



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PORTO NACIONAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

LARISSA SOARES DE CASTRO

**RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS DE RAÍZES DE *Copaifera langsdorffii* Desf.
EXPOSTAS A UMA DERIVA SIMULADA DE GLIFOSATO**

Porto Nacional (TO)
2022

LARISSA SOARES DE CASTRO

**RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS DE RAÍZES DE *Copaifera
langsdorffii* Desf. EXPOSTAS A UMA DERIVA SIMULADA DE
GLIFOSATO**

Monografia foi avaliada(o) e apresentada (o) à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Porto Nacional, Curso de Ciências biológicas para obtenção do título de bacharel e aprovada (o) em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Kellen Lagares Ferreira Silva.

Porto Nacional/TO
2022

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

C355r Castro, Larissa Soares de.
respostas morfoanatômicas de raízes de *copaifera langsdorffii* desf.
expostas a uma deriva simulada de glifosato. / Larissa Soares de Castro. –
Porto Nacional, TO, 2022.
32 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus
Universitário de Porto Nacional - Curso de Ciências Biológicas, 2022.

Orientadora : Kellen Lagares Ferreira Silva

1. Cerrado,. 2. Copaiba. 3. espécie. 4. herbicida. I. Título

CDD 570

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).**

FOLHA DE APROVAÇÃO

LARISSA SOARES DE CASTRO

RESPOSTAS MORFOANATÔMICAS DE RAÍZES DE *Copaifera langsdorffi* Desf. EXPOSTA A UMA DERIVA SIMULADA DE GLIFOSATO

Artigo foi avaliada(o) e apresentada (o) à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Porto Nacional, Curso de Ciências biológicas para obtenção do título de bacharel e aprovada (o) em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 25 / 11 / 2022

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a. Kellen Lagares Ferreira Silva, UFT

Dr^a. Vanessa Ribeiro De Sousa Santos

Prof^a. Msc^a. Karine Dias Gomes dos Santos, IF Goiano

Porto Nacional, 2022

*Dedico aos meus pais por sempre me
incentivarem a estudar. Aos meus professores e
aos meus familiares e em especial aos que eu
perdi durante a pandemia, in memmoria de
Maria dos Anjos Soares de Abreu, Manoel
Vieira da Silva e Rejânio Soares de Abreu
(avó, avô e tio).*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado a graça de concluir este curso e ter me sustentado durante esses 4 anos. Só ele sabe o que eu passei para chegar até aqui, foram muitas lutas, mas eu venci todas elas.

Agradeço a Universidade Federal do Tocantins, pelo curso, pelo espaço e principalmente pelas bolsas. Foi por meio das bolsas que eu, quilombola da comunidade de Córrego Fundo de Brejinho de Nazaré -TO, consegui não só ter acesso a Universidade, como também me manter durante o período de graduação. Sem essas bolsas jamais conseguiria me deslocar, estagiar e formar.

Agradeço ao colegiado do curso de graduação em Ciências Biológicas, a minha orientadora Prof.^a Dr.^a Kellen Lagares Ferreira Silva, e aos professores que contribuíram para minha formação acadêmica. E em especial a dois professores que são criaturas extraordinárias e que tem amor pelo que fazem e despertam esse amor em ser biólogos em cada graduando que passa por esse curso: professora Elineide Marques e professor Wagner de Melo (*in memoriam*). Sou muito grata pelos momentos que vivi com cada um.

Agradeço aos meus pais por me apoiarem durante esse tempo. Meu pai por ser meu primeiro professor e exemplo. Minha mãe por ser tão minha amiga e paciente principalmente durante as minhas crises de ansiedade, ela sempre tem uma palavra amiga para me sustentar durante os momentos de desespero. Também quero agradecer as minhas irmãs por todo amor e amizade durante esse período. E aos meus avós, tios e tias, primos e primas pelo apoio ofertado.

Agradeço a Andressa Alves minha querida parceira de alma, confusão e aventuras. São 21 anos juntas e sempre fomos companheiras em tudo e sempre seremos mesmos escolhendo direções diferentes às vezes. Agradeço a você por existir, por topar fazer esse curso comigo e por me ajudar a não desistir quando as coisas pareciam ser difíceis. Obrigada pela paciência (pouca, mas tem), pelo companheirismo, conselhos e orientações. Eu sei que você vai muito longe e vai conseguir tudo que almeja, não desista!

Agradeço a todos os amigos que fiz durante essa caminhada e em especial a minha panelinha “trupe dos acéfalos”, com certeza a mais famosa da UFT. Andressa, Alex, Beatriz, Pâmmela, Pedro e eu, nos unimos a partir de um desafio “Se a gente passar em sistemática e Cálculo 1, vamos nos unir para formamos juntos”. E lá fomos nós estudar juntos, e juntos passamos e formamos. Eu amo cada um de vocês. Criamos um laço muito especial, sempre guardarei em minha memória os momentos que vivemos <3.

Agradeço a Vic e Rita por terem nos recebido e nos acolhido no laboratório de Anatomia para o estágio durante a pandemia. Aprendemos muito com vocês, minha eterna gratidão!

Agradeço a academia O2 por ter sido o meu refúgio e minha terapia durante o meu período de escrita científica. Com os professores Alberto e Augusto aprendi que a gente cresce diante da dor e se fortalece. As horas que eu passei treinando foram fundamentais para que eu não surtasse com tanta coisa nesse semestre. Muito obrigada!

E agradeço a todos que me apoiaram nessa jornada do início ao fim, equipe do Colégio Padrão, meus professores do ginásio e demais amigos. Meu muito obrigada a cada um de vocês.

RESUMO

Copaifera langsdorffii ou copaíba como é popularmente conhecida, é uma espécie de planta nativa do Cerrado que possui uma ampla distribuição geográfica. Há um interesse cultural nesse vegetal devido a produção de um óleo, no qual se encontra propriedades farmacológicas. Com o aumento do uso de herbicidas como o glifosato em áreas de cultivo de plantas de interesse agrônomo tem se intensificado o movimento de deriva, no qual o herbicida pode chegar em áreas próximas de remanescentes de vegetação nativa e provocar estresse nestas plantas. Nesse sentido, o objetivo desse artigo foi verificar respostas morfoanatômicas das raízes de *Copaifera langsdorffii* expostas a uma deriva simulada de glifosato aplicado na porção aérea das plantas. Para isso, o experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Federal do Tocantins, campus Palmas. As plantas foram submetidas a 3 distintas dosagens do herbicida glifosato (200, 400 e 800 g i.a. ha⁻¹) e a testemunha (0), sendo conduzidos em delineamento em blocos casualizados. Danos na morfologia externa não foram visíveis, a partir dos dados quantitativos mostraram que não houve diferença significativa nos parâmetros analisados. No entanto, alterações foram visíveis na anatomia e bioquímica sendo demonstradas na forma de degradação nos tecidos anatômicos, redução na produção de compostos fenólicos e amido, mesmo com a aplicação do herbicida sendo feita somente na parte aérea. Contudo, se mostra necessário novos experimentos aumentando o tempo de exposição para verificar se ocorre alterações na morfologia.

