

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

**EFEITOS DO GLIFOSATO NAS CARACTERÍSTICAS MORFO-  
FISIOLÓGICAS DE DUAS ESPÉCIES NATIVAS DO CERRADO**

Autora: Karen de Souza Santos Proto  
Orientador: Prof. Dr. Alan Carlos Costa

Rio Verde – GO  
Julho de 2012

**EFEITOS DO GLIFOSATO NAS CARACTERÍSTICAS MORFO-FISIOLÓGICAS DE DUAS ESPÉCIES NATIVAS DO CERRADO**

Autora: Karen de Souza Santos Proto  
Orientador: Prof. Dr. Alan Carlos Costa

Dissertação apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Ciências Agrárias.

Rio Verde – GO  
Julho de 2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)**

Proto, Karen de Souza Santos.

Efeito do glifosato nas características morfo-fisiológicas de duas espécies nativas do cerrado [manuscrito] / Karen de Souza Santos Proto. - 2012.

71 f. : il.

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Alan Carlos Costa; Co-orientadora: Dr<sup>a</sup> Clarice Aparecida Megguer/ Dr<sup>o</sup> Adriano Jakelaitis

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde, 2012.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, símbolos, siglas e abreviaturas. 1. Baru (*Dipterix alata*) – Glifosato – Efeito morfológico. 2. Guapeva (*Pouteria torta*) – Glifosato – Efeito morfológico. I. Título.

CDU: 632.954:634.55(213.54)

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

**EFEITOS DO GLYPHOSATE NAS CARACTERÍSTICAS MORFO-  
FISIOLÓGICAS DE DUAS ESPÉCIES NATIVAS DO CERRADO**

Autora: Karen De Souza Santos Proto  
Orientador: Alan Carlos Costa

*TITULAÇÃO:* Mestre em Ciências Agrárias – Área de concentração Ciências  
Agrárias – Ciências Agrárias

APROVADA em 28 de agosto de 2012.

Prof<sup>a</sup>. Dra. Marisa Domingos  
*Avaliadora externa*  
Instituto de Botânica/SP

Prof. Dr. Adriano Jakelaitis  
*Avaliador interno*  
IF Goiano/RV

Prof. Dr. Alan Carlos Costa  
*Presidente da banca*  
IF Goiano/RV

A minha mãe Hilda;

Ao meu esposo Dannilo e aos meus filhos Dannilo Filho e Anna

Júlya;

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao Criador, pela vida, força e pelas oportunidades.

Ao meu esposo Dannilo, pela amizade, cumplicidade, amor e compreensão.

À minha querida mãe Hilda, exemplo de sabedoria, pela paciência, dedicação, perseverança, doação, com certeza minha força de continuar.

Aos meus filhos Dannilo Filho e Anna Júlya pelo amor incondicional, por serem a razão dessa conquista.

Ao meu orientador professor Dr. Alan Carlos Costa, exemplo de dedicação, pela confiança, apoio e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto de pesquisa.

À Secretaria de Estado de Educação de Goiás, por conceder licença-remunerada que permitiu que eu pudesse dedicar preciosas horas à execução desse trabalho.

Ao Instituto de Botânica de São Paulo e à Universidade Federal de Viçosa, pela parceria que tornaram esse projeto possível.

À minha coorientadora professora Dra. Clarice Aparecida Megguer, pela amizade, paciência, orientação, companheirismo e pela serenidade nos momentos difíceis.

Ao meu coorientador professor Dr. Adriano Jakelaitis, pelas valiosas sugestões empregadas nesse projeto.

À Vanilda, secretária do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, pela dedicação, competência e profissionalismo que sempre empenha em seu trabalho.

Ao professor Sebastião Vasconcelos e a estagiária Camila, pelo auxílio em diversas análises realizadas no laboratório.

À família Ecofisiologia, Priscila, Viviane, Vanessa, Hélio, Gabriela, Luciana, Yasmim, Jonatas, Adinan, pelos agradáveis momentos que passamos juntos, pela disponibilidade e dedicação nas análises realizadas, são momentos que deixaram saudades.

Às minhas irmãs de coração Fátima, Fábiana, Sueisla e Laiara, pela amizade, lealdade, convivência, amparo em todos os momentos, principalmente nos difíceis, ajudando a superar obstáculos.

Ao amigo Gilberto, pela disposição em ajudar em todos os momentos necessários.

A todos os colegas e amigos de Pós-Graduação principalmente Aildo, Patrícia Epifanio, Tiago, Mariluz, Wainer, José Fausto, José Flávio e Paulo Dornelles, pela amizade e companheirismo e pelo compartilhamento de conhecimentos.

À D. Iraci, pela humildade, por deixar o laboratório agradável e limpo tornando o trabalho mais agradável.

“Até aqui me ajudou o Senhor”

## BIOGRAFIA DA AUTORA

KAREN DE SOUZA SANTOS PROTO, filha de José Vieira dos Santos (*in memoriam*) e Hilda de Souza Santos, nasceu no dia 01 de maio de 1982, na cidade de Itumbiara, Goiás.

Em março de 2000, ingressou no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Universidade de Rio Verde (FESURV), graduando - se em dezembro de 2003.

Em agosto de 2010, iniciou no curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, no Instituto Federal Goiano – *Campus* de Rio Verde, sob a orientação do professor Dr. Alan Carlos Costa.



## ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS .....	x
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	xiv
RESUMO .....	xv
ABSTRACT .....	1
1. INTRODUÇÃO.....	2
2.1. <i>Condições experimentais e obtenção do material vegetal</i> .....	5
2.2. <i>Tratamentos</i> .....	5
2.3. <i>Avaliações</i> .....	6
2.3.1. <i>Detalhamento das avaliações</i> .....	6
a) Avaliação das trocas gasosas.....	6
b) Avaliação da fluorescência da clorofila <i>a</i> .....	7
c) Avaliação do conteúdo de pigmentos cloroplastídicos e da permeabilidade de membranas .....	7
d) Avaliação da concentração de açúcares totais .....	8
2.3.2. <i>Desenho experimental e análises estatísticas</i> .....	9
3. RESULTADOS .....	9
3.1. <i>Trocas Gasosas</i> .....	9
3.2. <i>Fluorescência da Clorofila a</i> .....	16
3.3. <i>Conteúdo de pigmentos cloroplastídicos e taxa de liberação de         eletrólitos</i> .....	25
3.4. <i>Açúcares</i> .....	33
3.5 <i>Sintomas visuais dos danos</i> .....	34
4 – DISCUSSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Taxa fotossintética ( $A$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada no 1º dia e modelo quadrático no 5º, 7º e 10º dias. Os dados são médias de $n = 5$ . Significância: $**p < 0,01$ .....	10
Figura 2 - Taxa fotossintética ( $A$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado em todos os dias pelo modelo quadrático. Os dados são médias de $n = 5$ . Significância: $**p < 0,01$ . ....	11
Figura 3 - Taxa transpiratória ( $E$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada no 1º dia e modelo linear no 5º, 7º e 10º dias. Os dados são médias de $n = 5$ . Significância: $**p < 0,01$ .....	12
Figura 4 - Taxa transpiratória ( $E$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. ....	13
Figura 5 - Condutância estomática ( $g_s$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo linear no 1º dia e 10º dias, modelo raiz quadrada no 5º dia e modelo quadrático no 7º dia. Os dados são médias de $n = 5$ . Significância: $**p < 0,01$ .....	14
Figura 6 - Condutância estomática ( $g_s$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático. Os dados são médias de $n = 5$ . Significância: $**p < 0,01$ .....	14
Figura 7 - Relação entre a concentração interna e externa de $CO_2$ ( $C_i/C_a$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato.....	15
Figura 8 - Relação entre a concentração interna e externa de $CO_2$ ( $C_i/C_a$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes dias após aplicação do herbicida glifosato.....	15
Figura 9 - Rendimento quântico máximo do FS II ( $F_v/F_m$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático em B, modelo linear em C e D. Os dados são médias de $n = 5$ . Significância: $*p < 0,05$ ; $**p < 0,01$ . ....	17
Figura 10 - Rendimento quântico máximo do FS II ( $F_v/F_m$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático em (B e D). Os dados são médias de $n = 5$ . Significância: $**p < 0,01$ .....	18
Figura 11 - Rendimento quântico efetivo do FS II ( $F_v/F_m$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada em B e C, modelo quadrático em D. Os dados são médias de $n = 5$ . Significância: $*p < 0,05$ ; $**p < 0,01$ . ....	19
Figura 12 - Taxa de transporte de elétrons (ETR) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático em A, modelo linear em B e D; e modelo raiz quadrada em C. Os dados são médias de $n = 5$ . Significância: $**p < 0,01$ . ....	20
Figura 13 - Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado	

