



**Universidade Federal do Tocantins  
Campus Universitário de Gurupi  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais**

**NÁDIA DA SILVA RAMOS**

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE MUDAS DE  
*Acacia mangium* À APLICAÇÕES DE DOSES DE GLYPHOSATE**

**GURUPI - TO  
2017**



**Universidade Federal do Tocantins  
Campus Universitário de Gurupi  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais**

**NADIA DA SILVA RAMOS**

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE MUDAS DE  
*Acacia mangium* À APLICAÇÕES DE DOSES DE GLYPHOSATE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais e Ambientais da Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais e Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Andrea Lemus Erasmo.

**GURUPI - TO  
2017**

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

---

- R175a Ramos, Nadia da Silva.  
ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE MUDAS DE  
Acacia mangium À APLICAÇÕES DE DOSES DE GLYPHOSATE. /  
Nadia da Silva Ramos. – Gurupi, TO, 2017.  
54 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do  
Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-  
Graduação (Mestrado) em Ciências Florestais e Ambientais, 2017.  
Orientador: Eduardo Andrea Lemus Erasmo
1. Alterações fisiológicas de mudas de Acacia Mangium. 2.  
Alterações morfológicas e bioquímicas. 3. Intoxicação por doses de  
glyphosate. 4. Enzimas antioxidantes. 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.

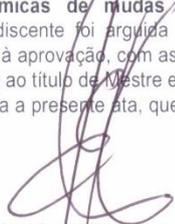
**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica  
da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**



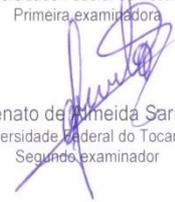
Defesa nº 042/2017

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE NADIA DA SILVA RAMOS,  
DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS E AMBIENTAIS  
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS.

Aos 03 dias do mês de abril do ano de 2017, às 14 horas, na sala 01, do edifício CeMAF, do Campus de Gurupi, da Universidade Federal do Tocantins - UFT, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Orientador Dr. EDUARDO ANDREA LEMUS ERASMO da Universidade Federal do Tocantins, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> SUSANA CRISTINE SIEBENEICHIER da Universidade Federal do Tocantins e Prof Dr RENATO DE ALMEIDA SARMENTO, da Universidade Federal do Tocantins, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de NADIA DA SILVA RAMOS, intitulada "**Alterações fisiológicas e bioquímicas de mudas de *Acaia mangium* à aplicação de glyphosate**". Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo parecer favorável à aprovação, com as devidas ressalvas e correções apontadas pela banca examinadora, habilitando-a ao título de Mestre em Ciências Florestais e Ambientais. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

  
Dr. Eduardo Andrea Lemus Erasmo  
Universidade Federal do Tocantins  
Orientador e presidente da banca examinadora

  
Dr<sup>ª</sup>. Susana Cristine Siebeneichier  
Universidade Federal do Tocantins  
Primeira examinadora

  
Dr. Renato de Almeida Sarmiento  
Universidade Federal do Tocantins  
Segundo examinador

Gurupi, 03 de abril de 2017.

  
Dr. Marcos Giongo  
Coordenador do Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais e Ambientais

*Dedico à você José Iran (Buda) (in memoriam), que infelizmente não pode estar presente neste momento tão feliz da minha vida, mas não poderia deixar de dedicar a você, pois se hoje estou aqui, teve grande contribuição, obrigado pelo carinho, incentivo e amizade. Obrigado por tudo!! Saudades eternas!*

**AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar à Deus por estar comigo em todos os momentos dessa dissertação, iluminando minha mente e me ajudando a entender cada vez mais o motivo de tanta luta e provação.

Agradeço aos meus pais, Raimundo e Maria de Nasaré, por serem parte fundamental da minha vida, me educarem da melhor maneira possível, me formando com o caráter que hoje tenho, por estarem comigo em todas as dificuldades.

Agradeço aos meus irmãos Cleiton e Nara, pelo incentivo, as minha filhas Anna Luisa e Anna Beatriz, pelo carinho e compreensão.

Agradeço a todos os meus amigos, Cineya, Marilde, Amanda, por me ajudarem e incentivarem, tornando-se minha família também e que com certeza tem um papel fundamental da minha construção como pessoa, como profissional e como pesquisador.

Agradeço aos amigos do Grupo de pesquisa, Sara Bruna, Nayra, Marciane, Marcus, André, Patrícia, Tânia, David, Flávia e em especial a Sara Bandeira, pelo companheirismo, por toda a ajuda prestada nas dificuldades e auxílio em medidas e procedimentos utilizados nessa dissertação.

Aos meus amigos do mestrado “intriguentos” Maxwell, Douglas, Norma, Gessica, Jaqueline, Cristiane, Ícaro e Fabiane, pelo companheirismo durante estes dois anos.

Agradeço em especial ao meu orientador Dr. Eduardo Andrea Lemus Erasmo, por todo o conhecimento, oportunidades, e por acreditar em mim.

A UFT, a capes e ao programa de pós graduação em Ciências Florestais e Ambientais pela oportunidade oferecida.

Muito obrigado!!!!

## RESUMO GERAL

O glyphosate é um dos herbicidas mais utilizados no mundo, pelo seu amplo espectro de ação, em espécies arbóreas, entretanto, pouco se sabe sobre a sua atuação nessas espécies. O objetivo desta pesquisa foi avaliar as alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas do glyphosate em *Acacia mangium*. O experimento foi realizado em condições de campo. As plantas jovens de *Acacia Mangium* receberam 5 tratamentos correspondentes a doses do herbicida (0, 180, 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> de glyphosate) em 6 repetições. No primeiro experimento, foi avaliado o crescimento e aspectos fisiológicos das plantas sob estresse oxidativo. Onde foram avaliadas as variáveis: Incremento em diâmetro, incremento em altura, massa seca do caule, folhas e raiz, intoxicação e também a assimilação líquida de carbono, condutância estomática, transpiração, eficiência do uso da água e eficiência da rubisco. No segundo experimento, avaliou-se as alterações bioquímicas em plantas jovens de *Acacia mangium*, sob estresse oxidativo. Para tanto, foi avaliado a atividade das enzimas antioxidantes: Ascorbato de peroxidase e superóxido dismutase. O glyphosate afeta a *Acacia* a partir da dose de 360 g.e.a.L<sup>-1</sup> tanto fisiologicamente quanto morfolologicamente. Os incrementos foram reduzindo de acordo com o aumento das doses. Em relação a assimilação líquida, as doses de 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> foram reduzidas aos 6, 12, 18 DAA, se estabilizando a partir dos 24 dias de avaliação. As respostas das enzimas oxidativas ao estresse oxidativo foram variáveis. A enzima superóxido dismutase (SOD) apresentou um aumento na dose de 180 g.e.a.L<sup>-1</sup> havendo decréscimo com o aumento das concentrações testadas. Para a Ascorbato de peroxidase (APX), mantiveram atividade semelhante nas duas avaliações, com um aumento contínuo de acordo com o aumento das doses.

**Palavras chave:** *Acacia mangium*, Glyphosate, Enzimas antioxidantes, Fotossíntese

## GENERAL ABSTRACT

Glyphosate is one of the most widely used herbicides in the world due to its broad spectrum of action on tree species, but little is known about its performance in these species. The objective of this research was to evaluate the physiological, biochemical and morphological alterations of glyphosate in *Acacia mangium*. The experiment was carried out under field conditions. The young plants of *Acacia Mangium* received 5 treatments corresponding to doses of the herbicide (0, 180, 360, 540 and 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> of glyphosate) in 6 replicates. In the first experiment, the growth and physiological aspects of the plants under oxidative stress were evaluated. The following variables were evaluated: increase in diameter, height increase, stem dry mass, leaves and root, intoxication and also net carbon assimilation, stomatal conductance, transpiration, water use efficiency and rubisco efficiency. In the second experiment, the biochemical alterations were evaluated in young plants of *Acacia mangium*, under oxidative stress. For that, the activity of the antioxidant enzymes: peroxidase ascorbate and superoxide dismutase was evaluated. Glyphosate affects *Acacia* from the 360 g.e.a.L<sup>-1</sup> dose both physiologically and morphologically. The increments were reduced as the doses increased. Regarding the net assimilation, the doses of 540 and 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> were reduced to 6, 12,18 DAA, stabilizing from the 24 days of evaluation. The responses of oxidative enzymes to oxidative stress were variable. The enzyme superoxide dismutase (SOD) showed a dose increase of 180 g.e.a.L<sup>-1</sup>, decreasing with increasing concentrations tested. For the peroxidase Ascorbate (APX), they maintained similar activity in both evaluations, with a continuous increase according to the increase of the doses.

**Key words:** *Acacia mangium*, Glyphosate, Antioxidant enzymes, Photosynthesis

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A - assimilação líquida  
ATP - Adenosina Trifosfato  
APX - peroxidase do ascorbato  
CAT - catalase  
Cu/Zn-SOD - superóxido dismutase com cobre/zinco  
DAA - dias após a aplicação  
DHA - deidroascorbato  
DIC - delineamento inteiramente casualizado  
E- transpiração  
EDTA - Ácido etilenodiaminotetracético  
EROs - Espécies Reativas de Oxigênio  
EPSPs -5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase  
Fe-SOD - superóxido dismutase com ferro  
Gs - condutância estomática  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - peróxido de hidrogênio  
IP- intoxicação de plantas  
IAA - Ácido Indolacético  
Mn-SOD - superóxido dismutase com manganês  
MSC - massa seca caule  
MSF - massa seca da folha  
MSR - massa seca da raiz  
NADP - fosfato de dinucleotídeo de adenina  
NBT - azul de nitrotetrazólio, nitroblue tetrazolium  
O<sub>2</sub> - radical superóxido  
PEP - Fosfoenolpiruvato  
PSI - Fotossistema I  
PSII - Fotossistema II  
PVP - Polivinil pirrolidona  
SOD - superóxido dismutase  
THF - tetraidrofolato  
VR - Volume de raiz

# SUMÁRIO

RESUMO GERAL .....	VII
GENERAL ABSTRACT.....	VIII
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....</b>	<b>IX</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
2.1 A CULTURA DA ACÁCIA .....	16
2.2 PLANTAS DANINHAS .....	17
2.3 GLYPHOSATE .....	19
2.3.1 <i>Ação do herbicida</i> .....	20
2.3.2 <i>Implicações fisiológicas nas plantas</i> .....	21
2.4 ESTRESSE OXIDATIVO .....	24
2.5 ENZIMAS ANTIOXIDANTES .....	26
2.6 SUPERÓXIDO DISMUTASE.....	27
2.7 ASCORBATO DE PEROXIDASE.....	28
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
3.1 MEDIDAS BIOMÉTRICAS E BIOMASSA .....	30
3.2 EXTRAÇÃO E ATIVIDADE DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES.....	31
3.3 ANÁLISE DE TROCAS GASOSAS .....	31
3.4 ANÁLISE DOS DADOS .....	32
4. RESULTADOS .....	33
5. DISCUSSÃO .....	44
6. CONCLUSÃO .....	49
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>50</b>

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 TRATAMENTOS UTILIZADOS NO EXPERIMENTO. GURUPI/TO,2017.....	29
TABELA 2 MASSA SECA DO CAULE (MSC), MASSA SECA DA FOLHA (MSF), MASSA SECA DA RAIZ (MSR), VOLUME DA RAIZ (VR) E ÁREA FOLIAR DE MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> COM A APLICAÇÃO DO HERBICIDA GLYPHOSATE EM QUATRO DOSES: T1 – TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO); T2 (180 G. EA L <sup>-1</sup> ), T3(360 G. EA L <sup>-1</sup> ), T4 (540 G. EA L <sup>-1</sup> ) E T5 (720 G. EA L <sup>-1</sup> ) AOS 75 DIAS APÓS A APLICAÇÃO (DAA), EM GURUPI, TO, 2016.....	37

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - A VIA DO CHIQUIMATO (LINHAS TRACEJADAS) E RELAÇÃO COM OUTRAS VIAS METABÓLICAS. FONTE: MODIFICADA DE DEVINE ET AL. (1993). .....	21
FIGURA 2 - ESQUEMA SIMPLIFICADO DAS ROTAS BIOSINTÉTICAS PARA PRODUÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS, ISOPRENÓIDES E ALCALÓIDES. FONTE: CASTRO ET AL. (2001). .....	22
FIGURA 3 - A FASE CLARA DA FOTOSSÍNTESE FONTE: BLAKENSHIP & PRINCE (1985). .....	23
FIGURA 4 - REAÇÃO QUÍMICA .....	28
FIGURA 5 - DISTRIBUIÇÃO DO EXPERIMENTO NO CAMPO. BLOCOS CASUALIZADOS, COM 4 DOSES DE GLYPHOSATE E A TESTEMUNHA(SEM APLICAÇÃO), E 5 REPETIÇÕES POR TRATAMENTO. ....	30
FIGURA 6 - CURVA DE LUZ DA <i>ACACIA MANGIUM</i> . .....	32
FIGURA 7. VARIAÇÃO DA TEMPERATURA, DA UMIDADE RELATIVA DO AR E RADIAÇÃO SOLAR. GURUPI/TO. ....	33
FIGURA 8: INCREMENTO DE ALTURA DE PLANTAS (%) DE MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> COM A APLICAÇÃO DO HERBICIDA GLYPHOSATE EM QUATRO DOSES: TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO), 180 G.E.A.L <sup>-1</sup> , 360 G.E.A.L <sup>-1</sup> , 540 G.E.A.L <sup>-1</sup> E 720 G.E.A.L <sup>-1</sup> , AOS 75 DIAS APÓS A APLICAÇÃO (DAA). .....	34
FIGURA 10: INCREMENTO DE DIÂMETRO DE CAULE (%) DE MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> COM A APLICAÇÃO DO HERBICIDA GLYPHOSATE EM QUATRO DOSES: TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO), 180 G.E.A.L <sup>-1</sup> , 360 G.E.A.L <sup>-1</sup> , 540 G.E.A.L <sup>-1</sup> E 720 G.E.A.L <sup>-1</sup> AOS 75 DIAS APÓS A APLICAÇÃO (DAA), EM GURUPI, TO, 2016. ....	35
FIGURA 11:INTOXICAÇÃO EM GRAUS RADIANO (%) EM MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> COM 7, 14, 21, 28 E 35 DIAS APÓS A APLICAÇÃO (DAA) COM O HERBICIDA GLYPHOSATE EM QUATRO DOSES (180, 360, 540 E 720 G. E.A.L <sup>-1</sup> ) E A TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO), EM GURUPI, TO, 2016. ....	36
FIGURA 12 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD)(U• G MF <sup>-1</sup> .) EM MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> APÓS A APLICAÇÃO DE DOSES GLYPHOSATE. GURUPI-TO. ....	37
FIGURA 13 - ASCORBATO PEROXIDASE (APX) EM MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> COM 10 E 20 DIAS APÓS A APLICAÇÃO (DAA) DO HERBICIDA GLYPHOSATE EM QUATRO DOSES (180, 360, 540 E 720 G.E.A.L <sup>-1</sup> ) E A TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO), EM GURUPI, TO, 2016. ....	38
FIGURA 14 - ASSIMILAÇÃO LÍQUIDA (A) EM MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> COM 6, 12, 18, 24 E 30 DIAS APÓS A APLICAÇÃO (DAA) DO HERBICIDA GLYPHOSATE EM QUATRO DOSES (180, 360, 540 E 720 G.E.A.L <sup>-1</sup> ) E A TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO), EM GURUPI, TO, 2016. ....	39
FIGURA 15 - CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (gs) EM MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> COM 6, 12, 18, 24 E 30 DIAS APÓS A APLICAÇÃO (DAA) DO HERBICIDA GLYPHOSATE EM QUATRO DOSES (180, 360, 540 E 720 G. E. A L <sup>-1</sup> ) E A TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO), EM GURUPI, TO, 2016. ....	40
FIGURA 16 - TRANSPIRAÇÃO (E) EM MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> COM 6, 12, 18, 24 E 30 DIAS APÓS A APLICAÇÃO (DAA) DO HERBICIDA GLYPHOSATE EM QUATRO DOSES (180, 360, 540 E 720 G.E.A.L <sup>-1</sup> ) E A TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO), EM GURUPI, TO, 2016. ....	41
FIGURA 17 - CONCENTRAÇÃO INTERNO DE CO <sub>2</sub> (Ci) EM MUDAS DE <i>ACACIA MANGIUM</i> COM 6, 12, 18, 24 E 30 DIAS APÓS A APLICAÇÃO (DAA) DO HERBICIDA GLYPHOSATE EM QUATRO DOSES (180, 360, 540 E 720 G.E.A.L <sup>-1</sup> ) E A TESTEMUNHA (SEM APLICAÇÃO), EM GURUPI, TO, 2016. ....	42
FIGURA 18 - EFICIÊNCIA DO USO DE ÁGUA DE <i>ACACIA MANGIUM</i> , SUBMETIDO A DIFERENTES DOSES DE GLYPHOSATE. GURUPI - TO, 2016. ....	43
FIGURA 19 - EFICIÊNCIA DA RUBISCO DE <i>ACACIA MANGIUM</i> , SUBMETIDO A DIFERENTES DE GLYPHOSATE, GURUPI-TO, 2016. ....	44

