

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE

Av.NS 15, 109 Norte Bloco 3, Sala 201 | 77001/090 | Palmas/TO

(63) 3232 8177 www.uft.edu.br/ | pgciamb@uft.edu.br



ANY KAROLINE CARDOSO DE MORAES

**USO POTENCIAL DE ANÁLISES FISIOLÓGICAS E
MORFOANATÔMICAS DE *Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae) COMO
SUBSÍDIO AO BIOMONITORAMENTO AMBIENTAL EM ÁREAS
EXPOSTAS AO GLIFOSATO**

Palmas/TO

2020

ANY KAROLINE CARDOSO DE MORAES

USO POTENCIAL DE ANÁLISES FISIOLÓGICAS E
MORFOANATÔMICAS DE *Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae) COMO
SUBSÍDIO AO BIOMONITORAMENTO AMBIENTAL EM ÁREAS
EXPOSTAS AO GLIFOSATO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências do Ambiente, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências do Ambiente.

Orientadora: Dra. Kellen Lagares F. Silva
Coorientador: Dr. Eduardo Andrea Lemus Erasmo

Palmas/TO

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

M827u MORAES, ANY KAROLINE CARDOSO DE .
USO POTENCIAL DE ANÁLISES FISIOLÓGICAS E
MORFOANATÔMICAS DE *Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae) COMO
SUBSÍDIO AO BIOMONITORAMENTO AMBIENTAL EM ÁREAS
EXPOSTAS AO GLIFOSATO. / ANY KAROLINE CARDOSO DE
MORAES. – Palmas, TO, 2020.

56 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do
Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-
Graduação (Mestrado) em Ciências do Ambiente, 2020.

Orientadora : KELLEN LAGARES FERREIRA SILVA

Coorientador: EDUARDO ANDREA LEMUS ERASMO

1. Agrotóxico. 2. Cerrado. 3. Jatobá-da-Mata. 4. Bioindicadores. I.
Título

CDD 628

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de
qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que
citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime
estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da
UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

ANY KAROLINE CARDOSO DE MORAES

USO POTENCIAL DE ANÁLISES FISIOLÓGICAS E
MORFOANATÔMICAS DE *Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae) COMO
SUBSÍDIO AO BIOMONITORAMENTO AMBIENTAL EM ÁREAS
EXPOSTAS AO GLIFOSATO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente Foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Ciências do Ambiente e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 25 de novembro de 2020.

Banca Examinadora

Prof. Dr^a. Kellen Lagares Ferreira Silva (Orientadora), UFT

Prof. Dr. Eduardo Andrea Lemus Erasmo (Coorientador), UFT

Prof. Dr. Lucas Barbosa e Souza, UFT

Prof. Dr^a. Luzimar Campos da Silva (externo)
Universidade Federal de Viçosa – UFV

PALMAS-TO, 2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que é presente na minha vida e manifesta seu amor por mim todos os dias, por meio do cuidado, das conquistas e realizações espirituais, pessoais e profissionais.

Aos meus pais João Moraes e Dilma Cardoso pelo carinho, amor e paciência, e por nunca medirem esforços para me ajudarem a chegar onde estou, e por cuidarem tão bem do meu filho Ibrahim enquanto estive ausente.

Ao meu filho amado Ibrahim Jordão, sempre paciente comigo e me compreendendo nos meus momentos de trabalho, estudo e ausência.

Agradeço a Alessandra Soares que me acolheu em sua casa com tanto carinho, durante a realização do Mestrado. Obrigada pelos conselhos, pelo carinho, pela atenção e por cada palavra de incentivo. Serei eternamente grata por tudo que fez por mim.

Agradeço de forma especial a minha orientadora Prof^a Dr^a Kellen Lagares Ferreira Silva, pelos ensinamentos, disponibilidade e pelo cuidado com cada um de seus orientandos. Obrigada pela compreensão, pela paciência e pelos conselhos. Admiro a sua forma de orientar, de ensinar e incentivar. Muito obrigada por ter acreditado em mim e na conclusão deste trabalho.

Agradeço ao Prof^o Dr. Eduardo Lemus pela coorientação e concessão do equipamento IRGA para as análises fisiológicas. Obrigada pelos seus ensinamentos.

Agradeço a todos os integrantes do grupo de pesquisa e do Laboratório de Anatomia Vegetal/UFT –, Victorina, Ana Beatriz, Lícia, Vanessa, Flávia, Clemilda e Rita, pelos dias de convivência, companheirismo, ajuda, incentivo em cada etapa do desenvolvimento desta pesquisa. Serei eternamente grata a cada um vocês!

Agradeço a Universidade Federal do Tocantins e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - pela concessão de bolsas para a realização deste trabalho.

Aos colegas e aos docentes do PPGCiamb-UFT, obrigada pela contribuição de todos vocês para o meu crescimento profissional e pessoal.

Agradeço ao Viveiro Cerrado Plantas em nome do Sr. João e sua esposa Sra Patrícia, pela parceria na produção das mudas.

Ao Profº Dr. Guilherme Benko, pelo suporte oferecido no viveiro da UFT e pelo empréstimo de material para a aplicação do herbicida.

Ao Sr. Caetano por gentilmente ter realizado a pulverização do herbicida nas mudas.

A técnica Rachel do Laboratório de Química/UFT, pelo auxílio durante as avaliações.

E por fim, agradeço a todos contribuíram direta e indiretamente para a construção deste trabalho.

RESUMO

O uso intensificado de glifosato em áreas de Cerrado tem causado diversos danos socioambientais. A utilização deste herbicida pode resultar na deriva para áreas adjacentes as lavouras afetando comunidades não-alvos. Objetivou-se analisar os efeitos fisiológicos e morfoanatômicos em *Hymenaea courbaril* Lindl (Fabaceae) (jatobá-da-mata) expostas ao glifosato, fornecendo subsídios para utilização da espécie, em campo, a fim de indicar possíveis características bioindicadoras da presença desse herbicida. Foram produzidas mudas a partir de sementes e aclimatadas em viveiro. O experimento consistiu em 8 tratamentos, com 4 repetições cada, incluindo 7 diferentes doses do glifosato: 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1200 g i.a. ha⁻¹ e o controle (0g). Foram realizadas análises fisiológicas nos mesmos folíolos das folhas avaliadas para: concentração de pigmentos cloroplastídicos, avaliação da permeabilidade de membranas e análises morfoanatômicas. As mudas de *H. courbaril*, apresentaram tendência a diminuir os valores dos parâmetros fisiológicos em A , g_s , E , EUA e EiC , e aumento de C_i e C_i/C_a indicando aumento na concentração de CO₂ no mesofilo foliar. O glifosato não provocou danos significativos no conteúdo de pigmentos cloroplastídicos, bem como na degradação da membrana. Danos visíveis foram encontrados 5 DAA a partir da dose 50g i.a ha⁻¹, indicando clorose foliar, sendo que aos 9 DAA, as gemas do meristema apical estavam necrosadas nessas plantas. Esses efeitos foram mais pronunciados nas plantas expostas a 1200g i.a. ha⁻¹. Houve redução significativa na espessura da epiderme abaxial nas plantas expostas a maior dose de glifosato. Foram observadas alterações anatômicas no mesofilo das plantas, dentre elas destaca-se a retração de membrana, mudança no formato dos cloroplastos e aumento de espaços intercelulares. Sendo assim, *Hymenaea courbaril* apresentou parâmetros que podem ser usados como caracteres bioindicadores para auxiliar no monitoramento de deriva de glifosato, em plantas não-alvo, presente nos fragmentos vegetais do Cerrado

Palavras-chaves: Agrotóxico. Cerrado. Jatobá-da-Mata. Bioindicadores.

ABSTRACT

The intensified use of glyphosate in Cerrado areas has caused several socio-environmental damages. The use of this herbicide can result in drift to areas adjacent to crops, affecting non-target communities. The objective of this study was to analyze the physiological and morphoanatomical effects on *Hymenaea courbaril* Lindl (Fabaceae) (jatobá-da-mata) exposed to glyphosate, providing subsidies for the use of the species in the field, in order to indicate possible bioindicative characteristics of the presence of this herbicide. Seedlings were produced from seeds and acclimated in a nursery. The experiment consisted of 8 treatments, with 4 repetitions each, including 7 different doses of glyphosate: 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1200 g a.i. ha⁻¹ and the control (0g). Physiological analyzes were performed on the same leaflets of the leaves evaluated for: concentration of chloroplast pigments, evaluation of membrane permeability and morphoanatomical analyzes. The *H. courbaril* seedlings tended to decrease the values of physiological parameters in A , G_s , E , EUA and EiC , and an increase in C_i and C_i/C_a indicating an increase in the concentration of CO₂ in the leaf mesophyll. Glyphosate did not cause significant damage to the content of chloroplast pigments or to membrane degradation. Visible damages were found 5 DAA from the dose 50g i.a ha⁻¹, indicating leaf chlorosis, and at 9 DAA, the buds of the apical meristem were necrotic in these plants. These effects were more pronounced in plants exposed to 1200g a.i. ha⁻¹. There was a significant reduction in the thickness of the abaxial epidermis in plants exposed to a higher dose of glyphosate. Anatomical changes were observed in the plant's mesophyll, among which the membrane retraction, change in the shape of the chloroplasts and the increase of intercellular spaces are highlighted. Thus, *Hymenaea courbaril* presented parameters that can be used as bioindicator characters to assist in the monitoring of glyphosate drift, in non-target plants, present in the Cerrado plant fragments.

Key-words: Pesticie. Cerrado. Jatobá-da-Mata. Bioindicators.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>A</i>	Taxa fotossintética
<i>Ca</i>	Concentração externa de CO ₂
<i>Ci</i>	Concentração interna de CO ₂
CO ₂	Dióxido de carbono
Ct	Cutícula
DAA	Dias após aplicação
<i>E</i>	Taxa de transpiração
EAB	Epiderme abaxial
EAD	Epiderme adaxial
EPSPs	5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase
<i>EiC</i>	Eficiência instantânea da carboxilação
<i>EUA</i>	Eficiência do uso de água
Fv	Feixe vascular
<i>gs</i>	Condutância estomática
HAA	Horas Após Aplicação
i.a.	Ingrediente ativo
IRGA	Analisador de gases infravermelho
PL	Parênquima lacunoso
PP	Parênquima paliçádico
RFA	Radiação Fotossinteticamente Ativa
St	Estômato
TLE	Taxa de liberação de eletrólitos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. METODOLOGIA	16
2.1 Condições de cultivo e delineamento experimental	16
2.2 avaliações	17
2.2.1 Avaliações Fisiológicas	17
2.2.2 Concentração de pigmentos cloroplastídicos	18
2.2.3 Avaliação da permeabilidade de membranas	18
2.2.4 Análises morfoanatômicas	19
2.2.5 Análises Micromorfométricas	20
2.2.6 Estatística	20
4. RESULTADOS.....	21
4.1 EFEITOS do glifosato sobre as trocas gasosas	21
4.2 CONCENTRAÇÃO DE PIGMENTOS CLOROPLASTÍDICOS	31
4.3 Efeito do glifosato sobre a permeabilidade de membranas.....	32
4.6 Análises Visuais	33
4.4 Efeitos do glifosato sobre a estrutura anatômica.....	36
5. DISCUSSÃO.....	39
6. CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

Os impactos decorrentes das atividades agrícolas e do uso intensivo de agrotóxicos têm se tornado preocupante e discutidos atualmente. Muitos desses impactos desencadeiam diversas problemáticas sociais, ambientais, econômicas, entre outras. No Tocantins o modelo de agronegócio e do sistema produtivo habitualmente empregado resulta muitas vezes em injustiças, que podem referir-se à concentração de terra e ao uso de bens comuns como a água e o solo, bem como também ao efeito dispersivo de insumos e resíduos (SOUZA e CHAVEIRO, 2019). Embora haja discurso dos benefícios trazidos pelos agrotóxicos, em relação à produtividade agrícola e, conseqüentemente, em termos econômicos, esses produtos são perigosos para a saúde humana e o para o meio ambiente (FERREIRA, 2015).

A expansão da fronteira agrícola e pecuária no Cerrado brasileiro tem levado à degradação deste domínio, nas últimas décadas. Alencar et al. (2020), realizaram um estudo aplicando uma combinação de técnicas de classificação para mapear diferentes tipos de vegetação nativa no Cerrado, usando uma longa série temporal de dados de satélite (1985–2017). Os Resultados desse estudo mostraram que 45% da faixa original do Cerrado não estavam cobertos por vegetação nativa em 2017.

Essa região tem se tornado o centro do agronegócio no Brasil, atraindo produtores e investimentos (HORVAT et al., 2015), sendo considerada como nova fronteira agrícola do país. Essa expansão agrícola vem acontecendo, incentivada principalmente pela apropriação intensiva e organizada de conhecimentos, tecnologias (VIEIRA-FILHO, 2016) e por programas políticos que contribuíram para o avanço do setor agrícola, como por exemplo, criado em 2015, o MATOPIBA, que visava o crescimento econômico do setor agrícola. O referido programa compreendia parte dos estados do Maranhão, Piauí, Bahia e todo território do estado do Tocantins (BRASIL, 2016), que tem como domínio o bioma Cerrado. Pitta e Vega (2017) enfatizaram que o MATOPIBA foi o marco legal para uma ocupação ainda mais intensa do Cerrado pelo capital financeiro e agroindustrial, visando à exportação de *commodities* agrícolas e minerais.

O Estado do Tocantins vem se destacando como produtor de grãos, sobretudo de soja, arroz, milho e feijão (CONAB, 2018). O modelo de desenvolvimento econômico do

Tocantins pode até ter pontos positivos, quando analisados numa visão mais ampla. Mas, de acordo com Silva e Grácio (2020), para as populações locais, especialmente para os povos originários, e para o meio ambiente, seus resultados são danosos. Com frequência está associado a conflitos, concentração fundiária, pressão sobre recursos naturais, desmatamento, diminuição significativa da fauna, comprometimento da flora, comprometimento de qualidade da água e impactos culturais. Estes conflitos também foram relatados por Souza e Chaveiro (2019) em comunidades quilombolas no Tocantins. Ressalta-se que o Cerrado possui um solo não muito fértil para agricultura, o que intensifica o uso dos insumos agrícolas para atingir a alta produtividade, que vem sendo obtida nessas áreas de solo mais pobres (PITTA e VEGA, 2017). Esses dados são preocupantes para a saúde humana que fica exposta a esses produtos químicos.

O consumo de agrotóxicos no Brasil vem apresentando crescente aumento nos últimos anos. Desde 2008, o Brasil tornou-se o maior consumidor de agrotóxico do mundo (CARNEIRO et al, 2015). Dados apontam que entre 2000 e 2018, a comercialização desses produtos no Brasil saltou de cerca de 160 mil toneladas para 550 mil toneladas, aumento de aproximadamente 240% em 18 anos (IBAMA, 2019). Neste mesmo período, foi observado também um aumento de aproximadamente 1365% na comercialização de agrotóxicos no estado do Tocantins (IBAMA, 2019).

Os agrotóxicos podem ser subdivididos em diversas categorias conforme a finalidade do uso. Os mais utilizados são inseticidas: para o combate aos insetos predadores, fungicidas: para o combate de fungos e herbicidas: para o controle de plantas que prejudicam o desenvolvimento da agricultura, conhecidas como ervas daninhas. Os herbicidas são amplamente utilizados em todo o mundo, por conta da eficácia e rapidez em controlar diversas espécies de plantas daninhas, que oferecem sérios riscos à produtividade na agricultura (TOLEDO et al., 1996; YAMASHITA et al., 2009).

O glifosato é o herbicida mais utilizado no Brasil e no Estado do Tocantins (IBAMA, 2019). O uso do glifosato nas monoculturas é realizado por meio da pulverização manual ou mecânica, realizadas por pulverizadores costais, tratores ou aviões de pequeno porte especializados para tal (ANDEF, 2010). Quando pulverizado,

parte do agrotóxico aplicado na lavoura pode perder-se para o ambiente, principalmente pelo efeito de deriva (CUNHA, 2008).