pelelo modelo quadrático em A e C. Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01.....	21
Figura 14 - Rendimento quântico efetivo do FS II ( $\Delta F/F_m'$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático em B e C. Os dados são médias de n = 5. Significância: *p<0,05; **p<0,01.....	22
Figura 15 - Taxa de transporte de elétrons (ETR) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada em A, modelo quadrático em B e C. Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01.....	23
Figura 16 - Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo linear em A e modelo quadrático em D. Os dados são médias de n = 5. Significância: *p<0,05; **p<0,01.....	24
Figura 17 - Clorofila <i>a</i> (Cla) (A), clorofila <i>b</i> (Clb) (B) e carotenoides (C) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático (A e C) e linear (B). Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01.....	26
Figura 18 - Clorofila total (A), razão entre clorofila <i>a</i> e clorofila <i>b</i> (Cla/Clb) (B) e razão entre carotenoides e clorofila (Car/Cl) (C) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático (A). Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01.....	27
Figura 19 - Índice de feofitinação (IF) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. Os dados são médias de n = 5.....	28
Figura 20 - Clorofila <i>a</i> (Cla) (A), clorofila <i>b</i> (Clb) (B) e carotenoides (C) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada (C). Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01.....	29
Figura 21 - Clorofila total (A), razão entre clorofila <i>a</i> e clorofila <i>b</i> (Cla/Clb) (B) e razão entre carotenoides e clorofila (Car/Cl) (C) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada (C). Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01.....	30
Figura 22 - Índice de feofitinação (IF) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. Os dados são médias de n = 5.....	31
Figura 23 - Taxa de extravazamento de eletrólitos (TLE,%) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada. Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01....	31
Figura 24 - Taxa de extravazamento de eletrólitos (TLE,%) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo linear. Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01.....	32
Figura 25 - Açúcares totais (AST,%) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático. Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01.....	33
Figura 26 - Açúcares totais (AST,%) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo linear. Os dados são médias de n = 5. Significância: **p<0,01.....	34
Figura 27 - Folhas jovens de guapeva 10 DAA do herbicida.....	35
Figura 28 - Folhas maduras de guapeva aos 5 e 10 DAA nas diferentes concentrações do herbicida.....	36
Figura 29 - Plantas de guapeva 10 DAA do herbicida.....	37

Figura 30 - Folíolos de baru aos 7 e 26 DAA nas diferentes concentrações do herbicida. .....	38
Figura 31 - Folíolos jovens de baru 22 DAA do herbicida. ....	39
Figura 32 - Plantas de baru 26 DAA do herbicida nas diferentes concentrações.....	40

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01 - Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Dose x tempo) nas características da taxa fotossintética ( $A$ ), taxa transpiratória ( $E$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), relação entre concentração interna e externa de $CO_2$ ( $C_i/C_a$ ) de plantas de guapeva.....	09
Tabela 02 - Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Dose x tempo) nas características da s taxa fotossintética ( $A$ ), taxa transpiratória ( $E$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), relação entre concentração interna e externa de $CO_2$ ( $C_i/C_a$ ) de plantas de baru.....	10
Tabela 03 - Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Dose x tempo) para o rendimento quântico máximo do FS II ( $F_v/F_m$ ), Rendimento quântico efetivo ( $\Delta F/F_m'$ ), Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR), Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) de plantas de guapeva.....	16
Tabela 04 - Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Dose x tempo) para o rendimento quântico máximo do FS II ( $F_v/F_m$ ), Rendimento quântico efetivo ( $\Delta F/F_m'$ ), Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR), Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) de plantas de baru.....	16
Tabela 05 - Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose) para clorofila $a$ ( $Cl_a$ ), Clorofila $b$ ( $Cl_b$ ), Carotenoides ( $Car$ ), Clorofila total ( $Cl_t$ ) razão clorofila $a$ /clorofila $b$ ( $Cl_a/Cl_b$ ), razão carotenoides/clorofila ( $car/cl$ ), índice de feofitinação (IF) e taxa de extravasamento de eletrólitos (TLE%) para plantas de guapeva.....	25
Tabela 06 – Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose) para clorofila $a$ ( $Cl_a$ ), Clorofila $b$ ( $Cl_b$ ), Carotenoides ( $Car$ ), Clorofila total ( $Cl_t$ ) razão clorofila $a$ / clorofila $b$ ( $Cl_a / Cl_b$ ), razão carotenóides / clorofila ( $car/cl$ ), índice de feofitinação (IF) e taxa de extravasamento de eletrólitos (TLE %) para plantas de baru.....	25
Tabela 07 - Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose) para açúcares totais (AST%) em plantas de guapeva e baru.....	33

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

$\Delta F/F_m'$	Rendimento quântico efetivo
$A$	Taxa fotossintética ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
ABA	Ácido Abscísico
$\text{CaCO}_3$	Carbonato de cálcio
$Cl_a$	Clorofila <i>a</i> ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
$Cl_b$	Clorofila <i>b</i> ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
$Cl_t$	Clorofilas totais ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
DAA	Dias após a aplicação
DAG	Dias após a germinação
DFF	Densidade de fluxo de fótons
DMSO	Dimetilsulfóxido
$E$	Taxa transpiratória ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
EPSPs	5- enolpiruvulchiquimato 3-fosfato sintase
ETR	Taxa relativa de transporte de elétrons ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
$F_o$	Fluorescência mínima
FS I	Fotossistema I
FS II	Fotossistema II
$F_m$	Fluorescência máxima
$F_v$	Fluorescência variável
$F_v/F_m$	Rendimento quântico máximo do fotossistema II
$g$	grama
$g_s$	Condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
ha	hectare
e. a.	ingrediente ativo
IF	Índice de feofitinação
NPQ	Coefficiente de extinção não fotoquímica

## RESUMO

PROTO, S.S. Karen, M.Sc., Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, julho de 2012. **Efeitos do glifosato nas características morfo-fisiológicas de duas espécies nativas do Cerrado.** Orientador: Dr. Alan Carlos Costa. Coorientadores: Dra. Clarice Aparecida Megguer e Dr. Adriano Jakelaitis.

As avaliações fisiológicas são importantes ferramentas no processo de seleção de plantas com capacidade de bioindicar poluição das áreas de remanescentes do Cerrado, ocasionada por herbicidas. Objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito morfo-fisiológico do glifosato sobre plantas de baru (*Dipterix alata* Vog.) e guapeva (*Pouteria torta* (Mart.) Radlk), sobretudo nas características de trocas gasosas e fluorescência da clorofila. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso com cinco repetições e oito doses do equivalente ácido do sal de isopropilamina, nas concentrações de 0, 25, 50, 100, 200, 400, 800 e 1200 g e.a ha<sup>-1</sup>. Aos 1, 5, 7 e 10 D.A.A, para plantas de guapeva e, aos 1, 6, 12 e 26 D.A.A, para plantas de baru, foram avaliadas as trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, conteúdo de pigmentos cloroplastídicos, taxa de extravasamento de eletrólitos, açúcares e sintomas visuais de danos nas plantas. Mediante os resultados obtidos, observou-se que plantas de guapeva são mais sensíveis às doses de glifosato, quando comparadas às plantas de baru. A avaliação da condutância estomática demonstrou ser um bioindicador sensível da toxicidade provocada pelo herbicida em ambas às espécies, sendo essa característica a principal associada à desestabilização das características de trocas gasosas nesse estudo. A toxicidade causada pelo herbicida também promoveu aumento na taxa de liberação de eletrólitos e a diminuição na razão  $F_v/F_m$ ,  $\Delta F/F_m'$ , ETR, com comportamento de NPQ distinto para cada espécie estudada.