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A espécie *Acacia mangium* é uma leguminosa de grande valor comercial sendo muito cultivada, especialmente para energia primária (VALE et al., 2000) e celulose (ALENCAR, 2009). Recentemente, têm-se realizado estudos para utilização de sua madeira para produção de partículas destinadas à indústria de compósitos de madeira, puros ou através de mix com outras espécies que possuem densidades menores (SILVA, 2008). Apresenta um crescimento relativamente rápido com cerca de  $5\text{m}\cdot\text{ano}^{-1}$  e vida média de 40 anos (VEIGA et al., 2000) e um bom desenvolvimento em várias regiões do país, não sendo exigente em solos ricos em nutrientes (FALESI, 2006).

Espécies de plantas daninhas podem ainda competir por água, luz, nutrientes e também causar interferências de natureza alelopática, podendo interferir no desenvolvimento das culturas (PITELLI, 1987). Segundo Tarouco et al. (2009) ao avaliarem a interferência de plantas daninhas na cultura do eucalipto observaram que houve redução no diâmetro, na altura e alteração na absorção de nutrientes e água indicando que medidas de controle devem ser tomadas no momento de implantação da cultura.

Dentre os diversos métodos de controle, o mais adotado é o químico, devido à escassez de mão-de-obra, a existência de grandes áreas cultivadas e ao menor custo, sendo o herbicida glyphosate o mais utilizado em plantios florestais (SANTOS et al., 2006). Este herbicida é utilizado em pós-emergência para o controle de plantas daninhas, porém é um herbicida não seletivo com ação de amplo espectro, sendo absorvido através das folhas e translocado preferencialmente via floema para as regiões meristemáticas das plantas (YAMADA et al., 2007).

A utilização do glyphosate no controle de plantas daninhas em espécies florestais é de suma importância, porém, ainda são poucos os trabalhos que relatam os efeitos do estresse sofrido pelas espécies florestais quando expostas a derivas deste herbicida (MACHADO et al. 2010).

Todavia, é sabido que o glyphosate por ser um herbicida não seletivo para algumas espécies florestais pode causar algumas alterações metabólicas, sendo

umas das mais relevantes o acúmulo do ácido chiquímico e formação e/ou ativação das enzimas reativas oxidativas (EROS).

O acúmulo do ácido chiquímico está diretamente ligado a inibição da enzima EPSPS (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase), causada pelo herbicida glyphosate, evitando com isso a síntese dos três aminoácidos essenciais, triptofano, fenilamina e tirosina, ocasionando alterações na fotossíntese, respiração e transpiração (YAMADA et al., 2007).

O estresse abiótico causado pelo herbicida, pode ocasionar alterações das vias metabólicas nas plantas, podendo levar a um aumento da produção de EROs (espécies reativas de oxigênio), denominado de estresse oxidativo (Sharma et al., 2012).

O maior dano causado pelo estresse oxidativo é a peroxidação dos ácidos graxos constituintes da dupla camada lipídica da membrana celular, resultando em um desequilíbrio no metabolismo aeróbico e ameaça à homeostase celular (Martins, 2013).

Embora o oxigênio seja importante para desempenhar várias funções celulares, ele também apresenta desvantagens para os organismos, pois os processos metabólicos dependentes desse elemento, como a respiração aeróbica, fotossíntese e fotorrespiração, levam à produção de EROs nas células vegetais, tais como, mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos, respectivamente (Barbosa et al., 2014; Karuppanapandian et al. 2011; Foyer e Noctor, 2003).

No metabolismo dos vegetais, a transformação do oxigênio molecular ( $O_2$ ) em água ( $H_2O$ ), forma peróxido ( $H_2O_2$ ) que é considerado tóxico para as plantas. Acredita-se que várias enzimas apoplásticas possa levar a produção de EROs em condições normais e de estresse (Almagro et al. 2009).

As células possuem mecanismos de defesa antioxidantes excelentes para desintoxicar os efeitos prejudiciais das EROs, que podem ser enzimáticas (superóxido dismutase, catalase, glutatona peroxidase-GSH-Px e glutatona redutase-Rd) ou não enzimática (glutatona, prolina,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -tocoferóis, carotenóides, flavonóides e o ascorbato (AsA), os quais são capazes degradá-los ou neutralizar a citotoxicidade das EROs, preservando a integridade das células (Gill e Tuteja, 2010; Davar et al., 2013; Barbosa et al., 2014; Dallaqua e Damasceno, 2011).

O ascorbato (AsA) é um dos mais importantes antioxidantes não enzimáticos e pode inativar várias EROs, juntamente com a GSH, participa do ciclo do Ascorbato Glutathiona, no qual o  $H_2O_2$  é eliminado pelo ascorbato peroxidase (APX), mediante a peroxidação do AsA (Barbosa et al., 2014).

Não há dados, para identificar os efeitos deste herbicida na fisiologia e bioquímica da acácia, especialmente aqueles relacionados à absorção de água e fotossíntese, as quais são as bases do processo de produção de biomassa. Este trabalho tem o objetivo de avaliar as alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas do glyphosate em plantas de *Acacia mangium*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura da Acácia

A *Acácia mangium* apresenta uma área plantada no mundo somando cerca de 8.317.000 hectare, sendo 7.964.000 hectares localizados na Ásia, 345.000 hectares na África e 8.000 hectares na Oceania (FAO, 2002).

Caracterizada uma das espécies florestais mais propícias para programas de reflorestamento devido ao seu rápido crescimento e tolerância a diversos tipos de solos, capacidade para se expandir bem em condições adversas de competição, relativa tolerância a doenças (NRC, 1983).

A maioria das plantas apresentam as seguintes características: altura entre 25 a 30 metros de altura e 90 cm de diâmetro à altura do peito (DAP), fuste ereto, com divisões que começam acima da metade da altura total, copa globular, porém com redução do espaçamento, apresenta-se cônica, raízes superficiais e abundantes (Yared et al., 1990).

Apresentam folhas simples e alternas, ramos verdes e alados, dispostos espiraladamente, ovalado-lanceoladas ou ovalado-alongadas, largas, coriáceas, de pecíolo curto, ápice alongado, com nervuras salientes partindo da base, de 12-18cm de comprimento.

Por ser uma leguminosa a *Acacia mangium* mostra uma grande vantagem sobre as demais espécies florestais que é sua união micorrízica com alguns microrganismos do solo, a mesma tem a capacidade de fazer simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*, que são capazes de fixar nitrogênio (Reddell e Warren, 1986).

A madeira da *A. mangium* é adequada para celulose, papel, a placa de partícula, engradados e lascas de madeira, também apresenta um grande potencial para madeira serrada, ligas, móveis e folheados e ainda pode ser para a lenha e carvão vegetal. As folhas podem servir como forragem para o gado, pois possui ótima palatabilidade e os ramos e folhas secas podem ser usados como combustível.

As árvores desta espécie são úteis para sombra, fins ornamentais, triagem, limites e quebra-ventos, também são usadas em sistemas agroflorestais e bem como no

controle de erosão (National Research Council 1983). Já flores desta espécie florestal são melíferas e constituem uma excelente fonte de alimento para as abelhas (BALIEIRO et al.,2004).

É uma iniciativa que tem gerado grandes lucros porque o néctar é produzido e extraído das flores, a produção começa 4 a 5 meses após o plantio das mudas, composto de uma excelente alimentação para as abelhas, em regiões da Ásia onde está planta é cultivada em grandes áreas (LEMMENS et al. 1995). Nesta espécie também pode-se se extrair o tanino que é muito utilizado nas indústrias de couros, colas, adesivas e branqueamento de açúcares.

No Brasil, apresenta algumas vantagens em virtude do rápido crescimento de espécies florestais em virtude das condições edafoclimáticas favoráveis e tecnologias desenvolvidas, colaborando para suprir a demanda internacional e tornar-se um grande exportador de produtos florestais (VALVERDE, 2004; TIBURCIO et al., 2012).

Todavia, a produtividade dessas espécies florestais pode estar sendo limitada pelas plantas daninhas, através da competição dos recursos disponíveis no ambiente, por dificultarem os tratos culturais, aumentando os riscos de incêndios e uma queda significativa na produção da cultura (TIBURCIO et al., 2012).

Alguns trabalhos mostram que espécies florestais em convivência com plantas daninhas pode apresentar diminuição em seu diâmetro, na altura e alteração na absorção de nutrientes e água (SILVA et al., 2000; TOLEDO et al., 2000; TAROUCO et al., 2009).

## **2.2 Plantas Daninhas**

As plantas daninhas precisam de alguns recursos para se desenvolver, assim como a cultura, estes recursos pode estar em ambientes agrícolas e muitas das vezes em quantidades insatisfatórias para atender ambas as necessidades. Os principais destes recursos de crescimento são: água, nutrientes, espaço e luz.

Segundo Davies, (1987) as plantas daninhas diminuem a quantidade de água disponível no solo por desenvolverem sua evapotranspiração e pela interceptação de parte da água da chuva, que fica presa nas folhas, podendo penetrar no mesófilo foliar ou evaporar.

A capacidade competitiva de uma planta por água e nutrientes, depende do volume do solo ocupado pelo sistema radicular, ou seja, quanto maior o volume

ocupado, maior o sistema radicular e mais competitiva será as plantas (Christoffoleti et al., 1998).

Na maioria dos ambientes florestais ocorre competição com plantas daninhas, foi verificado que esta convivência pode acarretar algumas deficiências nutricionais nas espécies (Marchi et al., 1995). Essa diminuição nutricional de algumas plantas pode ocasionar reduções no tamanho da planta como conseqüentemente uma redução no acúmulo de massa seca o que pode comprometer a produtividade da cultura (Pitelli e Marchi, 1991).

Como a maioria das plantas cultivadas, a acácia é uma planta C3. Quem é C3, a Acácia. No entanto, grande parte das plantas daninhas é classificada como C4. Quando comparamos as plantas C3 e C4 observamos que as plantas C4 tem várias vantagens competitivas em relação as plantas C3, como a fotossíntese, que é maior em ambientes com temperatura e luminosidade elevada e o uso da água é mais eficaz nessas espécies. Já as plantas C3 demonstram queda no seu desempenho em temperaturas elevadas e são saturadas pela luz mais rapidamente pela luz.

Portanto, quando essa competição se estabelece o estiolamento das mudas de acácia pode ocorrer. Pois as mudas plantas em busca de luz, promovem um desenvolvimento rápido em relação à altura, comprimento dos caules e poucas folhas no ápice. Nessa condição, a menor superfície de perda de água sobre um déficit o transporte ascendente é impedido, já que esse tipo de transporte precisa de um grande déficit energético entre a copa e o sistema radicular, o que é complicado de ocorrer devido à pequena superfície de transpiração (Pitelli e Marchi, 1991).

Quanto mais tempo as plantas daninhas e a cultura conviverem entre si, maior será o grau de interferência das plantas daninhas. A época e a duração do período em que a cultura e a comunidade infestante podem ou não conviver determinarão os períodos de interferência.

Depois da instalação da cultura, os recursos disponíveis no meio atendem as demandas de crescimento tanto das plantas daninhas quanto da cultura, sendo esse período denominado de período anterior à interferência (PAI) (Pitelli e Durigan, 1984).

As medidas de controle nesse período não são necessárias, onde na prática este limite dificilmente é utilizado, pois a cultura ou as plantas daninhas podem ter

atingido um estágio de desenvolvimento que dificulte ou não permita práticas de controle recomendando-se, portanto o controle destas plantas logo após o plantio.

O período total de prevenção da interferência (PTPI) compreende o período em que a cultura deve crescer livre da presença de plantas daninhas (Pitelli e Durigan, 1984), terminando quando a cultura consegue sombrear o solo, reduzindo a germinação das plantas daninhas. Após este período, métodos de controle das plantas daninhas não precisam mais serem realizados.

### 2.3 Glyphosate

É um herbicida utilizado no controle químico em áreas de plantio de espécies florestais (VICTÓRIA FILHO, 1987), mostrando algumas qualidades a respeito dos outros herbicidas, pois tem uma área de ação maior que os demais e baixo custo de aplicação, mais não é seletivo (MALIK *et al.*, 1989; TOLEDO *et al.*, 2003). Entretanto, esse produto não deixa resíduo no solo, por ser amplamente adsorvido pelas partículas coloidais (PRATA, 2002; RODRIGUES e ALMEIDA, 2005), solicitando aplicações repetidas no controle de plantas daninhas no período de formação da floresta (TOLEDO, 1996).

O Glyphosate é o mais comercializado no mundo, sendo utilizado em mais de 119 países, com mais de 150 marcas comerciais, apresenta uma nomenclatura N-(fosfometil)-glicina, pertence ao grupo químico dos derivados da glicina, sendo um aminoácido análogo ao aminoácido natural. Deriva da contração entre glicina + fosfato (BRIDGES, 2003; RODRIGUES & ALMEIDA 2005), com fórmula química  $C_3H_8NO_5P$ .