A deriva ocorre quando o produto pulverizado atinge áreas não-alvos. As micropartículas do agrotóxico são carregadas pelo vento, atingindo e contaminando florestas, áreas vizinhas e zonas residenciais, podendo ser maiores ou menores a depender dos seguintes fatores: método de aplicação, temperatura, umidade do ar, velocidade e direção do vento (SILVA et al., 2016). O uso indevido dos agrotóxicos pode potencializar o processo de deriva e gerar contaminações ambientais (FERREIRA, 2015), sendo encontrados resíduos em águas subterrâneas e superficiais (GRILLO et al., 2014; CAMACHO et al., 2016), vegetação nativa (ARAÚJO, 2018), além de ocasionar problemas relacionados à saúde animal e humana, como intoxicações (NEVES e BELLINI, 2013), cânceres e problemas de fecundidade (CARNEIRO et al., 2015), problemas cardiovasculares (MOON et al., 2018), danos aos pulmões e rins (GAWARAMMANA et al., 2018), câncer (SCHINASI et al., 2015; BOCCOLINI et al., 2017) e até mesmo suicídios (BOMBARDI, 2017).

Quanto ao glifosato, a deriva desse herbicida é preocupante, pois ele não tem seletividade e é altamente ativo em espécies de plantas sensíveis às pequenas doses, e ainda, sua aplicação é realizada várias vezes ao ano, no pré e pós-emergente das culturas, por vias aérea ou terrestre (REDDY et al., 2010). Carvalho et al. (2018) enfatizam que o uso do glifosato é de grande preocupação no campo da ecotoxicologia, devido à alta solubilidade em água e seus efeitos nocivos em organismos aquáticos. Os mesmos autores avaliaram os efeitos genotóxicos e mutagênicos do glifosato Roundup Original® em girinos de *Dendropsophus minutus*, e constaram que a espécie é extremamente sensível a baixas concentrações de glifosato, relacionando-se os efeitos à genotoxicidade e à mutagenicidade.

O glifosato foi classificado, pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (*International Agency for Research on Cancer - IARC*), como carcinogênico em humanos para o Linfoma Não Hodgkin (LNH) (IARC, 2015). LNH é um tipo de câncer que tem sido associado ao contato prolongado com os agrotóxicos (SCHINASI et al., 2015). Um estudo realizado por Mesnage et al. (2017) mostrou que o herbicida

Roundup Original® à base de glifosato causa doença hepática gordurosa não alcoólica em ratos (fisiologia semelhante à dos humanos), em doses muito baixas.

Na União Europeia a pulverização aérea é proibida desde 2009, em função do potencial de contaminação ambiental e da vulnerabilidade à que a população fica exposta nessa prática, conforme estabelecido na Diretiva 2009/128/EC13, artigo 9º (BOMBARDI, 2017). Diferentemente, a legislação federal brasileira que regula os agrotóxicos, não proíbe pulverização aérea e, as técnicas e instruções de aplicação nem sempre são adequadas e respeitadas. E isto, pode potencializar o processo de deriva e gerar contaminações ambientais (FERREIRA, 2015).

No Brasil, existe Limite Máximo de Resíduo (LMR) do agrotóxico glifosato aceitável, tanto em alimentos, quanto na água, e quando comparado com a União Europeia observa-se uma disparidade abissal dos níveis considerados toleráveis, do ponto de vista da saúde humana. Na soja, por exemplo, o LMR no Brasil do glifosato é 10 mg/kg, 200 (duzentas) vezes maior quando comparado ao LMR da União Europeia que é de 0,05 mg/kg (BOMBARDI, 2017). Já na água essa diferença é ainda maior, pois o limite de glifosato permitido na água potável do Brasil é 500µg/l, 5000 (cinco mil) vezes superior ao limite estabelecido na União Europeia que é de 0,1µg/L. Esses dados demonstram que na legislação brasileira, a Portaria de Consolidação N.05/2017 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017) que trata sobre a potabilidade da água, está bem discrepante em relação aos parâmetros determinados e utilizados no exterior.

Nas plantas o glifosato é não-seletivo, com ação por um extenso espectro de plantas daninhas (SCHRÜBBERS et. al., 2014), de ação sistêmica e pós-emergente. O mecanismo de ação do herbicida glifosato atua inibindo a atividade da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), responsável por catalisar as reações da síntese dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano (COLE, 2009; RODRIGUES, 1994). Essa inibição da EPSPS causa diferentes tipos de distúrbios nas plantas e muitas vezes levam à morte (Yannicari et al., 2012). Sua absorção acontece, basicamente, na região clorofilada das plantas e sua translocação é preferencialmente realizada pelo floema até os tecidos meristemáticos (GALLI e MONTEZUMA, 2005). Como as plantas são adaptáveis e normalmente respondem com flexibilidade às mudanças de metabolização celular, que foram induzidas por condições ambientais

variáveis (FRÄNZLE, 2003), a utilização de espécies vegetais nativas podem colaborar nos estudos de deriva de herbicidas. O uso de plantas como bioindicadoras, na área de poluição do ar, pode ser uma alternativa para estudos sobre a verificação de moléculas tóxicas, como as de herbicidas, nesse ambiente (SILVA et. al. 2016) e sobre os possíveis danos dessas moléculas a esses organismos. O biomonitoramento, utilizando espécies vegetais, consiste em obter respostas das plantas, na verificação de mudanças no ambiente, e acompanhar sua evolução ao longo do tempo (DE TEMMERMAN et. al., 2004). Para tanto, é necessário estabelecer um padrão de respostas morfoanatômicas e fisiológicas de variadas espécies, que servirão de base para estudos futuros.

A folha tem sido o órgão mais estudado para a avaliação do impacto causado pelos poluentes na vegetação (AZEVEDO, 1995), pois está mais sujeito à ação dos fatores ambientais. Diversos critérios foliares podem ser utilizados para qualificar e quantificar a influência dos poluentes sobre as plantas. O estudo das alterações anatômicas e fisiológicas de plantas expostas à poluentes têm contribuído com informações sobre a qualidade do ambiente e como subsídio para comparação da sensibilidade entre espécies, em resposta à poluição atmosférica (DE TEMMERMAN et al., 2004; SANT'ANNA-SANTOS e AZEVEDO 2007; 2010; ROSSI et. al, 2016).

Estudos recentes em ambientes controlados têm demonstrado os potenciais efeitos e danos da deriva de herbicidas em espécies nativas da flora. Machado et. al. (2013) verificaram que as espécies *Kielmeyera lathrophyton* Saddi (Calophyllaceae), *Solanum lycocarpum* A.St.-Hil (Solanaceae) e *Bowdichia virgilioides* Kunth (Fabaceae), apresentaram sintomas de intoxicações ao glifosato, como clorose, necrose, redução da epiderme e do parênquima. Oliveira (2014) verificou que plantas jovens de *B. virgilioides*, submetidas aos herbicidas paraquat e glifosato, apresentaram alterações morfométricas e anatômicas. Em estudo com *Cenostigma macrophyllum* Tul. (Fabaceae) (SANTOS et al., 2020) e *Miracrodruon urundeuva* Fr Allemão (Anacardiaceae) (SANTOS, 2015), submetidas a glifosato, foi constatado que as plantas também tiveram sintomas semelhantes aos encontrados por Oliveira (2014).

No presente estudo, foram avaliadas as respostas de plantas de *Hymenaea courbaril* Lindl (Fabaceae), conhecida popularmente como jatobá-da-mata, submetidas

a diferentes doses do glifosato, que variaram de subdoses (a fim de simular derivas) a doses indicadas do herbicida para o controle de espécies daninhas nos cultivares, com o objetivo de avaliar as principais respostas fisiológicas e morfoanatômicas de *Hymenaea courbaril* quando submetidas ao glifosato. A hipótese do presente trabalho foi que as plantas de *Hymenaea courbaril*, quando expostas a diferentes doses do glifosato, em ambiente controlado, podem indicar padrões de respostas passíveis de subsidiar o uso destas plantas como bioindicadoras da presença deste herbicida, em plantas de áreas de Cerrado. O fato destas prováveis características indicarem a presença deste herbicida nas plantas, poderia favorecer comunidades que vivem em regiões, onde a deriva desse herbicida é uma realidade, uma vez que esta planta é muito utilizada por comunidades locais.

2. METODOLOGIA

2.1 CONDIÇÕES DE CULTIVO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Hymenaea courbaril Lindl, conhecida popularmente como jatobá-da-mata, pertence à família Fabaceae, subfamília Caesalpinoideae. É uma planta semidecídua, heliófita, pouco exigente em fertilidade do solo, geralmente ocorrendo em terrenos bem drenados (LORENZI, 2002). É amplamente distribuída pelo território brasileiro, no domínio Cerrado (FLORA DO BRASIL, 2020), com importância econômica e medicinal, abundante no estado do Tocantins.

O estudo foi conduzido inicialmente no viveiro Cerrado Plantas localizado no Polo de Fruticultura Irrigado São João, Porto Nacional – TO. As mudas de *Hymenaea courbaril* Lindl (Fabaceae) foram produzidas a partir de sementes (ARBOCENTER®). Foram plantadas, em setembro de 2018, em bandejas de plástico contendo areia. Durante a germinação, as bandejas com as sementes foram mantidas em estufa e regadas diariamente a cada 1 hora, no intervalo das 09h00min às 16h00min por 5 min, por meio de um sistema automatizado de irrigação. Depois de germinadas foram transferidas para sacos plásticos pretos com 2kg de substrato, constituído por solo de

Cerrado e mantidas em local coberto com sombrite 50%. Este substrato possui as seguintes características químicas: pH em água: 5,0; Ca: 0,26; Mg: 0,17; K⁺: 0,04; Al⁺: 0,30; H⁺: 6,20; S: 14,26; P: 0,22; Fe⁺: 41,39.

Em fevereiro de 2019, as mudas foram transferidas para o viveiro localizado no campus Palmas da UFT. As mesmas foram aclimatadas por 77 dias, até o momento da aplicação do herbicida.

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 8 x 8, sendo 8 doses e 8 datas, com 4 repetições. Os tratamentos corresponderam a doses do Glifosato Roundup Original® DL (370 g/L equivalente ácido), importado pela Monsanto do Brasil Ltda., sendo elas: 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1200 g i. a. ha⁻¹ e o controle (0 g i. a. ha⁻¹), de acordo com as doses utilizadas em plantio convencional de áreas agrícolas. As doses do herbicida foram aplicadas, após as mudas atingirem no mínimo 30 cm de altura.

Para aplicação do herbicida foi utilizado um pulverizador costal, munido de barra com uma ponta de pulverização, com bico do tipo leque. A pressão de serviço utilizada foi a de 35 kgf.cm⁻², proporcionando um volume de calda de 200 L ha⁻¹. O herbicida foi pulverizado uma única vez, fora do viveiro, no mesmo dia em todos os tratamentos. Aproximadamente 01h30min após a aplicação, as mudas foram transportadas novamente para o viveiro.

2.2 AVALIAÇÕES

2.2.1 Avaliações Fisiológicas

Foram realizadas 8 avaliações fisiológicas, 72, 120, 168, 216, 264, 312, 360 e 408 HAA (Horas Após Aplicação) do herbicida das seguintes variáveis: taxa fotossintética (A – $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (G_s – $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), carbono interno (C_i – $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), taxa de transpiração (E – $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a). Através dos dados fisiológicos foram quantificadas a eficiência no uso de água (EUA) (A/E) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1})/(\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1})^{-1}$] e a eficiência instantânea da carboxilação (EiC) (A/C_i) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}) (\mu\text{mol mol}^{-1})^{-1}$]

(MACHADO et al. 2005, MELO et al. 2009). Utilizou-se o analisador portátil de gás infravermelho (IRGA, modelo LI- 6400 XT, LI-COR, inc. Lincoln, NE, EUA).

As mensurações foram feitas sob concentração de CO₂, temperatura e vapor de H₂O do ambiente do local de estudo, sendo o ar de referência homogeneizado em um galão de 5L antes de alcançar a câmara foliar e, a Radiação Fotossinteticamente Ativa (RFA), foi de 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e a temperatura da câmara foi de 30°C. Após a calibração do aparelho, foram realizados 3 registros sequenciais por folíolo, cuja média foi considerada uma medida. Estas avaliações foram realizadas nos folíolos localizados entre os 2º e 3º nós de cada indivíduo, contados a partir do meristema apical.

2.2.2 Concentração de pigmentos cloroplastídicos

O conteúdo de pigmentos cloroplastídicos foi determinado por meio da extração dos mesmos, com dimetilsulfóxido (DMSO) mediante ajustes da metodologia descrita por (Kuki et al., 2005). Foram coletados, de cada repetição, três discos foliares utilizando um furador de metal de 6 mm de diâmetro, evitando-se a nervura central. Os discos foram incubados, em frascos de vidro protegidos da luz por papel alumínio, contendo 5 mL de DMSO saturado com CaCO₃. As amostras foram levadas ao banho-maria à temperatura de 65 °C, por 24 horas. Em seguida foram realizadas as leituras em espectrofotômetro, modelo HACH DR 5000. Os comprimentos de onda, as equações e os cálculos para a determinação do conteúdo de clorofilas *a* (480 nm), *b* (649 nm) e carotenoides (665 nm) foram conforme metodologia de Wellburn (1994). A degradação da clorofila foi avaliada por espectrofotometria, adotando o índice de feofitinação (IF = A435/A415), segundo Ronen e Galun (1984).

2.2.3 Avaliação da permeabilidade de membranas

A permeabilidade de membranas foi determinada por meio da taxa de liberação de eletrólitos (TLE), segundo adaptação da metodologia descrita por Vasquez-Tello et al. (1989) e Pimentel et al. (2002). Foram coletados 15 discos foliares, de 6 mm de diâmetro do folíolo avaliado, em cada repetição. Os discos foram lavados previamente

com água e então submersos em 30 mL de água deionizada, em frascos âmbar, por um período de 24 horas, à temperatura ambiente. Após este período, foi mensurada a condutividade livre (CL, $\mu\text{S}/\text{cm}$), utilizando um condutivímetro EC Basic AK52. Posteriormente, os mesmos frascos foram colocados em estufa por uma hora, sob temperatura de 100 °C e, após o resfriamento em temperatura ambiente, foi medida a condutividade total (CT, $\mu\text{S}/\text{cm}$). Para evitar erro nos resultados, o sensor foi lavado entre cada leitura, com água deionizada. A taxa de liberação de eletrólitos foi obtida utilizando a fórmula $\text{TLE (\%)} = \text{CL}/\text{CT} \times 100$.

2.2.4 Análises morfoanatômicas

As análises visuais da morfologia externa das plantas expostas ao herbicida foram avaliadas diariamente durante 30 dias após aplicação (DAA) do glifosato. Nesse período, foram observadas as alterações morfológicas por todo o corpo vegetal, principalmente em suas folhas. Os efeitos visuais apresentados pelas mudas foram analisados e registrados por meio de fotografia, através de câmera digital.

Para análises anatômicas foram coletados, aos 408 HAA do herbicida, os folíolos completamente expandidos, sendo os mesmos utilizados nas avaliações fisiológicas, e selecionados cortes da região mediana, mais próximos da borda, evitando a nervura.

As amostras para microscopia de luz foram fixadas em solução de FAA₅₀ (Formaldeído, Ácido acético e Álcool etílico a 50%) durante 24 horas sob vácuo. Ao final deste período, deu-se início a desidratação em série etílica crescente do álcool 60% para o 70%, onde ficaram armazenadas em estoque. Ao fim desta etapa, as amostras foram desidratadas em um intervalo de tempo de 1 hora para cada troca, em série etílica do álcool 80% ao 100% e posteriormente em série etílica-butílica nas concentrações 3:1, 1:1 e 1:3 respectivamente, e butílico absoluto. As amostras foram submetidas em álcool butílico + parafina (1:1) permanecendo em “*over night*”, e posteriormente submetidas a duas trocas de parafina, por 1 hora cada. Após o processo de infiltração, as amostras foram emblocadas em parafina + cera de abelha (8%), seguindo orientação do plano de corte. Após o resfriamento, os blocos foram colocados

em suporte de madeira, onde foram confeccionados quatro blocos para cada tratamento.