Palavras-chave: *Dipterix alata* Vog, *Pouteria torta* (Mart.) Radlk, trocas gasosas, fluorescência, bioindicação.

## ABSTRACT

PROTO, S.S. Karen, M.Sc., Goiano Federal Institute – Campus Rio Verde – GO, July 2012. Effects of glyphosate on morpho-physiological characteristics of two natural cerrado species . Advisor: DSc Alan Carlos Costa. Co-advisors: DSc Clarice Aparecida Megguer and DSc Adriano Jakelaitis.

The physiological assessments are important tools in the process of selecting plants with capacity to bioindicate pollution in remaining areas of the Cerrado, caused by herbicides. The objective of this study was to evaluate the morphological and physiological effect of glyphosate on baru (*Dipterix alata* Vog.) and guapeva (*Pouteria pie* (Mart.) Radlk) plants, especially in the characteristics of gas exchange and chlorophyll fluorescence. The experimental design was in randomized blocks with five replicates and eight doses of acid equivalent of the isopropylamine salt in the following concentrations 0, 25, 50, 100, 200, 400, 800 and 1200 g e.a ha<sup>-1</sup>. At 1, 5, 7 and 10 DAA for guapeva plants and at 1, 6, 12 and 26 DAA for plants were evaluated the gas exchange, a chlorophyll fluorescence, content of chloroplastid pigment, electrolytes leakage rate , sugars and visual symptoms of plant damage. From the results obtained it was observed that guapeva plants are more sensitive to glyphosate concentrations when compared to baru plants . The evaluation of stomatal conductance proved to be a sensitive biomarker of toxicity caused by the herbicide in both species, being this the main feature associated with the destabilization of gas exchange traits in this study. The toxicity caused by the herbicide also increased the electrolytes release rate of and a decrease in Fv/Fm,  $\Delta F/Fm'$ , ETR with NPQ behavior distinct for each species studied.

Keywords: *Dipterix alata* Vog, *Pouteria torta* (Mart.) Radlk, gas exchange, fluorescence, bioindicate



## 1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é considerado o segundo maior bioma do Brasil e da América do Sul, com mais de dois milhões de km<sup>2</sup> (SILVA, 2010), contudo, o processo de ocupação desse bioma tem causado grandes alterações na vegetação. Calcula-se que até o ano de 2010, 48,54% da área original do Cerrado foi desmatada (MMA/IBAMA, 2011). O desmatamento dessas áreas teve como finalidade abrir novas áreas para produção agropecuária, que normalmente vem acompanhado do uso de defensivos agrícolas, como herbicidas.

O herbicida glifosato, pertencente à classe dos derivados do aminoácido glicina (CATANEO et al., 2003), é um dos mais utilizados no Mundo, sendo comercializado em mais de 130 países e aprovado para o controle de 300 espécies de plantas daninhas (VELINI et al., 2009). Esse herbicida, caracteriza-se por ser sistêmico, pós-emergente e de amplo espectro devido a sua não seletividade (ORTIZ et al., 2010; ZHAO et al., 2011).

O glifosato interfere na via metabólica do 5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase (EPSPs) (VELINI et. al., 2008; OLESEN & CEDERGREEN, 2010; ZOBIOLE et. al., 2011), impedindo assim, a biossíntese dos aminoácidos aromáticos triptofano, fenilalanina e tirosina. Estes aminoácidos são responsáveis pela síntese de metabólitos secundários (compostos fenólicos e nitrogenados) que são essenciais aos processos de defesa, reprodução, proteção contra radiação ultravioleta e suporte mecânico. Além de interferir no crescimento e desenvolvimento mediado pelo ácido indolacético (AIA), que por sua vez é sintetizado principalmente a partir do triptofano (TAIZ & ZEIGER, 2009).

O glifosato aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (MOLDES, 2011), estimula a produção de etileno, desestabiliza as membranas, inibe a síntese de aminoácidos essenciais e clorofila, além de estimular o fechamento estomático

(YAMADA & CASTRO, 2007). Dessa forma, a limitação estomática pode levar ao declínio da fotossíntese (YAN et al., 2010), por diminuir a interceptação de CO<sub>2</sub> necessário aos processos de trocas gasosas (RODRIGUES, 2011). Portanto, mesmo a fotossíntese não sendo o alvo primário do glifosato, indiretamente ele pode ocasionar diversos danos ao processo (YANNICCARI et al., 2012), afetando assim várias características fisiológicas nas plantas expostas ao herbicida.

Ao aplicar um herbicida, uma porção deste atinge a cultura presente na área ou vegetações próximas, interagindo com as plantas e causando efeitos secundários. (RIZZARDI et al., 2003). Plantas não alvo, como as remanescentes de cerrado podem ser expostas a baixas doses de glifosato provenientes da deriva durante a pulverização de herbicidas em áreas cultivadas (VELINI, et al., 2008). As subdoses desses produtos comprometem o metabolismo do vegetal e desencadeia processos de estresses. A maioria das espécies vegetais reage a mudanças do meio ambiente e pode adotar novos padrões para lidar com os agentes estressores (PAOLETTI & BRESSAN, 1996; PAOLETTI, 1999), as quais podem ser acompanhados por processos de biomonitoração.

A biomonitoração é realizada utilizando organismos ou, grupos de organismos, que mostram respostas nos diferentes níveis de organização, da célula ao ecossistema (TEMMERMAN et al., 2004; FIGUEIREDO et al., 2007). Já os biomarcadores são definidos como alterações biológicas adaptativas a estressores e de natureza bioquímica, fisiológica e histológica de exposição à xenobióticos (JESUS & CARVALHO, 2008).

Os bioindicadores podem ser passivos quando ocorrem em ambiente natural (*in situ*) e utilizados em avaliações comparativas sob fatores de estresse. Enquanto na indicação ativa, os bioindicadores são introduzidos na área de estudo de maneira padronizada por determinados períodos de tempo (FRÄNZLE, 2006).

Bioindicadores podem ser muito úteis pela alta sensibilidade para com amplo espectro de substâncias e também a tolerância aos níveis elevados de substância acumulada em seus tecidos, ao longo de um período de tempo prolongado (FIGUEIREDO et al., 2007). A seleção de plantas nativas com capacidade de bioindicação ativa pode ser importante ferramenta em programas de diagnóstico de impactos e preservação ambiental. Porém, a escassez de estudos com espécies que apresentam potencial bioindicador dos efeitos da poluição ambiental, sobre plantas nativas do Cerrado, dificulta a implantação do processo de biomonitoração. Dessa

forma, maior conhecimento sobre as características fisiológicas destas plantas torna-se necessário, visto que o bioma Cerrado está continuamente sendo antropizado.

Nesse contexto, objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito morfo-fisiológico do glifosato sobre plantas de baru (*Dipterix alata* Vog.) e guapeva (*Pouteria torta* (Mart.) Radlk), sobretudo nas características de trocas gasosas e fluorescência da clorofila.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Condições experimentais e obtenção do material vegetal

Foram conduzidos dois experimentos, com duas espécies de grande ocorrência no Cerrado, sendo um para plantas de baru (*Dipterix alata* Vog.) e outro para plantas de guapeva (*Pouteria torta* (Mart.) Radlk), no período de setembro de 2011 a abril de 2012, em casa de vegetação climatizada do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, pertencente ao Instituto Federal Goiano-Campus Rio Verde, coordenadas  $x = 509987.05 / y = 7031703.64$ . Os frutos de guapeva foram coletados no IFGoiano – Campus Rio Verde a partir de vários indivíduos. Já os frutos de baru foram obtidos de uma área de Cerrado localizado no município de Rio Verde – Goiás. Em seguida, os frutos de baru foram quebrados com o auxílio de uma morsa e as sementes armazenadas, em temperatura ambiente até o plantio. Já os frutos de guapeva foram imediatamente despulpados em peneira e as sementes lavadas e secas em local ventilado e sombreado, e posteriormente semeadas.

Para obtenção das mudas, sementes de ambas as espécies foram colocadas para germinar em bandejas contendo areia. Em seguida, as plantas obtidas foram transplantadas, aos 90 dias para baru e aos 36 dias para guapeva, para vasos de polietileno contendo 3 kg de substrato constituído de uma parte de areia e duas partes de solo do tipo latossolo vermelho distroférico. A adubação do substrato foi realizada previamente, de acordo com a análise química do solo de forma a aumentar a saturação por bases para 60%.

