucial na preservação da biodiversidade global, sendo considerada uma área de grande importância ecológica. No entanto, enfrenta constantes ameaças decorrentes da conversão de terras e das mudanças climáticas (Albert et al., 2023)

Dentre os representantes amazônicos, está o *Caryocar villosum* (Aubl.) Pres. uma espécie abundante na região central da Amazônia, sendo popularmente conhecido como piquiá

(Martins e Gribel, 2007). Trata-se de uma planta de porte arbóreo que pode atingir até 50 metros de altura e 2,5 metros de diâmetro (Shanley e Medina, 2005). Essa espécie botânica pertencente à família Caryocaraceae apresenta inflorescências de cor amarela, pedúnculo longo e pouco flexível, com flores acima da folhagem (Martins e Gribel, 2007). Suas folhas são trifoliadas, folíolos elípticos, ápice acuminado e a folha central é mais longa do que as laterais (Clay et al., 2000). Entre os seus principais usos estão o madeireiro e o consumo do fruto, além da utilização aplicada à medicina popular como fármaco (Vastano Jr. e Barbosa, 1983). Sendo o fruto dessa espécie muito consumido, principalmente pela população amazônica. Além de servir como matéria-prima de sabões, licores e extração de óleo, as quais estão entre os múltiplos usos dessa planta (Shanley e Medina, 2005).

Nas últimas décadas, o aumento da demanda por alimentos tem impulsionado a maximização da produção agrícola, resultando em um crescimento significativo no uso de agroquímicos em todo o mundo (Campos et al., 2018). Nesse contexto, destaca-se o glifosato, um herbicida de amplo espectro comumente utilizado. O glifosato é absorvido pelas plantas não seletivamente e transportado por todo o sistema, atuando diretamente nos sistemas enzimáticos e inibindo o metabolismo dos aminoácidos. Especificamente, sua ação é direcionada à enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPS), resultando na supressão da síntese de aminoácidos aromáticos essenciais, como fenilalanina, tirosina e triptofano, o que afeta negativamente a sobrevivência das plantas (Santos et al., 2020). O uso indiscriminado de glifosato e outros agroquímicos tem levantado preocupações sobre seus efeitos nos ecossistemas naturais e na biodiversidade. Portanto, é essencial realizar estudos para compreender os impactos fitotóxicos do glifosato em espécies vegetais, especialmente em áreas sensíveis, como a Floresta Amazônica, a fim de subsidiar práticas agrícolas mais sustentáveis e a preservação da biodiversidade.

Apesar de serem utilizados na agricultura para controlar determinadas espécies de plantas (plantas-alvo) que competem por recursos com as plantas cultivadas, é importante ressaltar que os herbicidas também podem afetar as plantas que vivem nos ambientes naturais próximos aos agroecossistemas, tanto em concentrações letais quanto subletais (Florescia et al., 2017). Durante a aplicação desses produtos, incluindo o glifosato, pode ocorrer um fenômeno conhecido como deriva, caracterizado pelo deslocamento acidental do produto para áreas não pretendidas. Tal situação pode acarretar na exposição de plantas não-alvo aos efeitos dos herbicidas (Dexter, 1993).

Ainda há poucos estudos sobre os efeitos dos herbicidas nas espécies florestais, portanto, é essencial investigar os impactos fitotóxicos que esses produtos podem causar nessas

plantas. Compreender esses efeitos possibilitará a seleção de espécies florestais menos suscetíveis à deriva de herbicidas, como o glifosato, para serem utilizadas na recuperação de áreas degradadas ou em remanescentes de cultivos agrícolas afetados pela deriva. Diante disso, objetivou-se investigar o efeito da deriva simulada de glifosato, através de respostas morfoanatômicas e fisiológicas nas folhas de *C. villosum*.

2. Material e Métodos

2.1 Material vegetal, condições de cultivo e tratamentos

O presente estudo foi conduzido em casa de vegetação climatizada, do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, Instituto Federal Goiano – campus Rio Verde, Goiás, Brasil. Sementes da espécie *C. villosum* utilizadas foram obtidas através de uma parceria com a COOPPROJIRAU (Cooperativa de Produtores Rurais do Observatório Ambiental Jirau), rua idalino Kriger, s/n, distrito de Nova Mutum Paraná, Brasil. As sementes foram semeadas em canteiros com substrato.

Após a emergência, as plântulas foram transplantadas individualmente para vasos de plástico de 5 litros, contendo substrato preparado a partir da mistura de duas partes de solo do tipo Latossolo Vermelho e uma parte de areia. De acordo com a análise química e física do solo utilizado possui as seguintes características: pH em CaCl_2 de 5,21; $0,9 \text{ mg dm}^{-3}$ de P; 185 mg dm^{-3} de K; $2,81 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Ca; $0,77 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de Mg; $4,8 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ de H^+Al ; $27,4 \text{ g dm}^{-3}$ de matéria orgânica e 46% de saturação por bases. A adubação foi 100 mg de N, 300 mg de P, 100 mg de K, 200 mg de Ca, 60 mg de Mg, 40 mg de S, $0,5 \text{ mg}$ de B, $1,5 \text{ mg}$ de Cu, $0,5 \text{ mg}$ de Zn. Foram utilizados como fontes os seguintes sais p.a: $\text{NH}_4 \text{NO}_3$, $\text{H}_3 \text{PO}_4$, $\text{KH}_2 \text{PO}_4$, MgSO_4 , $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2 \text{O}$, $\text{Na}_2 \text{SO}_4$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2 \text{O}$, $\text{H}_3 \text{BO}_3$, ZnCl_2 . A irrigação foi calculada visando suprir as necessidades da planta, sendo mantida por volta de 60% da capacidade de campo.

Após 90 dias de aclimação, as plantas foram pulverizadas com glifosato nas subdoses de 48, 96, 144 e 288 g i.a. ha^{-1} correspondendo a 5, 10, 15 e 30 % da dose recomendada do produto em espécies de folhas largas, além de um grupo adicional de plantas mantidas como controle. O experimento foi disposto em blocos ao acaso, a unidade experimental foi de um vaso contendo uma planta, com cinco repetições.

O herbicida foi aplicado no início da manhã, utilizando um pulverizador costal com pressão constante mantida por CO_2 comprimido, com barra contendo quatro pontas de

pulverização e bico da série (XRTeejet® - tipo leque modelo XR11002-VP). A pressão utilizada foi de 3 kgf cm⁻² e volume de calda de 220 L ha⁻¹. Durante a aplicação a temperatura era de 23,7°C, vento de 2.9 m s⁻¹ e umidade relativa de 46.9. As plantas foram transferidas para a casa de vegetação após a aplicação dos tratamentos.

2.2 Análise de sintomas morfológicos

Os sintomas morfológicos foram caracterizados a partir de fotografias de toda a superfície de plantas e folhas completamente expandidas de *C. villosum*, obtidas com câmara digital Canon Rebel t7, monitoradas ao longo do experimento e fotografadas no intervalo de 15 e 30 dias após aplicação (DAA). Para a elaboração da prancha de imagens foram utilizados as plantas e folhas que melhor representassem os efeitos do glifosato no tratamento.

2.3 Avaliação da caracterização morfoanatômica foliar

Os estudos anatômicos foram realizados no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Brasil. Para a caracterização estrutural e histoquímica 30 DAA, amostras foliares de 3 cm² da região central das folhas totalmente expandidas utilizadas nas análises fisiológicas de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* de todas as repetições (n=5) de cada tratamento (n=5) das plantas de *C. villosum*. As amostras para a microscopia de luz foram fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) 70% (Johansen, 1940), utilizado para a preservação das estruturas celulares.