Palavras-chaves: Cerrado, copaíba, espécie, herbicida.

ABSTRACT

Copaifera langsdorffii or copaiba as it is popularly known, is a species of plant native to the Cerrado that has a wide geographic distribution. There is a cultural interest in this vegetable due to the production of an oil, in which pharmacological properties are found. With the increase in the use of herbicides such as glyphosate in areas of cultivation of plants of agronomic interest, the drift movement has intensified, in which the herbicide can reach areas close to remnants of native vegetation and cause stress on these plants. In this sense, the aim of this article was to verify morphoanatomical responses of *Copaifera langsdorffii* roots exposed to a simulated glyphosate drift applied to the aerial portion of the plants. For this, the experiment was conducted in the greenhouse of the Federal University do Tocantins, campus Palmas. The plants were subjected to 3 different dosages of the herbicide glyphosate (200, 400 e 800 g i.a. ha⁻¹) and the witness (0), being conducted in a randomized block design. Damages in the external morphology were not visible, from the quantitative data they showed that there was no significant difference in the analyzed parameters. However, changes were visible in anatomy and biochemistry being demonstrated in the form of degradation in anatomical tissues, reduction in the production of phenolic compounds and starch, even with the application of the herbicide being done only in the aerial part. However, new experiments are needed to increase the exposure time to check for changes in morphology.

Key-words: Shut, copaiba, species, herbicide.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1. Raízes de <i>Copaifera langsdorffii</i> . Demonstração dos blocos contendo as raízes.	20
Figura 2. Gráfico de regressão para os parâmetros morfológicos.....	21
Figura 3. Efeitos do glifosato na anatomia de raízes de <i>Copaifera langsdorffii</i>	22
Figura 4. Teste histoquímico indicando compostos fenólicos nas raízes de <i>Copaifera langsdorffii</i>	23
Figura 5. Histologia de raízes de <i>Copaifera langsdorffii</i> após exposição de suas plantas a diferentes doses de glifosato.	24
Figura 6. Resultado do teste histoquímico com Sulfato Ferroso em raízes de <i>Copaifera langsdorffii</i>	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PPG Ciamb
UFT

Programa de Pós-Graduação em Ciências do ambiente
Universidade Federal do Tocantins

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Geral	15
2.2	Específicos	15
3	METODOLOGIA.....	16
3.1	Local e espécie de estudo.....	16
3.2	Delineamento experimental	17
3.3	Aplicação do herbicida e coleta	17
4	ANÁLISES MORFOLÓGICAS	18
5	ANÁLISES ANATÔMICAS	19
6	ANÁLISES HISTOQUÍMICAS.....	20
7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
8	RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
8.1	Testes histoquímicos	26
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
	REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro no qual abrange os seguintes estados: Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Distrito Federal, Maranhão, Piauí, Rondônia, São Paulo e Paraná, ocupando cerca de 25% do território nacional (Resende e Guimarães, 2007). De acordo com o Ministério do Meio Ambiente (2018) cerca de 22% de sua área vem sendo reduzida de forma acelerada. Sugestão de reformulação da frase. Dados atuais revelam que 44,9% do bioma tem sido degradado para o uso antrópico, boa parte deste aumento advém da agricultura (MAPBIOMAS, 2021).

“Os impactos das novas tecnologias agrícolas desenvolvidas a partir do pacote tecnológico denominado de “Revolução Verde” sobre o bioma cerrado foi gigantesco” segundo Teixeira e Fonseca (2022). Com a instalação de grandes lavouras de grãos para a monocultura e consequentemente o aumento no uso de insumos agrícolas, têm ameaçado drasticamente a vegetação natural e causado impactos socioambientais irreversíveis ao Cerrado (Dutra e Souza, 2017).

Com o avanço das extensões agrícolas, intensificaram-se o uso de agrotóxicos (Caramori, Lima e Fernandes; Soares e Porto, 2007). Isso porquê seu uso justifica-se na produtividade das plantas de interesse agrônômico, ou seja, controlar ervas daninhas, insetos e pragas de modo geral (Karam, Rios e Fernandes, 2014). O Brasil está entre os principais países no ranking dentre os maiores consumidores de agrotóxicos do mundo (Dutra e Souza, 2017).

O herbicida glifosato destaca-se como sendo o agrotóxico mais utilizados. pois ele sozinho representa 40% do consumo de agrotóxicos no país, nos quais implicam danos para a saúde humana e para o ambiente (Carneiro, et al., 2015). O glifosato (N-fosfometil glicina) após aplicado sobre o vegetal, rapidamente é absorvido e direcionado para o floema onde é translocado por todas as partes da planta, entretanto tende a se acumular nas regiões meristemáticas (Yamada e Castro, 2007).

Esse herbicida atua de maneira particular na planta inibindo especificamente a enzima vegetal 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPs). Com essa ação sobre a enzima vegetal, acaba por não ocorrer a produção de 3 aminoácidos vitais para a planta e, por consequência inibe também a formação do hormônio auxina ácido indolilacético (AIA), que é responsável pelo crescimento do vegetal de regiões radiculares (Yamada e Castro, 2007).

O vegetal tende a acarretar outros sintomas, principalmente em seu órgão foliar podendo se manifestar em forma de clorose, e por conta da atuação do glifosato os vegetais mais vulneráveis podem morrer em poucos dias ou semanas (Santos et al., 2020). Em tese, esta é a

finalidade de um herbicida em plantas classificadas como daninhas, por competirem com as plantas de interesse agrônomo. Esse herbicida inicialmente foi considerado ser de uso seguro no ambiente e que não existiria nenhum efeito sobre plantas não-alvos (Galli e Montezuma, 2005). No entanto, a pulverização pode atingir plantas não-alvo por conta da deriva do herbicida (Santos et al., 2020).

Borges *et al* (2021) chamam a atenção para essa problemática, já que algumas dessas espécies nativas do Cerrado como *Hymenaea courbaril* mostra-se sensível diante do herbicida, o que pode vir a comprometer a diversidade florística do Cerrado. Desse modo, espécies nativas desse bioma podem servir como bioindicadoras do efeito desse agrotóxico (Silva *et al.*, 2016). Já que em alguns trabalhos foram verificados sintomas visuais de intoxicação, como: cloroses e necroses foliares, sendo que as plantas com maior intensidade de intoxicação apresentavam clorose e morte dos ápices caulinares (Costa et al., 2012).