Os cortes transversais foram feitos em micrótomo rotativo semi-motorizado, modelo RM2245 (Leica, Wetzlar - GER), a 12µm de espessura e aderidos à lâmina com adesivo de *Haupt* (HAUPT, 1930) e formalina a 5%. Foram confeccionadas 5 lâminas, com aproximadamente 8 cortes para cada bloco. Posteriormente, os cortes foram desparafinizados, em série xilólica-etanólica, nas concentrações 3:1, 1:1 e 1:3, hidratados em série etílica do álcool 100% ao 30% e corados em Azul de Alcian e Safranina 1%, por 40 min e 15 min respectivamente – metodologia adaptada de Gerlach (1984). Em seguida, as lâminas foram lavadas em água destilada e desidratadas em série etílica do álcool 30% ao 100%, posteriormente submetidas a outra série etanólica-xilólica 3:1, 1:1 e 1:3, e, montadas com bálsamo do Canadá, entre lâmina e lamínula. As imagens foram capturadas pelo microscópio óptico, modelo Leica DM 500, com câmera Leica ICC50 HD acoplada (Leica, Wetzlar - GER).

2.2.5 Análises Micromorfométricas

Para a realização das análises micromorfométricas escolheu-se, aleatoriamente, 3 lâminas e 3 cortes em cada lâmina, de cada indivíduo, em todos as coletas, onde foram capturadas imagens, com uso do microscópio óptico Leica DM 500, com câmera Leica ICC50 HD acoplada. De porte das imagens, realizou-se mensurações utilizando o software de análise de imagens ANATI QUANTI, versão 2.0 para Windows® (AGUIAR et. al., 2007). Em cada corte foram realizadas 05 medidas, em locais distintos, das espessuras da epiderme, nas faces adaxial e abaxial, do parênquima paliçádico e lacunoso. Os dados foram expressos em médias.

2.2.6 Estatística

Os dados coletados foram submetidos ao teste de média com significância aos níveis de 5% e 1% de probabilidade pelo teste Scott-Knott utilizando o programa Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011).

4. RESULTADOS

4.1 EFEITOS DO GLIFOSATO SOBRE AS TROCAS GASOSAS

Mediante a Análise de Variância, constatou-se que houve efeito isolado das doses do glifosato e das horas nas variáveis *A*, *gs*, *Ci*, *E*, *Ci/Ca* e *EiC* em plantas de *Hymenaea courbaril* L, não havendo interação significativa doses x horas (Tabela 01). Já na *EUA*, foi observado efeito significativo na interação doses x horas (Tabela 01).

Tabela 01. Resumo da análise de variância para *fotossíntese* (*A*), condutância estomática (*gs*), carbono interno (*Ci*), transpiração (*E*), relação carbono interno e carbono do ambiente (*Ci/Ca*), eficiência no uso da água (*EUA*) e eficiência instantânea da carboxilação (*EiC*) em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas a diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após a Aplicação – HAA.

FV ¹	GL ²	Quadrados Médios						
		<i>A</i>	<i>gs</i>	<i>Ci</i>	<i>E</i>	<i>Ci/Ca</i>	<i>EUA</i>	<i>EiC</i>
Doses	7	77,91**	0,0147**	5863,8**	3,23**	0,068**	10,55**	0,00360**
Horas	7	3,60*	0,0059**	770,79**	2,33**	0,025**	3,31**	0,00010*
Doses x Horas	49	1,38 ^{ns}	0,0007 ^{ns}	141,39 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,22**	0,00004 ^{ns}
Média Geral		7,21	0,13	174,40	2,74	0,63	2,69	0,04
CV ³ (%)		16,67	27,71	6,02	22,03	6,53	12,28	16,65

⁽¹⁾ Fontes de variação; ⁽²⁾ Graus de liberdade; ^(*) significativo pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade; ^(**) significativo pelo teste Scott-Knott a 1% de probabilidade; ^(ns) não significativo; ⁽³⁾ coeficiente de variação.

Observa-se na Figura 1, que a fotossíntese (*A*) das plantas avaliadas apresentou um comportamento relativamente constante durante o tempo avaliado. No entanto, nota-se uma tendência de diminuição da taxa fotossintética, com o passar do tempo e aumento das doses do herbicida. Com 120 HAA (horas após a aplicação) do herbicida, as plantas expostas às dosagens a partir de 50 g i.a. ha⁻¹ tiveram efeito na *A*, quando comparado ao controle. Apesar das plantas do controle não terem tido aumento

estatisticamente significativo ao longo do tempo de análise, numericamente houve um incremento de 25% (Tabela 02). Na dose 800 g i.a. ha⁻¹ houve redução da A de 14% em 408HAA, enquanto que na dose 1200 g i.a. ha⁻¹ a redução na A foi de 38% em 312HAA, quando comparadas ao controle.

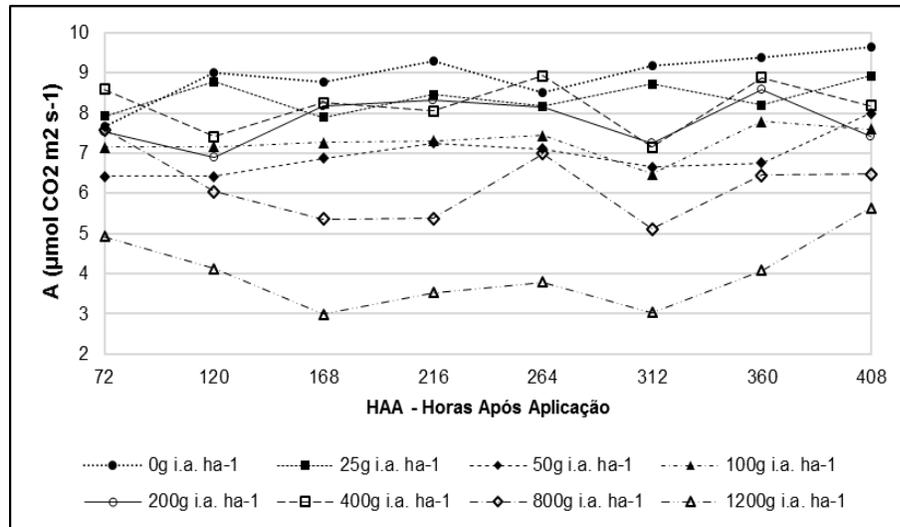


Figura 01- Taxa fotossintética (A), em plantas de *Hymenaea courbaril* L., submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

A taxa fotossintética das plantas avaliadas não apresentou diferenças significativas ao longo do tempo, dentro de uma mesma dosagem, exceto nas dosagens de 800g e 1200 g i.a. ha⁻¹ do glifosato, que, no tempo a partir de 120HAA, já teve diferença estatística em relação a 72 HAA (Tabela 02). Houve até uma tentativa de recuperação da planta ao longo do tempo na dosagem tanto de 800, quanto de 1200 g i.a. ha⁻¹, uma vez que ao longo do tempo teve uma queda e uma tentativa de retorno ao início, mas dentro da mesma dosagem. É evidente ainda que, em cada tempo de avaliação, as plantas do controle (0 g i.a. ha⁻¹) e as expostas à dose de 25 g i.a. ha⁻¹ do glifosato não se diferenciaram significativamente, porém a fotossíntese das plantas expostas à maior dose (1200 g i.a. ha⁻¹) se diferenciou estatisticamente das plantas do controle em todos os tempos de avaliação, com valores que variaram de 4,92 a 5,64 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e 7,66 a 9,64 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente (Tabela 02).

Tabela 02: Valores médios da taxa fotossintética (A): em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

Taxa fotossintética A								
DOSE g i.a. ha ⁻¹	72 HAA	120 HAA	168 HAA	216 HAA	264 HAA	312 HAA	360 HAA	408 HAA
0	7,66 aA	9,01 aA	8,78 aA	9,29 aA	8,51 aA	9,18 aA	9,38 aA	9,64 aA
25	7,92 aA	8,78 aA	7,88 aA	8,46 aA	8,16 aA	8,72 aA	8,2 aA	8,93 aA
50	6,41 bA	6,41 cA	6,86 aA	7,25 aA	7,11 aA	6,65 bA	6,75 bA	7,99 aA
100	7,14 aA	7,16 bA	7,26 aA	7,31 aA	7,43 aA	6,47 bA	7,78 aA	7,60 aA
200	7,53 aA	6,90 bA	8,17 aA	8,31 aA	8,15 aA	7,25 bA	8,59 aA	7,43 aA
400	8,59 aA	7,40 bA	8,26 aA	8,05 aA	8,92 aA	7,15 bA	8,87 aA	8,18 aA
800	7,58 aA	6,03 cB	5,35 bB	5,38 bB	6,99 aA	5,10 cB	6,44 bA	6,48 bA
1200	4,92 bA	4,11 dB	2,98 cB	3,52 cB	3,78 bB	3,02 dB	4,07 cB	5,64 bA

*As médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$).

Em relação ao parâmetro de condutância estomática (Gs), das plantas de *Hymenaea courbaril* após terem sido expostas a diferentes doses de glifosato, foi verificado que houve mudança estatística significativa (Tabela 03) somente na dosagem de 400 g i.a. ha⁻¹ ao longo do tempo, apresentando valores de abertura estomática que variaram de 0,20 a 0,15 mol H₂O m⁻² s⁻¹ (Figura 02).

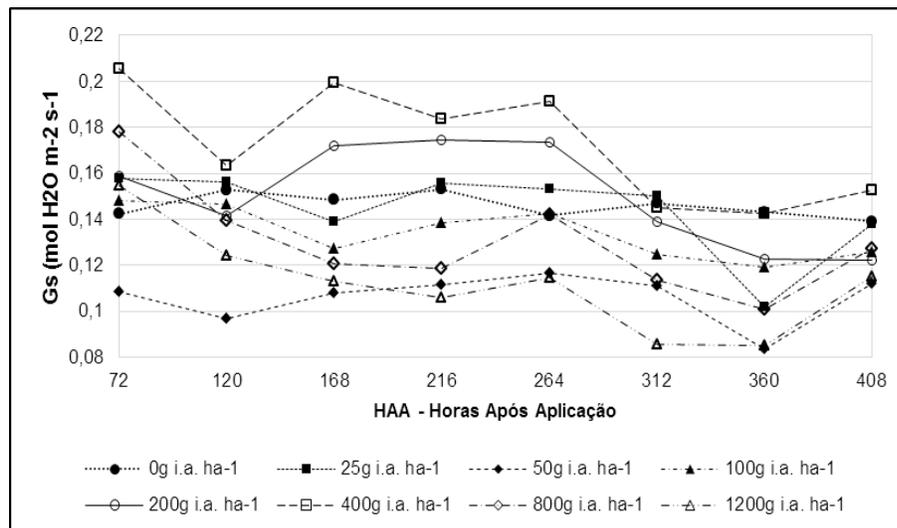


Figura 02- Condutância estomática (Gs): em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

Na tabela 03, verifica-se que na avaliação em 168 HAA do herbicida, a condutância estomática das plantas expostas às doses de 200 e 400 g i.a. ha⁻¹ do

glifosato, se diferiram estatisticamente das plantas do controle, com acréscimo de 22,42% e 35,71%, respectivamente. Já em 216 HAA do herbicida, a abertura estomática das plantas expostas às doses de 200 e 400 g i.a.ha⁻¹ do glifosato se igualaram estatisticamente as plantas do controle e as expostas a dose de 25 g i.a.ha⁻¹. Nos demais períodos avaliados a abertura estomática das plantas do tratamento controle e as expostas a doses do glifosato não obtiveram diferenças estatísticas entre si, em cada tempo avaliado (Tabela 03).

Tabela 03: Valores médios de Condutância estomática – (Gs) em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação – HAA.

Condutância estomática Gs								
DOSE g i.a. ha ⁻¹	72 HAA	120 HAA	168 HAA	216 HAA	264 HAA	312 HAA	360 HAA	408 HAA
0	0,14 aA	0,15 aA	0,14 bA	0,15 aA	0,14 aA	0,14 aA	0,14 aA	0,13 aA
25	0,15 aA	0,15 aA	0,13 bA	0,15 aA	0,15 aA	0,14 aA	0,10 aA	0,13 aA
50	0,10 aA	0,09 aA	0,10 bA	0,11 bA	0,11 aA	0,11 aA	0,08 aA	0,11 aA
100	0,14 aA	0,14 aA	0,12 bA	0,13 bA	0,14 aA	0,12 aA	0,11 aA	0,12 aA
200	0,15 aA	0,14 aA	0,17 aA	0,17 aA	0,17 aA	0,13 aA	0,12 aA	0,12 aA
400	0,20 aA	0,16 aB	0,19 aA	0,18 aA	0,19 aA	0,14 aB	0,14 aB	0,15 aB
800	0,17aA	0,13 aA	0,12 bA	0,11 bA	0,14 aA	0,11 aA	0,10 aA	0,12 aA
1200	0,15 aA	0,12 aA	0,11 bA	0,10 bA	0,11 aA	0,08 aA	0,08 aA	0,11 aA

*As médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05).

A quantidade estimada de carbono interno das plantas (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), em função da aplicação de doses de glifosato *Hymenaea courbaril*, em diferentes horas após aplicação, está descrita na Figura 03. Observa-se que a maior quantidade de C_i estimada foi nas plantas expostas à maior dose (1200 g i.a. ha⁻¹), em todos os tempos avaliados, sendo que o incremento máximo obtido foi com 264HAA, representando um aumento de 33%, quando comparado às plantas controle. As plantas expostas à dose de 50 g i.a. ha⁻¹ apresentaram menores valores de C_i , em quase todos os períodos avaliados.

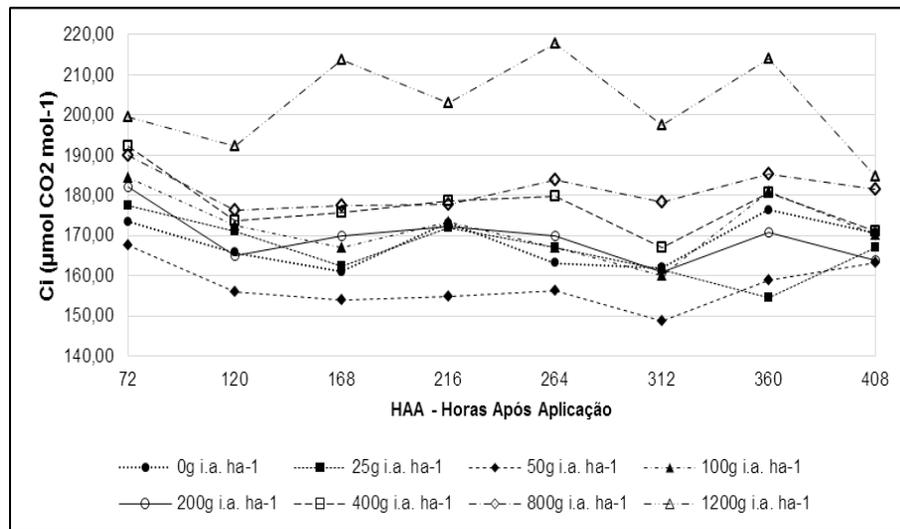


Figura 03- Taxa de Carbono interno (*C_i*) em plantas de *Hymenaea courbaril* L., submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

Os valores referentes de *C_i* das plantas expostas a dose 50 g i.a. ha⁻¹ variaram de 167,6 a 163,18 μmol CO₂ mol⁻¹, sendo os menores valores registrados em todo período avaliado, em relação as demais doses. Em contrapartida, nas plantas expostas à dose de 1200 g i.a. ha⁻¹, os valores de *C_i* variaram entre 199,53 a 184,64 μmol CO₂ mol⁻¹, se diferenciando estatisticamente de forma significativa em todos os tempos de avaliação, em relação às plantas controle que registraram valores de *C_i* variando de 173,52 a 170,77 μmol CO₂ mol⁻¹ (Tabela 04).

Tabela 04: Valores médios do Carbono interno (*C_i*) em plantas de *Hymenaea courbaril* L., submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

Carbono interno <i>C_i</i>								
DOSE g i.a. ha ⁻¹	72 HAA	120 HAA	168 HAA	216 HAA	264 HAA	312 HAA	360 HAA	408 HAA
0	173,52 bA	165,82 bA	160,94 cA	173,14 bA	163,13 cA	162,01 cA	176,39 bA	170,77 bA
25	177,46 bA	170,96 bA	162,36 cA	172,09 bA	166,90 cA	161,53 cA	154,69 cA	167,09 bA
50	167,67 bA	156,09 bA	153,87 cA	154,76 cA	156,34 cA	148,73 cA	158,96 cA	163,18 bA
100	184,44 aA	172,48 bB	167,11 bB	173,39 bB	167,15 cB	159,94 cB	181,09 bA	170,26 bB
200	182,24 bA	164,97 bA	170,00 bA	172,37 bA	170,07 cA	161,05 cA	170,72 bA	163,92 bA
400	192,24 aA	173,71 bA	175,81 bA	178,53 bA	179,79 bA	167,14 cA	180,52 bA	171,03 bA
800	190,09 aA	176,28 bA	177,58 bA	177,85 bA	183,88 bA	178,29 bA	185,24 bA	181,43 aA
1200	199,53 aB	192,38 aB	213,77 aA	203,10 aB	217,79 aA	197,46 aB	214,14 aA	184,64 aB

*As médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$).