Foi aplicada solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) aos 85, 104 e 127 dias após a germinação (DAG) em plantas de baru e aos 30 e 56 DAG em plantas de guapeva. Esse procedimento foi realizado para prevenir possíveis deficiências nutricionais que pudessem interferir nas respostas dos tratamentos. Todas as plantas foram aclimatadas em casa de vegetação, por um período de 15 dias antes da aplicação dos tratamentos.

### 2.2. Tratamentos

O herbicida glifosato (Roundup Transorb<sup>®</sup>, sal de isopropilamina com 480 g L<sup>-1</sup> do equivalente ácido) foi pulverizado em plantas de baru e guapeva nas doses de 0 (controle), 25, 50, 100, 200, 400, 800 e 1200 g e.a ha<sup>-1</sup>, aos 150 e 95 DAG,

respectivamente, de acordo com as doses utilizadas em plantio convencional de áreas agrícolas. As aplicações das doses do herbicida foram realizadas utilizando um pulverizador costal com pressão constante mantida por CO<sub>2</sub> comprimido, munido de barra com quatro pontas de pulverização. A pressão de serviço utilizada foi de 5 kgf cm<sup>-2</sup>, proporcionando um volume de calda de 180 L ha<sup>-1</sup>.

### **2.3. Avaliações**

As plantas foram avaliadas quanto às trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, pigmentos cloroplastídicos, permeabilidade de membrana, açúcares totais e fitotoxicidade. As avaliações fisiológicas de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* foram realizadas aos 1, 7, 12 e 26 D.A.A para as plantas de baru e aos 1, 5, 7 e 10 D.A.A para as plantas guapeva. Os efeitos fitotóxicos foram verificados pelo registro de imagens fotográficas aos 7, 22 e 26 dias em plantas de baru e aos 5 e 10 dias em plantas de guapeva após a imposição dos tratamentos. Aos 26 D.A.A para plantas de baru e aos 10 D.A.A para plantas de guapeva, foram avaliados o conteúdo de pigmentos cloroplastídicos, extravasamento de eletrólitos e a concentração de açúcares solúveis totais. Os procedimentos para cada uma das características avaliadas estão descritos a seguir.

#### **2.3.1. Detalhamento das avaliações**

##### **a) Avaliação das trocas gasosas**

As trocas gasosas das plantas foram avaliadas para o registro das taxas fotossintética ( $A$ ,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), transpiratória ( $E$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e relação entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub> ( $C_i/C_a$ ). As avaliações foram realizadas utilizando um medidor portátil de fotossíntese modelo LCI (ADC, BioScientific Ltda. Great Amwell, England), acoplado a fonte de luz artificial LCI Light System, incidindo a densidade de fluxo de fótons igual a 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , sempre em folha completamente expandida, localizada na porção mediana da planta. Em cada folha foi utilizada sempre a mesma área para obtenção dos dados de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*.

## **b) Avaliação da fluorescência da clorofila *a***

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada utilizando um fluorômetro portátil modulado, modelo MINI-PAM (Walz, Effeltrich, Germany), equipado com pinça especial para suporte da folha, modelo 2030-B (BILGER et al., 1995; RASCHER et al., 2000). Foi determinada a fluorescência inicial ( $F_0$ ), fluorescência máxima ( $F_m$ ), rendimento quântico potencial ( $F_v/F_m = \text{Fluorescência variável}/\text{Fluorescência máxima}$ ), rendimento quântico efetivo ( $\Delta F/F_m'$ ), dissipação não fotoquímica (NPQ) e taxa de transporte de elétrons (ETR). O rendimento quântico potencial do fotossistema II (VAN KOOTEN & SNEL, 1990) foi calculado após 30 minutos de adaptação ao escuro utilizando a equação  $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$ ; em que  $F_0$  é o rendimento da fluorescência mínima, excitado pela luz vermelha modulada de baixa intensidade ( $0,03 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), e  $F_m$  é a fluorescência máxima obtida pela aplicação de um pulso de 0,8s de luz actínica saturante ( $>6000 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). O rendimento quântico efetivo do fotossistema II (GENTY et al., 1989) foi determinado por meio da sobreposição do pulso de saturação em folhas previamente adaptadas à luz ambiente, sendo calculado como  $\Delta F/F_m' = (F_m' - F) / F_m'$ ; em que  $F$  é o rendimento da fluorescência máxima durante o pulso de saturação. O  $\Delta F/F_m'$  foi utilizado para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) de acordo com Bilger et al., (1995), mediante o uso da equação  $\text{ETR} = \Delta F/F_m' \times \text{DFF} \times 0,5 \times 0,84$ , em que DFF é a densidade de fluxo de fótons ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) incidente sobre a folha; 0,5 é o valor correspondente à fração da energia de excitação distribuída para o FSII (LAISK & LORETO, 1996) e 0,84 é o valor correspondente à fração de luz incidente que é absorvida pelas folhas (EHLEINGER, 1981). O coeficiente de extinção não fotoquímica de Stern-Volmer foi calculado como  $\text{NPQ} = (F_m - F_m') / F_m'$  (BILGER & BJORKMAN, 1990).

## **c) Avaliação do conteúdo de pigmentos cloroplastídicos e da permeabilidade de membranas**

O conteúdo de pigmentos cloroplastídicos foi determinado por meio da extração com dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), mediante ajustes da metodologia descrita por Kuki et al., (2005). Três discos foliares com 5 mm de diâmetro foram incubados em DMSO, em tubos vedados e envolvidos com papel alumínio pelo período de 24 horas sob temperatura de  $65^\circ\text{C}$ . Posteriormente, a absorbância do extrato foi determinada utilizando o espectrofotômetro modelo UV –

VIS, modelo Evolutin 60 S (Thermo Fischer Scientific, Madison – USA). Os comprimentos de ondas e as equações para o cálculo das concentrações de clorofila *a*, *b* e carotenoides foram baseados no trabalho de Wellburn (1997) e a degradação da clorofila foi avaliada pelo índice de feofitinação (IF=  $A_{435}/A_{415}$ ), segundo Ronen e Galun (1984).

A permeabilidade de membranas foi avaliada pela taxa de liberação de eletrólitos determinada em 15 discos foliares de 0,2 cm<sup>2</sup> por repetição, imersos em 30 mL de água deionizada em frascos de vidro, deixados em repouso por 24 horas. Após esse período, mediu-se a condutividade elétrica livre e a condutividade total, segundo a metodologia descrita por Vasquez-Tello et al., (1990) e Pimentel et al., (2002).

#### **d) Avaliação da concentração de açúcares totais**

Para a quantificação de açúcares solúveis totais (AST) foi empregada à técnica utilizando fenol sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). Amostras vegetais das plantas pesando 1,0 g foram coletadas e transferidas para vidros. Em seguida, as amostras foram totalmente cobertas com etanol 80%, previamente aquecido até a temperatura de 65-70°C. Após 30 minutos em temperatura ambiente, os frascos foram transferidos para geladeira, permanecendo até o momento das análises. A extração dos açúcares foi realizada por meio da maceração das amostras em etanol 80%, seguido de três filtragens sucessivas. O filtrado obtido foi completado com etanol 80%. As leituras foram realizadas por meio da absorbância a 490 nm em espectrofotômetro UV – VIS modelo Evolution 60S (Thermo Fischer Scientific, Madison – USA). O conteúdo de açúcares solúveis foi expresso em % AST utilizando a seguinte equação  $\% \text{ AST} = ((L \times n \times v) / (MF \times MS)) \times 100$ , em que:

% - AST = porcentagem de açúcares solúveis com na base MS da amostra;

L = concentração da amostra obtida pela leitura do espectrofotômetro (g mL<sup>-1</sup>);

n = número de diluições, caso existir (no caso, 1000 vezes);

v = volume final do extrato bruto (2 ou 10 mL);

MF = massa fresca obtida inicialmente pela amostra composta (0,2 ou 1g);

MS = massa seca obtida anteriormente (não determinada).