O uso deste herbicida tem sido frequente, é o mais utilizado em pós-emergência nas plantas daninhas, minuciosamente utilizado nos manejos químicos em áreas de reflorestamento (VICTÓRIA FILHO, 1987), capaz de controlar 76 das 78 plantas invasoras mais agressivas (FRANZ, 1985; QUINN, 1993; GRUYS e SIKORSKI, 1999), apresentando vantagens sobre os outros herbicidas existentes, pois possui amplo espectro de ação e baixo custo de aplicação (MALIK *et al.*, 1989; TOLEDO *et al.*, 2003), exigindo aplicações repetidas no controle de plantas daninhas durante o período de formação da floresta (TOLEDO, 1996).

Em condições favoráveis o glyphosate penetra nas folhas, em seguida atinge as raízes, rizomas e meristemas apicais, através da translocação via floema e xilema, uma vez que o floema é principal mecanismo de transporte de herbicidas

aplicados em pós emergência das plantas daninhas (Satchivi et al., 2000). Sua absorção e translocação são fundamentais para o produto alcançar o sítio de ação, pois representam um fator essencial na eficácia e suscetibilidade da planta ao herbicida.

Segundo Yamada & Castro (2007) a planta contaminada com glifosato tem o crescimento da parte aérea e do sistema radicular diminuído além de perda da resistência contra doenças, isso até mesmo com doses baixas como 3 mL ha<sup>-1</sup> de produto comercial.

Autores como (Galli & Montezuma, 2005; Yamada & Castro, 2007), alertam que o glyphosate, se utilizado de forma inadequada, pode ocasionar fitotoxicidade, ou mesmo levar à morte as plantas.

### **2.3.1 Ação do herbicida**

A mobilidade do herbicida é grande no floema e é rapidamente translocado por todas as partes da planta e aumenta nas regiões meristemáticas.

Turner & Loader (1974) provaram que formulações solubilizadas em óleo facilitam a entrada do glyphosate pela casca de espécies florestais. O glyphosate movimenta-se através do simplasto, aplicações do produto em folhas maduras possibilitam a passagem do herbicida para as regiões de crescimento no restante da planta, junto com os fotoassimilados (Peterson et al., 1978).

Após a aplicação os sintomas mais observados são clorose foliar e em seguida necrose. Outros sintomas foliares evidentes são: o enrugamento ou mal formações nas área de rebrota, necrose de meristema, rizomas e estolões em plantas perenes. Diferentes de alguns herbicidas de contato, o sintoma fitotóxico ocasionado pelo glyphosate desenvolve devagar com morte ocorrendo depois de dias ou mesmo semanas (Gruys & Sikorski, 1999).

É o único herbicida capaz de inibir especificamente a enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPs) através do seu mecanismo de ação que catalisa a condensação do ácido chiquímico e do fosfato piruvato, impedindo a síntese dos três principais aminoácidos – triptofano, fenilalanina e tirosina (JAWORSKI, 1972; ZABLOTOWICZ e REDDY, 2004).

Observando a figura 2, o final da rota do chiquimato forma o corismato, do qual muitos metabólitos secundários são formados como o tetrahydrofolato (THF), ubiquinona e vitamina K, que são essenciais para planta. A fenilalanina, além de participar da biossíntese de proteínas, é também substrato para a via do fenilpropanóide que produz vários produtos secundários de plantas, tais como antocianinas, lignina, promotores e inibidores de crescimento e compostos fenólicos (Devine et al., 1993; Gruys & Sikorski, 1999).

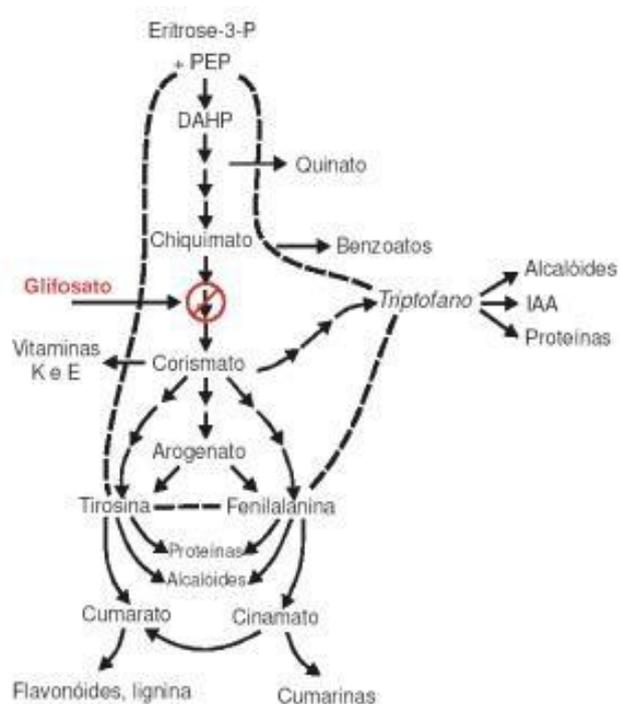


Figura 1 - A via do chiquimato (linhas tracejadas) e relação com outras vias metabólicas. Fonte: Modificada de Devine et al. (1993).

### 2.3.2 Implicações fisiológicas nas plantas

Segundo Lydon & Duke (1989), entre os efeitos causados pelo glyphosate através do bloqueio da rota do ácido chiquímico está: síntese de AIA e de outros hormônios vegetais, síntese de clorofila, síntese de fitoalexinas e de lignina, síntese de proteínas, fotossíntese, respiração, transpiração, permeabilidade de membranas e outros mais.

Um dos segmentos sintéticos inicial das plantas verdes é a fotossíntese na qual elas costumam usar a energia do sol para a produção de compostos orgânicos, agrupados em características comuns, em metabólitos primários e secundários.

Os metabólitos primários, primordiais para a sobrevivência dos organismos são: açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos e polímeros derivados deles. Os compostos metabólitos secundários são aqueles utilizados como precursores de compostos em reações catalizadas quais são: ácido chiquímico, acetato e aminoácidos alifáticos.

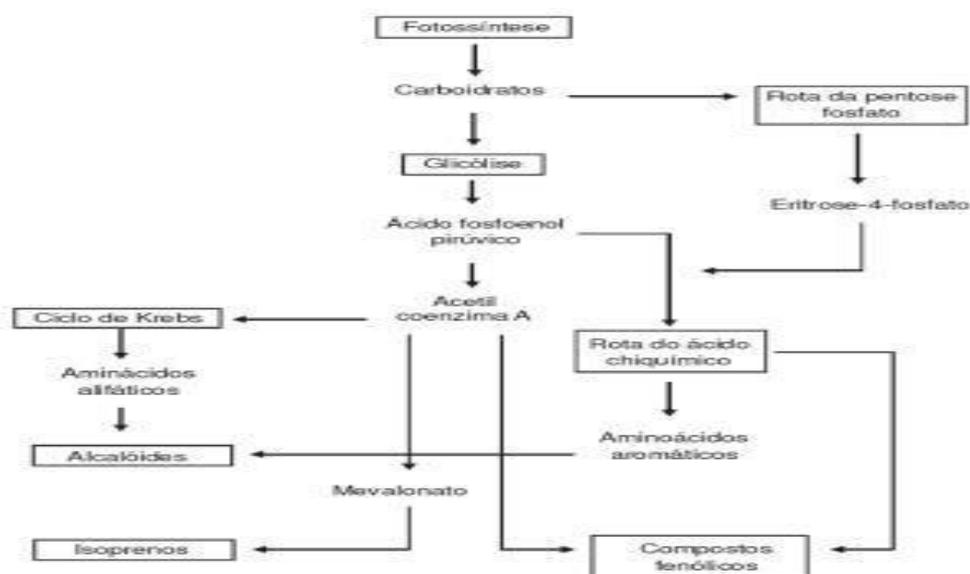


Figura 2 - Esquema simplificado das rotas biossintéticas para produção de compostos fenólicos, isoprenóides e alcalóides. Fonte: Castro et al. (2001).

O glyphosate, com seu modo de ação na planta, inibindo a enzima EPSPs provoca a redução na eficiência na taxa fotossintética. Pois a planta sob influência desse herbicida passa a não produzir os aminoácidos para a síntese de proteínas e alguns metabólitos secundários, o que acarreta num colapso no metabolismo intermediário (Figueiredo, 2009).

A fotossíntese ocorre em duas fases a clara ou fotoquímica e a escura ou fase química. A fase clara ocorre nos tilacóides dos cloroplastos e é imprescindível a presença de luz. Ao consumir um fóton, a clorofila passa de um estado de energia mais baixa para um estado de energia mais alta reduzindo outras moléculas.

Segundo Taiz & Zaiger, (2004), o centro de reação de uma dessas unidades absorve preferencialmente a luz de comprimento de onda maior que 680 nm, precisamente em 700 nm, sendo denominada de fotossistema I (P700), enquanto a

outra absorve a luz preferencialmente em 680 nm, sendo chamada de fotossistema II (P680). Estes dois fotossistemas trabalham simultaneamente e em série, o fotossistema I absorve fóton emitindo elétrons na curva reduzindo NADP em NADPH e reduzindo ADP em ATP, e o fotossistema II absorve fótons e emitindo elétrons na mesma curva de onda, oxidando a água.

A fase escura da fotossíntese ocorre no estroma dos cloroplastos, sem precisar de energia luminosa, que usa a energia acumulado no ATP produzido na fase fotoquímica. O CO<sub>2</sub> absorvido da atmosfera transforma-se em glicose por meio da incorporação dos hidrogênios cedidos pelas moléculas de NADPH, formadas na fase clara. Assim a formação de carboidratos não envolve a luz diretamente, mas precisa de dois produtos formados durante a fase clara: o NADPH e o ATP, que formam na presença de energia luminosa.

Os átomos de carbono são incorporados em uma sequência cíclica de reações, denominado ciclo das pentoses ou ciclo de Calvin, que é dividido em três etapas: carboxilação, redução e regeneração. O redutor produzido pelo fotossistema II (PSII) reduz o oxidante produzido pelo fotossistema I (PSI). Todas as propriedades são demonstradas na Figura 4.

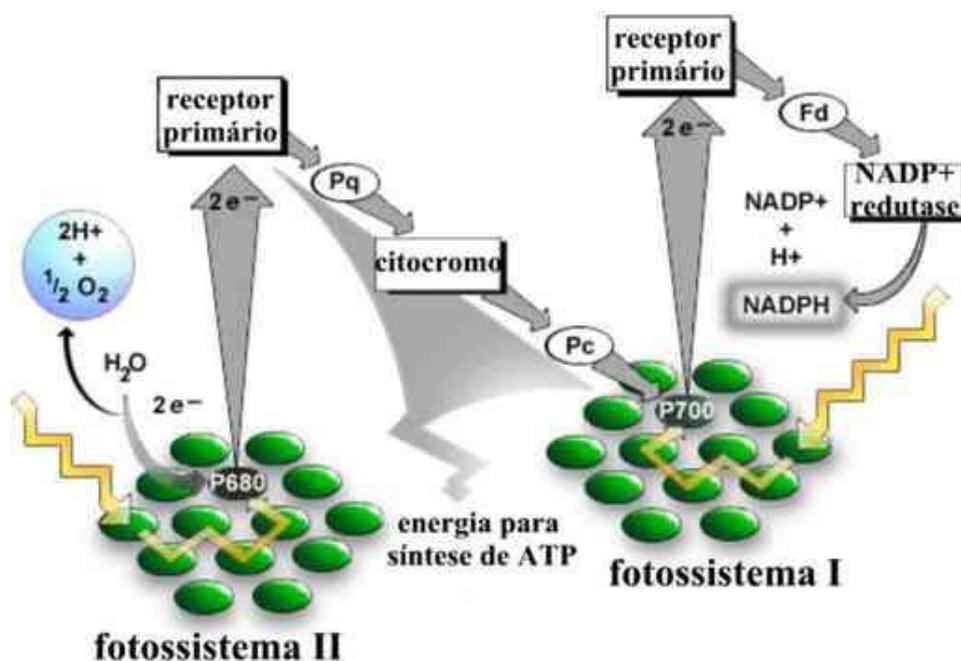


Figura 3 - A fase clara da fotossíntese Fonte: Blakenship & Prince (1985).

Navarro et al., (2013) avaliou os efeitos do glyphosate sobre a fotossíntese em soja, no qual foi verificado que houve redução na taxa fotossintética. O que pode ser explicado pelo próprio modo de ação do herbicida.

Outra consequência fisiológica importante para as plantas é a inibição da síntese do ácido indolilacético (IAA) que é um derivado do triptofano, isso porque glifosato inibe a síntese de corismato e de triptofano. E por se tratar de um promotor de crescimento, o resultado disso é um menor crescimento na parte aérea e um gravitropismo nas raízes (Yamada e Castro, 2007).

## **2.4 Estresse oxidativo**

As plantas estão sob constante exposição a diversos fatores que podem causar algum tipo de estresse: biótico ou abiótico. Através desses estímulos surge o estresse oxidativo, que é uma reação natural da planta após o reconhecimento de algum agente patogênico (Fiori, 2011) reação essa, que visa fortalecer a parede celular vegetal (Fernandes et al, 2013).

Pode-se classificar as condições ambientais extremas que produzem estresse oxidativo em abióticas: alta irradiação, seca, hiperoxia, anoxia, deficiência mineral, baixas temperaturas e altas temperaturas; bióticas: infecções bacterianas, fúngicas e virais xenobióticas: Herbicidas redox-cíclicos: paraquat, diquat; poluentes atmosféricos: (SO<sub>2</sub>, NO, NO<sub>2</sub>, o ozônio) e os metais pesados (Carrillo e Vale, 2005).

Conforme Carrillo e Vale, (2005), existem várias situações ambientais que podem produzir estresse oxidativo, deste modo, a produção de EROS pode ser vista como uma característica universal do estresse.

Segundo Ribeiro et al, (2005), a terminologia Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) inclui as espécies radicais livres e outras que, embora não possuam elétrons desemparelhados, são muito reativas em decorrência de sua instabilidade.

As espécies reativas de oxigênio são produzidas durante os processos oxidativos de forma normal, porém sob condições de estresse tem como principal ponto de fabricação os sítios intracelulares como os cloroplastos, as mitocôndrias e perixomos (Éaux eToledano, 2007). Outras fontes importantes de EROs intracelular são: NADPH oxidases (gera ânion superóxido), óxido nítrico sintases (gera óxido nítrico) e lipoxigenases (gera hidroperóxidos de ácidos graxos) (Sandim, 2014).

Devido a sua configuração eletrônica, o oxigênio tende a receber um elétron de cada vez, formando compostos intermediários altamente reativos, destacando-se o ânion radical superóxido ( $O_2^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $OH^-$ ). Sendo que a partir do  $O_2^-$ , que é o primeiro intermediário da redução do oxigênio até a água, são formadas as outras espécies reativas de oxigênio.

As mitocôndrias são consideradas como a fonte da maioria das EROs, especificamente do radical ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ). As reações que geram ATP na mitocôndria requerem elétrons de substratos reduzidos para serem passados ao longo da cadeia de transporte de elétrons. Elétrons que vazam deste processo reagem com o oxigênio molecular ( $O_2$ ) gerando o radical ânion superóxido. Esse radical é um mediador importante em inúmeras reações oxidativas em cadeia e também é um precursor para muitas outras EROs (Sandim, 2014).