Para a caracterização de danos estruturais, as amostras armazenadas em FAA70% foram desidratadas em série etílica crescente (80, 90, e duas vezes a 100%, por 10 minutos cada), pré-infiltrado e incluídas em resina histológica conforme recomendação do fabricante (Historesin, Leica, Heidelberg, Alemanha). As amostras foram seccionadas transversalmente (6 µm de espessura), utilizando um micrótomo rotativo (Modelo 1508R, Logen Scientific, China) e os cortes corados com azul de toluidina 0,05 % em tampão fosfato (0,1 M, pH 6,8) (O'Brien et al., 1964), trata-se de um corante metacromático, que permite observar nas estruturas das folhas, o qual reage com paredes lignificadas corando-as de azul-esverdeado e com paredes celulósicas corando-as em roxo. Posteriormente, montados em balsamo do Canadá. As imagens foram obtidas utilizando o mesmo microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) acoplado com câmera DP-72 utilizando a opção de campo claro. Em seguida, foram realizadas observações

morfoanatômicas da epiderme nas faces adaxial e abaxial, parênquima paliçadico, esponjoso e mesófilo. As medidas micromorfométricas foram obtidas a partir das imagens anteriores com o auxílio do software ImageJ (Processamento e Análise de Imagem em Java, v. 1.47, EUA), um software utilizado para processamento e análise de imagens, que permitiu a medição das diferentes características anatômicas.

Para os estudos de microscopia de fluorescência, os cortes foram obtidos com um micrótomo de mesa modelo LPC e imediatamente fotografadas para evitar a degradação da clorofila, foram obtidas imagens com o microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) acoplado com câmera DP-72, através da excitação UV 330-385, U-MWU2.

2.4 Trocas gasosas

As trocas gasosas das plantas de piquiá foram mensuradas em folhas completamente expandidas do terceiro nó, após 1, 7 e 30 DAA. Sendo A taxa fotossintética (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) através da utilização de um analisador de gases ao infravermelho (IRGA, modelo LI-6400xtr, LI-COR, Lincoln, Nebraska, Estados Unidos). As medições foram realizadas entre 9 h e 11 h da manhã utilizando radiação fotossinteticamente ativa (PAR) constante ($1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração atmosf\u00e9rica de CO_2 (C_a) ($\sim 415 \mu\text{mol mol}^{-1}$), temperatura ($\sim 24 \text{ }^\circ\text{C}$) e umidade relativa ($\sim 74 \%$) ambiente. Os valores de condut\u00e2ncia estom\u00e1tica (g_s) tamb\u00e9m foram avaliados, mas, devido \u00e0 alta variabilidade dos dados, n\u00e3o foi poss\u00edvel incluir os resultados neste trabalho.

2.5 Fluoresc\u00eancia da Clorofila *a*

Foram realizadas aos 15 e 30 DAA, com o aux\u00edlio do fluor\u00f4metro modulado o Imaging-PAM (Heinz Walz, Effeltrich, Germany). Os sinais de fluoresc\u00eancia em todos os pontos da \u00e1rea foliar foram capturados atrav\u00e9s de uma c\u00e2mera CCD (*Charge Coupled Device*) acoplada ao respons\u00e1vel por fornecer as imagens para o computador. Inicialmente as folhas foram adaptadas ao escuro, com cerca de 30 minutos a esta condi\u00e7\u00e3o. Foram obtidas: fluoresc\u00eancia inicial (F_0) e fluoresc\u00eancia m\u00e1xima (F_m) e calculado o rendimento qu\u00e2ntico potencial do fotossistema II (FSII), $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (Genty; Briantais; Baker, 1989). Em seguida, as folhas expostas \u00e0 ilumina\u00e7\u00e3o act\u00ednica, acrescido juntamente com o pulso de luz act\u00ednica saturante, sendo

possível obter as variáveis da fase lenta de indução da fluorescência como o rendimento quântico efetivo de conversão fotoquímica de energia no FSII (YII), o coeficiente de extinção não fotoquímica a ($YNPQ$) e o rendimento quântico de energia dissipada não regulada no FSII (YNO). Além disso, o YII foi utilizado, ainda, para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons, $ETR = YII.PAR.Abs_{leaf}.0,5$ (Bilger; Schreiber; Bock, 1995), sendo PAR o fluxo de fótons ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) incidente sobre a folha; Ab_{Sleaf} o valor correspondente à fração de luz incidente que é absorvida pelas folhas; e $0,5$ o valor correspondente à fração de energia de excitação distribuída para o FSII (Laisk e Loreto, 1996).

2.6 Concentração de clorofila

Foi avaliada através do medidor portátil, ClorofiLOG1030® (Falker®, Porto Alegre, Brasil), sendo obtido o teor de clorofila a , clorofila b e clorofila total, expressos no índice Clorofilog. As folhas serão colocadas entre o emissor e o receptor do aparelho, sendo a radiação transmitida através da folha é convertida em sinais eletrônicos. As avaliações foram realizadas no terceiro par de folhas totalmente expandidas aos 1, 7 e 15 DAA.

2.7 Análise estatística

Os dados quantitativos obtidos foram submetidos as análises prévias de normalidade de erros (Teste Shapiro-Wilk). Com a normalidade dos dados confirmada, foi realizada a análise de variância (ANOVA) e ajustados aos modelos de regressão, seguida do teste de Tukey a 5% de probabilidade para determinar diferenças entre os tratamentos e o controle ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas através do software Assistat versão 7.7 beta (Silva e Azevedo, 2016) e os gráficos pelo excel.

3. Resultados

3.1 Efeito do glifosato sobre a morfologia foliar

As plantas de piquiá submetidas a deriva simulada do herbicida glifosato, não

apresentaram sintomas morfológicos significativos (Fig. 1), apenas leves injúrias, como cloroses moderadas, na borda e próximo a nervura principal das folhas das duas maiores subdoses (144 e 288 g i.a. ha⁻¹) (Fig. 1D-E).