Quanto aos valores da taxa de transpiração (E) (Figura 04) das plantas de *Hymenaea courbaril*, após terem sido expostas a diferentes doses de glifosato, foi verificado que houve mudança estatística significativa somente nas dosagens 800 e 1200g i.a. ha⁻¹ ao longo do tempo de avaliação (Tabela 05).

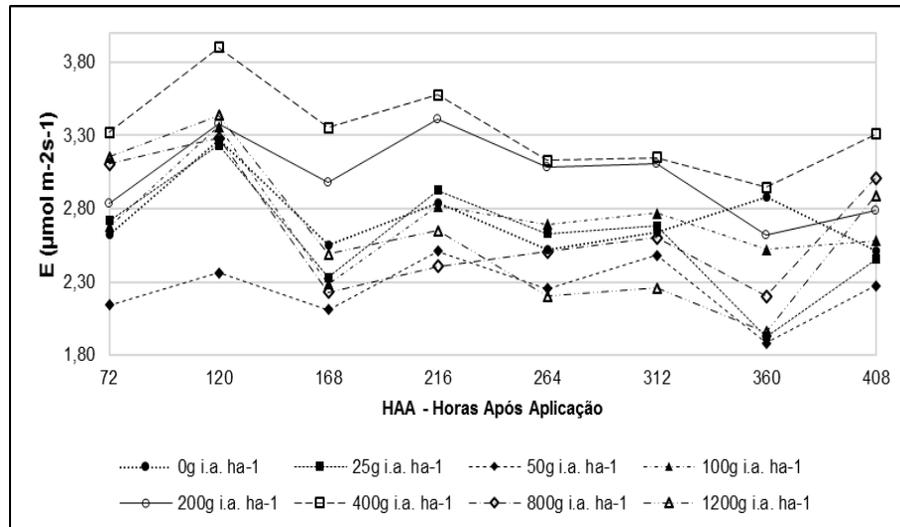


Figura 04- Taxa da Transpiração (E) em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

De acordo com a Tabela 05, apenas a transpiração das plantas exposta a dose de 100 g i. a. ha⁻¹ do glifosato não se diferiram estatisticamente das plantas controle, em nenhum tempo de avaliação. Nas avaliações com 168 e 216HAA do herbicida, as plantas expostas as doses 200 g i. a. ha⁻¹ e 400 g i. a. ha⁻¹, obtiveram os maiores valores de transpiração, se diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Com 360 HAA do herbicida, as plantas expostas as doses de 25, 50, 800 e 1200 g i. a. ha⁻¹ do glifosato apresentaram uma redução de 33%, 34,7%, 23,61% e 32% na transpiração, respectivamente, evidenciando diferença significativa em relação as plantas controle. No último dia de avaliação (408 HAA do herbicida) a taxa de transpiração das plantas do controle e as expostas as doses do glifosato, se igualaram estatisticamente.

Tabela 05: Valores médios da Transpiração (E) em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

Transpiração E								
DOSE g i.a. ha ⁻¹	72 HAA	120 HAA	168 HAA	216 HAA	264 HAA	312 HAA	360 HAA	408 HAA
0	2,62 aA	3,27 aA	2,55 bA	2,84 bA	2,52 aA	2,64 aA	2,88 aA	2,51 aA
25	2,72 aA	3,23 aA	2,33 bA	2,92 bA	2,63 aA	2,68 aA	1,93 bA	2,45 aA
50	2,14 aA	2,36 aA	2,11 bA	2,51 bA	2,26 aA	2,48 aA	1,88 bA	2,27 aA
100	2,68 aA	3,36 aA	2,29 bA	2,82 bA	2,70 aA	2,77 aA	2,52 aA	2,58 aA
200	2,83 aA	3,38 aA	2,98 aA	3,41 aA	3,08 aA	3,11 aA	2,62 aA	2,78 aA
400	3,32 aA	3,90 aA	3,36 aA	3,58 aA	3,13 aA	3,15 aA	2,95 aA	3,31 aA
800	3,11 aA	3,28 aA	2,23 bB	2,41 bB	2,51 aB	2,60 aB	2,20 bB	3,01 aA
1200	3,15 aA	3,44 aA	2,49 bB	2,65 bB	2,20 aB	2,26 aB	1,96 bB	2,89 aA

*As médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$).

Percebeu-se um aumento na relação da concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) nas plantas, conforme aumentaram-se as doses de glifosato, onde na maior dose: 1200 g i. a. ha⁻¹ houve um aumento de 30% em relação a dose 0 g i. a. ha⁻¹, com 168HAA (Figura 05). No entanto, houve uma diminuição da C_i/C_a ao longo do tempo, nas plantas expostas às diferentes doses, onde: na dose 1200 g i. a. ha⁻¹ reduziu 14%, quando comparado ao primeiro tempo avaliado (72HAA).

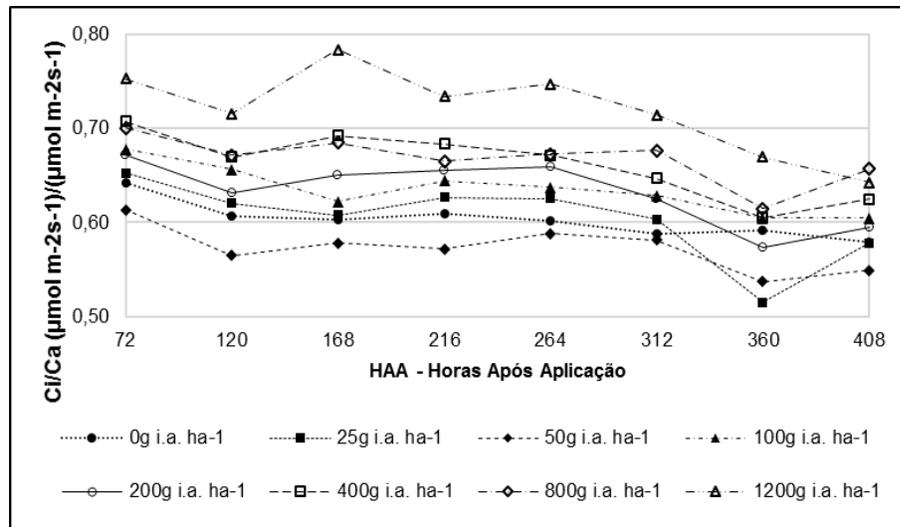


Figura 05 - Concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a) em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas a diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

De acordo com a tabela 06 a Ci/Ca das plantas avaliadas foi afetada significativamente, a partir da dose 400 g i. a. ha^{-1} desde o primeiro tempo de avaliação (72HAA), em relação ao controle. As plantas expostas à maior dose 1200 g i. a. ha^{-1} apresentaram valores superiores e significativos estatisticamente, em relação às plantas controle, em todos os tempos de avaliação. Enquanto que os valores de Ci/Ca , das plantas controle, variaram de 0,64 a 0,58, as plantas expostas à maior dose estes valores variaram entre de 0,75 a 0,64. No último dia de avaliação 408HAA, as plantas expostas às 3 maiores doses: 400, 800 e 1200 g i. a. ha^{-1} apresentaram diferenças significativas, com aumento de 8, 13,4 e 10% respectivamente em relação às do controle.

Tabela 06: Valores médios Concentração interna e externa de CO_2 (Ci/Ca) em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

Concentração interna e externa de CO_2 (Ci/Ca)								
DOSE g i.a. ha^{-1}	72 HAA	120 HAA	168 HAA	216 HAA	264 HAA	312 HAA	360 HAA	408 HAA
0	0,64 bA	0,61 bA	0,60 cA	0,61 cA	0,60 cA	0,59 bA	0,59 bA	0,58 bA
25	0,65 bA	0,62 bA	0,61 cA	0,63 cA	0,63 cA	0,60 bA	0,52 cB	0,58 bA
50	0,61 bA	0,57 bA	0,58 cA	0,57 cA	0,59 cA	0,58 bA	0,54 cA	0,55 bA
100	0,68 bA	0,66 aA	0,62 cA	0,64 cA	0,64 cA	0,63 bA	0,60 bA	0,60 bA
200	0,67 bA	0,63 bA	0,65 cA	0,66 bA	0,66 bA	0,63 bA	0,57 cB	0,59 bB
400	0,71 aA	0,67 aA	0,69 bA	0,68 bA	0,67 bA	0,65 bB	0,61 bB	0,63 aB
800	0,70 aA	0,67 aA	0,68 bA	0,67 bA	0,67 bA	0,68 aA	0,62 bA	0,66 aA
1200	0,75 aA	0,72 aA	0,78 aA	0,73 aA	0,75 aA	0,71 aA	0,67 aB	0,64 aB

*As médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$).

A eficiência do uso da água (EUA) (Figura 06), assemelhou-se ao comportamento da taxa fotossintética nas plantas de *Hymenaea courbaril* L., registrando reduções quando as mesmas foram expostas ao aumento das doses do glifosato, exceto nas plantas expostas as doses 25 e 50 g i. a. ha^{-1} , que obtiveram valores maiores as 72 e 360 HAA do glifosato, em relação ao controle. As plantas expostas as doses 400, 800 e 1200 g i. a. ha^{-1} tiveram reduções de EUA de 34, 44 e 48%, respectivamente, em relação as plantas controle, às 408HAA do herbicida (Figura 06 e Tabela 07).

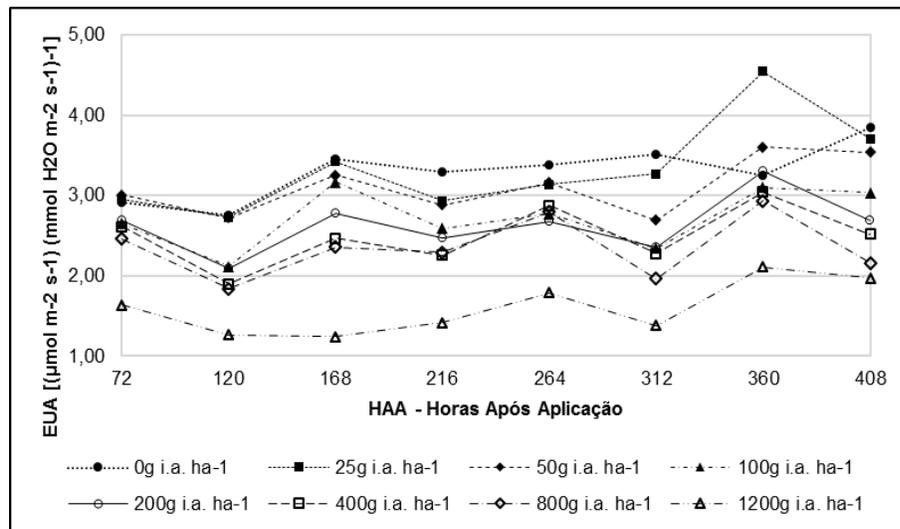


Figura 06 - Eficiência no uso de água (*EUA*) em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas a diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

Conforme a tabela 07, as plantas expostas a dose 1200 g i. a. ha⁻¹ do glifosato apresentaram os menores valores da *EUA* comparado aos demais tratamentos, se diferenciando significativamente das plantas controle, em todos os tempos de avaliação. Enquanto que nas plantas controle a *EUA* foi entre 2,76 a 3,85, as plantas expostas à dose 1200 g i. a. ha⁻¹ de glifosato, obtiveram valores que variaram de 1,24 a 2,11. A *EUA* das plantas expostas a dose de 800 g i. a. ha⁻¹ oscilou levemente e foi o único tratamento que não apresentou diferença estatística, durante o período o período avaliado (Tabela 07).

Tabela 07: Valor médio Eficiência no uso de água (*EUA*) em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

Eficiência no uso de água (<i>EUA</i>)								
DOSE g i.a. ha ⁻¹	72 HAA	120 HAA	168 HAA	216 HAA	264 HAA	312 HAA	360 HAA	408 HAA
0	2,91 aB	2,76 aB	3,45 aA	3,30 aA	3,37 aA	3,51 aA	3,25 bA	3,85 aA
25	2,96 aB	2,73 aB	3,42 aA	2,93 aB	3,14 aB	3,27 aA	4,55 aA	3,71 aA
50	3,00 aB	2,72 aB	3,26 aA	2,88 aB	3,16 aA	2,69 bB	3,60 bA	3,54 aA
100	2,65 aB	2,12 bB	3,17 aA	2,59 bB	2,78 bA	2,35 bB	3,10 bA	3,03 bA
200	2,69 aB	2,09 bC	2,77 bB	2,46 bC	2,67 bB	2,35 bC	3,31 bA	2,69 cB
400	2,61 aA	1,90 bB	2,46 cB	2,25 bB	2,87 bA	2,28 bB	3,04 bA	2,52 cB
800	2,46 aA	1,84 bA	2,35 cA	2,29 bA	2,79 bA	1,96 bA	2,93 bA	2,16 dA
1200	1,64 bA	1,27 cB	1,24 dB	1,42 cB	1,79 bA	1,38 cB	2,11 cA	1,97 dA

*As médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem

entre si pelo teste de Scott Knott ($P < 0,05$).

Na análise dos valores quantificados para eficiência instantânea da carboxilação (EiC) das plantas de *Hymenaea courbaril* L., observou-se um comportamento relativamente constante durante o tempo de avaliação. Não houve diferença significativa nas plantas expostas as diferentes dosagens ao longo do tempo, exceto na dosagem maior ($1200 \text{ g i. a. ha}^{-1}$) (Tabela 08). Os valores quantificados demonstraram que esta variável foi afetada negativamente com o aumento das doses do glifosato, quando comparadas ao controle. Nas plantas expostas às maiores doses, de 800 e $1200 \text{ g i. a. ha}^{-1}$ houveram reduções entre $9,09\%$ a $49,12\%$ e $43,18\%$ a $74,54\%$, respectivamente, em relação às plantas controle, que apresentaram valores máximos em todo período avaliado (Figura 07 e Tabela 08).

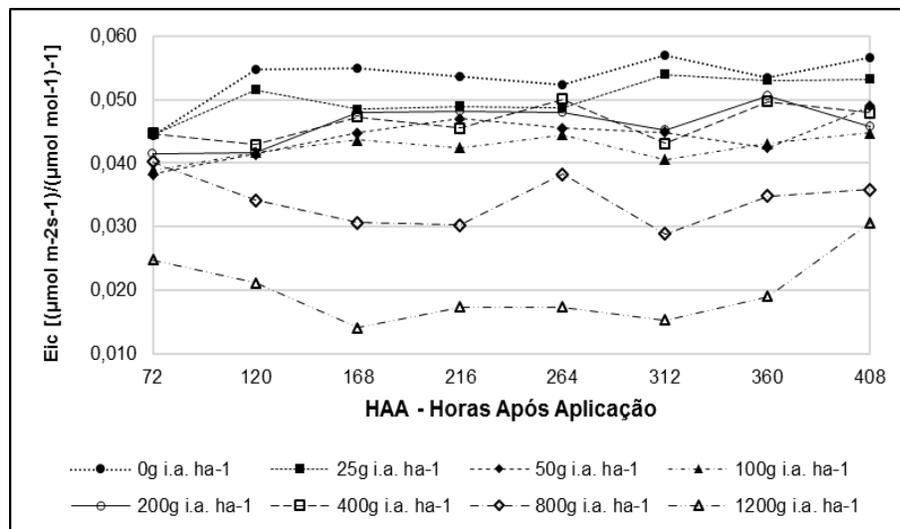


Figura 07 - Eficiência instantânea da carboxilação (EiC), em plantas de *Hymenaea courbaril* L., submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

A eficiência instantânea da carboxilação (EiC) das plantas, não se diferiram entre as doses 0g e $25 \text{ g i. a. ha}^{-1}$ (Tabela 08). Nas plantas controle EiC variaram de $0,044$ a $0,057$, durante o período avaliado, e, na maior dose os valores de EiC das plantas variaram de $0,025$ a $0,031$. No último dia de avaliação (408HAA), somente as plantas expostas às dosagens de 800 e $1200 \text{ g i. a. ha}^{-1}$, se diferenciaram estatisticamente das plantas controle. As plantas expostas as doses 0g e $25 \text{ g i. a. ha}^{-1}$, se igualaram

estatisticamente em todas avaliações (Tabela 08). Em contrapartida, a *EiC* das plantas expostas a dose de 1200 g i. a. ha⁻¹, demonstrou valores menores em todas leituras, diferindo-se estatisticamente em relação as plantas controle. Nas plantas controle a *EiC* variou de 0,044 a 0,057, nas plantas expostas a dose de 1200 g i. a. ha⁻¹ os valores de *EiC* variaram de 0,014 a 0,031, durante o período avaliado. Na avaliação as 408HAA do herbicida, somente as plantas expostas às dosagens de 800 e 1200 g i. a. ha⁻¹, se diferenciaram estatisticamente das plantas controle (Tabela 08).