### 2.3.2. Desenho experimental e análises estatísticas

Os experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos ao acaso 8 x 4, sendo oito doses do tratamentos para o herbicida glifosato e quatro tempos de avaliação, com cinco repetições em cada tratamento, totalizando 160 unidades experimentais, para as características das trocas gasosas e fluorescência da clorofila. As demais características foram avaliadas ao final do período experimental, avaliando apenas o efeito das doses do herbicida, totalizando 40 unidades experimentais.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando pertinente, ajustados os modelos de regressão. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software Sistema de Análises Estatísticas Gerais (SAEG 9.0 – Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa).

## 3. RESULTADOS

### 3.1. Trocas Gasosas

Mediante a Análise de Variância, constatou-se que o efeito do herbicida na  $A$ ,  $E$  e  $g_s$ , de plantas de guapeva foi dependente do tempo em dias após a aplicação do herbicida (Tabela 1). Já na razão  $C_i/C_a$ , foi observado efeito independente das doses do herbicida e do tempo após a aplicação (Tabela 1).

Em plantas de baru, observou-se comportamento diferente em relação às plantas de guapeva. Nestas plantas o efeito isolado das doses de glifosato foi observado apenas na  $E$  (Tabela 2). Nas  $g_s$ , também foi observado efeito das doses do herbicida, mas em interação com o tempo decorrido após a aplicação. Já a  $A$  e a razão  $C_i/C_a$  destas plantas variou apenas em função do tempo de aplicação e não em função das doses do herbicida (Tabela 2).

**Tabela 01.** Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Dose x tempo) nas características da taxa fotossintética ( $A$ ), taxa transpiratória ( $E$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), relação entre concentração interna e externa de  $CO_2$  ( $C_i/C_a$ ) de plantas de guapeva

Fonte de variação	$A$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$E$ ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$g_s$ ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$C_i/C_a$
Dose	**	**	**	**
Dias	**	**	**	**
Dose x Dias	**	**	**	ns



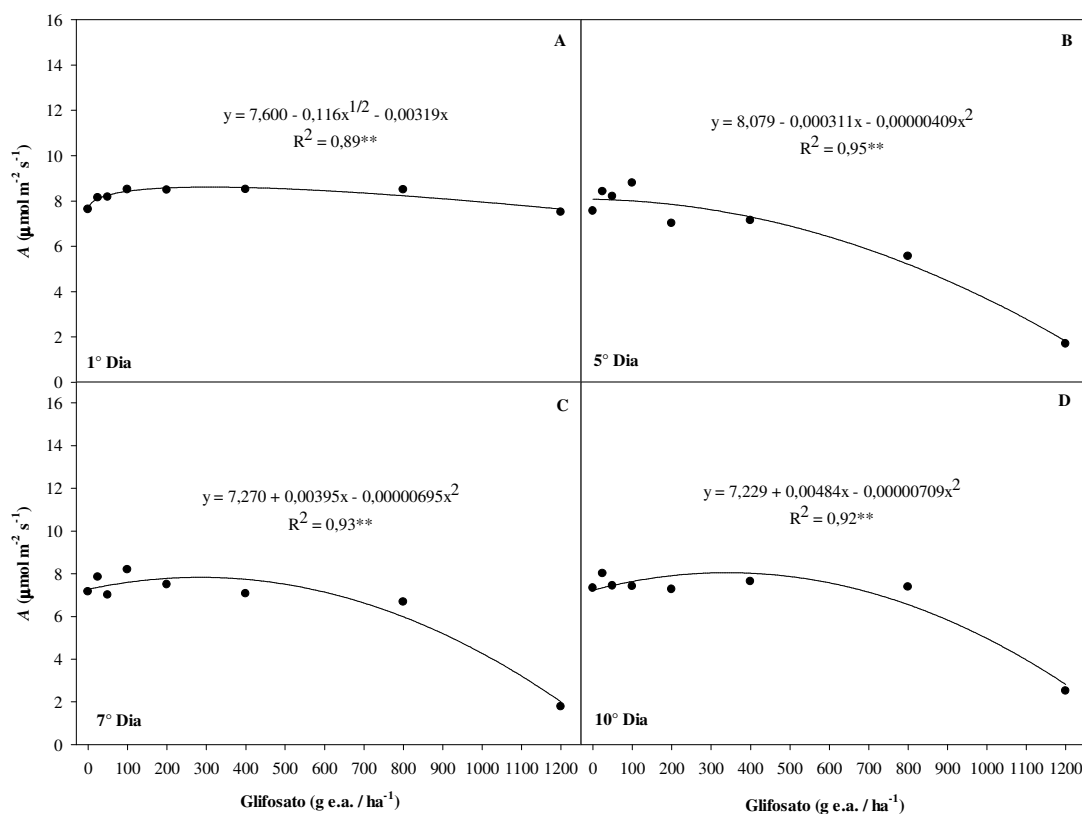
Significância da ANOVA \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , ns = não significativo

**Tabela 02.** Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Dose x tempo) nas características da taxa fotossintética ( $A$ ), taxa transpiratória ( $E$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), relação entre concentração interna e externa de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) de plantas de baru

Fonte de variação	$A$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$E$ ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$g_s$ ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$C_i/C_a$
Dose	Ns	**	**	ns
Dias	**	**	**	**
Dose x Dias	Ns	Ns	*	ns

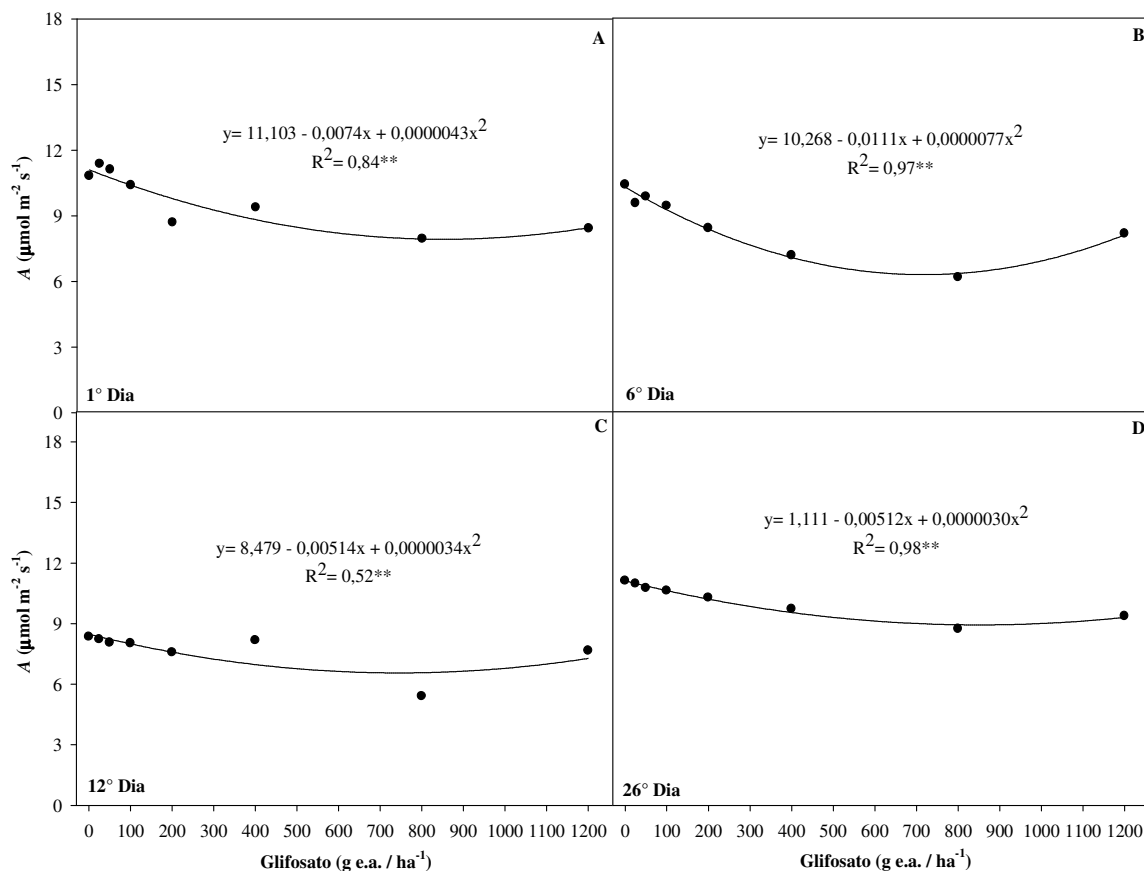
Significância da ANOVA \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , ns = não significativo

Observou-se a diminuição da taxa fotossintética ( $A$ ) em plantas de guapeva em função do aumento das doses de glifosato, sendo este efeito intensificado em doses superiores a  $400 \text{ g e.a. ha}^{-1}$  em função do tempo (Fig. 1A-D). Essas alterações se mantiveram em torno de 73%, apesar de decorridos 10 DAA (Fig. 1D). Verificaram respostas semelhantes nas plantas de baru, porém com diminuição média de 17% na  $A$  para a maior dose aplicada, em relação ao controle, durante todo período de avaliação (Fig. 2 A-D).