De maneira geral, EROs são reconhecidos por fazer um duplo papel, como prejudiciais ou benéficos, que varia em função da sua concentração em plantas. Em alta concentração o EROs causa danos a biomoléculas, enquanto que em concentração moderada ele atua como segundo mensageiro nas cascatas de sinalização intracelular que interveem várias respostas em células vegetais (Sharma et al, 2012).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) em condições ambientais naturais protegem as plantas, porém, quando são produzidas em grande quantidade, tornam-se tóxicas e capazes de causar efeitos negativos sob forma de reações de oxidação envolvendo proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (Bandyopadhyay e Banerjee, 1999).

Quando ocorre o estresse oxidativo a produção de EROs é aumentada além da capacidade celular. Isso ocorre porque o sistema antioxidante das células não suporta o excesso de substâncias reativas que foram formadas.

No momento que a geração de EROs ultrapassa a defesa antioxidante das células, ocorrem danos oxidativos das macromoléculas celulares (lipídios, proteínas, ácidos nucleicos), que conduz, finalmente, para várias condições patológicas. A peroxidação lipídica mediada por EROs, a oxidação de proteínas, e danos no DNA são resultados bem conhecidos dos radicais livres derivados do oxigênio, levando a patologia celular e em última instância, à morte da célula (Bandyopadhyay; Banerjee, 1999).

A peroxidação de lipídios representa a última etapa e a ação física propriamente dita dos herbicidas relacionados direta ou indiretamente à fotossíntese. Podendo ocorrer como consequência do desequilíbrio entre o sistema oxidante e o estado pró-oxidante gerado pela toxicidade de herbicidas (Ballesteros et al, 2009).

## **2.5 Enzimas antioxidantes**

Segundo Cotinguiba et al (2013) antioxidantes são substâncias que podem atrasar ou inibir as lesões causadas por radicais livres. A concentração dessas substâncias pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes.

Os antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos são essenciais para a proteção e restauração do metabolismo e as funções celulares, convertendo a EROs em metabólitos não prejudiciais a célula. Segundo Rocha e Rocha (2006), enzimas antioxidantes são substâncias que mesmo presentes em baixas concentrações em relação ao substrato oxidante, poderiam atrasar ou inibir as taxas de oxidação.

As enzimas antioxidantes estão presentes em diferentes compartimentos celulares e contribuem para o controle das EROs em plantas, o que confere um estágio de homeostase redox no sistema (Sousa, 2013). Estas enzimas são as responsáveis por regularem os níveis de espécies reativas de oxigênio nos hospedeiros, controlando, assim, a intensidade da resposta e a duração da mesma (Fernandes et al, 2013).

De acordo com Kong e Lillei (1998), os antioxidantes agem nas três linhas de defesa orgânica contra as EROS. A primeira, é a de prevenção, caracterizando-se pela proteção contra a formação de substâncias agressoras. A segunda, é a interceptação, os antioxidantes interceptam os radicais livres, os quais uma vez formados iniciam suas atividades destrutivas. E a última, é o reparo que ocorre quando as duas primeiras linhas não foram completamente efetivas e os produtos de destruição pelos EROS estão sendo continuamente formados e podem se acumular no organismo.

Destacam-se entre as enzimas antioxidantes a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.1), glutathione redutase (GR, EC 1.6.4.2), peroxidases (POD, EC 1.11.1.7), catalase (CAT, EC 1.11.1.6) e polifenoloxidase (PPO, EC 1.14.18.1). Entre os principais metabólitos antioxidantes, encontram-se o

ácido ascórbico (AsA), a glutathiona (GSH), o  $\alpha$ -tocoferol e os carotenoides (Barbosa et al, 2014).

A atividade das enzimas antioxidantes pode ser aumentada ou inibida dependendo da intensidade e duração do estresse aplicado, bem como da suscetibilidade das espécies expostas (Ballesteros et al, 2009).

De acordo com Rover Júnior et al. (2001), muitas das reações radicalares prejudiciais in vivo são evitadas ou modificadas pela ação de agentes inibidores ou antioxidantes. Por exemplo, no caso de superóxidos, a enzima SOD age como agente de defesa contra esta espécie, enquanto as enzimas catalase e peroxidase atuam sobre  $H_2O_2$ .

A ação sincronizada das enzimas responsáveis pela remoção das EROs confere maior tolerância as plantas sob condições de estresse. A superóxido dismutase (SOD), primeira enzima a atuar no sistema antioxidante, realizando a dismutação do radical superóxido ( $O_2\cdot^-$ ) a peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). E em seguida o processo de detoxificação do peróxido de hidrogênio é feito pela ascorbato peroxidase (APX), de acordo com o excesso de EROs (Deuner et al, 2011).

## 2.6 Superóxido Dismutase

As Superóxido dismutases (SODs) são metalo-enzimas consideradas a primeira linha de defesa contra as EROs e que catalisam a dismutação de dois radicais  $O_2\cdot^-$ , gerando  $H_2O_2$  e  $O_2$  (Barbosa et al, 2014).

A SOD pode ocorrer de três formas, dependendo do metal associado a mesma (Cu e Zn no citoplasma de eucariontes, Mn na matriz mitocondrial e Fe em bactérias). As plantas normalmente, têm Cu / Zn-SOD no citosol, Cu / Zn e/ou Fe-SOD no cloroplasto e Mn-SOD na mitocôndria (Resende et al, 2003).

Também tem sido relatado um novo tipo de SOD que tem Ni (Ni-SOD) no sítio ativo em *Streptomyces* e cianobactérias. A Ni-SOD tem uma estrutura homohexamérica onde cada subunidade está conformada por quatro hélices, onde se localiza o sítio ativo (WUERGES et al., 2004).

A enzima SOD uma vez que dismuta o  $O_2\cdot^-$ , age indiretamente na redução do risco de formação do  $OH\cdot$  a partir do  $O_2\cdot^-$  (Dinakar et al, 2011). É a única enzima

nas plantas, capaz de eliminar o poder tóxico causado pelo radical  $O_2^{\cdot-}$ , formando-se  $H_2O_2$  que é posteriormente eliminado por outras enzimas.

A atividade da enzima SOD, pode ser utilizada como indicador de estresse oxidativo causado pela aplicação de herbicidas, havendo correlação entre o estresse oxidativo gerado por herbicidas, e a atividade da SOD. Assim, ela tem sido extensivamente investigada por sua atividade ser induzida sob condições de estresse oxidativo, como uma resposta para metabolizar os radicais superóxido produzidos (CATANEO et al., 2005).

## 2.7 Ascorbato de peroxidase

É uma enzima com papel bastante importante na remoção da EROs e na redução de  $H_2O_2$  a água, através da oxidação do ascorbato e produção de monodehidroascorbato (MDA), (SHIGEOKA et.al., 2002).

É importante na proteção de tecidos fotossintéticos contra o estresse fotooxidativo, a APX é encontrada também no citosol das células não fotossintetizantes, em membranas dos peroxissomos e em cloroplastos agindo na diminuição dos níveis de EROs (ASADA, 1992).

Ascorbato + Peróxido de hidrogénio → Dehidroascorbato + Água

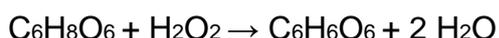


Figura 4 - Reação química

Esses mantidos no seu estado reduzido por um conjunto de enzimas dependentes de ATP e NADPH, participam do processo de detoxicação de  $H_2O_2$  catalisado pela enzima ascorbato peroxidase (APX), essas reações em conjunto, formam uma das vias antioxidantes mais importantes presentes nas plantas, o ciclo do ascorbato-glutationa conhecido também por ciclo Halliwell-Asada (MITTLER, 2002; GARA, 2004; ASADA, 2006).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado na estação experimental da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Universitário de Gurupi, localizado na região sul do estado do Tocantins a 11° 43' S e 49° 04' W, a 280m de altitude.

O Clima local segundo a classificação de Köppen é Tropical de savana (Aw), e úmido com pequena deficiência de água no inverno, megatérmico com concentração da evapotranspiração no verão inferior a 48% do total anual (B1wA'a'), segundo a classificação de Thornthwaite (PEEL, 2007). A temperatura média anual é de 27°C e precipitação média anual de 1.600 mm, sendo verão chuvoso, inverno seco e elevado déficit hídrico entre os meses de maio a setembro.

Para o experimento, foram utilizados sacos de polietileno com volume de 10L. O solo utilizado para enchimento dos sacos foi coletado na camada arável do solo da fazenda experimental da Universidade Federal do Tocantins.

Para a realização dos ensaios, foram utilizadas mudas de *Acacia mangium*, que foram transplantadas para os sacos quando apresentaram aproximadamente 30 cm de altura. Quando as plantas estavam com um tamanho aproximado de 60 cm de altura, foram realizadas as aplicações com pulverizador costal pressurizado a gás carbônico e equipado com pontas bico (XR 110.02) com volume de calda de 200 L/ha<sup>-1</sup> e pressão constante de 35 kgf/cm<sup>2</sup>. A aplicação foi feita de forma a atingir toda a copa da planta. Para evitar o contato dos herbicidas com a testemunha, estas foram protegidas com sacos durante a aplicação dos tratamentos.

O experimento foi instalado em delineamento de blocos casualizados com 5 tratamentos correspondendo a 4 doses de glyphosate mais a testemunha sem aplicação ( 0, 180, 360, 540 e 720 g.e.a L<sup>-1</sup>) e 6 repetições, utilizando 6 plantas por repetição. Os tratamentos utilizados estão descritos na tabela 1.

Tabela 1 Tratamentos utilizados no experimento. Gurupi/TO,2017.

Herbicida	Concentração (g.e.a L <sup>-1</sup> )
(sem aplicação)	---
Glyphosate <sup>1</sup>	180
Glyphosate	360
Glyphosate	540
Glyphosate	720

**e.a** = equivalente ácido do herbicida contido na fórmula comercial;

<sup>1</sup>Glyphosate= nome comum do equivalente ácido contido no herbicida Roundup®.

O experimento foi realizado em blocos casualizados com o objetivo de eliminar os efeitos de autocorrelações entre as unidades experimentais Figura 7.

Bloco I					Bloco II					Bloco III				
T	180	360	540	720	360	T	540	180	720	720	540	T	180	360
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Bloco IV					Bloco V					Bloco VI				
540	720	180	T	360	720	180	360	540	T	360	180	540	T	720
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Figura 5 - Distribuição do experimento no campo. Blocos casualizados, com 4 doses de glyphosate e a Testemunha(sem aplicação), e 5 repetições por tratamento.

### 3.1 Medidas biométricas e biomassa

Após a aplicação do herbicida, foram realizadas observações aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após aplicação (DAA), das alterações morfológicas na parte aérea das plantas, a olho nu, considerando o porte da planta, coloração das folhas e desenvolvimento geral, bem como a intoxicação das plantas (IP) em relação à testemunha por meio de escala de notas de 0 a 100%, onde: 0% para ausência de sintomas e 100% para morte total da planta (FRANS, 1972).

As avaliações da altura das plantas (H) e diâmetro do caule (D) foram realizadas antes da aplicação e aos 75 DAA após a aplicação, onde todas as plantas foram mensuradas, onde a altura foi obtida através de uma régua graduada considerando a superfície do solo até o ápice caulinar e o diâmetro do caule foi mensuradoa dois cm da superfície do solo em mm, com o auxílio de um paquímetro digital.

Foram recolhidas a partir de cada compartimento da planta e transportadas para a Universidade Federal do Tocantins, onde foram secas em estufa a 75°C até atingir peso constante, com posterior determinação da biomassa seca (Bs). Os pesos frescos das plantas foram convertidos em biomassa seca por relação direta entre as duas variáveis a partir das amostras.

Aos 75 DAA, foi determinado a área foliar das plantas pelo método destrutivo com o auxílio de um medidor de área foliar "Area Meter" (modelo LICOR LI-3000), posteriormente as folhas, caules e raízes foram acondicionadas em sacos de papel

e secas em estufa a 69°C até atingirem peso constante, com posterior determinação da matéria seca (Ms), através da pesagem direta em uma balança semi-analítica. Também foi determinado o volume de raízes das plantas com o auxílio de uma proveta graduada, contendo um volume conhecido de água. Pela diferença, obteve-se a resposta direta do volume de raízes.

### **3.2 Extração e atividade das enzimas antioxidantes**

Para estss variáveis, amostras das folhas das plantas foram coletadas aos 10 e 20 dias após a aplicação do herbicida, somando assim 2 coletas.. As folhas foram coletadas e pesadas, envolvidas em papel alumínio, congeladas em nitrogênio líquido e imediatamente armazenadas em freezer a -80°C, para as posteriores determinações da atividade da superóxido dismutase e do ascorbato de peroxidase.

As atividades das enzimas foram avaliadas espectrofotometricamente e os valores expressos em unidades de U· g MF<sup>-1</sup>, para a SOD e mmol AsA · g MF<sup>-1</sup> · min<sup>-1</sup> para APX.

A atividade da dismutase do superóxido (SOD, EC 1.15.1.1) foi avaliada pela capacidade em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), proposta por Giannopolitis e Ries (1977) a 560 nm. A atividade da peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11) foi determinada pelo acompanhamento da oxidação do guaiacol a 470 nm segundo Lin e Wang (2002) com modificações.

Todas essas análises foram realizadas em triplicata.

### **3.3 Análise de trocas gasosas**

Inicialmente foi realizada a medição da curva de saturação da fotossíntese (curva de luz), utilizando radiações fotossinteticamente ativas – RAF de 0, 25, 50, 100, 250, 500, 800, 1000, 1200, 1500, 1800, 2000, 2200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  figura 7, para fins de determinar a melhor radiação para a realização das leituras.

As avaliações foram realizadas aos 6, 12, 18, 24 e 30 dias após aplicação do herbicida (DAA). Os dados foram coletados no período de 9:00h as 11:00, na quarta folha contando do meristema da planta, sendo 6 plantas amostradas por tratamento.

As avaliações das trocas gasosas foram realizadas a partir da mensuração da taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> (*A*) ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), transpiração (*E*) ( $\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2}$

$s^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) ( $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ), concentração interna de  $CO_2$  ( $C_i$ ) ( $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ).

De posse destes dados, foram quantificadas a eficiência no uso de água (EUA) ( $mmol\ CO_2\ mol^{-1}\ H_2O$ ) ( $A/E$ ) [ $(\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1})\ (mmol\ H_2O\ m^{-2}\ s^{-1})^{-1}$ ] e a eficiência instantânea da carboxilação (EiC) ( $A/C_i$ ) [ $(\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1})\ (\mu mol\ mol^{-1})^{-1}$ ] (Machado et al. 2005, Melo et al. 2010).

Todos esses parâmetros avaliados foram obtidos diretamente sob condições ambiente de  $CO_2$  por meio de um analisador portátil de gás infravermelho (IRGA - *Infra Red Gas Analyser*, modelo LI-6400 XT, Li-cor, inc. Lincoln, EUA). A câmara foliar foi ajustada para trabalhar sob luz saturante artificial de  $1500\ mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ , de acordo com a curva de luz, ilustrada a seguir na figura 8.