Tabela 08: Valor médio da Eficiência instantânea da carboxilação (*EiC*) em plantas de *Hymenaea courbaril* L. submetidas à diferentes doses de glifosato e avaliadas em diferentes Horas Após Aplicação (HAA).

Eficiência instantânea da carboxilação (EiC)								
DOSE g i.a. ha ⁻¹	72 HAA	120 HAA	168 HAA	216 HAA	264 HAA	312 HAA	360 HAA	408 HAA
0	0,044 aA	0,055 aA	0,055 aA	0,054 aA	0,052 aA	0,057 aA	0,053 aA	0,057 aA
25	0,045 aA	0,052 aA	0,048 aA	0,049 aA	0,049 aA	0,054 aA	0,053 aA	0,053 aA
50	0,038 aA	0,041 bA	0,045 aA	0,047 aA	0,045 aA	0,045 bA	0,042 bA	0,049 aA
100	0,039 aA	0,042 bA	0,044 aA	0,042 aA	0,044 aA	0,041 bA	0,043 bA	0,045 aA
200	0,042 aA	0,042 bA	0,048 aA	0,048 aA	0,048 aA	0,045 aA	0,051 aA	0,046 aA
400	0,045 aA	0,043 bA	0,047 aA	0,045 aA	0,050 aA	0,043 bA	0,050 aA	0,048 aA
800	0,040 aA	0,034 cA	0,031 bA	0,030 bA	0,038 aA	0,029 cA	0,035 cA	0,036 bA
1200	0,025 bA	0,021 cB	0,014 cB	0,017 cB	0,017 bB	0,015 dB	0,019 dB	0,031 bA

*As médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P<0,05).

4.2 CONCENTRAÇÃO DE PIGMENTOS CLOROPLASTÍDICOS

A concentração de pigmentos cloroplastídicos também foi afetada pelo herbicida glifosato. Houve diminuição da clorofila a e b e no conteúdo de carotenóides, em função do aumento das doses de glifosato. As plantas expostas à maior dosagem (1200 g i. a. ha⁻¹) reduziram aproximadamente 35% da clorofila a, 25% da clorofila b e 21% o conteúdo de carotenóides, se diferenciando estatisticamente das plantas controle com 408HAA (FIGURA 08).

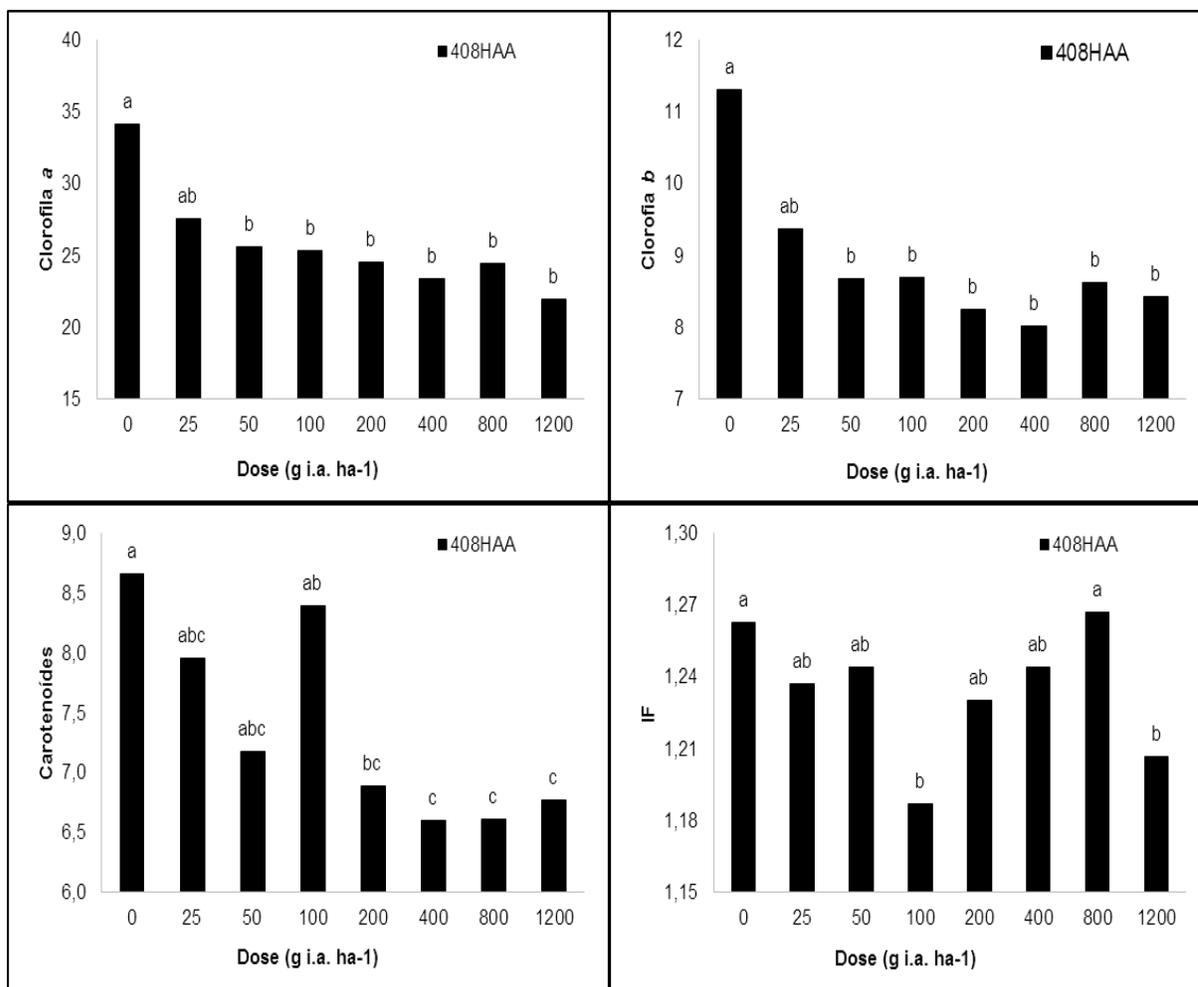


Figura 08- Conteúdo de Pigmentos Cloroplastídicos (clorofila a, clorofila b, carotenóides e degradação da clorofila - IF) em plantas de *Hymenaea courbaril* L., submetidas a diferentes concentrações de glifosato. Significativo a 5% pelo teste de F. médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

4.3 EFEITO DO GLIFOSATO SOBRE A PERMEABILIDADE DE MEMBRANAS

Não houve alteração significativa, na taxa de liberação de eletrólitos (*TLE*), capaz de evidenciar danos sobre as membranas das plantas avaliadas de *Hymenaea courbaril* L., expostas ao glifosato. Porém, percebeu-se uma tendência de decréscimo nos valores de *TLE* na medida em que houve um aumento das doses de glifosato aplicadas (Figura 09).

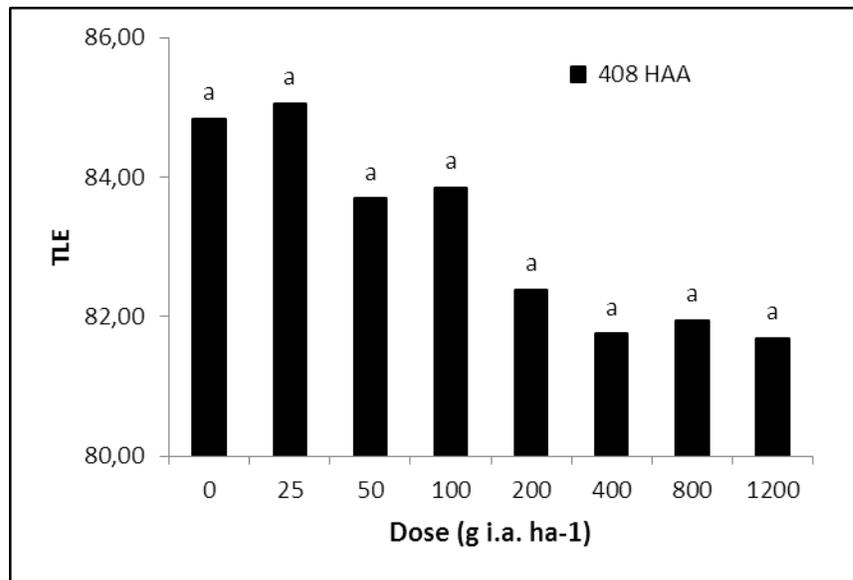


Figura 09 - Taxa de liberação de eletrólitos (*TLE*), em plantas de *Hymenaea courbaril* L., submetidas a diferentes concentrações de glifosato. Significativo a 5% pelo teste de F. médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

4.6 ANÁLISES VISUAIS

As avaliações dos efeitos morfológicos visuais foram realizadas diariamente, durante 30 dias após aplicação (DAA) do herbicida. Os efeitos do glifosato em *Hymenaea courbaril* L. começaram a ser visíveis nas plantas, 5 DAA do herbicida, a partir da dose 50 g i.a ha⁻¹, na qual foi possível perceber a presença de pontos e manchas amareladas, em folíolos de folhas mais maduras localizadas próximas à base da planta, indicando clorose foliar. Nas folhas das plantas expostas à dose 1200 g e.a ha⁻¹, esses sintomas foram mais evidentes.

Observou-se também o surgimento de gemas nas plantas em todos os tratamentos. Porém, somente nas plantas controle (0 g i.a ha⁻¹) e expostas a 25 g i.a ha⁻¹ de glifosato, essas gemas se desenvolveram formando novas folhas (Figura 10-A). Aos 9 DAA do glifosato, as gemas do meristema apical estavam necrosadas nas plantas expostas a partir da dose 50 i.a ha⁻¹, sendo que, as gemas axilares, não estavam se desenvolvendo quando comparadas às mesmas gemas das plantas controle (0g) e 25 g i.a ha⁻¹. Aos 11 DAA esses efeitos foram mais evidentes nas plantas expostas a 1200g i.a. ha⁻¹ (Figura 10-B).

Foi percebido o surgimento de secreções no caule da região apical das plantas expostas à dose 25 e 800g i.a. ha⁻¹, com 13DAA e 11DAA (Figura 10-D) respectivamente.

Nas plantas expostas à maior dose (1200 g i.a ha⁻¹), além da gema apical, as gemas axilares também sofreram necroses. Houve senescência foliar sequencial prematura, a partir das folhas mais maduras localizadas próximas a base do caule até as folhas próximo às extremidades em crescimento apical (Figura 11-B). A abscisão foliar ocorreu nas folhas mais maduras, expostas às maiores doses de glifosato, com maior severidade nas plantas expostas à dose 1200 g i.a.ha⁻¹. O ápice do caule das plantas do tratamento 1200g e.a ha⁻¹ apresentou aspecto rugoso aos 15 DAA (Figuras 10F e 11-B), sendo que essa região do meristema apical estava necrosada aos 30 DAA do glifosato (Figura 10-F). Estas alterações não foram observadas nas plantas controle (e.a ha⁻¹) representadas pelas Figuras 10A e 11-A.

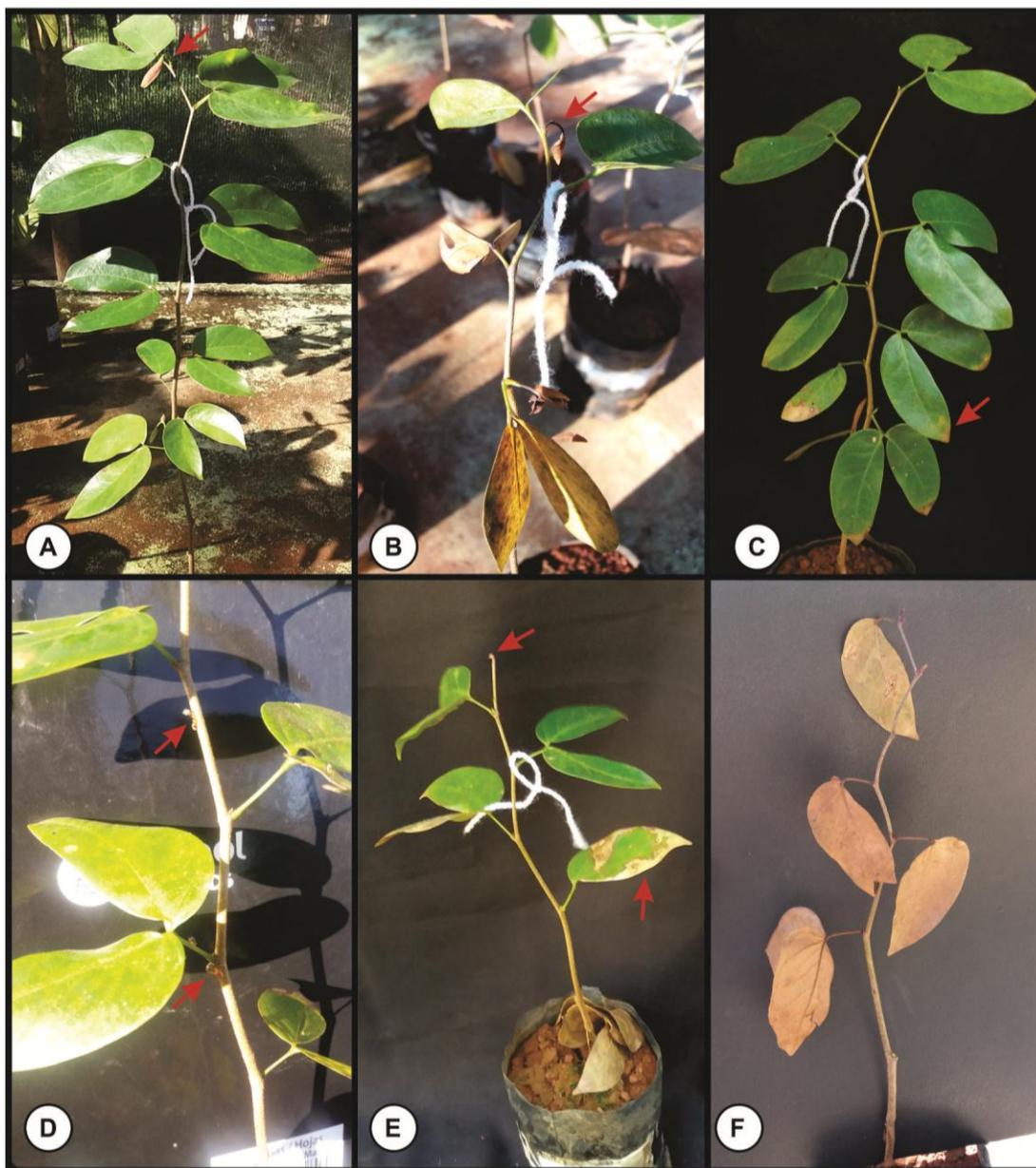


Figura 10 – A-F: Sintomas visuais na morfologia externa de *Hymenaea courbaril* expostas a diferentes doses de glifosato. A: 6 DAA (0g i.a ha⁻¹); B: 11 DAA (1200g i.a. ha⁻¹); C: 12 DAA (100g i.a. ha⁻¹); D: 13 DAA (800g i.a. ha⁻¹); E: 15 DAA (800g i.a. ha⁻¹); F: 30 DAA (1200g i.a. ha⁻¹). Detalhes são indicados pelas setas vermelhas.