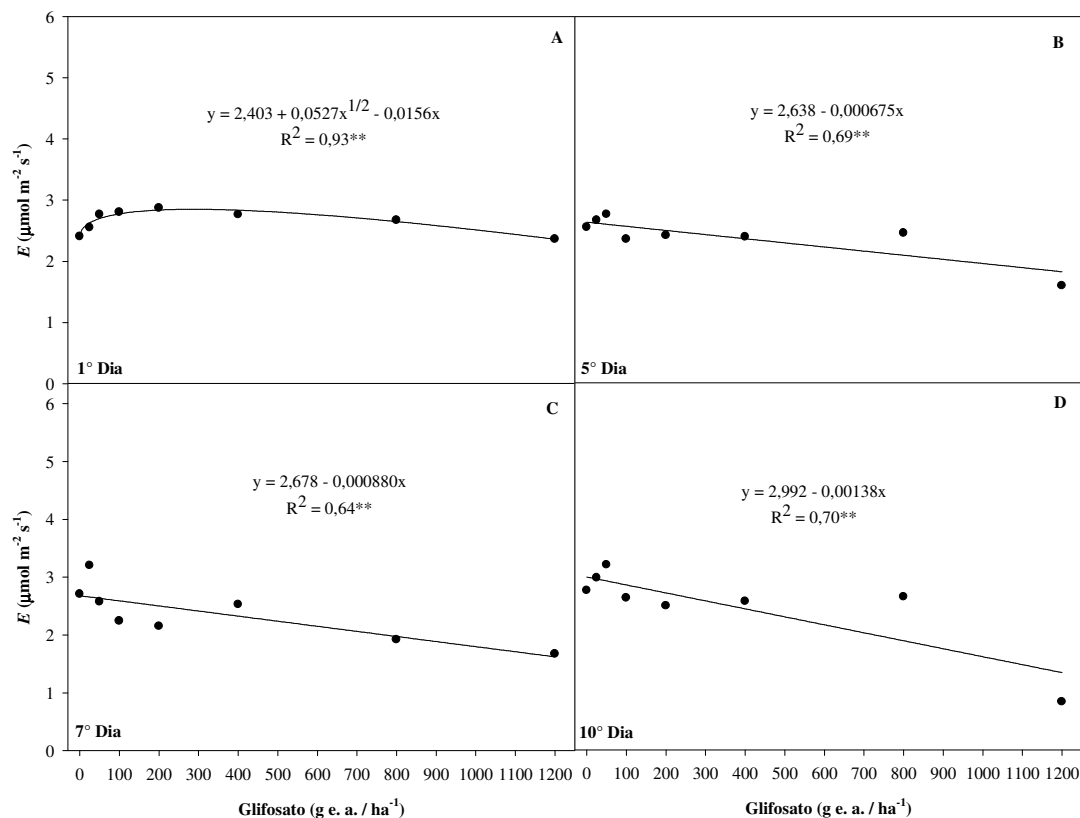
**Figura 1** - Taxa fotossintética ( $A$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz

quadrada (A) e modelo quadrático (B, C e D). Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

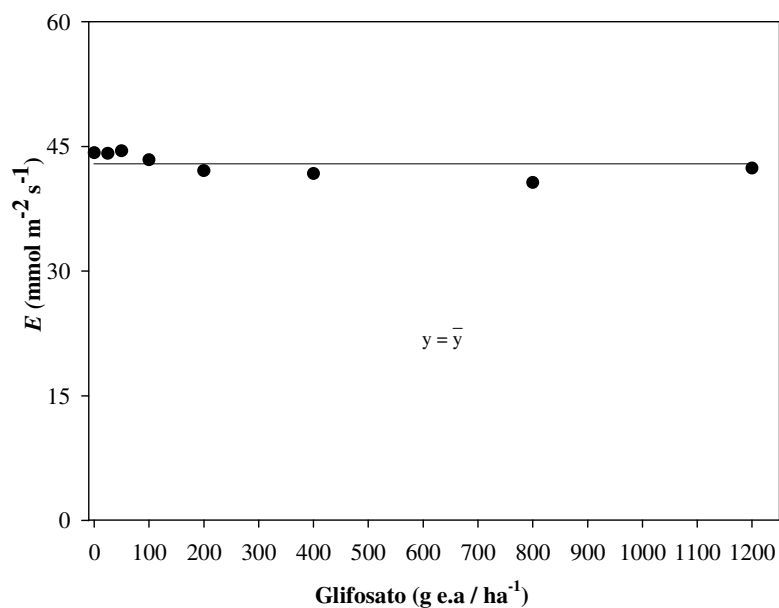


**Figura 2** - Taxa fotossintética (A) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático (A, B, C e D). Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

Semelhante a A, a E das plantas de guapeva diminuiu com o incremento das doses do herbicida em todos os dias avaliados (Fig. 3A-D). Essa diminuição foi mais proeminente no 10° DAA para a maior dose aplicada (Fig. 3D). Já nas plantas de baru (Fig. 4) a E não foi afetada nas diferentes concentrações do herbicida.



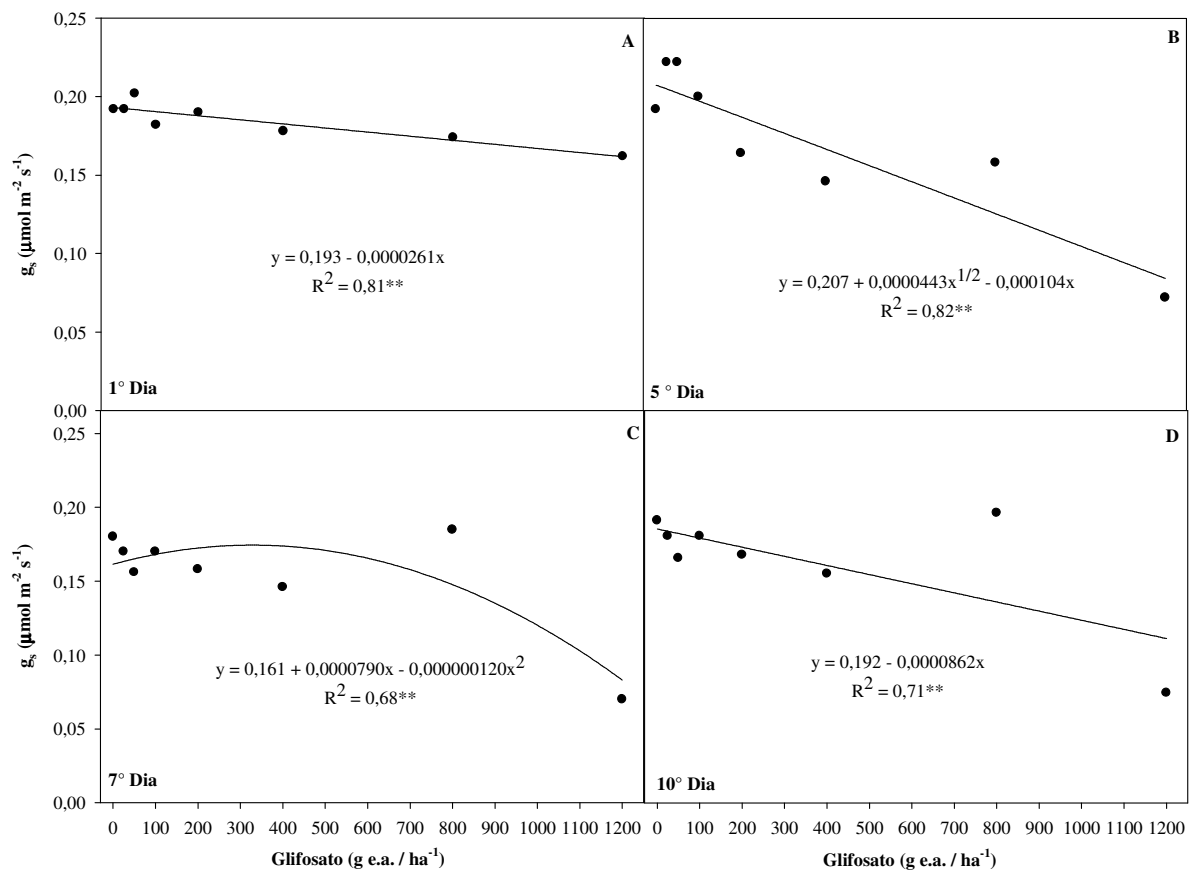
**Figura 3** - Taxa transpiratória ( $E$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada (A) e, modelo linear (B, C e D). Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .



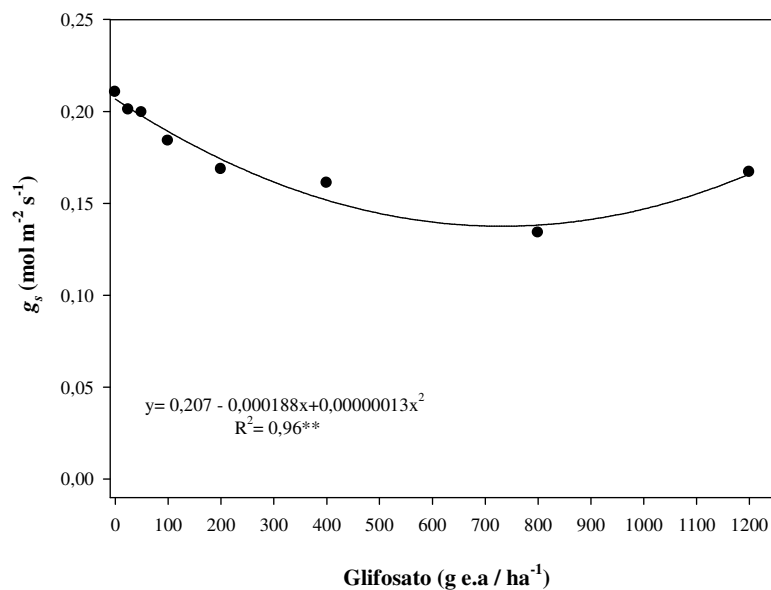
**Figura 4** - Taxa transpiratória ( $E$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato, nos diferentes dias avaliados. Os dados são médias de  $n = 20$ .

Seguindo a mesma tendência dos resultados de  $E$  e  $A$ , em plantas de guapeva, a  $g_s$  também diminuiu com o incremento das doses de glifosato (Fig. 5A-D). Essa alteração foi mais proeminente a partir do 5º DAA, em que se observou diminuição média de 60% nas maiores concentrações aplicadas em relação ao controle (Fig.5B-D). De maneira semelhante, uma diminuição da  $g_s$ , de até 36%, foi verificada durante o todo período experimental nas maiores doses em relação ao controle, para plantas de baru (Fig.6).

Para a relação entre a concentração interna e externa de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) não houve diferenças significativas para ambas às espécies (Fig. 7 e 8).

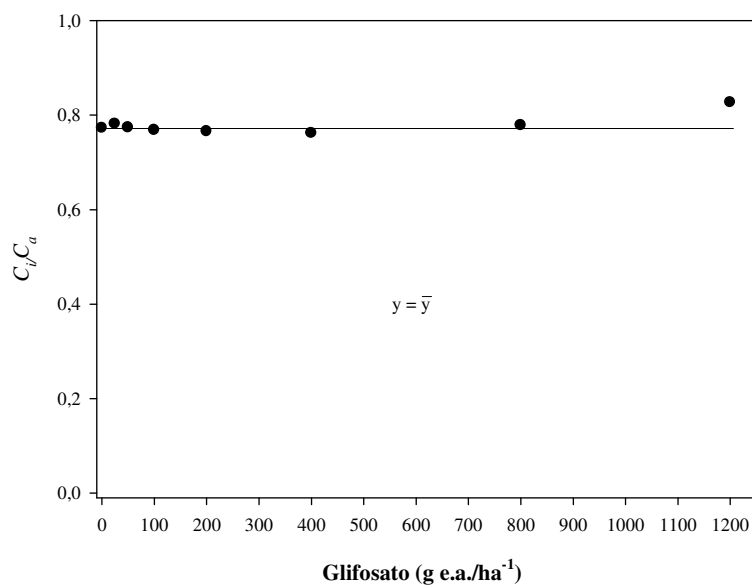


**Figura 5** - Condutância estomática ( $g_s$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo linear (A e D), modelo raiz quadrada (B) e modelo quadrático (C). Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

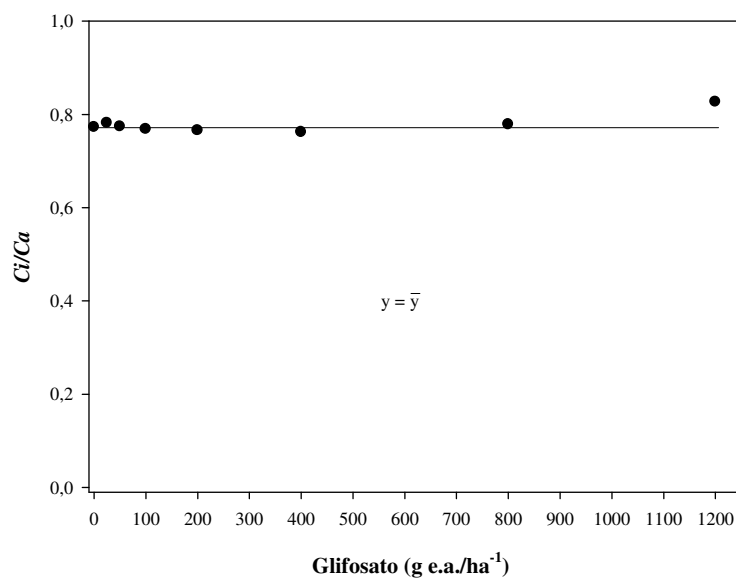


**Figura 6** - Condutância estomática ( $g_s$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato nos dias avaliados. O efeito do herbicida é

explicado pelo modelo quadrático. Os dados são médias de  $n = 20$ . Significância:  $**p < 0,01$ .



**Figura 7** - Relação entre a concentração interna e externa de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato, nos dias avaliados. Os dados são médias de  $n = 20$ .



**Figura 8** - Relação entre a concentração interna e externa de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato, nos dias avaliados. Os dados são médios de  $n = 20$ .

### 3.2. Fluorescência da Clorofila a

Mediante a Análise de Variância, constatou-se efeito do herbicida significativo na Fv/Fm,  $\Delta F/Fm'$ , ETR e NPQ de plantas de guapeva. Foi observado efeito das doses do herbicida glifosato, do tempo em dias após aplicação, e da interação entre as variáveis em todas as características avaliadas (Tabela 3).

Em plantas de baru, observou-se comportamento diferente em relação às plantas de guapeva. Nestas plantas foi observado o efeito das doses de glifosato e de tempo em dias após aplicação apenas na  $\Delta F/Fm'$  (Tabela 4). Na ETR, também foi observado efeito das doses do herbicida, mas em interação com o tempo decorrido após a aplicação. Já a Fv/Fm e NPQ destas plantas variou apenas em função do tempo de aplicação e não em função das doses do herbicida (Tabela 4).

**Tabela 03.** Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Dose x tempo) para o rendimento quântico máximo do FS II (Fv/Fm), Rendimento quântico efetivo ( $\Delta F/Fm'$ ), Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR), Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) de plantas de guapeva.