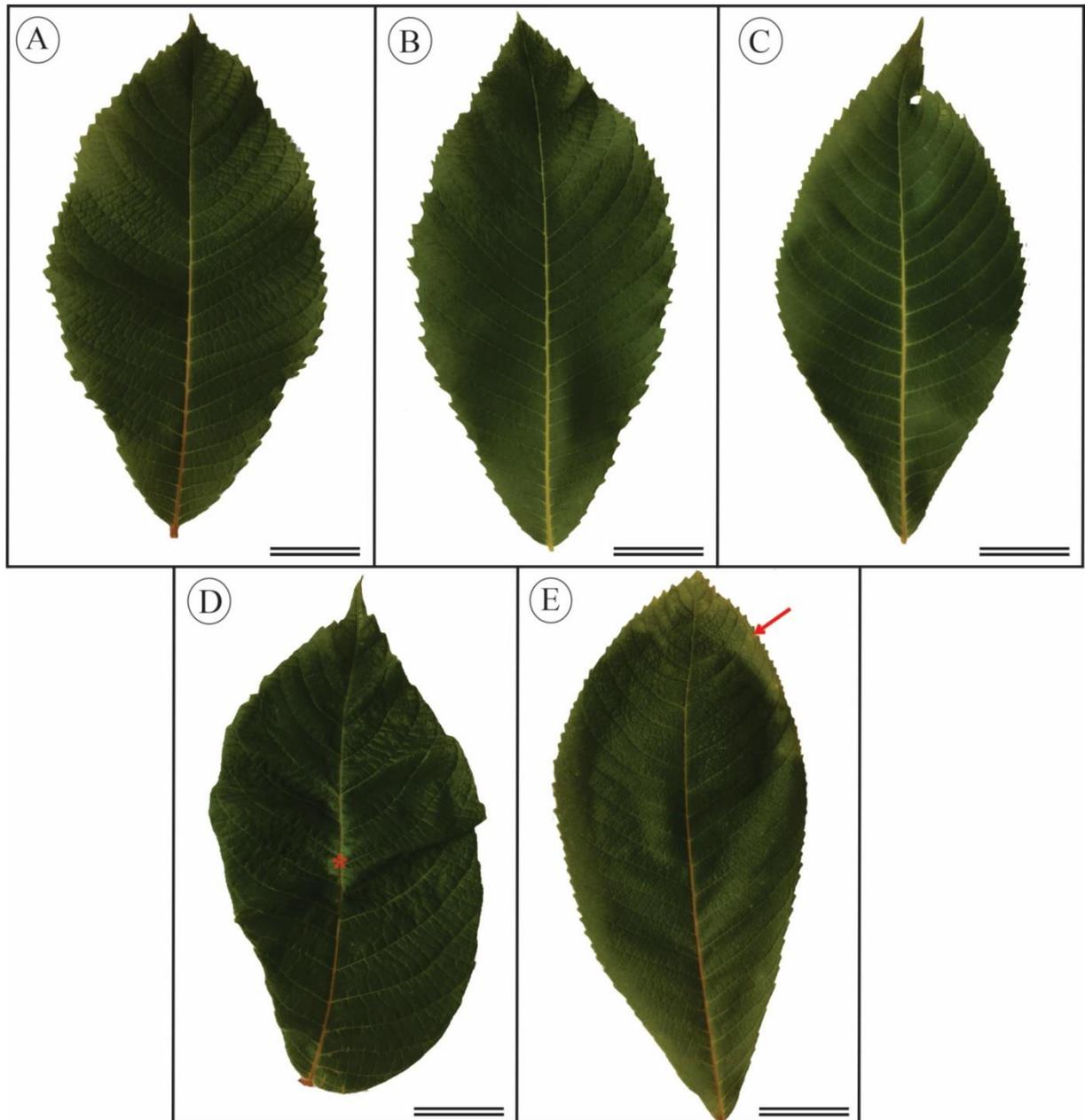


Fig. 1. Sintomas visuais em folhas de *C. villosum*, clorose destacada por asterisco e seta vermelha, após 30 dias de exposição a subdoses crescentes de glifosato: (A) Controle, (B) 48 (C) 96, (D) 144, e (E) 288 g i.a. ha⁻¹. Barra de escala 4 cm.

3.2 Avaliação das alterações anatômicas

A superfície foliar de ambas as faces (adaxial e abaxial) de *C. villosum* são recobertas por tricomas tectores multicelulares unisseriados (Fig. 2A, G-H). A epiderme é simples em ambas as faces com células tabulares e justapostas. Os estômatos ocorrem apenas na face abaxial, caracterizando a folha como hipoestomática, sendo situados no mesmo nível das células epidérmicas (Fig. 2E). O parênquima clorofiliano é heterogêneo do tipo dorsiventral, sendo parênquima paliçádico com duas camadas de células e o esponjoso por cerca de três a quatro camadas (Fig. 2B-F). A região da nervura mediana, em secção transversal, possui feixe vascular do tipo colateral. O parênquima fundamental tem presença de células que coram intensamente com o azul de toluidina, os idioblastos (Fig. 2I) indicando a presença e acúmulo de composto fenólicos.

As subdoses testadas não ocasionaram alterações na superfície e estrutura foliar de *C. villosum*, não sendo observado nenhuma alteração nos tecidos anatômicos em piquiá após 30 DAA (Fig. 2B-F.)

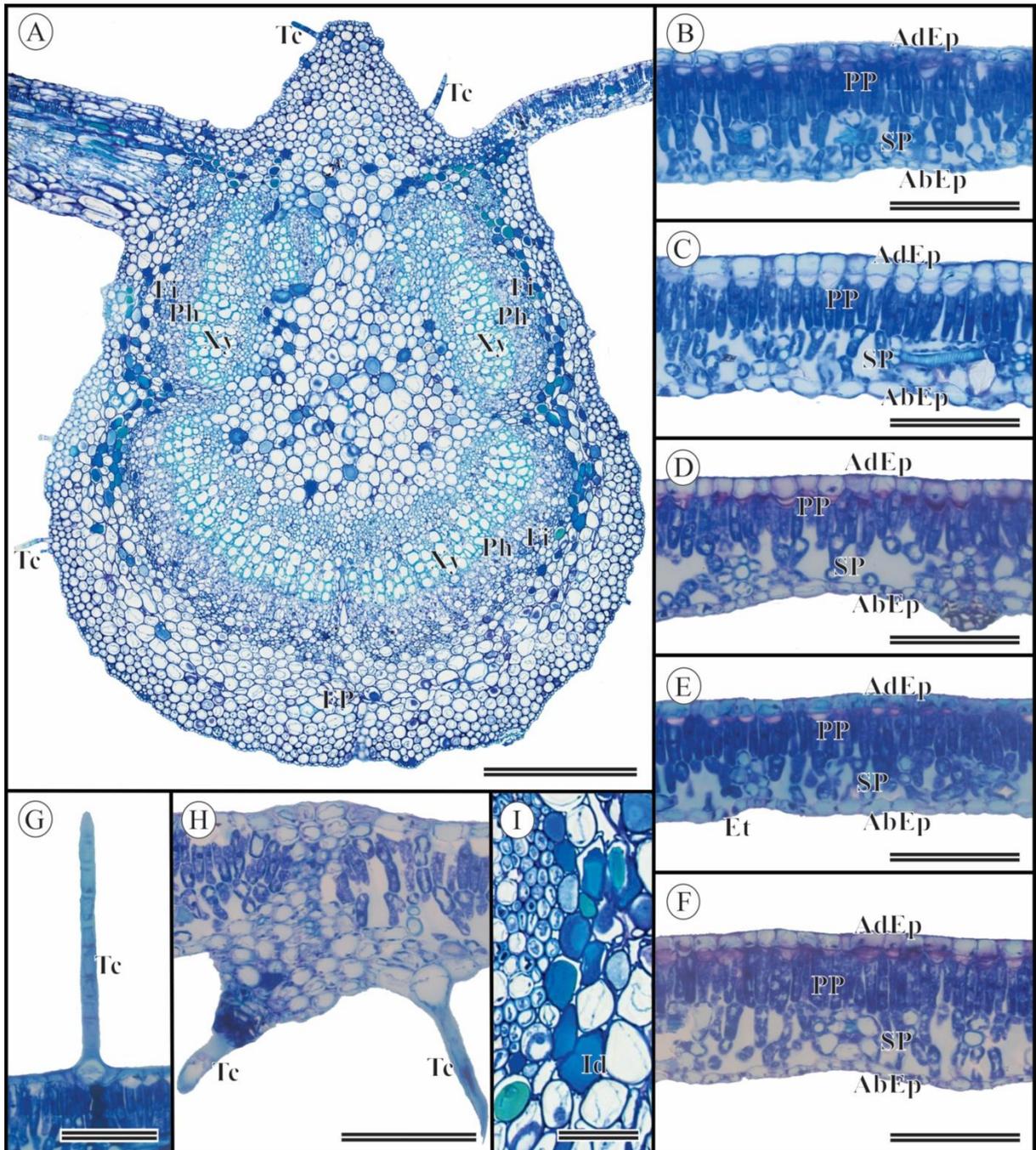


Fig. 2. Cortes anatômicos em folhas de *C. villosum*, após 30 dias de exposição ao glifosato em diferentes subdoses. (A, B, G, H e I) Controle, (C) 48, (D) 96, (E) 144, e (F) 288 g i.a. ha⁻¹. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. (Fi) fibra. (Xy) xilema. (Ph) floema. (FP) parênquima fundamental. (Tc) Tricoma tector. (Id) idioblasto. Barra de escala (A) 250 µm; (B, C, D, E, F, G, H) 100 µm; (I) 30 µm.