Figura 11 - Efeitos morfológicos gerais em plantas de *Hymenaea courbaril* L submetidas às dosagens 0g (A) e 1200g i.a. ha⁻¹ (B) aos 15 DAA.

4.4 EFEITOS DO GLIFOSATO SOBRE A ESTRUTURA ANATÔMICA

Quanto a anatomia, *Hymenaea courbaril* possui folhas com epiderme unisseriada, com a presença de uma camada de cutícula espessa. As folhas são hipoestomáticas, por apresentarem estômatos somente na face abaxial da epiderme. Seu mesófilo é considerado dorsiventral, com uma camada de parênquima paliçádico e

três a quatro camadas de parênquima lacunoso. O feixe vascular é colateral com uma extensão de bainha composta por fibras. Além disso, foi encontrada nas folhas de *H. courbaril* a presença de uma cavidade secretora, por possuir estrutura interna isodiamétrica, na região mediana do mesofilo, entre os parênquimas paliçádico e lacunoso (Figura 12-A).

A partir da dose de 50 g i.a.ha⁻¹ (Figura 12-C) foi observado que as células do parênquima paliçádico, das plantas expostas, tiveram retração de membrana do protoplasto em relação a parede celular, sendo que essa retração ficou mais evidente conforme aumentaram-se as doses do herbicida (Figura 12: D-H). Além disso os espaços intercelulares também foram alterados ficando bem evidente nas doses mais altas (Figura 12G e H). O glifosato interferiu no formato das células do parênquima paliçádico e lacunoso. Na dosagem 200 g i.a.ha⁻¹, ficou evidente a retração de protoplasto nas células (Figura 12- E). A coloração das células do floema também foi alterada com o aumento das doses de glifosato aplicadas (Figura 12-F).

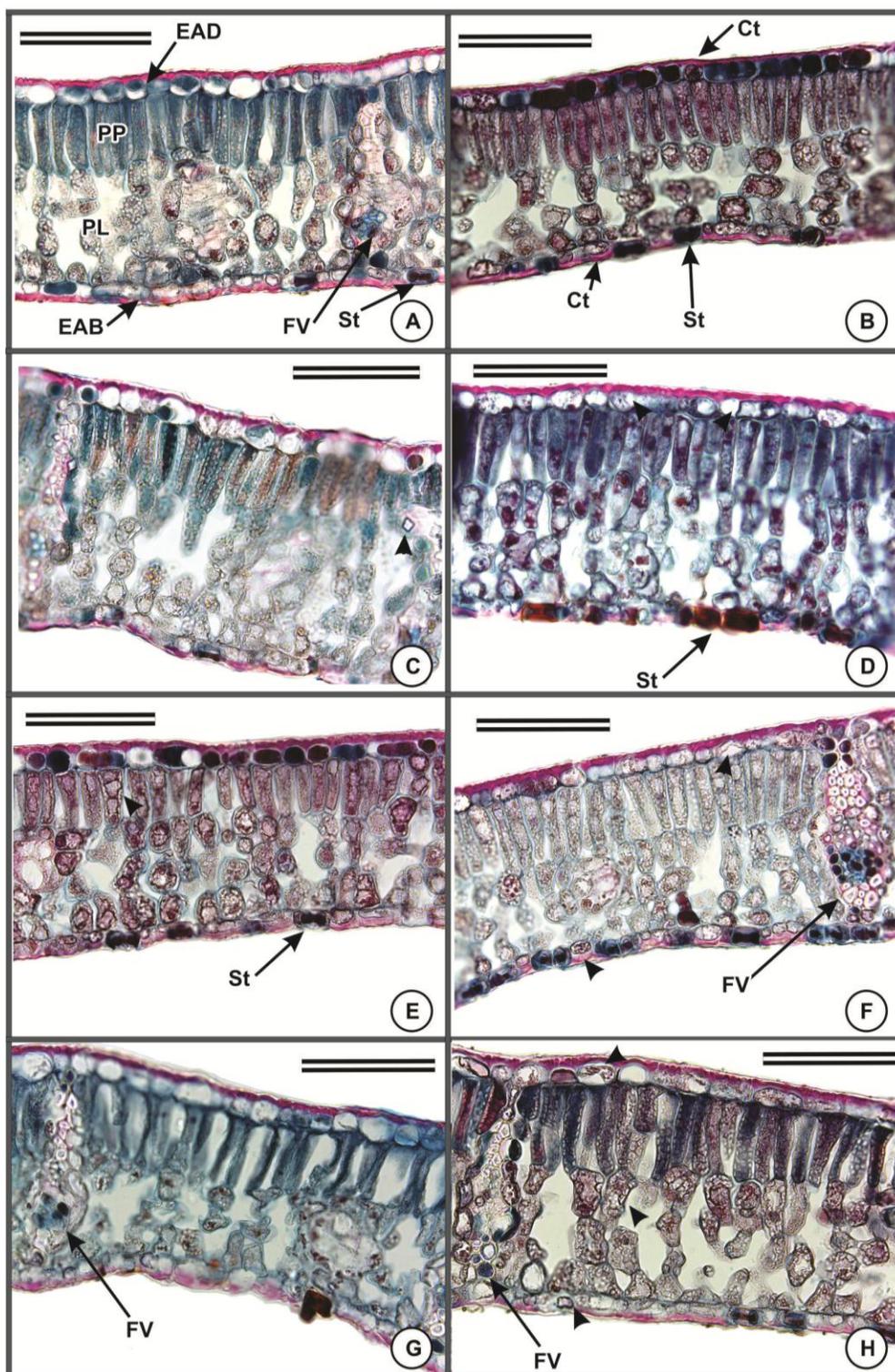


FIGURA 12: Alteração anatômica em *H. courbaril* 17DAA do herbicida glifosato observadas em microscopia de luz dos cortes transversais de folhas. A: (Controle); B: (25g i.a. ha⁻¹); C: (50g i.a. ha⁻¹); D: (100g i.a. ha⁻¹); E: (200g i.a. ha⁻¹); F: (400g i.a. ha⁻¹); G (800g i.a. ha⁻¹); H: (1200g i.a. ha⁻¹). EAD: Epiderme adaxial; PP: Parênquima paliçádico; PL: Parênquima lacunoso; EAB: Epiderme abaxial, St; Estômato; FV: Feixe vascular; Ct: Cutícula. Barra = 100μm. Detalhes são indicados pelas pontas das setas.

4.5 ANÁLISES MICROMORFOMÉTRICAS

A análise de micromorfometria indicou diferenças estatísticas significativas entre as médias das medidas das células da face adaxial da epiderme (EAD) e abaxial (EAB). Houve redução de 17% nos tecidos das plantas expostas às doses 400, 800 e 1200 g i.a. ha⁻¹ na EAD, quando comparadas às plantas do controle. Já na EAB, a redução mais significativa foi na maior dose (1200 g i.a. ha⁻¹), com redução de 16,7%, quando comparada às plantas do controle. O contrário ocorreu nos tecidos parênquima paliçádico (PP) e lacunoso (PE), onde as médias tiveram um acréscimo conforme aumentaram-se as doses de glifosato. No entanto, esse aumento não foi significativo estatisticamente.

Tabela 08 - Morfometria de lâmina foliar de *Hymenaea courbaril* L após exposição a diferentes concentrações de glifosato

DOSE g i.a. ha ⁻¹	EAD (µm)*	PP (µm)*	PL (µm)*	EAB (µm)*
0	16,51ab	50,09 ^a	77,24 ^a	12,68ab
25	16,95ab	47,24 ^a	77,89 ^a	12,84ab
50	17,60 ^a	48,87 ^a	80,70 ^a	16,14a
100	19,01 ^a	53,40 ^a	85,39 ^a	14,43a
200	16,76ab	49,67 ^a	79,98 ^a	12,80ab
400	13,65b	48,86 ^a	81,34 ^a	11,06bc
800	13,56b	47,24 ^a	73,76 ^a	11,50bc
1200	13,69b	53,97 ^a	85,51 ^a	10,55c

*Significativo a 5% pelo teste de F. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EAD: Epiderme adaxial; PP: Parênquima paliçádico; PL: Parênquima lacunoso; EAB: Epiderme abaxial.

5. DISCUSSÃO

As variáveis fisiológicas de taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), carbono interno (C_i), taxa de transpiração (E), concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a), eficiência no uso de água (EUA) e a eficiência instantânea da carboxilação (EiC), sofreram alterações, após a aplicação de diferentes doses de glifosato em mudas de *Hymenaea courbaril*. Houve variação nos valores das trocas gasosas de acordo as

avaliações ao longo do tempo, após a aplicação do herbicida, isso devido o glifosato ter uma ação lenta nas plantas (SPRANKLE et al. 1975; GEIGER; SHIEH; FUCHS, 1999).

As mudas de *Hymenaea courbaril*, apresentaram tendência a diminuir os valores dos parâmetros fisiológicos em A , g_s , E , EUA e EiC , com o aumento das doses e do tempo. Esse tipo de resposta também foi observado por Batista et al. (2018) e Freitas-Silva et al. (2020) ao analisarem os efeitos provocados nas espécies *Pouteria torta* (guapeva) e *H. chrysotrichus* (Ipê), respectivamente, expostas à deriva simulada de glifosato. Esta redução está relacionada à inibição da atividade enzimática da enzima EPSPs (GOMES et al., 2014), que catalisa a condensação do ácido chiquímico (responsável pela formação dos compostos fenólicos, que podem representar até 35% da biomassa vegetal) (MONQUERO et al., 2004; GOMES et al., 2013) e do fosfato piruvato, impedindo assim, a síntese de três aminoácidos aromáticos essenciais: triptofano, fenilalanina e tirosina (GEIGER; BESTMAN, 1990).

Já a C_i e a razão da concentração interna e externa (C_i/C_a) de CO_2 em contrapartida aos outros parâmetros fisiológicos avaliados, apresentaram, durante o experimento, tendência ao aumento dos valores indicando aumento na concentração de CO_2 no mesofilo foliar de *Hymenaea courbaril*. As plantas expostas à maior dose (1200 g i.a. ha^{-1}) apresentaram a menor taxa A e maior C_i/C_a . Freitas-Silva et al. (2020) ao estudarem as respostas de *H. chrysotrichus* ao glifosato, encontraram o mesmo aumento em C_i/C_a nas plantas expostas a dose 1080 g i.a. ha^{-1} do herbicida, indicando que a diminuição na A também se deve a uma limitação bioquímica. Santos et al. (2020) ao estudarem as respostas de *Cenostigma macrophyllum* ao glifosato, perceberam a ocorrência deste mesmo aumento C_i/C_a , concluindo que esta resposta era desencadeada pela inativação da enzima rubisco, que, ao não fixar o CO_2 proveniente do meio externo, provocou a acumulação deste gás no mesofilo foliar que atingiu diretamente as células guarda, provocando o fechamento dos estômatos, afetando diretamente a fotossíntese da planta em questão. Fatores como diminuição da síntese de clorofila e limitação da síntese da enzima rubisco são alterações promovidas pelo herbicida que podem causar limitação bioquímica (Flexas et al., 2008; Yanniccari et al., 2012).

A partir da relação entre a assimilação líquida de carbono e transpiração obtêm-se a eficiência do uso da água (*EUA*), ou seja, a quantidade de CO₂ fixado para a produção de biomassa, em função da quantidade de cada unidade de água que se perde por transpiração (TAIZ e ZEIGER, 2017; JAIMEZ et al., 2005). As condições ambientais, assim como estresses abióticos por exemplo o herbicida, podem influenciar na fisiologia da planta, e, como aconteceu nesse estudo, reduzir as taxas fotossintéticas (*A*), resultando em menores valores de *EUA*. Machado et al. (2010) trabalhando com eucalipto constataram que houve uma redução no *EUA* após a aplicação do glifosato. Essa redução na eficiência, assim como observado nesse trabalho com *Hymenaea courbaril*, pode ser justificada pela redução na fotossíntese da planta, causando uma redução no acúmulo de biomassa. Os efeitos do glifosato, como a produção de metabólitos ácido aminometilfosfônico (AMPA), podem contribuir para a ação do herbicida, causando efeitos fitotóxicos que afetam a fotossíntese, transpiração e conseqüentemente a *EUA* (REDDY; RIMANDO; DUKE, 2004; ZOBIOLE et al., 2010).

Medeiros (2017) observou decréscimos nos valores da eficiência instantânea da carboxilação (*EiC*), com o incremento da dose do herbicida na espécie *Calophyllum brasiliense* (Cambess), sendo esta variável dada pela relação entre a taxa de fotossíntese e o carbono interno. O mesmo ocorreu com as plantas desta pesquisa, pois reduziram os valores da *EiC* a partir das plantas expostas a dose 50 g i.a. ha⁻¹ e de forma significativa estatisticamente na maior dose (1200 g i.a. ha⁻¹) e da taxa fotossintética nas mesmas dosagens e avaliações, isso devido a limitação causada pela capacidade da folha em regenerar a enzima rubisco para carboxilação (FARQUHAR; SHARKEY, 1982). Ou seja, os efeitos do glifosato na planta influenciam o desempenho da rubisco, reduzindo a *EiC* e limitando a assimilação de CO₂.

As plantas de *Hymenaea courbaril* expostas à diferentes doses de glifosato, apresentaram tendência de recuperação nos parâmetros fisiológicos a partir de 360 HAA (15 DAA). No entanto, aos 30 DAA, os indivíduos expostos à maior dose estavam com todas as folhas e seu ápice necrosados, evidenciando que não houve recuperação dessas plantas até 30 DAA (ultimo dia de avaliação visual). Os efeitos do glifosato podem ser observados em longo prazo, verificando-se morte da planta intoxicada pelo

herbicida em um intervalo de 7 a 30 dias após a aplicação, dependendo da espécie tratada, do seu estágio de desenvolvimento e da dose aplicada (SILVA et al., 2014).

A concentração de pigmentos cloroplastídicos também foi afetada pelo herbicida glifosato. Na clorofila a e b e no conteúdo de carotenóides, houve diminuição em função do aumento das doses de glifosato. Quanto à permeabilidade de membranas não foram observados danos em relação em *Hymenaea courbaril* expostas ao glifosato. Resultado semelhante foram observados por Santos et al (2020), ao estudarem *C. macrophyllum* (Fabaceae), expostas ao mesmo herbicida. Cole (2009), considerou que o glifosato tem efeito negligível sobre as membranas em determinadas espécies. Dados contrários foi Oliveira (2014) em plantas de *Bowdichia virgilioides*, que verificou efeitos negativos, nesses parâmetros a partir das plantas expostas a dose 50 g i.a ha⁻¹ de glifosato e progressivos, com o aumento das mesmas.

Os efeitos morfológicos visuais do glifosato em *Hymenaea courbaril* L. começaram a ser visíveis nas plantas, 5 DAA do herbicida, a partir da dose 50 g e.a ha⁻¹, no qual foi possível perceber a presença de pontos e manchas amareladas, em folíolos de folhas mais maduras localizadas próximas à base da planta, indicando clorose foliar. Nas folhas das plantas expostas à dose 1200 g i.a ha⁻¹, esses sintomas foram mais evidentes. Resultados semelhantes foram observados por Tuffi Santos et al. (2005), em plantas de eucalipto submetidas a aplicação de glifosato, no qual enfatizaram que o aparecimento dos sintomas está relacionado à quantidade de produto em contato com as plantas. Os sintomas caracterizados por necroses e cloroses foliares foram observados também a partir dos 5 DAA. Freitas-Silva et al (2020) observaram sintomas visíveis com 4 DAA na espécie *H. chrysotrichus* expostas ao glifosato. Já na espécie *Eugenia uniflora*, os sintomas visuais apareceram com apenas 3 DAA do herbicida (CRUZ, 2016).

Batista et al. (2018), ao avaliarem a espécie *Pouteria torta* exposta à deriva simulada de glifosato, também encontraram cloroses e necroses nos folíolos da referida espécie, sendo estas localizadas nas regiões centrais e periféricas da lâmina foliar a partir da dose de 50g i.a.ha⁻¹. O aparecimento de cloroses e necroses no tecido foliar pode está intimamente ligado a rota bioquímica responsável pelo biossíntese de clorofila, pois o glifosato interfere na síntese do ácido aminolevulínico – precursor da

formação do pigmento foliar – causando a perda total ou diminuição deste pigmento nas folhas (CARVALHO et al., 2015).