Diante disso, entorno dessa diversidade de vegetais que compõe a comunidade do bioma, *Copaifera langsdorfii* Desf. (Fabaceae) é uma das espécies nativa do cerrado que por possuir um óleo com propriedades farmacológicas é bastante utilizado pelas comunidades tradicionais, tendo então um valor econômico e cultural (Lorenzi, 1992), e neste sentido, objetivou-se analisar os efeitos do glifosato nas raízes de plantas de copaíba, cujas porções aéreas foram expostas ao glifosato.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Verificar as respostas morfoanatômicas das raízes de *Copaifera langsdorffii* submetidas a uma deriva simulada de glifosato.

2.2 Específicos

- Avaliar os efeitos do glifosato na morfologia das raízes de plantas de *Copaifera langsdorffii* expostas a esse agrotóxico;
- Investigar alterações nos tecidos radiculares de plantas expostas ao glifosato.

3 METODOLOGIA

3.1 Local e espécie de estudo

O presente estudo foi desenvolvido em uma casa de vegetação localizada na Universidade Federal do Tocantins, e no Laboratório de Histologia e Anatomia Vegetal do Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente (PPG Ciamb), UFT, ambos localizados no Campus de Palmas.

Para a realização do experimento, foram utilizadas mudas de *Copaifera langsdorffii* Desf. provenientes do viveiro municipal da cidade a partir de doações feitas pela prefeitura de Palmas. A espécie escolhida para o desenvolvimento da pesquisa é a *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae), possui as seguintes descrições: a flor é do tipo inflorescência (panícula) apical, axilar com várias flores (100 a 2000) de cor creme, creme-esverdeada ou quase rósea; floração de dezembro a março, fruto oval, castanho-avermelhado, geralmente com uma única semente preta e alaranjada (arilo), frutificação ocorre entre o período de agosto a setembro, predominante em Ambiente de Mata de Galeria, Mata Ciliar, Mata Mesofítica, Cerrado, Cerradão (RIBEIRO e WALTER, 1998).

Essas árvores são popularmente conhecidas como copaibeiras, pau d'óleo, óleo vermelho, podói e etc, apresentando as seguintes características morfológicas: altura variando entre 10 a 15 metros, troncos com diâmetro de 50 a 80 cm, folhas compostas pinatífida com 3 julgos e folíolos alternados ou compostos (LORENZI, 1992). Dessas plantas são extraídos um óleo encontrado em canais secretores localizados em todas as partes da árvore, ele é resultado da desintoxicação do organismo vegetal e funciona como defesa da planta contra agentes externos. Por possuir propriedades farmacológicas, o óleo de copaíba é bastante utilizado pela população (JUNIOR e PINTO, 2002).

Ao chegarem na casa de vegetação as plantas foram transferidas para vasos de polietileno de 8kg, onde passaram pelo processo de aclimação e monitoramento com o auxílio de uma estação meteorológica instalada no local, que assim forneceu diariamente informações sobre temperatura e umidade, via medição *in loco*, e como comparação de amostragem do *site* disponível em (www.inmet.com.br).

As mudas foram adubadas com solução nutritiva de Hoagland (Hoagland e Arnon, 1950), semanalmente até a data de aplicação do herbicida para que desta forma não houvesse estresse causado pela ausência de nutrientes. Foi feita uma análise no com o intuito de prevenir

possíveis deficiências nutricionais e assim aplicar no substrato a dosagem correta de acordo com o ajuste nutricional da solução nutritiva.

3.2 Delineamento experimental

A condução do experimento seguiu a partir do delineamento em blocos casualizados (DBC), constituído em 4 tratamentos, possuindo 7 repetições cada e incluindo 3 diferentes doses do herbicida glifosato (Roundup Original DI®, contendo 370 g/L-1 (Rossetti, et al., 2017), sendo: (200, 400 e 800 g. i. a. ha⁻¹) e o controle (0). Os indivíduos sadios foram padronizados categoricamente por número de folhas e altura para a aplicação dos tratamentos.

3.3 Aplicação do herbicida e coleta

O glifosato foi aplicado com o uso de um pulverizador costal, munido de barra com uma ponta de pulverização, com bico do tipo leque e pressão de serviço de kgf.cm⁻², gerando um volume de calda de 200 L ha⁻¹. O produto foi pulverizado uma única vez para todos os tratamentos, sendo essa aplicação aos dias 13 de março de 2022. Esse processo ocorreu fora da casa de vegetação, com aplicação sendo feita apenas na parte aérea das plantas e tendo o solo coberto por papéis alumínio para não haver contaminação no mesmo. O período de aplicação ocorreu das 7h às 9:30h da manhã. Subsequente a este processo há equivalente 01h30min, as mudas foram transportadas para a casa de vegetação e dispostas aleatoriamente, onde permaneceram por 26 dias, sendo monitoradas durante esse tempo até o dia 09 de abril dia da coleta.

4 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

A realização das análises morfológicas de raízes ocorreu ao final do experimento, quando foi realizado a coleta. As raízes foram coletadas, separadas do substrato e lavadas. As variáveis analisadas foram: comprimento e diâmetro das raízes (diâmetro da região média e diâmetro da região inicial), com auxílio de uma fita métrica e um paquímetro respectivamente. Em seguida foi determinado o volume para cada raiz utilizando uma proveta de 2000 ml com água onde o deslocamento foi quantificado em cm^3 , depois as raízes foram pesadas em balança digital Clinck e por fim acondicionados nos sacos de papéis identificados e adicionados em uma estufa com circulação de ar ($65 \pm 2^\circ\text{C}$) onde foram mantidos durante 52 horas, período no qual obteve o peso constante. Após esse processo as amostras foram novamente pesadas para obtenção da massa seca da raiz.

5 ANÁLISES ANATÔMICAS

Porções radiculares apicais (contendo meristema e região em crescimento primário) foram coletadas e fixadas em FAA 50 por 48 horas e, após esse período, foram armazenadas em álcool 70% (Saraiva, et al., 2018). O material foi emblocado (parafina + cera de abelha 8%) e foram obtidos cortes transversais e longitudinais no micrótomo rotativo Leica RM 2245 em seguida corados em azul de Alcian e Safranina e montadas entre lâmina e lamínula em bálsamo do Canadá (Arduin e Kraus, 1995). A observação e registros foram realizadas com o auxílio de um microscópio Leica DM500, com câmera acoplada Leica ICC50 HD.

6 ANÁLISES HISTOQUÍMICAS

Porções apicais da raiz, foram coletadas e acondicionadas em recipientes contendo uma solução composta por formalina e sulfato ferroso. E após um período de 48 horas retiradas do fixador e estocadas em álcool 70%. O material foi emblocado (parafina + paraplast), e posteriormente foram realizados cortes transversais e longitudinais no Micrótomo rotativo Leica RM 2245. Por fim, os cortes foram desparafinizados e montados entre lâmina e lamínula em bálsamo do Canadá.