Nas análises micromorfométricas o efeito das subdoses testadas não foi significativo pela análise de variância, para a espessura dos tecidos foliares das folhas de piquiá, indicando

que não houve redução nem aumento desses tecidos anatômicos (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização das espessuras dos tecidos foliares de *C. villosum*, 30 dias após a aplicação de glifosato em diferentes subdoses.

Subdoses Glifosato	Ep. Adaxial (μm)	Ep. abaxial (μm)	P. paliçádico (μm)	P. esponjoso (μm)	Mesofilo (μm)
0 g i.a. ha ⁻¹	13,120	8,512	49,014	38,683	83,381
48 g i.a. h ⁻¹	12,343	8,276	51,257	41,525	91,303
96 g i.a. ha ⁻¹	12,707	7,434	42,129	34,009	74,233
144 g i.a. ha ⁻¹	12,464	8,228	45,091	39,472	85,173
288 g i.a. ha ⁻¹	11,613	8,207	47,599	40,077	85,050
Tukey	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	17,01	14,30	10,08	13,33	11,12

ns, não significativo ($p \geq .05$).

O resultado de fluorescência da clorofila (Fig. 3), demonstraram dano apenas a partir da subdose 144 g i.a. ha⁻¹, onde começam a ocorrer leves mudanças na intensidade da fluorescência clorofila (Fig. 2D), sendo os danos intensificados na maior subdose 288 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 2E-F), ocorrendo uma mudança e diminuição na coloração avermelhada tipicamente emitida pela clorofila sem danos, demonstrando o início de degradação da clorofila.

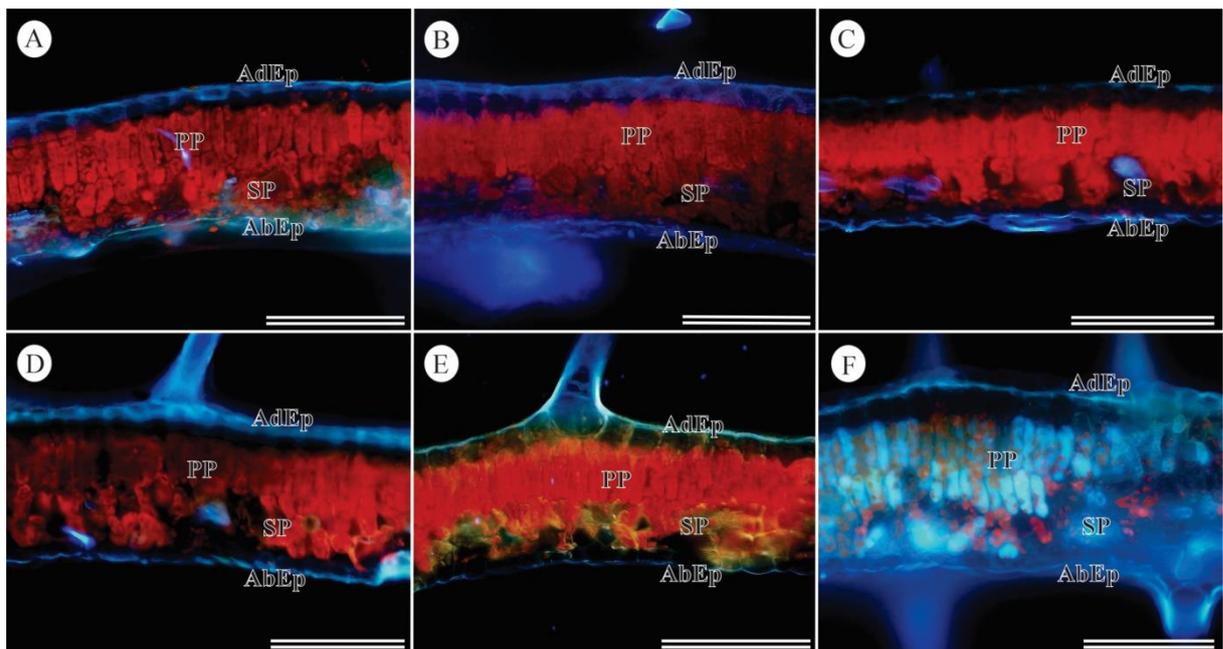


Fig. 3. Autofluorescência da clorofila (450-490nm). Cloroplastos do mesofilo (Parênquima paliçádico e esponjoso) emitem fluorescência vermelha típica. (A) Controle, (B) 48, (C) 96, (D)

144, e (E e F) 288 g i.a. ha⁻¹. Áreas sem a cor vermelha típica emitida pelos cloroplastos, representam degradação da clorofila. (AdEp) epiderme adaxial. (AbEp) epiderme abaxial. (PP) parênquima paliçádico. (SP) parênquima esponjoso. Barras de escala: 100 µm.

3.3 Trocas gasosas

O efeito do glifosato em *A* (taxa fotossintética) e *E* (taxa transpiratória) de plantas de *C. villosum* foi dependente do tempo após a aplicação do herbicida (Tabela 2).

Tabela 2. Taxa fotossintética (*A*) e taxa transpiratória (*E*) de plantas de *C. villosum* sob deriva simulada de glifosato.

Fonte de Variação	<i>A</i> (µmol m ⁻² s ⁻¹)	<i>E</i> (µmol m ⁻² s ⁻¹)
Subdose	**	**
Dias	**	**
Subdose x Dias	**	**
CV (%)	13,58	5,58

**p<0,01 significativo ao nível de 1%.

As análises da taxa fotossintética realizadas nas plantas de piquiá demonstraram que nas primeiras duas avaliações 1 e 7 DAA, ocorreu um aumento nessa variável a partir da subdose 96 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 7A-B). Posteriormente, na terceira avaliação realizada 15 DAA, é possível observar uma redução na taxa fotossintética, na maior subdose 288 g i.a. ha⁻¹ (Fig. 7C).