Necroses no meristema apical ocorreram em plantas de *Hymenaea courbaril* L a partir da dose 800 g i.a.ha⁻¹ e a abscisão foliar ocorreu nas folhas mais maduras, expostas às maiores doses de glifosato, com maior severidade nas plantas expostas à dose 1200 g i.a.ha⁻¹. Sintomas semelhantes foram observados por Santos (2015) e Freitas-Silva et al. (2020) nas espécies *Myracrodruon urundeuva* e *H. chrysotrichus*, respectivamente. Um dos mecanismos de ação do glifosato está relacionado ao bloqueio da produção de aminoácidos aromáticos na rota do chiquimato, pela inativação da enzima EPSPs (BATISTA et al., 2018). Um destes aminoácidos é o triptofano - precursor do ácido indolilacético - responsável por promover o alongamento e desenvolvimento de células nas plantas, em especial nas regiões meristemáticas (TAIZ e ZAIGER, 2017), que ao serem atingidas pelo herbicida culminam, na perda de sua atividade metabólica e conseqüentemente a morte dessas células. Outra consequência deste bloqueio se dá na produção dos metabólitos primários, fazendo com que induza outra via metabólica – secundária - ligada a produção de glicina, serina e metionina, sendo este último o precursor da síntese de etileno (GOMES et al., 2014), levando as folhas ao processo de senescência e conseqüentemente queda das folhas decorrente de seu acúmulo.

Outra característica visível apresentada foi o aspecto rugoso no ápice do caule das plantas *Hymenaea courbaril* L do tratamento 1200 g i.a.ha⁻¹ aos 15 DAA. Yamada et al. (2007) citam como sintomas comuns observados após a aplicação do glifosato, clorose foliar seguida de necrose, podendo também ocorrer enrugamento ou malformações, especialmente nas áreas de rebrotamento.

Quanto a anatomia das plantas *Hymenaea courbaril* L, foram observadas alterações anatômicas foliares, nas plantas expostas ao glifosato. Vários estudos mostram que características como variações na espessura dos tecidos que constituem o mesofilo são importantes na determinação da sensibilidade da planta aos poluentes (BUSSOTTI et al., 2005; EVANS et al., 1996; GEROSA et al., 2003; MACHADO et al., 2013; OLIVEIRA, 2014; PEDROSO et al., 2015). Houve redução significativa dos tecidos da epiderme abaxial (EAB), nas plantas *Hymenaea courbaril* L expostas a maior

dose de glifosato. O mesmo ocorreu com as folhas de *C. macrophyllum* expostas ao glifosato, estudada por Santos et al (2020). *C. macrophyllum*, também possui uma folha hipoestomática e os autores concluíram que tendo em vista a redução da espessura da EAB em função do glifosato, pode-se deduzir que os estômatos foram afetados e sofreram efeitos do herbicida, o que corrobora com informações já discutidas sobre o efeito do glifosato nas células guarda, provocando o fechamento dos estômatos.

Esse tipo de resposta, também foi observada por Machado et al. (2013) ao estudarem os efeitos do glifosato em plantas de *Solanum lycocarpum*, *Kilmeyra lathophyton* e *Bowdichia virgilioides*. Esses autores indicaram que o glifosato pode ser o responsável pela redução nos tecidos foliares, uma vez que a aplicação do herbicida resulta na paralização do crescimento e redução importante dos níveis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano), os mesmos verificaram que a epiderme adaxial foi a que apresentou maior redução na espessura.

Foram observadas alterações anatômicas significativas no mesofilo das plantas estudadas, dentre elas destaca-se a retração de membrana, mudança no formato dos cloroplastos e aumento de espaços intercelulares ao longo dos tratamentos. Resultado semelhante foi encontrado Freitas-Silva et al (2020) ao estudarem as respostas de *H. chrysotrichus* ao glifosato, onde os autores observaram retração do protoplasto nas células do parênquima e na espécie *G. gardneriana*, observaram que na plantas expostas a dose de 1440 g i.a.ha⁻¹ o mesofilo apresentou grandes espaços intercelulares ao longo da lâmina foliar. Lima et al. (2017) apontam que ao entrar em contato com as células presentes na superfície foliar, o herbicida promove a ruptura da cutícula favorecendo assim a difusão no mesofilo e conseqüentemente a plasmólise e retração do protoplasto nas células de forma gradual.

Desde a primeira dose, foi observada uma mudança na coloração de compostos presentes nas células do parênquima paliçádico e lacunoso e células do floema passando para um tom bem escuro, em todas as demais doses avaliadas. Santos et al (2020), também observaram mudanças de coloração de compostos presentes na cavidade secretora. É possível que interferências do glifosato, na rota do ácido chiquímico, sejam responsáveis pela mudança da composição química dos compostos presentes em *H. courbaril* fazendo-se necessário um estudo específico da ação do

glifosato na produção de tais compostos, pois os produtos do metabolismo são responsáveis por permitirem interação da planta com o ambiente. Estas interações podem ser alteradas pela mudança na composição química destes compostos e prejudicarem as plantas em suas relações ecológicas.

Diante de toda a discussão exposta até então, verifica-se que o glifosato causou danos em plantas de *Hymenaea courbaril* Lindl. Isto é preocupante, pois além das relações ecológicas que podem ser afetadas, outras consequências podem ser desencadeadas e afetar diretamente populações que utilizam estas plantas em seu cotidiano.

Em um estudo etnobotânico realizado no município Alto Paraíso de Goiás (TO) o jatobá estava entre as 10 espécies mais citadas dentre as 103 espécies mencionadas pela comunidade estudada na região (SOUZA e FELFILI, 2006). Em uma comunidade rural Vale Verde em Gurupi (TO), 46% do uso das plantas pela comunidade é para fins medicinais e *Hymenaea courbaril* L. (jatobá-da-mata) teve indicação popular local para uso de chá das folhas como controle da anemia e de problemas no fígado, não havendo indicação destes usos na literatura. Além disso, os autores identificaram diversos compostos com potencial farmacológicos nestas plantas (BESSA et al., 2013).

Além de uso medicinal, *Hymenaea courbaril* L também é utilizada na culinária local. Frutos com polpa farinácea para culinária local, além de serem utilizados na confecção de bolos, os frutos também são utilizados na produção de licor, mingau (ALMEIDA et al., 1987). Biscoitos isentos de açúcares e fontes de fibra alimentar podem ser produzidos com a substituição de 10% de farinha de trigo pelas farinhas de jatobá (SILVA et al, 2001). O resíduo de jatobá e a farinha de polpa são ingredientes adequados para a formulação de alimentos funcionais, e a seiva é um produto não calórico promissor com potenciais benefícios à saúde pela ação antioxidante (SANTOS et al, 2020). O fato do glifosato poder interferir na composição química das seiva produzida por esta espécie, pode alterar também as propriedades medicinais destas plantas e afetar significativamente as populações que fazem uso das mesmas. Além disso, o uso rotineiro destas plantas na culinária e na medicina de populações tradicionais podem trazer efeitos maléficos à saúde destas pessoas, caso as plantas

utilizadas por estas populações estiverem contaminadas por agrotóxicos, principalmente o glifosato.

6. CONCLUSÃO

A exposição da espécie *Hymenaea courbaril* L ao herbicida glifosato provocou alterações em suas trocas gasosas, na anatomia foliar e em sua morfologia externa. Houve redução significativa nas taxas fotossintéticas das plantas expostas nas maiores doses de glifosato (800 e 1200g g i.a. ha⁻¹), quando comparadas ao controle (0 g i.a. ha⁻¹). Nas avaliações visuais, o glifosato se mostrou tóxico também a partir da dose 50 g i.a. ha⁻¹. Na anatomia foliar, o glifosato afetou as plantas expostas, também, a partir da dose 50 g i.a. ha⁻¹, onde foi observado que as células do parênquima paliçádico, tiveram retração de membrana do protoplasto em relação a parede celular.

As plantas de *Hymenaea courbaril* L conseguiram sobreviver após o contato com o herbicida glifosato, exceto as plantas expostas a maior dose (1200 g i.a. ha⁻¹), que aos 30 DAA estavam com todas as folhas e seu ápice necrosados, evidenciando que não houve recuperação dessas plantas até 30 DAA. No entanto, a presença de danos visuais e anatômicos sugere que *Hymenaea courbaril* tem um potencial de uso como bioindicadora de glifosato presente no meio ambiente. Sendo assim, essa espécie pode ser indicada para estudos que possam subsidiar e auxiliar no monitoramento de deriva de glifosato, em plantas não-alvo, presente nos fragmentos vegetais do Cerrado em áreas de monoculturas. Entretanto, seria necessária a verificação destes sintomas em plantas presentes no campo em regiões expostas a deriva deste herbicida.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, T.V., SANT'ANNA-SANTOS, B.F., AZEVEDO, A. A., FERREIRA, R.S., 2007. ANATI QUANTI: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha** 25, 649–659. doi:10.1590/S0100-83582007000400001
- ALENCAR, A; SHIMBO, J. Z.; LENTI, F.; MARQUES, C. B; ZIMBRES, B.; ROSA, M.; ARRUDA, V.; CASTRO, I.; RIBEIRO, J. P. F. M.; VARELA, V.; ALENCAR, I.; PIONTEKOWSKI, V.; RIBEIRO, V.; BUSTAMANTE, M. M. C.; SANO, E. E.; BARROSO, M. Mapping Three Decades of Changes in the Brazilian Savanna Native Vegetation Using Landsat Data Processed in the Google Earth Engine Platform. **Remote Sens.** 2020, 12, 924; doi:10.3390/rs12060924
- ALMEIDA, S. P. de; SILVA, J. A da; RIBEIRO, J. F. **Aproveitamento alimentar de espécies nativas dos Cerrados: araticum, baru, cagaita e jatobá.** Planaltina. EMBRAPA-CPAC. 1987. Documento 26.
- ANDEF - ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE DEFESA VEGETAL. **Manual de tecnologia de aplicação de produtos fitossanitários.** São Paulo: Linea Creativa, 2004. Disponível em: <<http://www.lpv.esalq.usp.br/sites/default/files/Leitura%20-%20Manual%20Tecnologia%20de%20Aplicacao.pdf>> Acesso em: 20 dez. 2019.
- ARAÚJO, ESMERALDA PEREIRA DE. **Efeitos da deriva de agrotóxicos oriunda de atividade agrícola no município de Rio Sono (TO) e avaliação da legislação quanto a deriva dessas substâncias para a flora de áreas protegidas de imóveis rurais.** 2018. 85 f. Dissertação. (Mestrado em Biodiversidade, Ecologia e Conservação). Universidade Federal do Tocantins. Porto Nacional. 2018.
- AZEVEDO, A.A. **Ação do flúor, em chuva simulada, sobre a estrutura foliar de Glycine max (L.) Merrill.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.
- BATISTA, P. F.; COSTA, A. C.; MEGGUER, C. A.; LIMA, J. S.; SILVA, F. B.; GUIMARÃES, D. S.; ALMEIDA, G. M.; NASCIMENTO, K. J. T. Pouteria torta: a native species of the Brazilian Cerrado as a bioindicator of glyphosate action. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 78 n. 2, p. 296-305, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.07416>
- BESSA, N.G.F.DE.; BORGES, J.C.M.; BESERRA, F.P.; CARVALHO, R.H.A.; PEREIRA, M.A.B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S.L.; RIBEIRO, L.U.; QUIRINO, M.S.;

BOCCOLINI, P. M.; BUCCOLINI, C. S.; CHRISMAN, J. R, et al. Non-Hodgkin lymphoma among Brazilian agricultural workers: A death certificate case-control study. **Arch. Environ. Occup. Health**. 2017.

BOMBARDI, Larissa Mies. 2017. Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia. São Paulo: FFLCH – USP.

BRASIL. **AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Relatório de atividades 2016**: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 204 p. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/281258/2742545/Relat%C3%B3rio+de+Atividade+s+2016/d1556cef-8c1f-4b21-ae78-58ad65713d61>>. Acesso em: 10 de julho 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria de Consolidação Nº 5, de 28 de setembro de 2017**: Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Brasília.2017.

BUSSOTTI, F.; AGATI, G.; DESOTGIU, R.; MATTEINI, P.; TANI, C.. Ozone foliar symptoms in woody plant species assessed with ultrastructural and fluorescence analysis. **New Phytologist, Firenze**, v.166, n.3, p.941-55, 2005. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01385.x>

CAMACHO, W. R. A.; COLMENARES, J. M. G.; ACUÑA, S. P. C. Determinación voltamétrica de paraquat y glifosato en aguas superficiales. **Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria**, v. 17, n. 3, p. 331-445, 2013.

CARNEIRO, F. F.; AUGUSTO, L. G. S.; RIGOTTO R. M.; FRIEDRICH, K.; BÚRIGO, A. C (Org.). Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: EPSJV. São Paulo: Expressão Popular, 2015. 624 p

CARVALHO et al. Evaluation of Genotoxic and Mutagenic Effects of Glyphosate Roundup Original® in *Dendropsophus minutus* Peters, 1872 Tadpoles. **South American Journal of Herpetology**. 13:220-229. 2018.

CARVALHO, F. P.; REIS, L. A. C.; FRANÇA A. C.; FRANCINO, D. M. T.; PINTO, N. A. V. D.; FREITAS, A. F. Leaf morphoanatomy and biochemical variation on coffee cultivars under drift simulation of glyphosat. **Revista Planta Daninha**, vol. 36 n. 1, p. 296-305, 2015.

CHAGAS JUNIOR, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento

vale verde – Tocantins. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.15, n.4, supl.I, p.692-707, 2013.

COLE, D. J. **Mode of action of glyphosate** – a literature analysis. In: Wallingford: CAB, 2009. 432 p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Grãos - Série histórica. 2018. Disponível em: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/index.php/safra-serie-historica-dashboard>.

CRUZ, C. E. S. Respostas morfoanatômicas e fisiológicas em *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) ao herbicida glifosato. 2016. 59 f. **Dissertação**. (Mestrado em Botânica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2017.

CUNHA, JOÃO PAULO ARANTES RODRIGUES DA. Simulação da deriva de agrotóxicos em diferentes condições de pulverização. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542008000500039>>. Acesso em: 20 de julho de 2018.

DE TEMMERMAN, L.; BELL, N. B.; GARREC, J. P.; KLUMPP, A.; KRAUSE, G. H. M.; TONNEIJCK, A. E. G. Biomonitoring of air pollutants with plants - Considerations for the future. In: KLUMPP, A.; ANSEL, W.; KLUMPP, G. (Eds). **Urban air pollution, bioindication and environmental awareness**. Göttingen, Cuvillier Verlag, 2004. 393 p.

EVANS, L. S.; ADAMSKI, J. H. I.; RENFRO, J. R.. Relationships between cellular injury, visible injury of leaves, and ozone exposure levels for several dicotyledonous plant species at Great Smoky Mountains National Park. **Environmental Experimental Botany**, New York, v.36, n.2, p.229-237, 1996. DOI: [http://doi.org/10.1016/0098-8472\(96\)01002-7](http://doi.org/10.1016/0098-8472(96)01002-7)

FARQUHAR, G.D.; SHARKEY, T.D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Plant Physiology**, Palo Alto, v.33, p.317-345, 1982.

FERREIRA, DANIEL FURTADO. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042. 2011

FERREIRA; MARIA LEONOR PAES CAVALCANTI. A Pulverização Aérea de Agrotóxicos no Brasil: cenário atual e desafios. **Revista de Direito Sanitário**, São Paulo v.15 n.3, nov. 2014/fev. 2015. Disponível em: <

<http://dx.doi.org/10.11606/issn.2316-9044.v15i3p18-45>>. Acesso em: 21 de julho de 2018.