7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental utilizado foi o delineamento em blocos casualizados (DBC) com quatro tratamentos, sete repetições e apenas uma aplicação. Os dados quantitativos foram submetidos ao teste de média com significância aos níveis de 5% e 1% de probabilidade pelo teste de Tukey (Oliveira, 2008), utilizando o programa R, versão 4.2.1.9.

8 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As raízes de *Copaifera langsdorffii* apresentaram os seguintes resultados quando observados os parâmetros morfológicos: o controle, que não recebeu nenhuma dose do herbicida apresentou menos ramificado comparado aos tratamentos. A morfologia desse grupo em média apresentou estruturas radiculares finas. Enquanto que nas dosagens de 200, 400 e 800 o comprimento e espessura se sobressaíram (Veja a figura 1). Khan et al (2020) trabalhando com mudas de tomate observou que em concentrações altas do glifosato em seu experimento, sendo esta calda utilizada (30 mg L^{-1}) correspondente a 150 g ha^{-1} , o glifosato apresentou o potencial de inibir o desenvolvimento da planta. Já em doses relativamente baixas como $0,07\text{--}1 \text{ mg L}^{-1}$ de glifosato ele estimulou o crescimento.

Figura 1 - Raízes de *Copaifera langsdorffii* demonstração dos blocos contendo a raiz 1 (controle), raiz 2 ($200 \text{ g i.a. ha}^{-1}$), raiz 3 ($400 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) e raiz 4 ($800 \text{ g i.a. ha}^{-1}$).



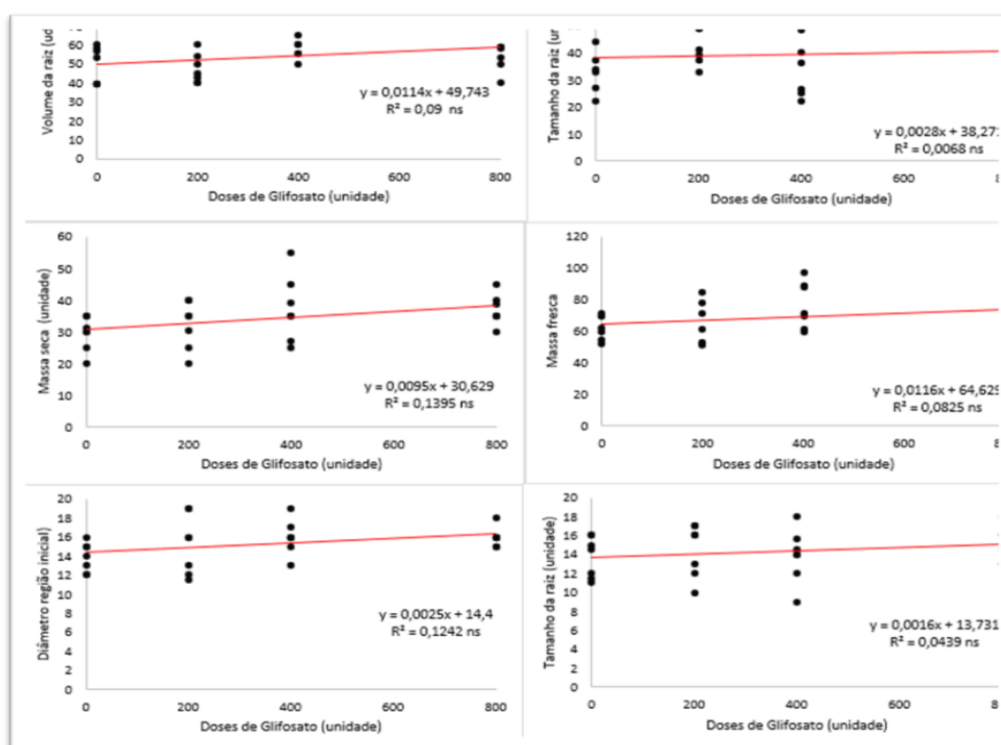
Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Essa ação estimuladora é chamada de efeito hormético, ou de hormesis, sendo este um conjunto de respostas adaptativas dos sistemas biológicos a desafios ambientais, sendo de pequena ou moderada dimensão, que através desta o sistema melhora as suas funcionalidades, ou a tolerância a desafios mais severos (Rodrigues, 2019). Khan (2020), observou que os efeitos horméticos, manifestados em sua pesquisa foram: aumento do comprimento do hipocótilo em dose de $0,07\text{--}1 \text{ mg L}^{-1}$ do glifosato e aumento do comprimento da radícula em 1 mg L^{-1} em comparação com o tratamento e o controle. Algumas espécies são muito sensíveis quando expostas ao glifosato, enquanto outras espécies podem ser consideradas como tolerantes diante

do herbicida (Ferreira, *et al.*, 2017). Este efeito hormético observado nas raízes de *Copaifera langsdorffii* apresentou-se de modo sutil possivelmente em detrimento ao curto período de exposição do experimento.

Analisando os dados quantitativos dos parâmetros morfológicos e comparando as médias entre peso da massa seca, peso da massa fresca, volume, diâmetro da região média e diâmetro da região inicial não houve diferença significativa nas raízes de *Copaifera langsdorffii* em função dos tratamentos (figura 2). No entanto, observa-se que os dados dos pesos de raízes frescas e secas, e dos diâmetros apresentaram o menor valor nas raízes das plantas controle. Borges (2021) trabalhando com raízes de *H. courbaril* observou redução significativa da massa seca indicando que o desenvolvimento foi afetado.

Figura 2 - Gráfico de regressão para os parâmetros morfológicos: volume, o diâmetro da região mediana, o diâmetro da região inicial, massa fresca, o tamanho e massa seca. Nesse teste não houve significância para nenhum dos parâmetros.