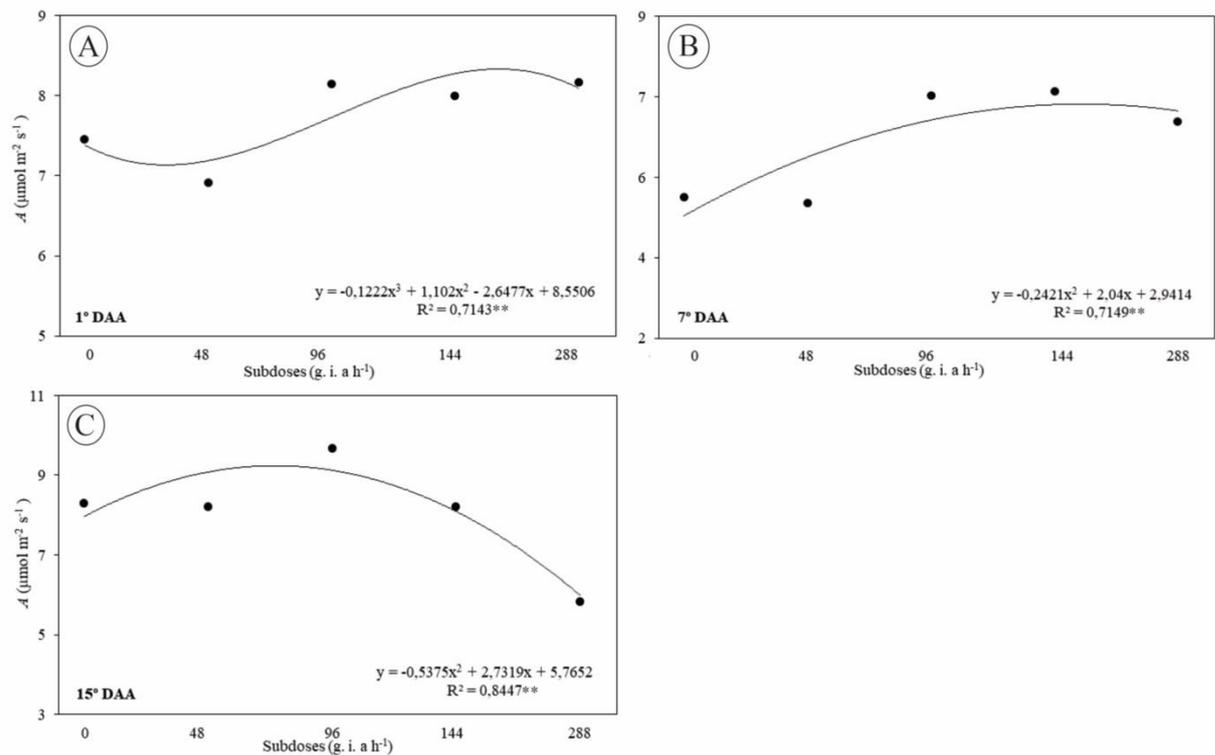


Fig. 4. Taxa fotossintética (A) em folhas de *C. villosum* em diferentes dias após a aplicação de subdoses do herbicida glifosato. 1DAA (A), 2DAA (B), 15DAA (C). Os dados são médias de $n = 5$. Significância $** p < 0,01$.

Semelhante ao observado para a taxa fotossintética (A), o glifosato causou reduções gradativas na taxa transpiratória (E) com o incremento das subdoses ao longo do tempo, sobretudo a partir do sétimo dia de avaliação (Fig. 5A-C), sendo mais intenso na maior subdose 288 g i.a. ha^{-1} (Fig. 5B). Posteriormente, 15 DAA verificou-se essa diminuição também em 144 g i.a. ha^{-1} (Fig. 5C).

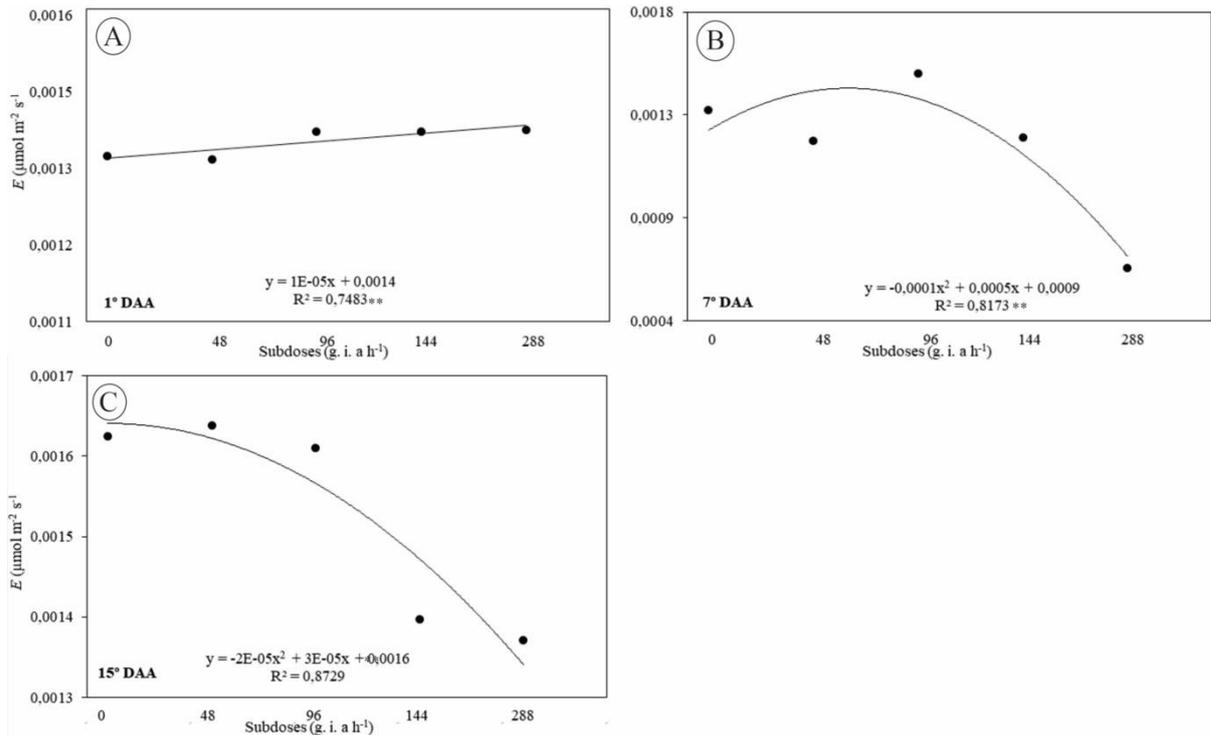


Fig. 5. Taxa transpiratória (E) em folhas de *C. villosum* em diferentes dias após a aplicação de subdoses do herbicida glifosato. 1DAA (A), 2DAA (B), 15DAA (C). Os dados são médias de $n = 5$. Significância $** p < 0,01$.

3.4 Efeito do glifosato na fluorescência da clorofila *a*

O glifosato não desencadeou alterações significativas nas variáveis Fv/Fm , Y_{II} , ETR e NPQ de fluorescência da clorofila *a*. Não sendo observado o efeito das subdoses do herbicida, nem interação entre as subdoses e dias após a aplicação (Tabela 3). Como esperado, por não ter ocorrido modificações significativas nas variáveis, também não foram verificadas alterações na imagem de fluorescência da clorofila *a* em plantas de *C. villosum*, independente do dia de avaliação e da subdose do herbicida (Fig. 6A-F).

Tabela 3. Efeito das subdoses de glifosato (Subdose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Subdose x tempo) para o rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y_{II}), taxa relativa de transporte de elétrons (ETR), e coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) de plantas de *C. villosum*.

Fonte de Variação	F_v/F_m	Y_{II}	ETR	NPQ
Subdose	ns	ns	ns	ns
Dias	**	**	**	ns
Subdose x Dias	ns	ns	ns	ns
CV (%)	5,99	16,68	17,01	37,24

ns, não significativo; ** $p < 0,01$ significativo ao nível de 1%.