FLEXAS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; DIAZ-ESPEJO, A.; GALMES, J.; Medrano, H. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. **Plant Cell Environment**. v. 31, p. 602–621, 2008.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>

FREITAS-SILVA, L. DE; ARAÚJO, T. O. DE. NUNES-NESIA, A.; RIBEIRO, C.; COSTA, A. C.; SILVA, L. C. DA. Evaluation of morphological and metabolic responses to glyphosate exposure in two neotropical plant species. **Ecological Indicators** 113 (2020) 106246. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106246>

FRÄNZLE, O. CHAPTER 2 BIOINDICATORS AND ENVIRONMENTAL STRESS ASSESSMENT. IN: MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. **Bioindicators & Biomonitoring: Principles, Concepts and Applications**. Amsterdam; Boston: Elsevier, 2003. 997 p. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215\(03\)80132-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0927-5215(03)80132-7)>. Acesso em: 03 de agosto de 2018.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. ACADCOM Gráfica e Editora Ltda. 2005. 67 p. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/Plantas_daninhas_glifosatoID-VCQ0aRyNYE.pdf>. Acesso em: 18 de julho 2018.

GAWARAMMANA, I., BUCKLEY, N. A., MOHAMED, F., NASER, K., JEGANATHAN, K., ARIYANANADA, P. L. & EDDLESTON, M. High-dose immunosuppression to prevent death after paraquat self-poisoning a randomised controlled trial. **Clinical toxicology**, v. 56, n. 7, p. 633-639, 2018.

GEIGER, D. R.; SHIEH, W. J.; FUCHS, M. A. Causes of selflimited translocation of glyphosate in Beta vulgaris plants. **Pesticide Biochemical and Physiology**, v.64, p.124-133, 1999.

GEIGER, R.D.; BESTMAN, H.D. Self-limitation of herbicide mobility by phytotoxic action. **Weed Science**, Champaign, v. 38, n. 3, p. 324-329, 1990.

GERLACH, D., 1984. **Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung**. Stuttgart Georg Thieme Verlag 311.

GEROSA, G.; MARZUOLI, R.; BUSSOTTI, F.; PANCRRAZI, M.; BALLARIN-DENTI, A.. Ozone sensitivity of *Fagus sylvatica* and *Fraxinus excelsior* young trees in relation to leaf structure and foliar ozone uptake. **Environmental Pollution**, Milan, v.125, n.1, p.91-98, 2003. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00094-0](http://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00094-0)

GRILLO, R., PEREIRA, A. E., NISHISAKA, C. S., DE LIMA, R., OEHLKE, K., GREINER, R., & FRACETO, L. F. Chitosan/tripolyphosphate nanoparticles loaded with paraquat herbicide: an environmentally safer alternative for weed control. **Journal of hazardous materials**, v. 278, p. 163-171, 2014.

Gomes, M. P.; Smedbol, E.; Chalifour, A.; Ethier, L. H.; Labrecque, M.; Lepage, L.; Lucotte, M.; Juneau, P. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: an overview. *Journal of Experimental Botany*. v. 65, n. 17, p. 4961-4703, 2014.

GOMES, G. L. G. C. ; VELINI, E. D. ; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B. Efeitos da associação de glyphosate e fosfito em plantas de milho. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.12, n.1, p.78-86, jan./abr. 2013

HAUPT, A.W., 1930. A gelatin fixative for paraffin sections. **Stain Technol.** 5, 97–98. doi:10.3109/10520293009115555

Horvat, R.; Watanabe, M.; Yamaguchi, C. K. Fertilizer consumption in the region MATOPIBA and their reflections on brazilian soybean production. **International Journal of Agriculture and Forestry**, v. 5, n. 1, 2015. Disponível em: <http://article.sapub.org/10.5923.j.ijaf.20150501.08.html>

IARC. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. *Monographs Volume 112: evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides*. 2015. Disponível em: <https://www.iarc.fr/en/mediacentre/iarcnews/pdf/MonographVolume112.pdf>. Acesso em 20 Out 2018.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Boletim de Comercialização de ingredientes ativos por UF. 2019. Disponível em <<http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 19 set. 2019.

JAIMEZ, R.E. et al. A. Seasonal variations in leaf gas exchange of platain cv. 'Hartón' (*Musa AAB*) under different soil water conditions in a humid tropical region. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.104, n.1, p.79-89, 2005.

KUKI, K.N., OLIVA, M.A., GOMES, F.P., COSTA, A.C., 2005. **Avaliação da eficiência do dimetilsulfóxido na extração de pigmentos foliares de *Schinus terebenthifolius* e *Cocos nucifera***, in: X Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal E XII Congresso Latino-Americano de Fisiologia Vegetal - Anais, SBFV. CD ROM, Recife.

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. DOI: 10.1016 / j.ecoenv.2017.03.038

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*, v. 2. (2. ed.). Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

MACHADO, E. C. et al. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 12, p. 1161-1170, 2005

MACHADO, A.F.L.; FERREIRA, L.R.; SANTOS, L.D.T.; FERREIRA, F.A.; VIANA, R.G.; MACHADO, M.S.; FREITAS, F.C.L, 2010. Eficiência fotossintética e uso de água em plantas de eucalipto pulverizadas com glifosato. **Planta Daninha**, vol. 28, n. 02, pp. 319-327. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582010000200011> .

MACHADO, VINÍCIUS MORAIS ET AL. Sensibilidade de mudas de espécies florestais nativas ao glyphosate= Sensitivity of native forest species seedlings to glyphosate. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 6, 2013.

MACHADO, R.B., Neto, M.G.P., Caldas, E.F., Gonçalves, D. a., Santos, N. a., Tabor, K., Steininger, M., 2004. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro**. ... *Int. do Bras.* ... 1–23. doi:10.1590/S0104-42302007000600013

MEDEIROS, GESSICA HASHIMOTO DE, Respostas fisiológicas e morfológicas de mudas de Landi (*Calophyllum Brasiliense* Cambess) a diferentes doses de glyphosate. 2017. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais), Universidade Federal do Tocantins, Campus Universitário de Gurupi, 2017.

MELO, A. S. JÚNIOR, C. D. DA S. FERNANDES, P. D; SOBRAL, L. F; BRITO, M. E. B.; DANTAS, J. D. M. Alterações das características fisiológicas da bananeira sob condições de fertirrigação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 733-741, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cr/v39n3/a101cr374.pdf>

MESNAGE, R., RENNEY, G., SÉRALINI, G. *ET AL.* **Multiomics reveal non-alcoholic fatty liver disease in rats following chronic exposure to an ultra-low dose of Roundup herbicide.** *Sci Rep* **7**, 39328 (2017). <https://doi.org/10.1038/srep39328>

MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., DA FONSECA, G. A., KENT, J. **Biodiversity hotspots for conservation priorities.** *Nature*, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

MOON, J. M.; CHUN, B. J.; CHOO, Y. S.; LEE, S. D.; HONG, Y. J.; SHIN, M. H.; JUNG, E. J.; RYU, H. H. Cardiovascular Effects and Fatality May Differ According to the Formulation of Glyphosate Salt Herbicide. **Cardiovascular Toxicology**, v. 18, n. 1, p. 99-107, 2018.

NEVES, P. D. M.; BELLINI, M. Intoxicações por agrotóxicos na mesorregião norte central paranaense, Brasil – 2002 a 2011. **Ciência & saúde Coletiva**, v. 18, n. 11, p. 3147-3156, 2013.

OLIVEIRA, ANA PAULA AUGUSTA DE. Respostas fisiológicas e morfoanatômicas de *Bowdichia virgilioides* Kunth. (Fabaceae) exposta a herbicidas. 2014. 103 f. **Dissertação** (Mestrado em Ecologia de Ecótonos) - Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, TO, 2014.

PEDROSO, A. N. V.; ALVES, E. S. Temporal dynamics of the cellular events in tobacco leaves exposed in São Paulo, Brazil, indicate oxidative stress by ozone. **Environmental Science Pollution Research**, São Paulo, v.22, n.9, p.6535- 6545, 2015. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11356-014-4025-y>

PIMENTEL, C., SARR, B., DIOUF, O., ABBOUD, A.C.D.S., ROY-MACAULEY, H., 2002. **Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivados em campo.** *Rev. da Univ. Rural* **22**, 7–14. (Haupt, 1930).

PITTA, F. T., VEGA, G. C., 2017. **Impactos da expansão do agronegócio no MATOPIBA: comunidades e meio ambiente.** Rio de Janeiro. Acesso em 24 de julho de 2018.

RASCHER, U., LIEBIG, M., LÜTTGE, U., 2000. **Evaluation of instant light-response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field.** *Plant, Cell Environ.* **23**, 1397–1405. doi:10.1046/j.1365-3040.2000.00650.x

REDDY, K. N.; DING, W.; ZABLOTOWICZ, R. M.; THOMSON, S. J.; HUANGA, Y.; KRUTZ, L. J. **Biological responses to glyphosate drift from aerial application in non-glyphosateresistant corn**. *Pest Management Science*, v. 66, i. 10, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.1996/abstract>>. Acesso em: 01 de agosto de 2018.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 16, p. 5139-5143, 2004.

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P.; ROCHA, M. M. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 30, n.7, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0102-311XPE020714>>. Acesso em: 04 de agosto de 2019.

RODRIGUES, J. D. **Absorção, translocação e modo de ação de defensivos**. Botucatu: UNESP, Instituto de Biociências, 1994. 106 p.

RONEN, R., GALUN, M., 1984. **Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation**. *Environ. Exp. Bot.* 24, 239–245. doi:10.1016/0098-8472(84)90004-2

ROSSI et al. Ecophysiological, anatomical and ultrastructural characteristics of *Vitex polygama* Cham. (Verbenaceae) submitted to different concentrations of fluoride. **Acta Scientiarum**, Oct.-Dec., 2016. Doi: 10.4025/actascibiolsci.v38i4.31400

SANT'ANNA-SANTOS, B.F., AZEVEDO, A.A. 2010. **Toxicidade e acúmulo de flúor em hortaliças nas adjacências de uma fábrica de alumínio**. Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/abb/v24n4/v24n4a10>. Acesso em 12 de agosto de 2018.

SANT'ANNA-SANTOS, B.F., AZEVEDO, A.A. 2007. **Aspectos morfoanatômicos da fitotoxicidade do flúor em duas espécies arbóreas tropicais**. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 48-50.

SANTOS, Vanessa Ribeiro de Souza Santos. **Análises fisiológicas e morfoanatômicas de *Miracrodruon urundeuva* Fr Allemão (Anacardiaceae) e *Cenostigma macrophyllum* Tul. (Fabaceae) submetidas a diferentes concentrações de glifosato**. 2015. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ecótonos), Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, TO, 2015.

SANTOS, V. R. S.; CRISPIM FILHO, A. J.; SANTANA, M. M.; COSTA, A. C.; SILVA, K. L. F.. Análises fisiológicas e morfoanatômicas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. (Fabaceae) submetida a diferentes concentrações de glifosato. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.11, n.5, p.159-173, 2020. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.005.0017>

SCHINASI, L.; ROOS, A. J.; RAY, R. M.; EDLEFSEN, K. L.; PARKS, C. G.; HOWARD, B. V.; MELIKER, J. R.; BONNER, M. R.; WALLACE, R. B.; CROIX, A. Z. Insecticide exposure and farm history in relation to risk of lymphomas and leukemias in the Women's Health Initiative (WHI) observational study cohort. **Ann Epidemiol.** 2015 November; 25(11): 803–810. doi:10.1016/j.annepidem.2015.08.002.

SCHRÜBBERS, L. C.; VALVERDE, B. E.; SORENSEN, J. C.; CEDERGREEN, N. Glyphosate spray drift in *Coffea arabica* – sensitivity of coffee plants and possible use of shikimic acid as a biomarker for glyphosate exposure. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 115, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.08.003>. Acesso em: 31 de julho de 2019

SILVA, M. R.; SILVA, M. S.; MARTINS, K. A.; BORGES, S. Utilização Tecnológica dos Frutos de Jatobá-do-Cerrado e de Jatobá-da-Mata na Elaboração de Biscoitos Fontes de Fibra Alimentar e Isentos de Açúcares. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 21(2): 176-182, maio-ago. 2001.

SILVA, A. A.; D'ANTONINO, L.; FERREIRA, F. A. Classificação e Mecanismos de Ação de Herbicidas. In: Zambolim, L.; Silva, A. A.; Picanço, M. C. (4.ed). *O que os engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários*. Viçosa, MG: UFV, Cap. 6, p. 153-212. 2014.

SILVA, F. B.; VITAL, R. G.; BATISTA, P. F.; COSTA, A. C.; JAKELAITIS, A. Drift from herbicides application on cultivated and native plants: a review. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 15, n. 1, p. 79-88, 2016.

SILVA, L. Q.; JAKELAITIS, A.; VASCONCELOS FILHO, S. C., COSTA, A. C.; ARAÚJO, A. C. F. Morpho-anatomical changes of pequi leaves (*Caryocar brasiliense* Cambess.) exposed to simulated drift of glyphosate. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 40, n. 4, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0100-67622016000400010>>. Acesso em: 13 de julho de 2018.

SILVA, R. P.; GRACIO, H. R. **O modelo de desenvolvimento do tocantins e o povo akwẽ-xerente: impactos socioambientais e desafios da interculturalidade**. PRACS: Revista Eletrônica de Humanidades do Curso de Ciências Sociais da UNIFAP

<https://periodicos.unifap.br/index.php/pracs> ISSN 1984-4352 Macapá, v. 13, n. 2, p. 131-144, jul./dez. 2020

SOUZA, L.B; CHAVEIRO E. F. Território, ambiente e modos de vida: conflitos entre o agronegócio e a Comunidade Quilombola de Morro de São João, Tocantins. **Sociedade & Natureza**, v. 31, p.1-26, 2019. ISSN 1982-4513. DOI: <http://dx.doi.org/10.14393/SN-v31n1-2019-42482>

SOUZA, C. D. DE.; FELFILI, J. M. **Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil** Acta bot. bras. 20(1): 135-142. 2006

SPRANKLE, P.; MEGGITT, W. F. D. P.. Absorption, Action, and Translocation of Glyphosate. **Weed Science**, Michigan, v.23, n.6882, p.235-240, 1975. DOI: <http://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0043174500052930>

TAIZ; L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal** [recurso eletrônico] / Lincoln Taiz ... [et al.] ; [tradução: Alexandra Antunes Mastroberti ... et al.] ; revisão técnica: Paulo Luiz de Oliveira. – 6. ed. – Porto Alegre: Artmed, 2017.

TOOGE, R. Governo libera o registro de 22 agrotóxicos genéricos para uso dos agricultores. São Paulo, 12 de maio de 2020. Disponível em: <https://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2020/05/12/governo-libera-o-registro-de-44-agrotoxicos-genericos-e-2-biologicos-ineditos-para-uso-dos-agricultores.ghtml>. Acesso em: 26 de maio 2020.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. **Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sobefeito de deriva do glyphosate**. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 23, n. 1, p. 133-142. 2005.

VASQUEZ-TELLO, A., ZUILY-FODIL, Y., THI, A.T.P., SILVA, J.B.V. da, 1989. **Electrolyte and pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in phaseolus and vigna species**. Exp. Bot. 41, 827–832. doi:10.1093/jxb/41.7.827

VIEIRA FILHO, José Eustáquio Ribeiro. **Expansão da fronteira agrícola no Brasil: desafios e perspectivas**. Rio de Janeiro: IPEA, 2016. 28 p. (Texto para Discussão/ IPEA, 2223). Disponível em: http://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/TDs/td_2223.pdf. Acesso em: 10 de julho de 2018.

YAMASHITA, O.M., BETONI, J.R., GUIMARÃES, S.C., ESPINOSA, M.M., 2009. **Influência do glyphosate e 2, 4-D sobre o desenvolvimento inicial de espécies florestais** Influence of glyphosate and 2, 4-D in initial development of forest. Ipef.Br 359–366.

WELLBURN, A. R., 1994. The spectral determination of chlorophyll *a* and chlorophyll *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. doi:10.1016/S0176-1617(11)81192-2

YAMADA, T.; CASTRO, P. R. C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. Encarte de Informações Agronômicas N°119. **International Plant Nutrition Institute**, 2007. p.32. Disponível em: <https://www.stopogm.net/sites/stopogm.net/files/webfm/plataforma/EfeitosGlifosatoPlantasImplica%C3%A7%C3%B5es.pdf>

YANNICCARI, M., TAMUSSI, E., ISTILART, C., CASTRO, A.M., 2012. Glyphosate effects on gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of two *Lolium perenne* L. biotypes with differential herbicide sensitivity. **Plant Physiol. Biochem.** 57, 210–217.