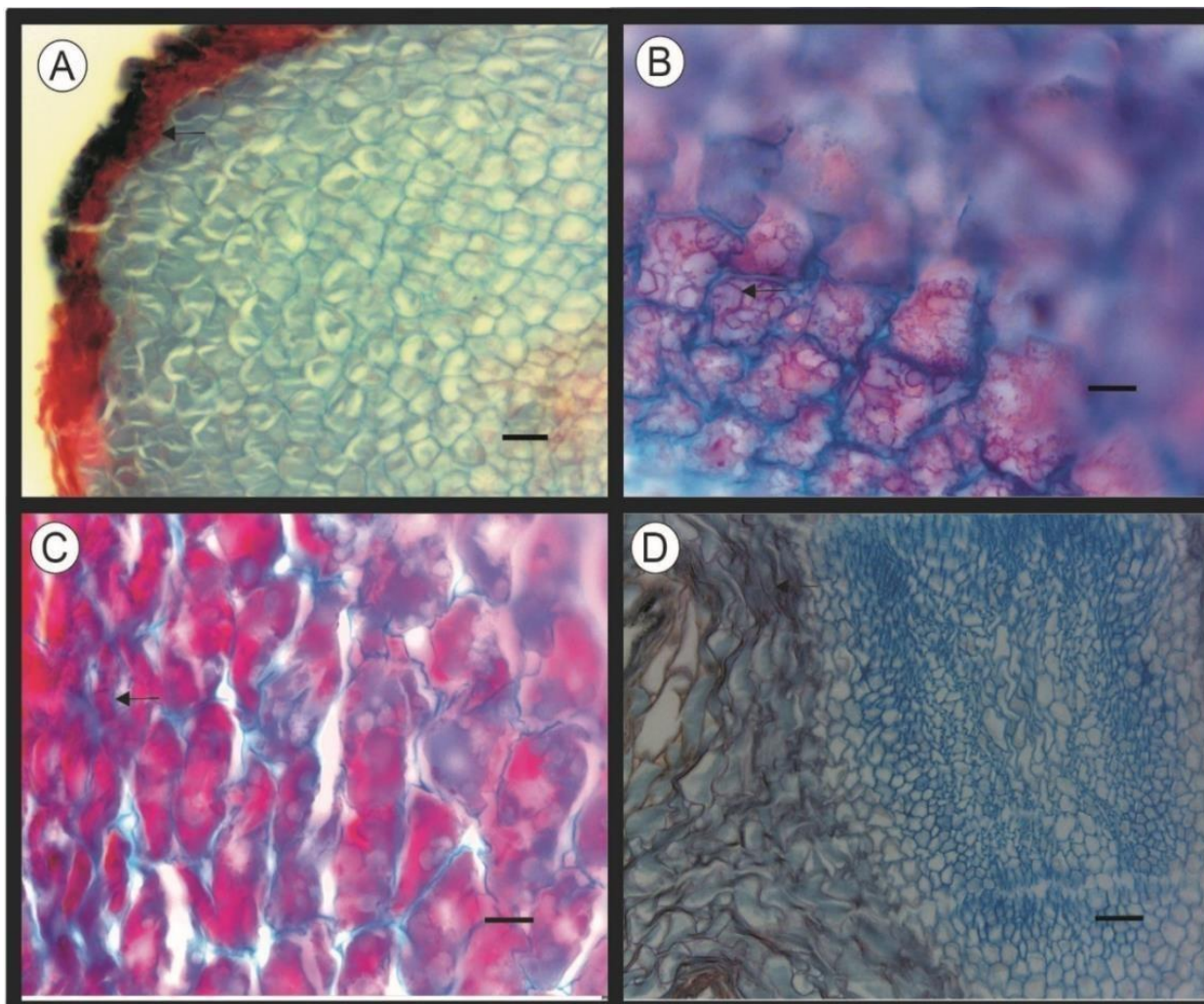


Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Com relação às análises anatômicas as raízes de *Copaifera langsdorffii* demonstraram ter em sua anatomia indicativos de que sua epiderme seja unisseriada com base nas observações verificadas no controle. Por sua vez, as raízes do controle se apresentaram em seus tecidos uma coloração avermelhada nas paredes celulares do parênquima cortical e epiderme, podendo ser um indicativo de acúmulo de compostos fenólicos (figura 3). Esses metabólitos secundários estão associados a diversas atividades fisiológicas da planta, sendo importante no processo de

defesa e crescimento do vegetal (Yamada e Castro, 2007). Além disso, também foi encontrado no controle a presença de grão de amido (figura3).

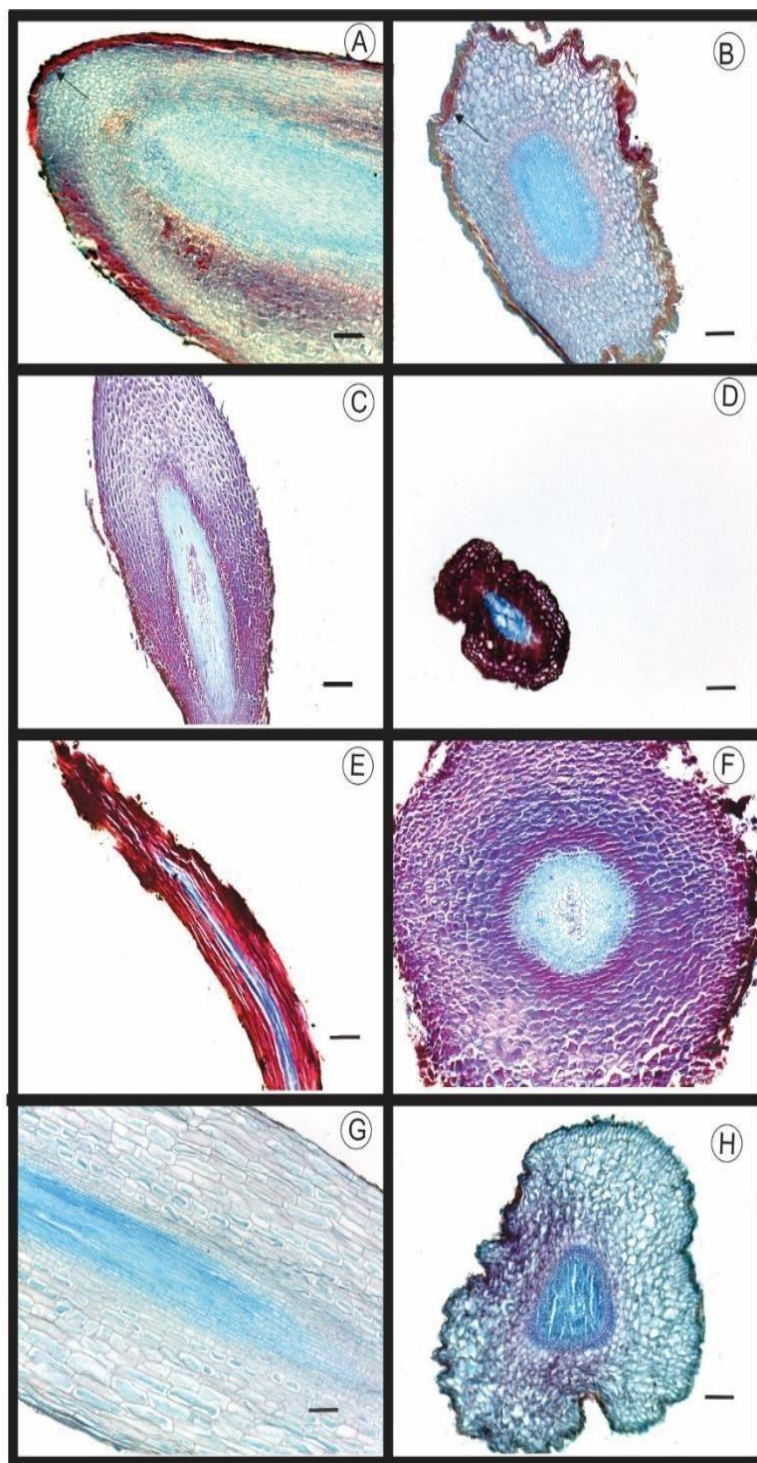
Figura 3 – Em A está o Controle(0g) ampliado em 100x, evidenciando compostos fenólicos; em B e C novamente o controle mostrando os grãos de amido e D amostra de 800g i.a. ha¹ seta indicando necrose. Barra 10µm.



Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Entretanto, com o aumento das concentrações do glifosato foi verificada mudanças nesse padrão. As raízes a partir da dose de 400g i.a. ha¹ começaram a apresentar danos em sua morfologia interna, sendo estes intensificados e expressos na maior concentração do herbicida nas doses de 800g i.a. ha¹, os principais sintomas observados foram: perda de grão de amido, desorganização celular e necrose tecidual (figura 3 e 4). Conforme, Monqueiro et al. (2004) explicam que o surgimento de pontos necróticos nos ápices radiculares é provocado pelo movimento do glifosato no floema, seguindo a mesma rota dos produtos da fotossíntese e indo em direção às partes das plantas que utilizam os fotoassimilados para crescimento, manutenção e metabolismo. Em estruturas como raízes nas zonas meristemáticas, ficam acumuladas provocando necroses.

Figura 4 – A-H: Efeitos do glifosato na anatomia de raízes de *Copaifera langsdorffii*. A: (Controle) longitudinal; B (Controle) transversal; C (200g i.a. ha⁻¹) longitudinal; D (200g i.a. ha⁻¹) transversal; E (400g i.a. ha⁻¹) longitudinal; F (400g i.a. ha⁻¹) transversal; G (800g i.a. ha⁻¹) longitudinal; H: (800g i.a. ha⁻¹) transversal. Barra 100µm. Seta indicando compostos fenólicos.

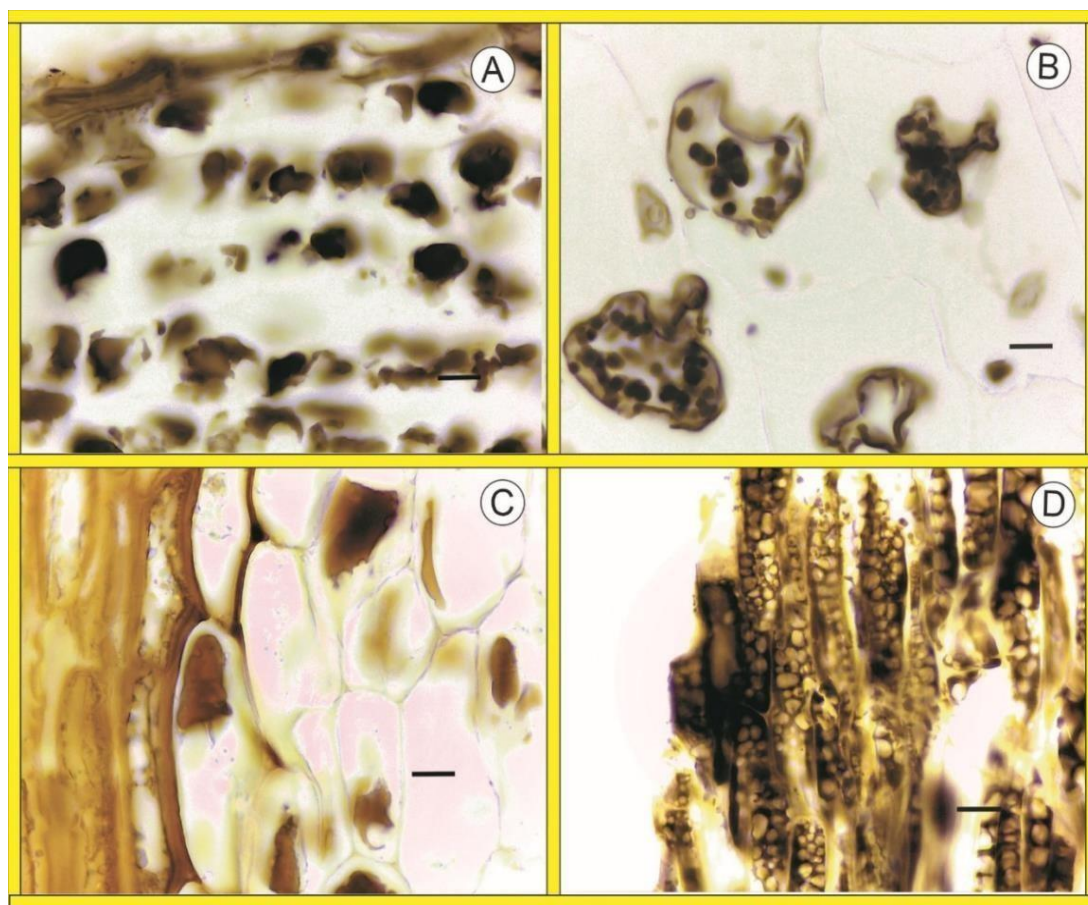


Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

8.1 Testes histoquímicos

Com relação aos testes histoquímicos utilizando formalina e sulfato ferroso (Johansen, 1940) foi evidenciado acúmulo de compostos fenólicos nas raízes do controle, corroborando o que havia sido observado nas lâminas anteriores. O que indica ser um composto encontrado naturalmente na espécie. Foi evidenciado principalmente nas testemunhas onde não houve dosagem e em concentrações baixa do herbicida nesse experimento (figura 5). Nocerino (2000) observou-se que em raízes das espécies do gênero *Panax* o teor de glicosídeos do metabolismo secundário vegetal varia entre as diferentes espécies mostrando como há plantas que produz naturalmente, enquanto outras produzem em resposta a algum estresse.