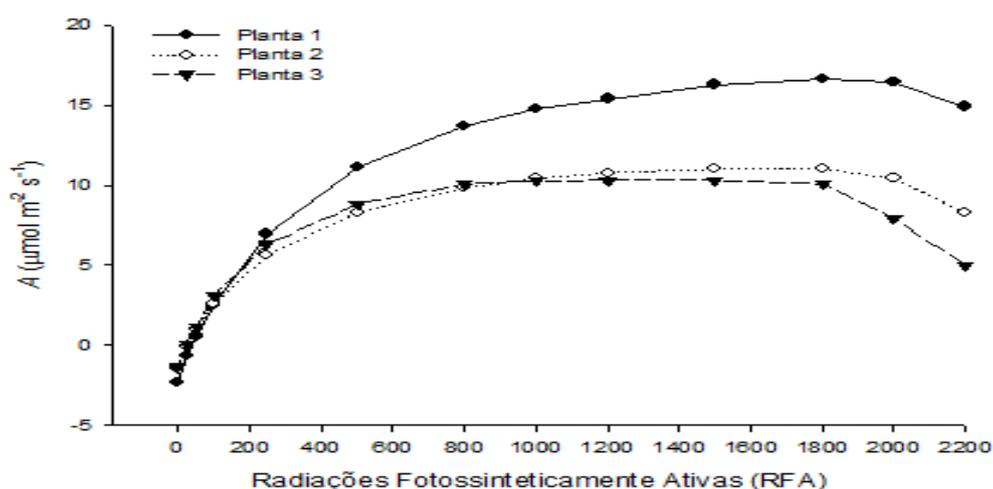


Figura 6 - Curva de Luz da *Acacia Mangium*.

### 3.4 Análise dos dados

As variáveis morfológicas e bioquímicas foram submetidas à análise de variância por meio do teste F e para o teste de Tukey, onde foi adotado o nível de significância menor ou igual a 5% utilizando-se o programa software SISVAR (Ferreira, 1999), e as variáveis fisiológicas através do teste de Skott Knott a 5% de probabilidade.

#### 4. RESULTADOS

A variação da temperatura, da umidade relativa do ar e da radiação solar para o período experimental está ilustrada na Figura 9. Os valores foram adquiridos a partir dos dados da Estação Meteorológica, do Inmet (Instituto Nacional de Meteorologia), no período de junho a setembro de 2016.

Nos dados climáticos apresentados, é possível observar que a temperatura média variou de 20° a 23°C, a umidade relativa do ar começou no mês de junho com cerca de 85 % e foi caindo ao longo dos meses chegando a 60%, e a radiação solar teve uma variação de 129 a 141 (kJ/m<sup>2</sup>).

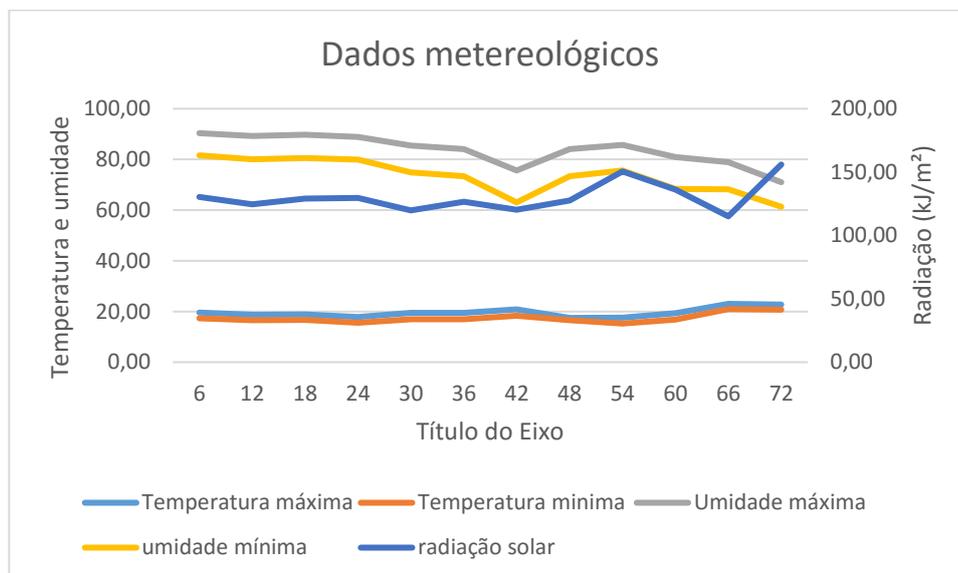


Figura 7. Variação da temperatura, da umidade relativa do ar e radiação solar. Gurupi/TO.

O efeito das doses de glyphosate no incremento em altura aos 75 DAA verificou-se que todas as doses reduziram o crescimento das mudas de acácia (Figura 8). No entanto, a porcentagem de incremento em altura obtidos nos tratamentos com as doses 180 e 360 g.e.a.L.<sup>-1</sup>, não diferiram entre si, apresentando um incremento de 33,33% em ambos tratamentos. Os menores incrementos foram observados nos tratamentos com doses de 540 e 720 g.e.a.L.<sup>-1</sup> (3,33% e 1,66%,

respectivamente). Assim, pode-se observar que houve redução na altura com o aumento da dose do herbicida testado.

Os tratamentos 180 e 360 g.e.a.L<sup>-1</sup> apresentaram um incremento de 50% menor que a testemunha (Figura 8).

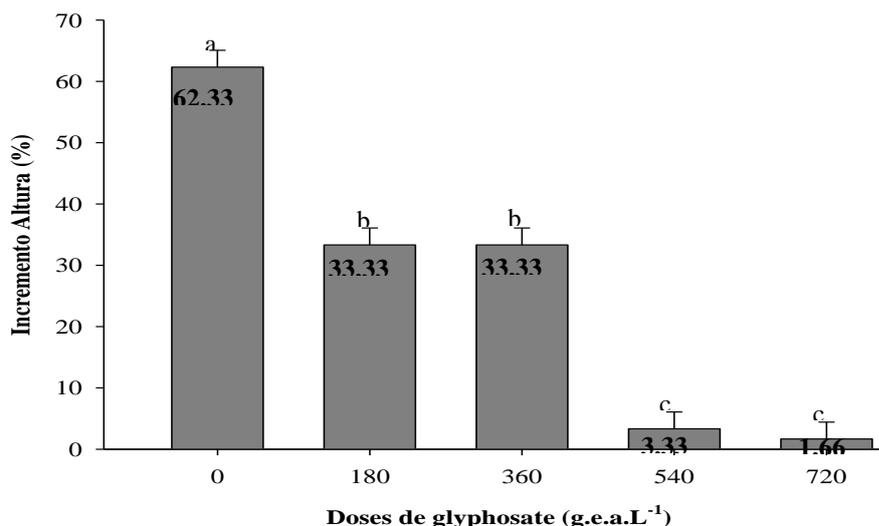


Figura 8: Incremento de altura de plantas (%) de mudas de *Acacia mangium* com a aplicação do herbicida glyphosate em quatro doses: Testemunha (sem aplicação), 180 g.e.a.L<sup>-1</sup>, 360 g.e.a.L<sup>-1</sup>, 540 g.e.a.L<sup>-1</sup> e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>, aos 75 dias após a aplicação (DAA).

O incremento em diâmetro do caule de mudas de *A. mangium*, também foi influenciado pela aplicação de dose de glyphosate aos 75 DAA (Figura 9). Os resultados foram semelhantes aos obtidos para a altura, onde a testemunha apresentou maior porcentagem de incremento médio (47,66%), diferindo estatisticamente dos demais.

Os tratamentos com doses de 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> não diferiram estatisticamente entre si, apresentando em geral os menores valores observados de 21,66% e 18%. Assim como para o incremento em altura, também foi possível observar a redução do incremento em diâmetro com o aumento da dose de glyphosate, embora não seja totalmente proporcional (Figura 9).

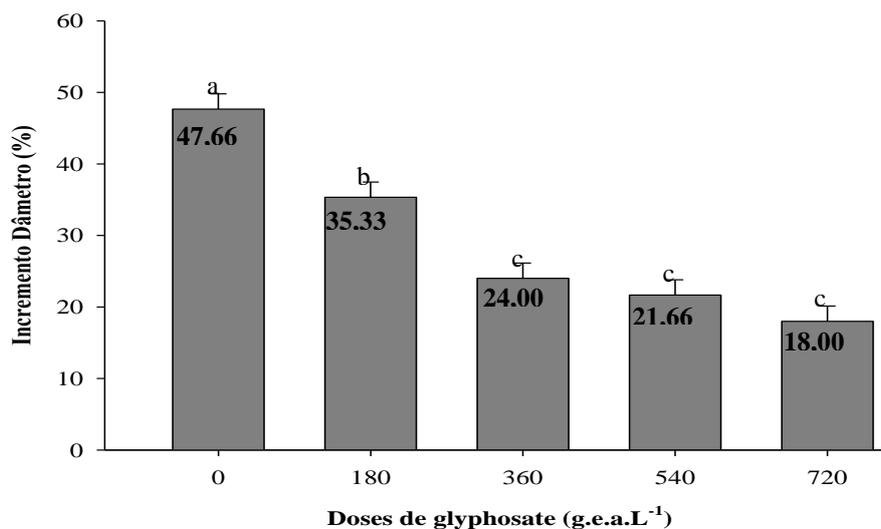


Figura 9: Incremento de diâmetro de caule (%) de mudas de *Acacia mangium* com a aplicação do herbicida glyphosate em quatro doses: Testemunha (sem aplicação), 180 g.e.a.L<sup>-1</sup>, 360 g.e.a.L<sup>-1</sup>, 540 g.e.a.L<sup>-1</sup> e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> aos 75 dias após a aplicação (DAA), em Gurupi, TO, 2016.

A intoxicação visual das plantas de *A. mangium* após a aplicação das doses de glyphosate aos 7 DAA, apresentou leves sintomas de intoxicação (variando de 8 a 20%), observou-se que as plantas de todos os tratamentos apresentaram clorose nas folhas mais jovens (Figura 11).

Aos 14, ocorreu um rápido aumento nos sintomas de injúrias em todos os tratamentos, porém atingindo valores entre 10 e 22% (Figura 11).

Nota-se, que aos 21 DAA as plantas apresentaram leve redução nos sintomas de injúrias nas menores doses (180 e 360 g.e.a.L<sup>-1</sup>). Porém, continuaram crescentes nas maiores doses (540 e 720 g. e.a.L<sup>-1</sup>), observando-se ainda sinais de clorose nas folhas mais velhas e queima do ápice.

Aos 35 DAA observou-se uma evolução significativa das plantas, com diminuição das injúrias, sendo que na dose de 180 g.e.a.L<sup>-1</sup> as folhas das plantas com sintomas de intoxicação começaram a entrar em senescência e as plantas apresentavam emissão de folhas novas e brotamento do ápice, havendo assim a recuperação gradual das plantas. Na dose de 360 g.e.a.L<sup>-1</sup>, as plantas apresentavam amarelecimento nas folhas, senescência, diminuição do crescimento.

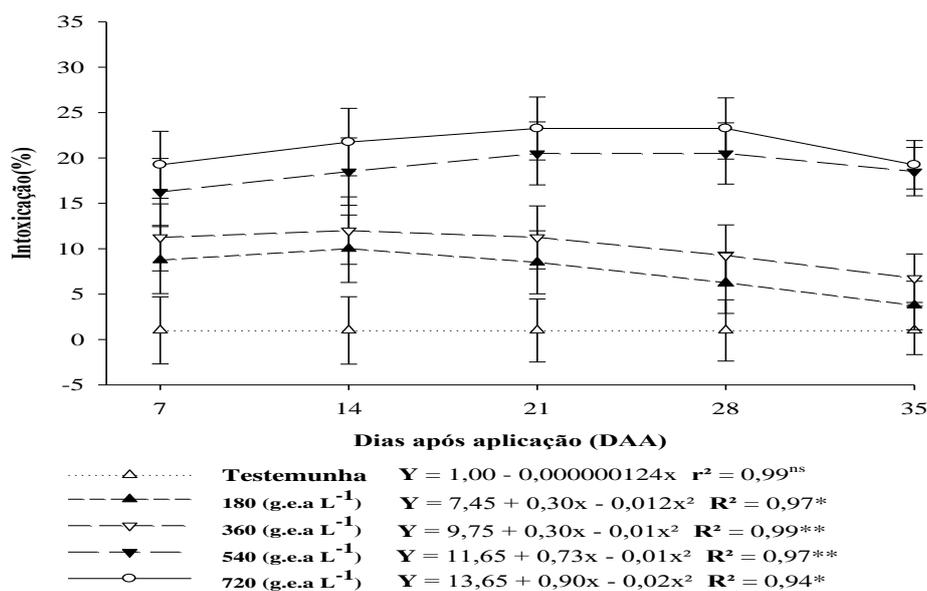


Figura 10: Intoxicação em graus radiano (%) em mudas de *Acacia mangium* com 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a aplicação (DAA) com o herbicida glyphosate em quatro doses (180, 360, 540 e 720 g. e.a.L<sup>-1</sup>) e a testemunha (sem aplicação), em Gurupi, TO, 2016.

A massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR), volume da raiz (VR), não apresentaram diferenças significativas para as variáveis massa seca do caule (MSC), massa seca da raiz (MSR) e volume de raiz (VR), em nenhum dos tratamentos em função da aplicação de glyphosate, aos 75 DAA (Tabela 2).

Para massa seca da folha, observa-se que houve diferença significativa a nível de 1%. A dose de 180 g. e.a.L<sup>-1</sup> proporcionou aumento na massa seca da folha em relação a testemunha, porém, não apresentou diferença significativa ao se comparar com a testemunha e as maiores doses (540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>). A dose de 360 g.e.a.L<sup>-1</sup> proporcionou menor acúmulo de massa seca de folhas, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Ao se comparar as maiores doses (540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>), nota-se que houve uma redução de 47,16% e 45,3% na produção de massa seca de folha em relação à testemunha.

Ao analisar os dados de área foliar (Tabela 2), nota-se que o aumento das doses de glyphosate proporcionou redução na área foliar das plantas de *A. mangium*. A dose 540 g.e.a.L<sup>-1</sup> apresentou a menor média de área foliar, porém não diferiu estatisticamente das demais doses, havendo um decréscimo da área foliar de 48,9% em relação à testemunha.

Tabela 2 Massa seca do caule (MSC), massa seca da folha (MSF), massa seca da raiz (MSR), volume da raiz (VR) e área foliar de mudas de *Acacia mangium* com a aplicação do herbicida glyphosate em quatro doses: T1 – Testemunha (sem aplicação); T2 (180 g.e.a.L<sup>-1</sup>), T3(360 g.e.a.L<sup>-1</sup>), T4 (540 g.e.a.L<sup>-1</sup>) e T5 (720 g.e.a.L<sup>-1</sup>) aos 75 dias após a aplicação (DAA), em Gurupi, TO, 2016.