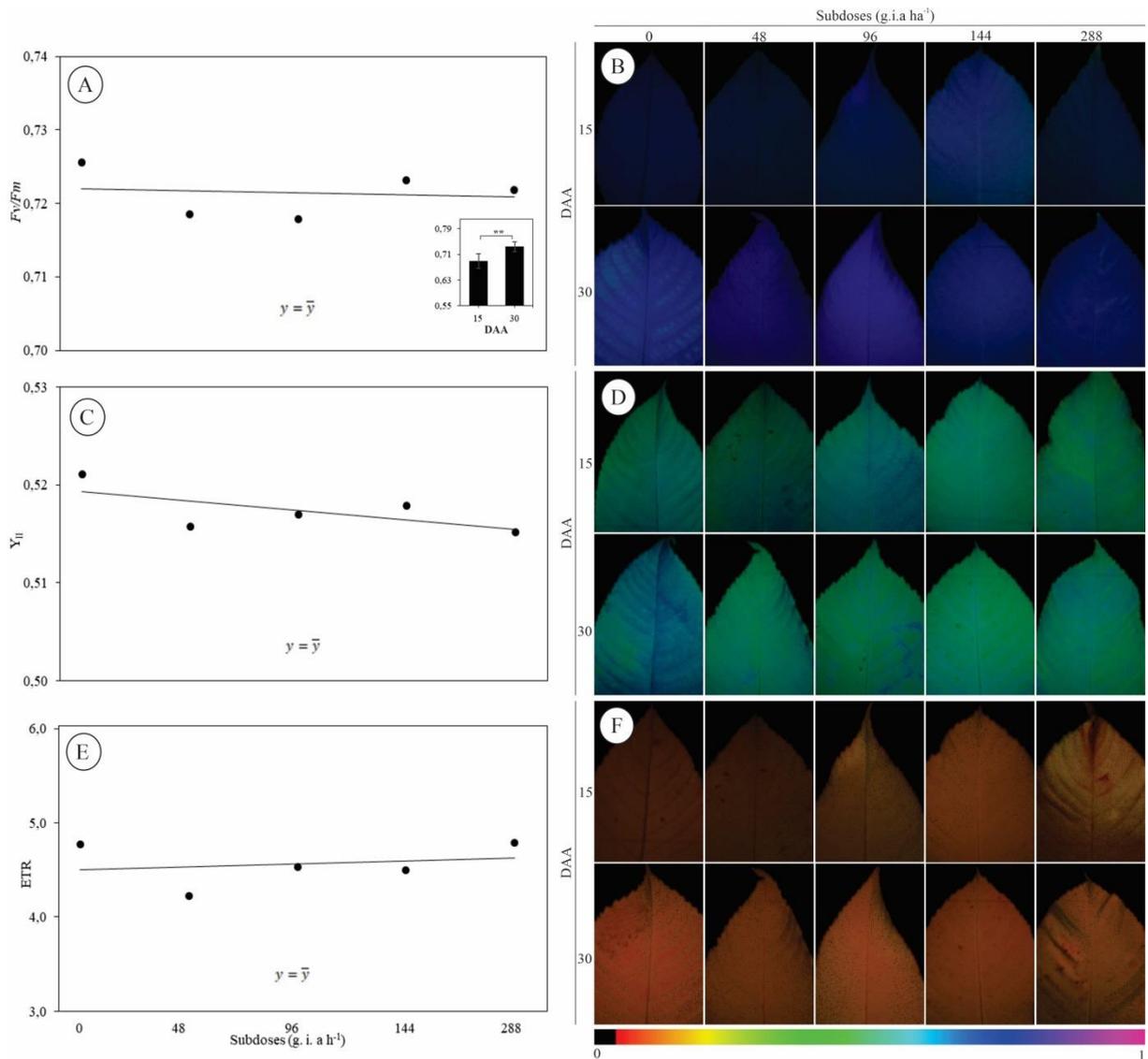


Fig. 6. Rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) (A e B), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y_{II}) (C e D) e taxa relativa de transporte de elétrons (ETR) (E e F) nas plantas de *C.villosum* em resposta a subdoses crescentes de glifosato e dos dias após aplicação (DAA). Os dados são médias de $n=5$. A escala de cor, corresponde aos valores de 0 (preto) a 1 (rosa).

3.4 Concentração de clorofila

O glifosato alterou os teores fotossintéticos de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total, sendo significativo apenas para os dias após a aplicação, não variando em função das subdoses. Clorofila *a* e clorofila total variaram em função da interação dos fatores subdose x Dias, enquanto clorofila *b* foi observado apenas efeito das subdoses, não modificando em relação ao tempo (Tabela 3).

Tabela 4. Efeito das subdoses de glifosato (Subdose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Subdose x tempo) para o teor de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total em plantas de *C. villosum*.

Fonte de Variação	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total
Subdose	ns	**	ns
Dias	ns	ns	*
Subdose x Dias	**	ns	**
CV (%)	11,22	16,75	14,95

ns, não significativo; ** $p < 0,01$ significativo ao nível de 1%, * $p \geq 0,05$ significativo ao nível de 5% ..

4. Discussão

O herbicida glifosato não promoveu alterações visuais e anatômicas significativas nas folhas de *C. villosum*. Os herbicidas, quando aplicados, podem induzir diferentes respostas, sendo capaz de agir como estimulantes de crescimento, causador de intoxicações ou até mesmo levar à morte das plantas (Pereira et al., 2015). As injúrias causadas pelo glifosato podem variar de acordo com fatores como a concentração e a quantidade dos princípios ativos que atingem as plantas não alvo (Costa et al., 2009). A absorção de herbicidas pós-emergentes, como o glifosato, nas plantas é influenciada pela estrutura morfológica e anatômica das folhas (Baccin et al., 2023). A morfologia foliar, influencia a quantidade de herbicida que é capturado e retido. No entanto, a anatomia dessas folhas que efetivamente determina a facilidade de absorção desses produtos químicos (Ferreira et al., 2002) Ou seja, características da cutícula, incluindo sua espessura e composição, bem como o número de estômatos e tricomas, podem afetar a absorção de foliar de herbicidas (Heredia-Guerrero et al., 2014; Ochoa et al., 2022).

Os tricomas são estruturas especializadas encontradas em várias partes das plantas. Eles desempenham diferentes funções e podem ser classificados em dois tipos principais: tricomas glandulares, que produzem e secretam compostos químicos, e tricomas tectores, que atuam como uma barreira de proteção (Martin e Glover, 2007). Atuam como uma barreira inicial da planta com o ambiente externo, desempenhando um papel fundamental na maioria dos processos adaptativos pelos quais as plantas respondem a mudanças externas, sejam elas de natureza biológica ou abiótica (Kariyat et al., 2017; Yu et al., 2022). Na ausência dessas estruturas, as plantas tornam-se mais suscetíveis a danos causados por fatores externos (Nawab et al., 2011). A presença de tricomas tectores em ambas as faces das folhas de *C. villosum* pode ter contribuído para uma menor absorção do herbicida glifosato, explicando a ausência de sintomas severos nas plantas de piquiá.

Apesar de não ter sido identificados danos anatômicos, na avaliação morfológica, foram observados sintomas moderados, como folhas levemente amareladas nas duas maiores subdoses. Os sintomas característicos após a aplicação do glifosato incluem clorose e, posteriormente necrose foliar (Yamada e Castro, 2007). Os efeitos de clorose podem ser resultado de diferentes mecanismos desencadeados pelo glifosato na síntese do ácido aminolevulínico (ALA), que é um precursor essencial na biossíntese da clorofila. O glifosato pode reduzir a concentração de clorofila ou degradá-la, o que contribui para a ocorrência da clorose nas plantas (Reis et al., 2018). A variação na intensidade da autofluorescência da clorofila a nas plantas de piquiá expostas às duas maiores subdoses indica o início da degradação da clorofila. Essa mudança na autofluorescência está associada ao surgimento dos sintomas de clorose, observados a partir desses tratamentos.

Com base nos dados obtidos, observou-se que alguns parâmetros, como g_s (condutância estomática) e C_i/C_a (razão entre a concentração interna e a concentração atmosférica de CO_2), não se ajustaram a nenhum modelo estatístico. Estudos anteriores, como o de Ferreira et al. (2005), relataram que plantas arbóreas podem apresentar uma ampla variação dentro da mesma espécie devido à diversidade genética existente entre os indivíduos.

Por outro lado, foi observado que as subdoses de glifosato aplicadas afetaram o desempenho fotossintético das plantas de piquiá, resultando em redução nas taxas de assimilação de CO_2 (A) e de transpiração (E) nos dois maiores tratamentos (144 e 288 g i.a. ha⁻¹) aos 15 dias após a aplicação (DAA). Embora as alterações nas taxas fotossintéticas não sejam o alvo inicial de ação desse herbicida, diversos estudos têm relatado efeitos negativos nos parâmetros de trocas gasosas (Krenchinski et al., 2014).

Em consonância com os achados de Cruz et al. (2021), na espécie *Eugenia uniflora*, verificou-se uma diminuição nos parâmetros de trocas gasosas após a aplicação de glifosato, evidenciando que esse herbicida pode causar efeitos prejudiciais em espécies não alvo, interferindo no metabolismo fotossintético. O decréscimo na taxa fotossintética pode estar relacionado à redução da eficiência da enzima Rubisco (Rezende-Silva et al., 2022). O glifosato possui a capacidade de restringir a síntese de três proteínas que compõem as subunidades dessa enzima (Ashan et al., 2008).