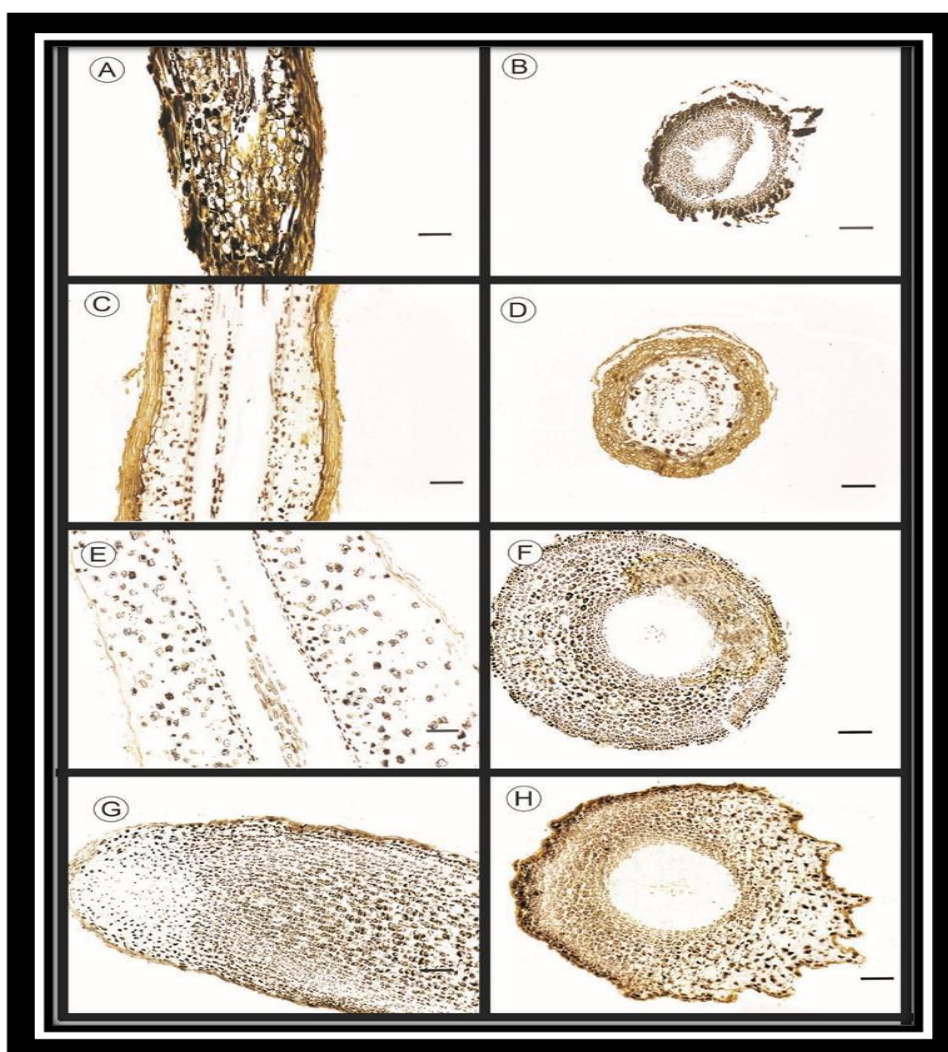
Figura 5 - Nas imagens de A-D resultado do teste histoquímico Sulfato Ferroso, em A amostra de 800g i.a. ha⁻¹ necrose; na figura B (400g i.a. ha⁻¹) retração do protoplasto; na figura C e D são amostras do controle (0g). Em C evidenciando compostos fenólicos e D mostrando os grãos de amido. Todas as imagens ampliadas em 100x. Barra 10µm.



Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

No entanto, ao longo dos tratamentos constatou-se uma perda progressiva destes metabólitos secundários é possível observar comparando o controle com os tratamentos. Santos (2015), trabalhando com plantas de *Cenostigma macrophyllum* verificou que nesta espécie há uma produção natural de compostos fenólicos em suas folhas. Entretanto, foi observado que o glifosato interfere na produção, e à medida que foram aumentadas as doses do herbicida essa substância foi reduzida nas plantas. Por outro lado, Oliveira (2022), estudando a espécie *Bowdichia virgiloide* ao submetê-la com um teste de sulfato ferroso, não visualizou compostos fenólicos no controle, porém nos tratamentos foram verificados a presença desses metabólitos. Mostrando que essa espécie passa a produzir compostos em resposta a um estresse.

Figura 6 - A-H: Teste histoquímico indicando compostos fenólicos nas raízes de *Copaifera langsdorffii*. A: (Controle) longitudinal; B (Controle) transversal; C (200g i.a. ha⁻¹) longitudinal; D (200g i.a. ha⁻¹) transversal; E (400g i.a. ha⁻¹) longitudinal; F (400g i.a. ha⁻¹) transversal; G (800g i.a. ha⁻¹) longitudinal; H: (800g i.a. ha⁻¹) transversal. Barra 100µm.



Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

É possível averiguar que nas raízes de *Copaifera langsdorffii* nas dosagens mais altas, sendo elas 400g.i.a.ha¹ e 800g g.i.a.ha¹, há uma perda maior ou completa de substâncias fenólicas (veja a figura 6). O glifosato inibe a enzima EPSPs e afeta a via metabólica do chiquimato, que é responsável pela produção dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano. Os dois primeiros aminoácidos são essências para que aja a produção dos compostos fenólicos, com a inibição acaba comprometendo a defesa da planta (Yamada e Castro, 2007).

Através desta análise histoquímica também foi possível verificar a presença de grão de amido acumulado na raiz (veja a figura 5). E observando as amostras deduzir que este está presente fortemente no controle, e assim como houve a redução nos compostos fenólicos em detrimento das dosagens, para o grão de amido também foi perdido de modo gradual (figura 6). Maria (2006), investigando a espécie *Lupinus albus* L. descobriu uma diminuição do teor de amido em 3 dias nos tratamentos de 5 e 10 mM, e observou que a redução progredia com o tempo, atingindo 69 e 75% de inibição após 7 dias. Resultando na diminuição do acúmulo de amido nos nódulos de tremço.

Outro sintoma foi visualizado na dose de 800g.i.a.ha¹, danos teciduais severos, tais como retração do protoplasto, necrose e desarranjo celular. (veja as figuras 5 e 6). Esses sintomas elucidados também foram observados no trabalho de Santos (2015), a partir da dosagem 200 g e.a. ha⁻¹, foi visto retração do protoplasto das células. Na dosagem de 800 g e.a. ha⁻¹ , foi verificado total desorganização do mesofilo com células distorcidas, necrosadas e colapsadas, além de necrose, com total destruição das células parenquimáticas. Resultados semelhantes a este também foram encontrados por Cruz (2021) estudando *Eugenia uniflora*. No qual são sintomas característicos da ação do herbicida glifosato nas plantas. Conforme aumenta a concentração de glifosato, é notoriamente observado que o grau de deterioração foi ampliando e promovendo a desintegração da estrutura tecidual e, este impacto se torna mais visível diante deste aumento constatou Farkas, *et al* (2022) analisando raízes, caules e folhas de indivíduos da espécie *Helianthus annuus* L.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, apesar de não ter sido observado danos visíveis na morfologia externa e os dados quantitativos mostrarem que não houve diferença significativa nos parâmetros analisados. Todavia, com base nas análises feitas foi verificado que diferentes dosagens do glifosato aplicado nas plantas interferiram no seu desenvolvimento pois alterações foram visíveis na anatomia e bioquímica sendo demonstradas na forma de degradação nos tecidos anatômicos, redução na produção de compostos fenólicos e amido, mesmo com a aplicação do herbicida sendo feita somente na parte aérea. No entanto, alterações foram visíveis na anatomia e bioquímica sendo demonstradas na forma de degradação nos tecidos anatômicos, redução na produção de compostos fenólicos e amido, mesmo com a aplicação do herbicida sendo feita somente na parte aérea. Por fim, são necessários novos experimentos aumentando o tempo de exposição para verificar se ocorre alterações na morfologia externa, haja vista que os danos na morfologia interna antecederem os danos da morfologia externa.