Tratamentos	Variáveis				
	MSC	MSF	MSR	VR (cm <sup>3</sup> )	Área Foliar (cm <sup>2</sup> )
Testemunha	17,50 a	17,66 ab	31,66 a	46,16 a	1710,50 a
180 (g.e.a. L <sup>-1</sup> )	23,00 a	18,50 a	34,66 a	38,66 a	1574,16 ab
360 (g.e.a. L <sup>-1</sup> )	13,83 a	8,66 b	26,33 a	50,83 a	943,34 ab
540 (g.e.a. L <sup>-1</sup> )	17,00 a	9,33 ab	21,83 a	48,66 a	873,50 b
720 (g.e.a. L <sup>-1</sup> )	16,83 a	9,66 ab	20,50 a	43,66 a	1038,83 ab
F	1,612 <sup>ns</sup>	4,882 <sup>**</sup>	3,044 <sup>ns</sup>	0,822 <sup>ns</sup>	3,905 <sup>**</sup>
DMS	11,096	9,340	14,85	22,010	826,194
CV (%)	26,41	32,34	31,83	27,93	28,93

Médias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; (ns) não significativo; (\*) significativo a 5% e (\*\*) significativo a 1%.

Plantas de *Acacia mangium* submetidas à aplicação de doses de glyphosate avaliadas aos 10 DAA e 20 DAA, apresentaram maior atividade da enzima superóxido dismutase na menor dose testada (180 g.e.a.L<sup>-1</sup>). Havendo decréscimo com o aumento das concentrações testadas. Em ambas as avaliações (10 DAA e 20 DAA) os menores valores foram observados para a maior dose aplicada (720 g.e.a. L<sup>-1</sup>).

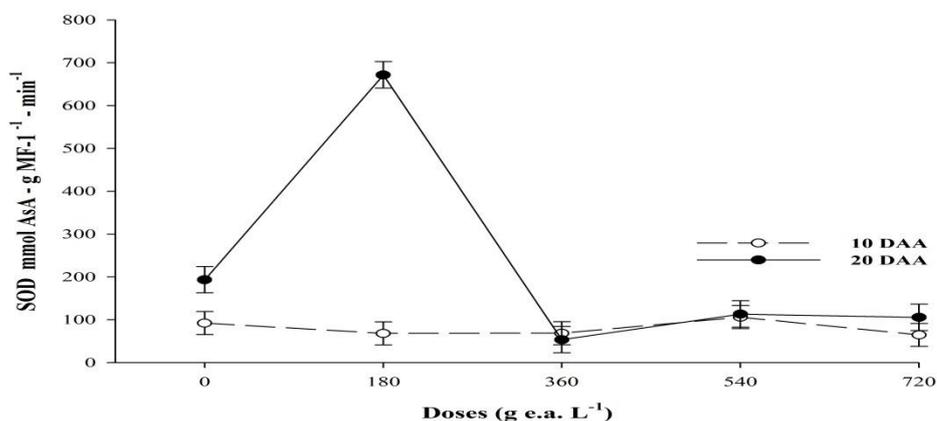


Figura 11 - Atividade enzimática da Superóxido dismutase (SOD)(U · g MF<sup>-1</sup>.) em mudas de *Acacia mangium* após a aplicação de doses glyphosate. Gurupi-TO.

As enzimas peroxidase do ascorbato (APX) mantiveram atividade semelhante nas duas avaliações (10 DAA e 20 DAA), com um aumento contínuo de acordo com o aumento das doses (Figura 13).

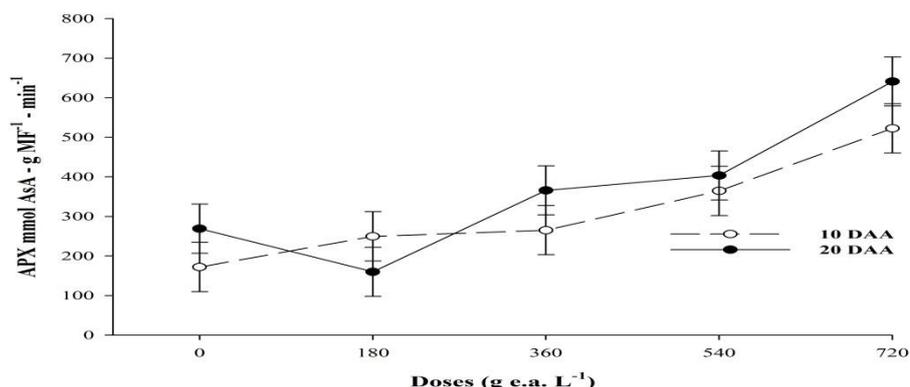


Figura 12 - Ascorbato peroxidase (APX) em mudas de *Acacia mangium* com 10 e 20 dias após a aplicação (DAA) do herbicida glyphosate em quatro doses (180, 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>) e a testemunha (sem aplicação), em Gurupi, TO, 2016.

A análise de variância da resposta fisiológica da acácia referente aos efeitos de doses de glyphosate doses de 180, 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> e período de avaliação (6,12,18,24 e 30 DAA) para os resultados obtidos com os dados de fotossíntese (A), estão apresentados na Figura 14.

Foram verificadas diferenças significativas a 5% para todas as doses de glyphosate em relação aos dias após aplicação, na variável analisada.

Verificou-se que aos 6 DAA as doses 180 e 360 g.e.a.L<sup>-1</sup> apresentaram maior taxa de assimilação líquida, não apresentando diferenças estatísticas quando comparadas a testemunha, porém diferindo em relação as maiores doses. As menores taxas de assimilação líquida foi observada quando as plantas foram tratadas com a dose 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> de glyphosate em todos os períodos avaliados ( Figura 14).

Pode-se observar que aos 12 DAA houve um aumento na taxa de assimilação líquida de carbono na menor dose (180 g.e.a.L<sup>-1</sup>), com posterior queda em resposta ao aumento das doses do herbicida.

Comparando as doses 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> com a testemunha, observa-se que houve uma redução de 50% na assimilação líquida (A).

Verificou-se que aos 18 e 24 DAA, com o incremento da dose do herbicida, aumentou-se o nível de intoxicação das plantas, causando abscisão foliar e, conseqüentemente, reduzindo a área foliar útil para realização da fotossíntese, refletindo assim na diminuição da taxa de assimilação líquida de carbono.

Aos 30 dias nota-se que houve incremento na taxa de assimilação líquida de carbono em todas as concentrações testadas, sendo que o maior valor foi obtido na menor dose (180 g.e.a.L<sup>-1</sup>).

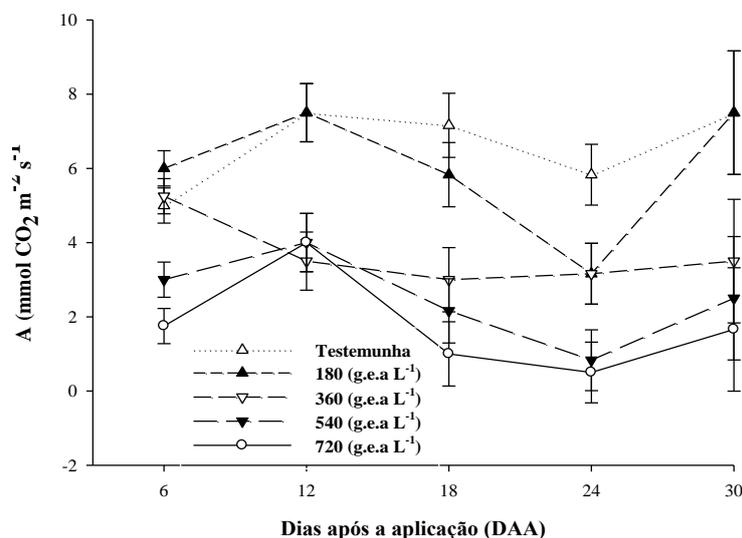


Figura 13 - Assimilação Líquida (A) em mudas de *Acacia mangium* com 6, 12, 18, 24 e 30 dias após a aplicação (DAA) do herbicida glyphosate em quatro doses (180, 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>) e a testemunha (sem aplicação), em Gurupi, TO, 2016.

Os dados referentes a condutância estomática em relação a doses de glyphosate está representado na Figura 15, verificou-se diferenças significativas a 5% da dose de 180g.e.a.L<sup>-1</sup>, para as doses de 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> de glyphosate em relação a todos os períodos de avaliação.

Quanto à condutância estomática (gs), observou-se que aos 6 DAA as plantas tiveram um desenvolvimento semelhante ao observado para a assimilação líquida (A), verificando-se decréscimo acentuado com o aumento das doses do herbicida (Figura 15). Observa-se que nas doses de 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> as plantas apresentaram menores valores de condutância, diferindo estatisticamente quando comparados a menor dose (180 g.e.a.L<sup>-1</sup>) e a testemunha.

Analisando o comportamento da condutância estomática em relação às dose de glyphosate, nota-se que aos 12 DAA houve incremento na dose mais baixa de 180 g.e.a.L<sup>-1</sup> já em doses maiores (360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>) redução. O valor obtido

na concentração de 180 g.e.a.L<sup>-1</sup>, não apresentou diferença estatística quando comparado ao observado na concentração de 360 g.e.a.L<sup>-1</sup> e a testemunha, porém diferiu em relação as concentrações de 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>.

Aos 18 DAA as plantas apresentaram comportamento semelhante ao observado aos 12 DAA. Observou-se que aos 24 DAA a testemunha diferiu estatisticamente em relação aos demais tratamentos. Não foram observadas diferenças estatísticas entre a testemunha e a menor dose 180 g.e.a.L<sup>-1</sup> aos 30 DAA porém quando comparadas as demais doses (360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>) houve diferença estatística.

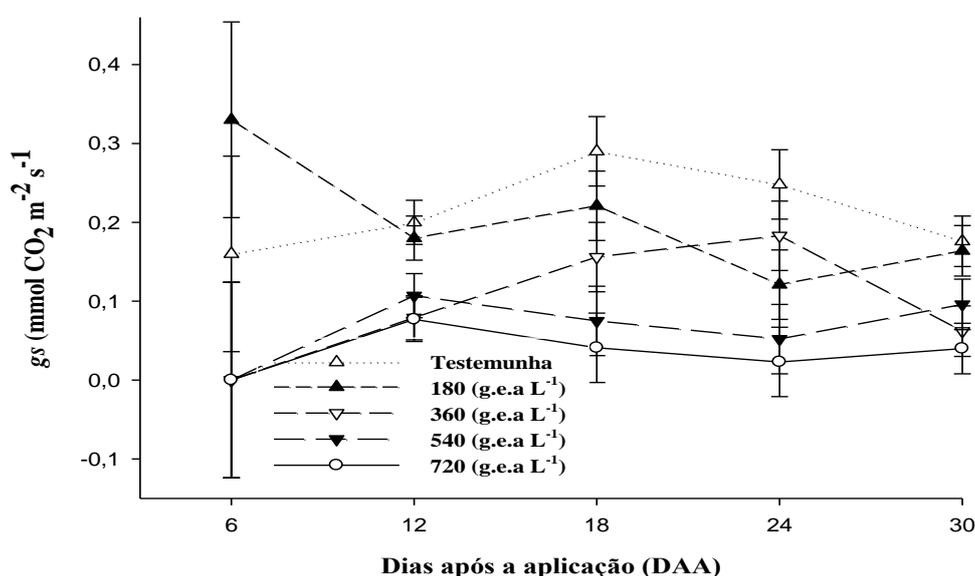


Figura 14 - Condutância Estomática (gs) em mudas de *Acacia mangium* com 6, 12, 18, 24 e 30 dias após a aplicação (DAA) do herbicida glyphosate em quatro doses (180, 360, 540 e 720 g. e. a L<sup>-1</sup>) e a testemunha (sem aplicação), em Gurupi, TO, 2016.

Para avaliação de transpiração na Figura 16, apresentou diferenças significativas a 5% entre a menor dose 180 g.e.a.L<sup>-1</sup> e testemunha, em relação as doses 360, 540 e 720 g. e.a.L<sup>-1</sup> de glyphosate em todos os dias de avaliação.

A transpiração (E) seguiu o mesmo comportamento da condutância estomática e da fotossíntese (Figura 14 e 15). Aos 6 DAA, constatou-se redução na transpiração com o incremento nas doses 720 e 360 g.e.a.L<sup>-1</sup>. O valor obtido na concentração de 180 g.e.a.L<sup>-1</sup> não diferiu estatisticamente quando comparado a

testemunha, entretanto, diferiu em relação as demais. Os valores observados aos 12 DAA apresentaram comportamento semelhante ao observado aos 6 DAA.

Aos 18 DAA houve incremento da transpiração nas concentrações de 180 e 360 g.e.a.L<sup>-1</sup>. As maiores concentrações (540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>) apresentaram os menores valores observados.

Observou-se que aos 24 DAA, as plantas apresentaram redução na taxa transpiratória com o aumento das doses de glyphosate.

Os valores obtidos na menor concentração de 180 g g.e.a.L<sup>-1</sup>, não apresentaram diferença estatística em relação à testemunha aos 30 DAA, porém diferiram estatisticamente quando comparado às demais concentrações.

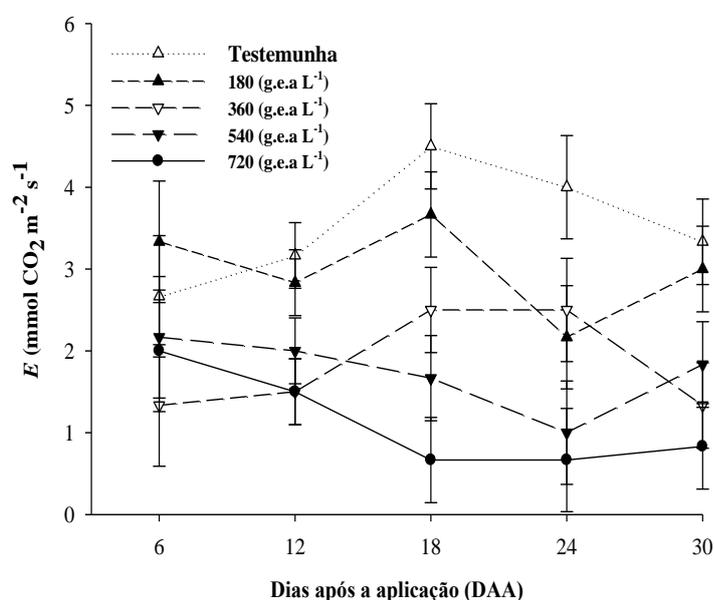


Figura 15 - Transpiração (E) em mudas de *Acacia mangium* com 6, 12, 18, 24 e 30 dias após a aplicação (DAA) do herbicida glyphosate em quatro doses (180, 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>) e a testemunha (sem aplicação), em Gurupi, TO, 2016.

Em relação a concentração de carbono interno (Ci), não apresentaram diferenças estatísticas em nenhuma das doses 180, 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> de glyphosate, em todos os dias avaliados Figura 17.