A enzima Rubisco, também conhecida como ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase-oxigenase, desempenha um papel crucial na primeira fase da fotossíntese. Essa enzima possui atividade carboxilásica e oxigenásica, mas sua maior afinidade pela carboxilação garante que a fotossíntese ocorra mesmo quando a concentração de CO₂ é significativamente menor que a de O₂, como geralmente ocorre na natureza. Após a carboxilação, ocorre a conversão do CO₂ em carboidratos por meio de um processo que requer o consumo de NADPH e ATP, compostos energéticos sintetizados durante as reações luminosas nas membranas dos tilacoides (Santos et al., 2020).

O efeito do glifosato na taxa de transpiração (*E*) foi semelhante aos resultados obtidos para a taxa fotossintética (*A*) em plantas de piquiá. Essa alteração pode ser atribuída à influência direta do glifosato nas células-guardas, o que resultaria no fechamento dos estômatos (Yamada e Castro., 2007). A camada de cutícula nas células-guarda possui menor espessura, permitindo a entrada do herbicida através da epiderme das folhas. Portanto, os estômatos são os primeiros a serem afetados pelo glifosato, exibindo sensibilidade aos seus efeitos (Silva et al., 2022).

As medidas de fluorescência da clorofila *a*, indicaram que a etapa fotoquímica do piquiá não foi afetada pelo glifosato. Santos et al. (2020), estudando o impacto de diferentes concentrações de glifosato em *Cenostigma macrophyllum*, constataram que os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* não são afetados pelo glifosato nessa espécie. Sugerindo que sua ação pode não ser direta no transporte de elétrons do FSII, mas sim no Ciclo de Calvin, influenciando assim a taxa fotossintética.

A análise dos pigmentos fotossintéticos é uma análise eficiente para compreender o efeito do glifosato nas plantas. No entanto, é possível que não sejam detectados danos a esses compostos, mesmo em plantas que foram expostas ao produto. Em um estudo realizado por Santos et al., (2020) com a espécie *Cenostigma macrophyllum* exposta a doses de glifosato (25, 50, 100, 200, 400, 800 g a.e. ha⁻¹), não foram observadas diferenças significativas nos teores de pigmentos fotossintéticos. Mas, foi constatado que as doses de glifosato afetaram outros parâmetros, incluindo o sistema fotossintéticos, o que resultou em fitotoxicidade, manifestando-

se principalmente como clorose nas folhas.

Devido à natureza arbórea das plantas estudadas, elas possuem a capacidade de desenvolver mecanismos de defesa e se recuperar dos efeitos causados pelos herbicidas, desde que estejam plenamente estabelecidas. É importante destacar que o estágio de desenvolvimento das plantas pode influenciar sua resposta aos efeitos desses produtos, tornando-as mais ou menos suscetíveis (Karthikeyan et al., 2015).

No entanto, é necessário considerar o impacto potencial da aplicação repetida de herbicidas ao longo do ano, em um curto período de tempo, sobre esses organismos. Tal prática pode ter efeitos negativos, levando à necessidade de conduzir experimentos de longa duração, com aplicações repetidas, a fim de determinar se as características anatômicas observadas contribuirão para a menor absorção dos herbicidas e se haverá recuperação das plantas em longo prazo. Essas investigações mais abrangentes ajudarão a fornecer *insights* valiosos sobre a resiliência e capacidade de resposta das espécies estudadas diante do uso contínuo desses produtos químicos.

Conclusões

A aplicação de subdoses de glifosato não resultou em alterações visuais ou anatômicas significativas, nem afetou a fluorescência da clorofila a e os teores de clorofila das plantas de *C. villosum*. No entanto, observaram-se alterações em alguns parâmetros de trocas gasosas, como taxa de assimilação de CO₂ (*A*) e taxa de transpiração (*E*), bem como na autofluorescência da clorofila.

Esses resultados indicam que *C. villosum* apresenta características de tolerância ao glifosato, embora os mecanismos subjacentes a essa tolerância ainda necessitem de uma investigação mais aprofundada. Neste estudo, foi observado que a presença de barreiras foliares, como tricomas em ambas as faces das folhas de piquiá, pode ter contribuído para uma menor absorção do herbicida. Essa característica pode explicar a maior tolerância de *C. villosum* aos efeitos tóxicos do glifosato.

No entanto, é importante ressaltar que essas conclusões são baseadas em observações preliminares e mais estudos são necessários para compreender completamente os mecanismos de tolerância e os efeitos do glifosato em *C. villosum*. A investigação adicional permitirá uma melhor elucidação desses mecanismos e fornecerá informações mais detalhadas sobre a resposta desta espécie ao herbicida.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano (IFGoiano-RV) pelo apoio financeiro e disponibilidade de infraestrutura. TA Vicentini agradece a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pela bolsa de estudo concedida.

Referências

- Ahsan, N., Lee, D.G., Lee, K.W., Alam, I., Lee, S.G., Bahk, J.D., Lee, B.H., 2008. Glyphosate induced oxidative stress in rice leaves revealed by proteomic approach. *Plant. Physiol. Biochem.* 46,1062–1070. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.07.002>.
- Albert, J. S., Carnaval, A. C., Flantua, S. G., Lohmann, L. G., Ribas, C. C., Riff, D., Fan, C.Y., Figueiredo, J.J.P., Hoorn, C.G., Melo, G.H., Nascimento, N., Quesada, C.A., Ulloa, C.U.U., Val, P., Arieira, J., Encalada, A.C., Nobre, C.A., 2023. Human impacts outpace natural processes in the Amazon. *Sci.* 379, eabo5003. <https://doi.org/10.1126/science.abo5003>.
- Baccin, L.C., Albrecht, A.J.P., Pedroso, R.M., Araújo, L.S., Victoria Filho, R., 2023. Glyphosate-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) exhibits a larger number of trichomes and altered stomatal density relative to the susceptible counterpart. *Biosc. J.* 39, e39047. <https://doi.org/10.14393/BJ-v39n0a2023-64343>.
- Campos, E.V.R., Proença, P.L.F., Oliveira, J.L., Bakshi, M., Abhilash, P.C., Fraceto, L.F., 2018. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: future perspectives. *Ecol. Indic.* 105, 483-495. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.038>.
- Carlos, L., Venturin, N., Macedo, R.L.G., Higashikawa, E.M., Garcia, M.B., Farias, E.D.S., 2014. Growth and mineral nutrition in seedlings of pequi subjected to nutrient deprivation. *Cienc. Florest.* 24, 13-21. <https://doi.org/10.5902/1980509813318>.
- Clay, J. W., Sampaio, P.T.B., Clement, C.R. Biodiversidade Amazônica – exemplos e estratégias de utilização. 1 ed. Manaus- AM: Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico, 2000.
- Costa, N.V., Erasmo, E.A.L., Queiroz, P.A., Dornelas, D.F., Dornelas, B.F., 2009. Efeito da deriva simulada de glyphosate no crescimento inicial de plantas de pinhão-mansão. *Planta Daninha.* 27, 1105-1110. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582009000500024>.