REFERÊNCIAS

- Arduin, M. e Kraus, J. E. Anatomia e ontogenia de galhas foliares de *Piptadenia gonoacantha* (Fabales, Mimosaceae). **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, 14, 109-130, 1995.
- Batista, P. F; Costa, A. C; Megguer, C. A; Lima, J. S; Silva, F. B; Guimarães, D. S; Nascimento, K. J. Pouteria torta: a native species of the Brazilian Cerrado as a bioindicator of glyphosate action. **Brazilian Journal of Biology**, 2018.
- Borges, M. P; Silva, D. V; Souza, M. d; Silva, T. S; Teófilo, T. M; Silva, C. C; Santos, J. B. Glyphosate effects on tree species natives from Cerrado and Caatinga Brazilian biome: Assessing sensitivity to two ways of contamination. **Science of the Total Environment**, 2021.
- Caramori, S. S; Lima, C. S; Fernandes, K. F. Biochemical Characterization of Selected Plant Species from Brazilian Savannas. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 47(2), 253-259, 2007.
- Carneiro, F. F; Rigotto, R. M; Augusto, L. G; Friedrich, K; & Búrigo, A. C. Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. (E. P. Venâncio, Ed.) Rio de Janeiro/ São Paulo: **Expressão Popular**, 2015.
- Costa, A. C. P. R. D. et al. Efeito da deriva simulada de glyphosate em diferentes partes da planta de *Eucalyptus grandis*. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 1663-1672, 2012.
- Cruz, C. E; Freitas-Silva, L. d; Ribeiro, C; Silva, L. C. Physiological and morphoanatomical effects of glyphosate in *Eugenia uniflora*, a Brazilian plant species native to the Atlantic Forest biome. **Environmental Science and Pollution Research**, 2015.
- Dutra, R. M., & Souza, M. M. Cerrado, revolução verde e evolução do consumo de agrotóxicos. **Sociedade & Natureza**, 2017.
- Dutra, R. M., & Souza, M. M. Impactos negativos do uso de agrotóxicos à saúde humana, 2017.
- Farkas, D; Horotan, K; Orloci, L; Nemenyi, A. ; Kisvarga, S. New Methods for Testing/Determining the Environmental Exposure to Glyphosate in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Plants. **14(2)**, 2022.
- Ferreira, M. F., Torres, C., Bracamonte, E; Galetto, L. Effects of the herbicide glyphosate on non-target plant native species from Chaco forest (Argentina). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, pp. 360-368, 2017.
- Galli, A. J., & Montezuma, M. C. Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura. **ACADCOM Gráfica e Editora Ltda**, 2005.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil. **California Agricultural Experiment Station**, 1950.
- Johansen. Plant microtechnique. New York: **MacGraw-Hill Book Company**, 1940.
- Karam, D., Rios, J. N., & Fernandes, R. C. Agrotóxicos, 2014.

Khan, S., Zhou, J. L., Ren, L., & Mojiri, A. Effects of glyphosate on germination, photosynthesis and chloroplast morphology in tomato. **Chemosphere**, 2020.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil. São Paulo: **Platarum**, 1992.

María, N. d., Becerril, J. M., García-Plazaola, J. I., Hernández, A., Felipe, M. R., & Fernández-Pascual, M. New Insights on Glyphosate Mode of Action in Nodular Metabolism: Role of Shikimate Accumulation. **Diário do química agrícola e alimentar**, 2006.

MONQUEIRO, P. A. et al. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. *Planta Daninha*, v. 22, n. 3, p. 445-451, 2004.

Nocerino, E., Amato, M., & Izzo, A. A. The aphrodisiac and adaptogenic properties of ginseng, 2000.

Oliveira, A. F. Testes estatísticos para comparação de médias. **Eletrônica Nutritime**, 5, 777-788, 2008.

Oliveira, A. P., Costa, A. C., Filho, A. J., Freitas, D. A., & Silva, K. L. Respostas fisiológicas e morfoanatômicas de *Bowdichia virgilioides* Kunth. (Fabaceae) submetidas ao herbicida paraquat, 2022.

Projeto MapBiomias – Mapeamento Anual de Cobertura e Uso da Terra no Cerrado - através do link: <https://brasil.mapbiomas.org/> Coleção 6, acessado em 20/08/2022

Resende, M. d., & Guimarães, L. d. Inventários da Biodiversidade do Bioma Cerrado: Biogeografia de Plantas. **IBGE**, 2007.

Rodrigues, A. Efeito de Hormesis : da biologia à medicina, passando pela toxicologia. **Açormédia**, 2019.

Rossetti, A. G., Neto, F. d., Melo, D. S., Serrano, L. A., Hawerorth, F. J., Taniguchi, C. A, Bezerra, M. A, et al. Orientações para Instalação, Condução e Avaliação de Experimentos de Campo. **Embrapa**, Fortaleza, CE, 2017.

Santos, V. R; Filho, A. J; Santana, M. M., Costa, A. C ; Silva, K. L. Análises fisiológicas e morfoanatômicas de *Cenostigma macrophyllum* Tul. (Fabaceae) submetida a diferentes concentrações de glifosato. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais** , 11, 159-173, 2020.

SANTOS, Vanessa Ribeiro de Souza Santos. **Análises fisiológicas e morfoanatômicas de *Miracrodruon urundeuva* Fr Allemão (Anacardiaceae) e *Cenostigma macrophyllum* Tul. (Fabaceae) submetidas a diferentes concentrações de glifosato.** 2015. 109 f.

Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ecótonos), Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, TO, 2015.

Saraiva, J. d., Souza, C. C., Costa, J. R., Silva, D. R., & Nascimento, M. E. Anatomia da raiz, folha e caule de *Ruta graveolens* L. (RUTACEAE). **III Congresso de Ciências Agrárias**, 2018.

Silva, L. Q., Araújo, A. C., Almeida, G. M., Filho, A. J., Costa, A. C., & Jakelaiti, A. Modificações fisiológicas em folhas de pequi (*Caryocar brasiliense*) causadas pela aplicação de glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, 2016.

Soares, W. L.; Porto, M. F. Atividade agrícola e externalidade ambiental: uma análise a partir do uso de agrotóxicos no cerrado brasileiro. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2007.

Teixeira, R. d., & Fonseca, V. M. The expansion of the agricultural frontier in brazilian biomes: The cerrado as a laboratory for the technological packages of the "green revolution". **Brazilian Journal of Development**, pp. 6416–6435, 2022.

Yamada, T., & Castro, P. R. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. **International Plant Nutrition Institute (IPNI)**, 2007.