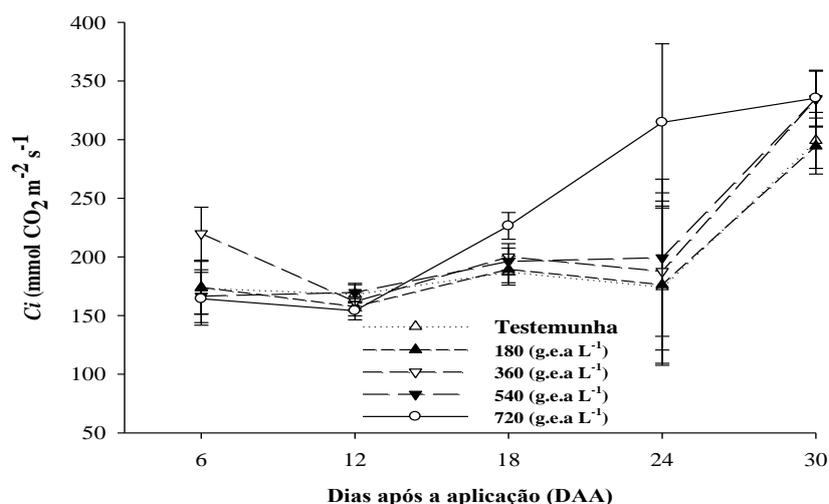


Figura 16 - Concentração interno de CO<sub>2</sub> (Ci) em mudas de *Acacia mangium* com 6, 12, 18, 24 e 30 dias após a aplicação (DAA) do herbicida glyphosate em quatro doses (180, 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>) e a testemunha (sem aplicação), em Gurupi, TO, 2016.

Em geral, observou-se que maiores concentrações de glyphosate afetaram as características fisiológicas avaliadas ao longo do tempo. Com redução dos valores de fotossíntese, condutância e transpiração com a aplicação de doses superiores a 180 g.e.a.L<sup>-1</sup>.

Não houve diferença estatística para a variável eficiência do uso da água (EUA) aos 6, 12 e 30 DAA (Figura 18).

Observou-se que aos 18 DAA houve diferença estatística entre os tratamentos avaliados. Sendo que o menor valor foi obtido quando as plantas foram tratadas com 360 g.e.a.L<sup>-1</sup> de glyphosate, diferindo estatisticamente da maior dose 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>.

Aos 24 DAA foi observado comportamento semelhante ao verificado aos 18 DAA, apresentando menor valor na dose de 360 g.e.a.L<sup>-1</sup>, diferindo, significativamente, do maior valor na dose de 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>.

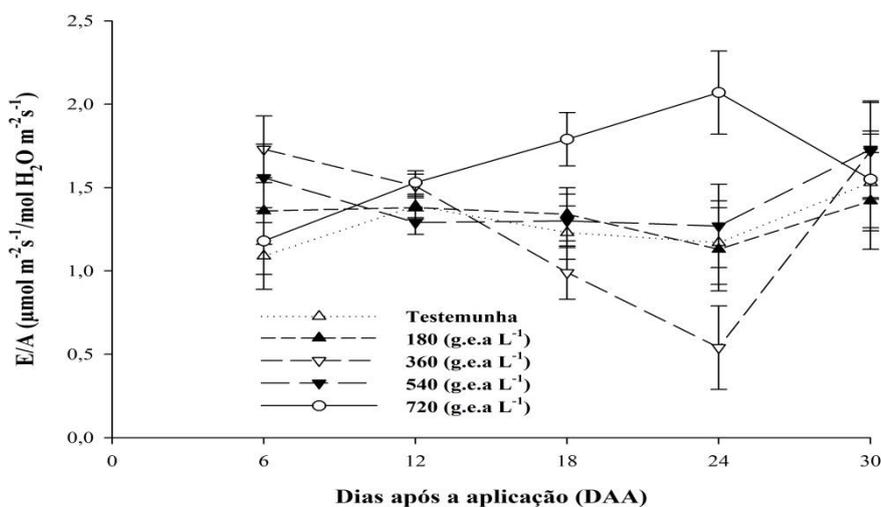


Figura 17 - Eficiência do uso de água de *Acacia mangium*, submetido a diferentes doses de glyphosate. Gurupi - TO, 2016.

Para a eficiência instantânea de carboxilação, observou-se que houve diferença estatística em todos os tratamentos avaliados (Figura 19). A maior eficiência foi observada aos 18 e 24 DAA na maior dose (720 g.e.a.L<sup>-1</sup>), diferindo estatisticamente das menores concentrações (180 e 360 g.e.a.L<sup>-1</sup>) onde foram obtidos os menores valores de eficiência.

Quanto aos valores observados aos 12, 18 e 24 DAA, observou-se que os maiores valores foram verificados na menor dose (180 g.e.a.L<sup>-1</sup>), diferindo estatisticamente das demais concentrações testadas (360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup>).

Houve diferença estatística entre os valores analisados aos 30 DAA, apresentando maior valor na menor dose testada (180 g.e.a.L<sup>-1</sup>) e menor valor na maior dose testada (720 g.e.a.L<sup>-1</sup>).

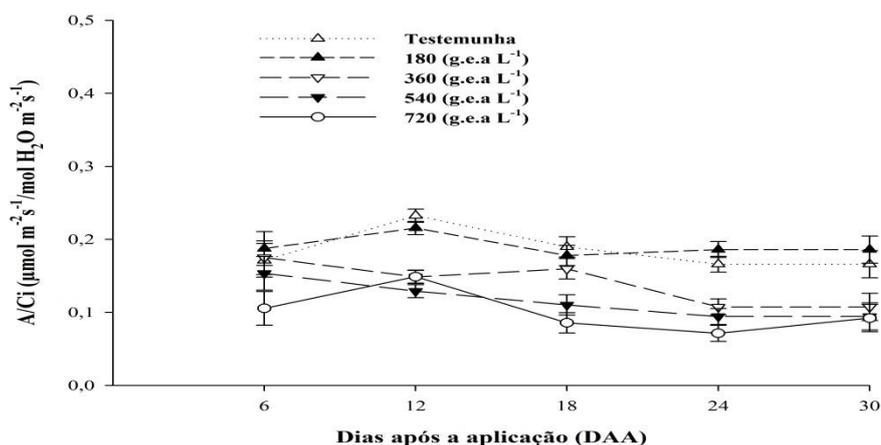


Figura 18 - Eficiência da rubisco de *Acacia mangium*, submetido a diferentes de glyphosate, Gurupi-TO, 2016.

## 5. DISCUSSÃO

O glyphosate é um dos herbicidas mais utilizados no mundo, inibidor da enzima EPSPS, através da via metabólica do chiquimato, pode vir a causar danos bioquímicos em plantas.

O excesso deste herbicida em alguns vegetais pode causar estresse oxidativo, devido ao aumento da produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) considerado altamente tóxico. As espécies reativas de oxigênio (ERO), representadas pelos radicais de superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ) promovem danos às proteínas e lipídios das membranas celulares dos vegetais (THOUNAOJAM et al. 2012; SÁNCHEZ-PARDO et al. 2014).

Para evitar danos oxidativos, as plantas apresentam defesas antioxidantes que envolvem as enzimas, como a dismutase do superóxido (SOD), peroxidase do ascorbato (APX) (ADRESS et al. 2015).

Neste trabalho nota-se que a atividade da enzima SOD, apresentou tolerância em relações às doses maiores, aumentando a sua atividade apenas na dosagem de  $180 \text{ g.e.a.L}^{-1}$  do herbicida. Este aumento pode ter ocorrido pelo aumento da produção dos radicais superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) induzido por herbicida (GILL e TUTEJA, 2010). A remoção do radical superóxido pode prevenir a formação de radicais hidroxila antes de sua interação com moléculas-alvo (XU et.al. 2013).

A ação do glyphosate interrompe o ciclo de carbono nos cloroplastos, um dos principais locais formadores de ERO, assim como as mitocôndrias e peroxissomos.

Essas enzimas participam da modulação do nível de  $H_2O_2$  em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos (MITTLER, 2002; BHATTACHARJEE, 2010). Uma vez que dismutam o  $O_2^{\bullet-}$ , agem indiretamente na redução do risco de formação do  $OH^{\bullet}$  a partir do  $O_2^{\bullet-}$  (DUBEY, 2011; DINAKAR et al., 2012).

Szigeti (2005) avaliando estresse oxidativo em plantas de *Conyza canadensis* com a utilização do herbicida Paraquat, verificou o aumento da atividade da SOD, de acordo com o aumento das doses aplicadas. Diferente do encontrado neste trabalho.

As dismutases de superóxido são responsáveis pela transformação dos íons superóxido em peróxido de hidrogênio. A partir daí este peróxido de hidrogênio seria eliminado pela ação das peroxidases de ascorbato, minimizando os efeitos tóxicos destes compostos (LEE; LEE, 2000).

Elas participam de vários processos fisiológicos da planta como lignificação, suberização, catabolismo da auxina, tolerância à salinidade e mecanismos de defesa contra patógenos (HIRAGA et al., 2001). Desta forma, um acréscimo na atividade da enzima peroxidase pode ser considerado uma ação protetora, pois elas neutralizariam as EROs em água e oxigênio molecular, evitando assim a peroxidação dos lipídios.

Após a formação do  $H_2O_2$  pela enzima SOD, a APX é uma das principais enzimas responsáveis pelo processo de detoxificação do  $H_2O_2$  em plantas e podem dismutar diretamente o  $H_2O_2$  ou oxidar substratos, formando produtos não tóxicos à célula (SHARMA, et al. 2012).

A APX, apresentou um acréscimo na atividade enzimática de acordo com o aumento das doses do glyphosate, estas peroxidases são responsáveis em manter o controle tanto da produção, quanto da remoção dos radicais OH-.

Isso porque a APX é a primeira enzima inativada após pequeno período de luz (MANO et al., 2001), e mesmo na ausência do herbicida, a adição de  $H_2O_2$ , no escuro, inativa a APX (HOSSAIN e ASADA, 1984), ou seja como não ocorreu falta de luz a mesma continuou aumentando.

Acredita-se que as peroxidases tenham papel substancial na eliminação de danos celulares induzidos por herbicidas (MITEVA et al., 2005). Por ser predominantemente citosólica e organelar (FOYER e NOCTOR, 2000), a APX utiliza o ascorbato como seu doador de elétrons específicos para eliminação do  $H_2O_2$  produzido pela SOD. A maior indução do estresse oxidativo também foi demonstrada pela ação de xenobióticos, incluindo paraquat, glyphosate e norflurason (DOULIS et al., 1998; MITEVA et al., 2005). No entanto, em milho e feijão particularmente, nem todos herbicidas induzem estresse oxidativo (HASSAN e NEMAT ALLA, 2005).

Acredita-se que mudanças na atividade de enzimas antioxidantes expostas a aplicação de herbicidas e avaliadas ao longo do tempo estão diretamente ligadas a supressão do estresse oxidativo através da eliminação de EROs produzidas pela aplicação do herbicida.

As aplicações de herbicidas causam diminuição nos fatores fotossintéticos, que são estimuladores da produção de EROs, neste caso a APX está relacionada a taxas baixas de fotossíntese. EROs são na maioria das vezes formadas nos processos fotossintéticos (FOYER; FLETCHER, 2001).

As doses de glyphosate analisadas em plantas de *A. mangium* demonstraram que este herbicida pode vir a causar sintomas visíveis de intoxicação a partir da dose de 180 g e a L<sup>-1</sup>.

No presente trabalho foi observado que nas maiores doses (360,540 e 720 g e a L<sup>-1</sup>) houve uma diminuição do diâmetro, massa seca de raiz, folha, caule, volume de raiz e área foliar. Pode-se dizer que um dos prováveis fatores que causaram esta diminuição, está ligado ao bloqueio da rota dos aminoácidos, o que reduz sua formação, fazendo que haja desregulamento do fluxo de carbono e redução da síntese de proteínas (GOMES et al., 2011).

O baixo crescimento das plantas em relação à aplicação das maiores doses 360, 540 e 720 g e a L<sup>-1</sup> do glyphosate, se deve a morte do ápice caulinar em consequência da maior porcentagem de intoxicação apresentado pelas plantas (COSTA et al., 2012), pois é a partir do ápice que acontece o crescimento através da multiplicação dos meristemas.

Farias et al., 2012, observaram redução de altura com maiores doses em *Hevea brasiliensis*, em pinho-cuiabano (*Schizolobium amazonicum*) (Yamashita et al., 2009) e cedro-australiano (*Toona ciliata*) (Oliveira et al., 2008).

Costa et al (2012), ao avaliarem o efeito de deriva simulada de glyphosate em clones de eucalipto observou uma redução do diâmetro do caule nas maiores concentrações utilizadas de 90 e 120 g e.a. ha<sup>-1</sup>.

Na menor dose (180 g e a L<sup>-1</sup>), o efeito do herbicida foi contrário, havendo aumento em altura, diâmetro, massa seca de raiz, massa seca de folha, volume de raiz e área foliar. Supõe-se que menores concentrações do herbicida em plantas de acácia podem não inibir por completo a enzima EPSPS, não impedindo a rota dos aminoácidos, e conseqüentemente não causando efeito sobre a síntese dos metabolitos secundários, como o ácido indolacético (AIA), responsável pela expansão celular, ou seja, em alguns casos a aplicação de pequenas concentrações de herbicida não afeta o desenvolvimento da planta (VELINI et al., 2008).

Os principais sintomas de intoxicação observados na *A. mangium* corresponderam ao amarelecimento que se iniciava nas folhas novas a partir das

pontas para a base, evoluindo a um branqueamento com posterior necrose. De acordo com Oliveira Jr et al. (2011), a clorose ocorre por haver degeneração nos cloroplastos e conseqüente inibição da formação de clorofila.

Quando tratadas com maiores concentrações de herbicida, as plantas apresentaram redução na assimilação líquida de carbono (A), sendo considerado um efeito negativo, pois de acordo com Yamada et al., (2007) a taxa fotossintética está diretamente ligada ao acúmulo de matéria seca por parte da planta e essa redução por um período prolongado leva a decréscimos na produtividade da cultura.

O glyphosate em doses elevadas diminui a eficiência fotossintética das plantas, pois, concentra uma quantidade de chiquimato, devido à inibição da enzima EPSPS, apresentando-se como um forte dreno de carbono no ciclo de Calvin, estimulado pelo desvio da eritrose-4-fosfato que seria levado na regeneração da ribulose (VELINI et al., 2012).

A não regeneração da ribulose e a redução fotossintética está relacionada a fotorrespiração que ocorre devido à dupla atividade exercida pela enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (rubisco). A rubisco, presente nos cloroplastos, além de exercer a atividade de carboxilase, que dá início ao ciclo de Calvin, é igualmente capaz de exercer atividade de oxigenase, tendo, nos dois casos, a RuBP como substrato, daí sua denominação “ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase”. A atividade carboxilase ou oxigenase da rubisco depende das concentrações de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> no estroma (região do cloroplasto onde ocorre a etapa termoquímica da fotossíntese (GOMES, 2011).

Já na concentração de 180 g e a L<sup>-1</sup>, verificou efeito positivo, estimulando o aumento da fotossíntese, condutância estomática e conseqüentemente transpiração. Este efeito foi verificado, por Cedergreen e Olsen (2010), observando que o uso de pequenas concentrações de glyphosate pode causar estímulo na fotossíntese, caracterizando o fenômeno da hormese.

A hormese ou efeito hormótico é definido por apresentar comportamento bifásico no qual uma característica biológica pode ser estimulada por uma baixa dose e inibidas por altas doses de um mesmo composto (CALABRESE; BALDWIN 2002) atualmente considerado efeito estimulador de características que pode variar entre 30 a 60% em relação ao controle (DUKE, 2014).