- Da Silva Junior, C. A., Costa, G.M., Rossi, F. S., Do Vale, J. C. E., De Lima, R. B., Lima, M., Oliveira-Junior, J.F., Teodoro, P.E., Santos, R. C., 2019. Remote sensing for updating the boundaries between the Brazilian Cerrado-Amazonia biomes. *Environ. Sci. Policy*. 101, 383-392. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2019.04.006>.
- Dexter, A., 1993. Herbicide spray drift. North Dakota State University Extension Service, NDSU, Fargo, ND 58105, 1-11.
- Domingues, M.S. e Bermann, C., 2012. O arco de desflorestamento na Amazônia: Da pecuária à soja. *Ambient. Soc.* 15, 1-22. <https://doi.org/10.1590/S1414-753X2012000200002>.
- Rocha Pinho, L.G., Barreto, H.X.M., Bitencourt, L.L., Chisté, L., Mercier, B. M., 2021. Reversão da fitotoxidez por glifosato com aplicação de aminoácidos em mudas de café conilon (*Coffea canephora* p.) clone Ib.1 demuner. *Rev. Ifes Cienc.* 7, 01-11. 10.36524/ric.v7i1.1017.
- Ferreira, E.A., Procópio, S.O., Silva, E.A.M., Silva, A.A., Rufino, R.J.N., 2002. Anatomical Studies of Weed Leaves: I–*Nicandra physaloides*, *Solanum viarum*, *Solanum americanum* and *Raphanus raphanistrum*. *Planta Daninha*. 20,159–167. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582002000200001>.
- Ferreira, R.A., Davide, A.C., Alcântara, E.N., Motta, M.S., 2005. Efeito de herbicidas de pré-emergência sobre o desenvolvimento inicial de espécies arbóreas. *Rev. Bras. Herbic.* 4, 133-145. <http://dx.doi.org/10.7824/rbh.v4i1.17>.
- Florencia, F.M., Carolina, T., Enzo, B., Leonardo, G. 2017. Effects of the herbicide glyphosate on non-target plant native species from Chaco forest (Argentina). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 144, 360-368. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.049>.
- Heredia-Guerrero, J.A., Benítez, J.J., Domínguez, E., Bayer, I.S., Cingolani, R., Athanassiou, A., Heredia, A., 2014. Infrared and Raman Spectroscopic Features of Plant Cuticles: A Review. *Front. Plant Sci.* 5, 305. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00305>.
- Kariyat, R.R., Smith, J.D., Stephenson, A.G., Moraes, C.M., Mescher, M.C., 2017. Non-glandular trichomes of *Solanum carolinense* deter feeding by *Manduca sexta* caterpillars and cause damage to the gut peritrophic matrix. *Proc. R. Soc. B: Biol Sci.* 284, 20162323. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.2323>.
- Karthikeyan, R., Davis, L.C., Erickson, L.E., Al-Khatib, K., Kulakow, P.A., Barnes, P.L., Hutchinson, S.L., Nurzhanova, A.A., 2015. Studies on responses of non-target plants to pesticides: A review. <https://engg.k-state.edu/HSRC/karthipesticide.pdf>. (Acessado em 30 de maio de 2023)
- Martins, R.L., e Gribel,R., 2007. Polinização de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers. (Caryocaraceae) uma árvore emergente da Amazônia Central. *Braz. J. Bot.* 30, 37-45.

<https://doi.org/10.1590/S0100-84042007000100005>.

Nawab, N.N., Khan, I.A., Khan, A.A., Amjad, M., 2011 Characterization and inheritance of cotton leaf pubescence. Pak. J. Bot. 43, 649–658.

Martin, C., Glover, B. J., 2007. Functional aspects of cell patterning in aerial epidermis. Curr. Opin. Plant Biol. 10, 70-82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbi.2006.11.004>

Ochoa, M.D.C., Catan, A., Targa, M.G., Fraño, A., Caro, R., Chaila, S., 2022. Morphoanatomic characterization of *Gomphrena perennis* and *Gomphrena pulchella* leaves. Adv. Weed Sci. 41, e020202203. <https://doi.org/10.51694/AdvWeedSci/2023;41:00023>.

Pereira, M.R.R., Souza, G.S.F., Fonseca, E.D., Martins, D., 2015. Subdoses de glyphosate no desenvolvimento de espécies arbóreas nativas. Biosc. J. 31, 326-332. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582019370100086>.

Reis, L.A.C., Carvalho, F.P., França, A.C., Francino, D.M.T., Pinto, N.A.V.D., Freitas, A.F. 2018. Leaf morphoanatomy and biochemical variation on coffee cultivars under drift simulation of glyphosate. Planta Dan. 36, e018143560. 10.1590/S0100-83582018360100149.

Rezende-Silva, S.L., Costa, A.C., Pedroso, A.N.V., Batista, P.F., Crispim-Filho, A.J., Almeida, G.M., Nascimento, K.J.T., Ferreira, L.L., Domingos, M., Silva, A.A., 2022. Morphophysiological indicators of the glyphosate action on Brazilian savanna plants: a multivariate analysis. Acta Physiol. Plant. 44, 1-x. <https://doi.org/10.1007/s11738-022-03409-3>.

Santos, V.R.S., Crispim Filho, A.J., Santana, M.M., Costa, A.C., Silva, K.L.F., 2020. Análises fisiológicas e morfoanatômicas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. (Fabaceae) submetida a diferentes concentrações de glifosato. Rev. IberoAm. Ciênc. Ambient. 11, 159-173. 10.6008/CBPC2179-6858.2020.005.0017.

Silva, K.L.F., Ribeiro, A.B.N., Moraes, A.K.C., Cardoso, F.M., Gonçalves, F.B., Santos, J.F.S., Azevedo, L.P.N., Borges, M.S., Santos, V.R.S., Turibio, R.C.B.S., Erasmo, E.A.L., 2022. Análises Fisiológicas de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), Quando Exposta A Diferentes Concentrações de Glifosato. 26, 338-443. <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2022v26n3p338-343>.

Shanley, P., e Medina, G., (Eds.) Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica. Belém: CIFOR, Imazon, 2005. 300 p.

Vastano Jr, B., Barbosa, A.P., 1983. Propagação vegetativa do piquiá (*Caryocar villosum* Pers.) por estaquia. Acta. Amazon. 13,143-148. <https://doi.org/10.1590/1809-43921983131143>.

Yamada, T., Castro, P.D.C., 2007. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. Informações Agronômicas. 119, 1-32.

Yu, L., Wang, H., Xing, H., Ding, Q., Wang, X., Hu, P., Meng, X., Fan, H., Yu, Y., Cui, N., 2022. TOR signaling is the potential core of conserved regulation of trichome development in plant. *Acta. Physiol. Plant.* 44, 95. <https://doi.org/10.1007/s11738-022-03433-3>.

CONCLUSÕES GERAIS

A aplicação de subdoses de glifosato nas plantas de *S. saponaria* desencadeou uma série de mudanças visuais, anatômicas e fisiológicas. Observou-se que a viabilidade celular, evidenciada pelas alterações anatômicas, assim como os parâmetros de trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a*, foram prejudicados pelo glifosato, mesmo em doses reduzidas. Além disso, a presença de compostos fenólicos e o acúmulo de amido, verificados nos testes histoquímicos, sugerem a resposta da planta ao estresse oxidativo. Sendo assim, *S. saponaria* demonstra um bom potencial como bioindicadora de glifosato em estudos de monitoramento ambiental. Apesar disso, a planta apresentou uma tendência de estabilização dos parâmetros de trocas gasosas 15 dias após a aplicação do herbicida. No entanto, são necessárias pesquisas adicionais com aplicações repetidas para compreender os mecanismos de resposta dessas plantas, uma vez que o glifosato é aplicado várias vezes ao ano, em intervalos curtos.

No caso de *C. villosum*, a aplicação de doses reduzidas de glifosato não resultou em alterações visuais ou anatômicas significativas, nem na fluorescência da clorofila *a* ou nos teores de clorofila. No entanto, foram observadas mudanças em certos parâmetros de trocas gasosas (*A* e *E*) e autofluorescência da clorofila. *C. villosum* apresentou características de tolerância ao glifosato, embora os mecanismos subjacentes a essa tolerância necessitem de maior esclarecimento. Neste estudo, verificou-se uma possível redução na absorção do herbicida devido às barreiras foliares presentes nas plantas de piquiá, como a presença de tricomas em ambas as faces, o que pode contribuir para uma melhor tolerância aos efeitos tóxicos do glifosato em *C. villosum*.