O estresse fisiológico provocado pelo glyphosate, induz a produção de etileno, podendo destruir membranas, inibir a clorofila e reduzir o fechamento

estomático (YAMADA; CASTRO, 2007). Esta produção se dá devido a abscisão foliar que pode ser atrasada pela auxina ou citocinina exógena.

Plantas tratadas com as doses de 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> também apresentaram menores valores de condução estomática, e conseqüentemente uma diminuição da transpiração. A gs tem sua regulação é por hormônios vegetais, como ácido abscísico (fabricado pelas folhas, raízes e caule), citocininas (nas raízes) e giberelinas (meristemas, folhas novas e frutos), facilitando o transporte de CO<sub>2</sub> (CEDERGREEN; OLESEN, 2010).

A inibição da enzima EPSPs afeta a via metabólica do chiquimato, que é responsável pela produção dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, a auxina ácido indolacético é derivado do triptofano, ou seja na planta este promotor de crescimento é inibido pelo glyphosate (YAMADA, CASTRO 2007), onde inibe a síntese de corismato e triptofano.

A transpiração é de fundamental importância para o resfriamento das folhas e a formação de água tende a subir pelo xilema, da raiz até as folhas, onde será utilizada para a fotossíntese, com o fechamento dos estômatos, a transpiração diminui evitando a desidratação das folhas. (TAIZ e ZEIGER, 2004).

A relação entre a fotossíntese e a transpiração indica a eficiência do uso da água (EUA), onde se relaciona a quantidade de carbono que a planta fixa por unidade de água que perde (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A eficiência do uso da água para a maior dose (720 g.e.a.L<sup>-1</sup>) aos 18 e 24 DAA após a aplicação teve um acréscimo, onde verifica-se que houve diminuição na transpiração e fotossíntese, e uma redução na condutância estomática.

Os decréscimos observados na EUA, notadamente no horário das 10h às 11h, são reflexos dos aumentos observados na taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> e na transpiração das plantas de *A. mangium*.

SHIMAZAKI et al., 2007, ressaltam que a manutenção do processo fotossintético está ligada funcionalmente a uma certa condutância estomática.

A eficiência da carboxilação é dada pela relação entre a fotossíntese e a concentração interna de carbono, regulada também pela condutância estomática.

Verificou-se que a medida que aumentou a assimilação líquida de carbono(A), houve um aumento da abertura dos estômatos e conseqüentemente da (A/Ci).

Na menor dose 180 g.e.a.L<sup>-1</sup> a planta teve um acréscimo da eficiência de carboxilação, onde pode-se dizer que a possui estreita relação com a concentração

intracelular de CO<sub>2</sub> e com a taxa de assimilação de dióxido de carbono (MACHADO et al. 2005). Neste sentido, o aumento verificado na eficiência instantânea de carboxilação, no presente trabalho, deve-se, sobretudo, aos incrementos registrados na concentração interna de dióxido de carbono e aos ganhos na taxa de assimilação (A).

## 6. CONCLUSÃO

O glyphosate reduziu a produção de massa seca, área foliar, incremento de altura e diâmetro do caule nas maiores doses de 360, 540 e 720 g e. a L<sup>-1</sup>.

As doses de 360, 540 e 720 g e. a L<sup>-1</sup> de glyphosate reduziram a assimilação líquida, condutância estomática e transpiração.

A menor dose de glyphosate de 180 g e. a L<sup>-1</sup> estimulou o crescimento da planta de *A. mangium*, em 33,3%.

A *A. mangium* apresentou pouca variação em relação ao uso da água e eficiência da carboxilação quando submetida a ação do herbicida

A espécie *A. mangium* apresentou sistema de defesa enzimático antioxidante (SOD, APX) em combate a (ERO).

A SOD apresentou maior atividade na menor dose de 180 g.e.a.L<sup>-1</sup> de 700 U• g MF<sup>-1</sup>.

A APX apresentou maior atividade nas maiores doses 360, 540 e 720 g.e.a.L<sup>-1</sup> respectivamente de 300 a 600 mmol AsA. g MF<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> exibindo mecanismo compensatório de defesa ao estresse oxidativo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Adrees M et al (2015) The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. **Environmental Science and Pollution Research**.

ALENCAR, G. S. B. Qualidade da madeira de espécies do gênero *Acacia* plantadas no Brasil. 2009. 132 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2009.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R. de C.G.; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição, Campinas*, 23 (4): p. 629-643, 2010.

BARBOSA, M. R; SILVA, M. M. A; WILLADINO, L; ULISSES, C; CAMARA, T. R Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, p. 453-460, mar. 2014.

BARBOSA, M.R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BARELA, J. F.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Seletividade de herbicidas aplicados em pré-emergência da cultura da cana-de-açúcar (RB867515) tratada com nematicidas. **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 371-378, 2006.

BEAUCHAMP, C.O.; FRIDOVICH, I. Isoenzymes of superoxide dismutase from wheat germ. **Biochimica et Biophysica Acta**, New York, v. 317, p. 50-64, 1973.

CEDERGREEN, N.; OLESEN, C. F. Can glyphosate stimulate photosynthesis? **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 96, n. 3, p. 140-148, 2010.

COSTA, A. C. P. R.; COSTA, N. V.; PEREIRA, M. R. R.; MARTINS, D. Efeito da deriva simulada de glyphosate em diferentes partes da planta de *Eucalyptus grandis*. **Semina. Ciências Agrárias**, v.33, n.5, p.1663-1672, 2012.

DOULIS, A.G.; DONAHUE, J.L.; ALSCHER, R.G. Differential Responses to Paraquat Induced Oxidative Injury in a Pea (*Pisum sativum*) Protoplast System. **Physiologia Plantarum**, v. 102, p. 461–471, 1998.

DUBEY, R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011. Chap.9, p.178-203.

FALESI, I. C. O Impacto da *Acacia mangium* no desenvolvimento sustentável do Estado do Pará. *Pará Rural Jornal - Informativo do Sistema FAEPA/SENAR e FUNDEPEC*, BelémPará, v. 1, p. 07-07, 10 jan. 2006. <http://www.senar.org.br/>.

FARIA, A. T.; SARAIVA, D. T.; PEREIRA, A. M.; ROCHA, P. R. R.; SILVA, A. A.; SILVA, D. V.; FERREIRA, E. A.; BENEVENUTE, S. S. Atividade fisiológica da cana-de-açúcar após a aplicação de herbicidas em pré-emergência. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 2, p. 171-178, 2013.

FERREIRA, D.F. **SISVAR - Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA. 1999.

FERREIRA, R.A. et al. Efeito de herbicidas de pré-emergência sobre o desenvolvimento inicial de espécies arbóreas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.4, n.1, p.133-145, 2005.

FERREIRA, R.A. et al. Efeito de herbicidas de pré-emergência sobre o desenvolvimento inicial de espécies arbóreas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.4, n.1, p.133-145, 2005.

Foyer, C.H.; Fletcher, J.M. Plant antioxidants: colour me healthy. *Biologist*, v. 48, n.3, p.115-120, 2001.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 119, p. 355-364, 2003.

FRANS, R. W. Measuring plant response. In: WILKINSON, R. E. (Ed.). **Research methods in weed science**. Puerto Rico: Weed Science Society of America, Southern Weed Science Society, 1972. p. 28-41.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. **Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura**. São Paulo: Monsanto do Brasil; 2005. 60 p.

Gloser, V. & Gloser, J. 1996. **Acclimation capability of *Calamagrostis epigejos* and *C. arundinaceae* to changes in radiation environment**. *Photosynthetica* 32: 202-212.

GOMES, G. L. G. C. Alterações metabólicas de plantas de milho submetidas à aplicação de glyphosate e fosfito. 2011. 97 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

Hall, D.O., Scurlock, J.M., Bolhàr-Nordenkampf, H.R., Leegood, R.C. & Long, S.P. 1993. Photosynthesis and production in a changing environment. **A field and laboratory manual**, Chapman & Hall, London.

HASSAN, N.M.; NEMAT ALLA, M.M. Oxidative stress in herbicide-treated broad bean and maize plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 27, p. 429-438, 2005.

HOSSAIN, M.A.; ASADA, K. Inactivation of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts on dark addition of hydrogen peroxide: its protection by ascorbate. **Plant & Cell Physiology**, v. 25, p. 1285-1295, 1984.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J.C.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, 5(6): p. 709-725, 2011.

KIRSCHBAUM, M. U. F.; PEARCY, R. W. Gas exchange analysis of the relative importance of stomatal and biochemical factors in photosynthetic induction in *Alocasia macrorrhiza*. **Plant Physiol.**, v. 86, n. 3, p. 782-785, 1988.

LORETO, F.; BONGI, G. Combined low temperature-high light effects on gas exchange properties of jojoba leaves. **Plant Physiol.**, v. 91, n. 4, p. 1580-1585, 1989.

LYDON, J.; DUKE, S.O. Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants. **Pesticide Science**, London, v.25, n.4, p.361-373, 1989.

MACHADO, E.C.; SCHMIDT, P.T.; MEDINA, C.L.; RIBEIRO, R.V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.1161-1170, 2005.

MACHADO, A. F. L. et al. Manejo integrado de plantas daninhas na cultura do eucalipto. In: FERREIRA, L. R. et al. **Manejo integrado de plantas daninhas na cultura do eucalipto**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2010. p. 15-37.

Malik, J.; Barry, G.; Kishore, G. 1989. The herbicide glyphosate. **Biofactors** 2(1): 17-25.

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 34, n.2, p. 175-186, 2013.

MELO, A. S.; SUASSUNA, J. F.; FERNANDES, P. D.; BRITO, M. E. B.; SUASSUNA, A. F.; AGUIAR NETTO, A. O. Crescimento vegetativo, resistência estomática, eficiência fotossintética e rendimento do fruto da melancia em diferentes níveis de água. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 73-79, 2010.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, p.405-410, 2002.

NAVARRO, A. T; CANIZELLA B. T; MOREIRA, A; MORAES, L. A. C. Efeito da interação glifosato e zinco na atividade fotossintética da soja.

OTSAMO, R. Secondary forest regeneration under fastgrowing forest plantations on degraded *Imperata cylindrica* grasslands. **New Forests, Dordrecht**, v. 19, p. 69-93, 2000.

PEEL, M.C. *et al.* Update world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydro. Earth Syst. Sci.**, v. 11, p. 1633-1644. 2007.

PEEL, M.C. *et al.* Update world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydro. Earth Syst. Sci.**, v. 11, p. 1633-1644. 2007.

PITELLI, Robinson Antonio. "Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas." *Série técnica IPEF* 4.12 (1987): 1-24.

RIBEIRO, R.V.; MACHADO, R.S.; MACHADO, E.C.; MACHADO, D.F.S.P.; MAGALHÃES FILHO, J.R.; LANDELL, M.G.A. Revealing drought-resistance and productive patterns in sugarcane genotypes by evaluating both physiological responses and stalk yield. **Experimental Agriculture, Cambridge**, v.49, p.212-224, 2013.

Sánchez-Pardo et al. *Ecotoxicol Environ Saf* 102, 1-5. 2014 Jan 31.  
SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v.2012, p.1-26, 2012.

SILVA, D. V.; SILVEIRA, H. M.; FERREIRA, E. A.; CARVALHO, F. P.; CASTRO NETO, M. D.; SILVA, A. A.; SEDIYAMA, T. Aspectos fisiológicos da mandioca após a aplicação dos herbicidas fluazifop-p-butil e fomesafen. **Revista Ceres**, v. 61, n. 2, p. 178-183, 2014.

SILVA, F. P. Reflorestamento de acácia: nova fonte de renda para o produtor florestal. REMADE. Ed. nº 117, Nov. de 2008.

SPIRIDONOV, YU.YA.; ZHEMCHUZHIN, S.G., Current Problems in Herbicide Investigation (2006–2008). **Agrokhimiya**, v. 7, p. 73–91, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGE, E. *Fisiologia Vegetal*, 3. ED., Artmed, 2004.

TAROUCO, C.P. et al. Períodos de interferência de plantas daninhas na fase inicial de crescimento do eucalipto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p.1131-1137, 2009.

THOUNAOJAM, T. C. et al. Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 53, p. 33-39, 2012.

TIBURCIO, R. A. S. et al. Controle de plantas daninhas e seletividade do Flumioxazin para eucalipto. **Cerne**, v.18, n.4, p.523-531, 2012.

TOLEDO, R. E. B. et al. Comparação dos custos de quatro métodos de manejo de *Brachiaria decumbens* Stapf em área de implantação de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **R. Árvore**, v. 20, n. 3, p. 319-330, 1996.

TOLEDO, R. E. B. et al. Faixas de controle de plantas daninhas e seus reflexos no crescimento de plantas de eucalipto. **Sci. Flor.**, n. 64, p. 78-92, 2003.

TOLEDO, R. E. B.; VICTORIA FILHO, R.; BEZUTTE, A. J.; PITELLI, R. A.; ALVES, P. L. C. A.; VALLE, C. L.; ALVARENGA, S. F. Períodos de controle de *Brachiaria* sp. e seus reflexos na produtividade de *Eucalyptus grandis*. **Scientia Forestalis**, n. 63, p. 221-232, 2003.

TOLEDO, R.E.B. de; VICTORIA FILHO, R.; BEZUTTE, A.J.; PITELLI, R.A; ALVES, P.L. da C.A.; VALLE, C.F. do; ALVARENGA, S.F. Períodos de controle de *Brachiaria* sp. e seus reflexos na produtividade de *Eucalyptus grandis*. **Scientia Forestalis**, n.63, p.221-232, 2003.

TOLEDO, R.E.B., VICTÓRIA FILHO, R., PITELLI, R.A., ALVES, P.L.C.A. e LOPES, M.A.F. Efeito de períodos de controle de plantas daninhas sobre o desenvolvimento inicial de plantas de eucalipto. **Planta Daninha**, v.18, n.3, p.395-404, 2000.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Crescimento do eucalipto sob efeito da deriva de glyphosate. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 133-137, 2007.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Intoxicação da espécie de eucalipto submetido a deriva do glyphosate. **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 359-364, 2006.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Leaf anatomy and morphometry in three eucalypt clones treated with glyphosate. **Braz. J. Biol.**, v. 69, n. 1, p. 129-136, 2009.

VALE, A. T.; LEÃO, A.L.; BRASIL, M.A.M. Caracterização da madeira e da casca de *Sclerolobium paniculatum*, *Dalbergia miscolobium* e *Pterodon pubescens* para uso energético, nº 26; In: 3º Encontro de Energia Rural, AGRENER, 2000. Campinas - SP.

VEIGA,R.A.A.; CARVAIHO,C.M.; BRASIL,M.A.M. Determinação de equações de volume para árvores de *Acacia mangium* **Cerne**, V.6, N.1, P.103-107, 2000.

VELINI, E. D. et al. Características e usos do glyphosate. In: VELINI, E. D. et al. **Glyphosate: uso sustentável**. Botucatu: FEPAF, 2012. 213 p.

YAMADA, T.; CASTRO, P.R.C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agrônômicas. **International plant nutrition institute**. Piracicaba: Informações Agrônômicas, 2007. 24p. (Boletim Técnico 119).