Fonte de variação	Fv/Fm	$\Delta F/Fm'$	ETR ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	NPQ
Dose	**	**	**	**
Dias	**	**	**	**
Dose x Dias	**	**	**	**

Significância da ANOVA \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , ns = não significativo

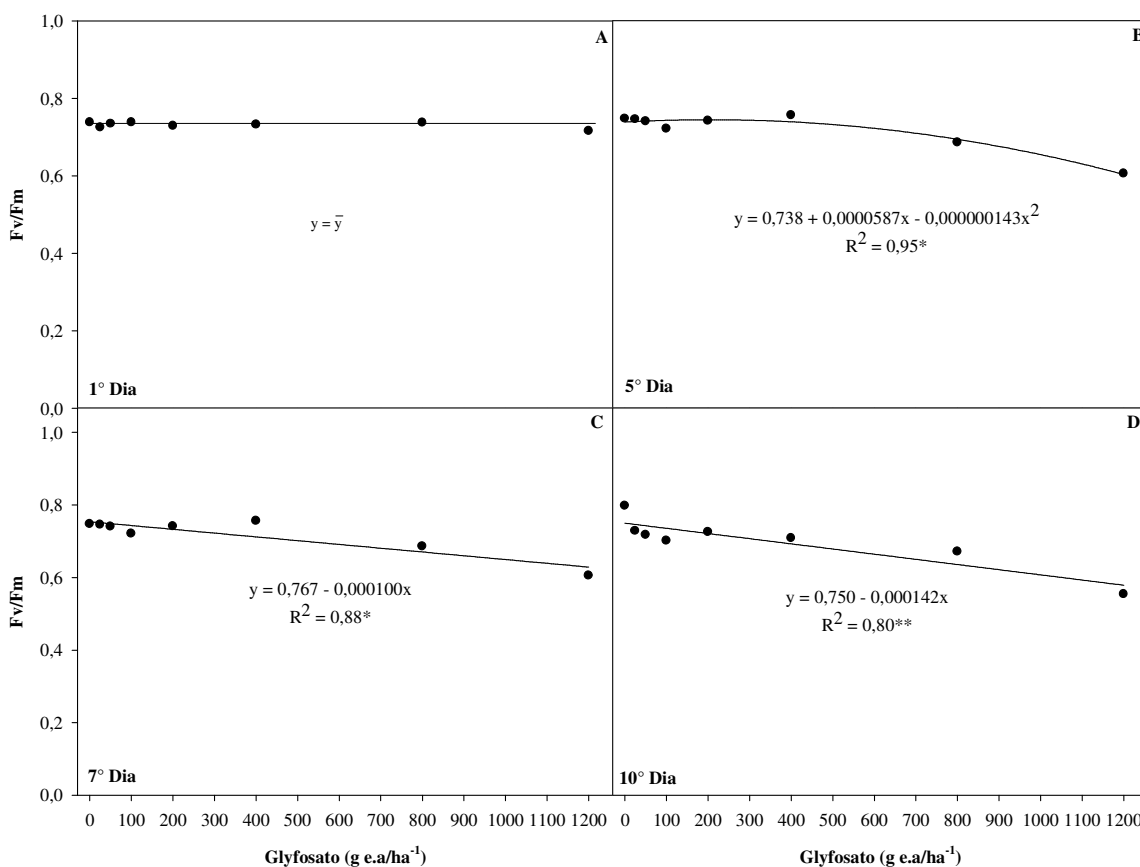
**Tabela 04.** Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose), do tempo após a aplicação (Dias) e da interação entre estes dois fatores (Dose x tempo) para o rendimento quântico máximo do FS II (Fv/Fm), Rendimento quântico efetivo ( $\Delta F/Fm'$ ), Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR), Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) de plantas de baru.

Tratamentos	Fv/Fm	$\Delta F/Fm'$	ETR ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	NPQ
Dose	ns	**	**	ns
Dias	**	**	**	**
Dose x Dias	ns	Ns	*	ns

Significância da ANOVA \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , ns = não significativo

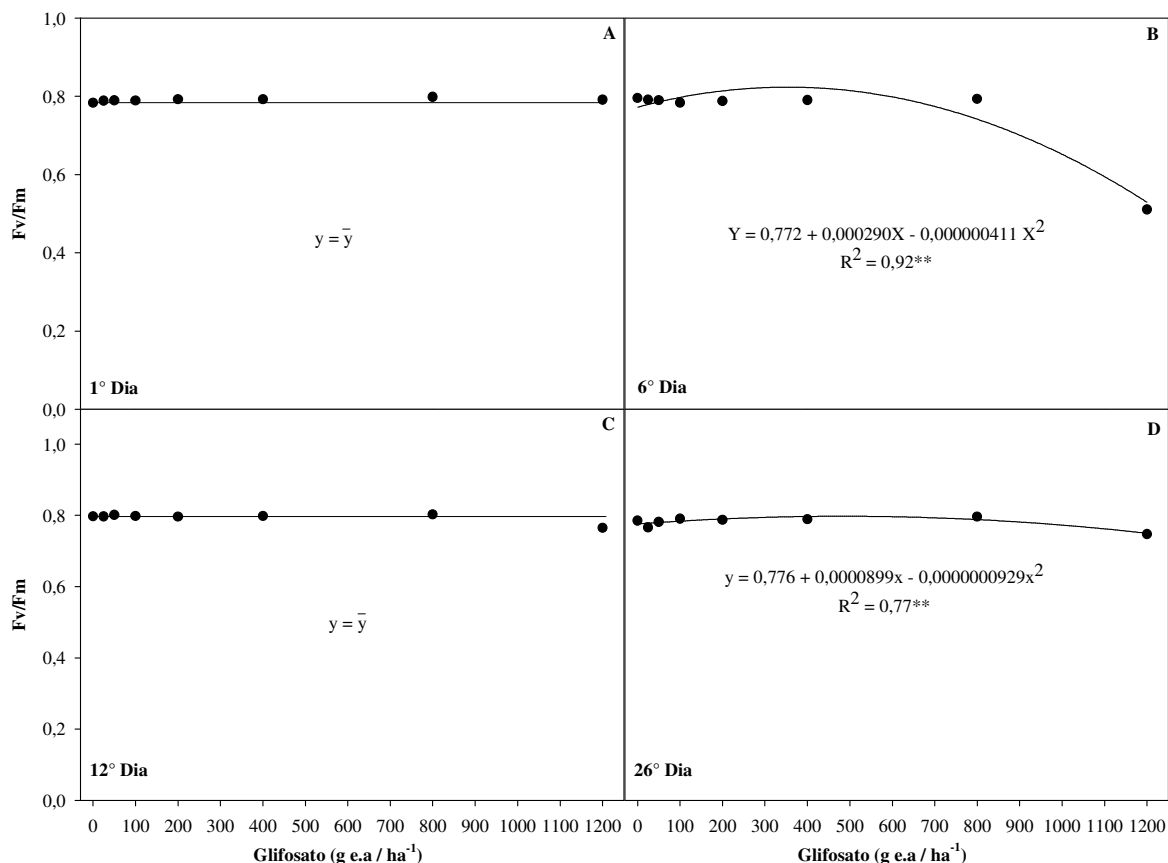
O efeito das doses de glifosato nas características de fluorescência da clorofila *a* foram semelhantes para as plantas de guapeva e baru, contudo estes efeitos foram mais pronunciados em plantas de guapeva.

O glifosato promoveu a diminuição na razão Fv/Fm em função do aumento das doses, em plantas de guapeva. Esse efeito foi intensificado em concentrações superiores a 400 g e. a. ha<sup>-1</sup>, em função do tempo (Fig. 9B-D). No 10° DAA a redução de 31% foi observada em relação ao controle (Fig. 9D). Em plantas de baru, verificou-se a redução de 35% no 6° DAA para plantas submetidas a dose maior em relação ao controle. No entanto, em avaliações posteriores observaram valores de Fv/Fm semelhantes para plantas tratadas com o herbicida e as plantas controle.



**Figura 9** - Rendimento quântico máximo do FS II (Fv/Fm) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático (B) e modelo linear (C e D). Os dados são médias de n = 5. Significância: \*p<0,05; \*\*p<0,01.

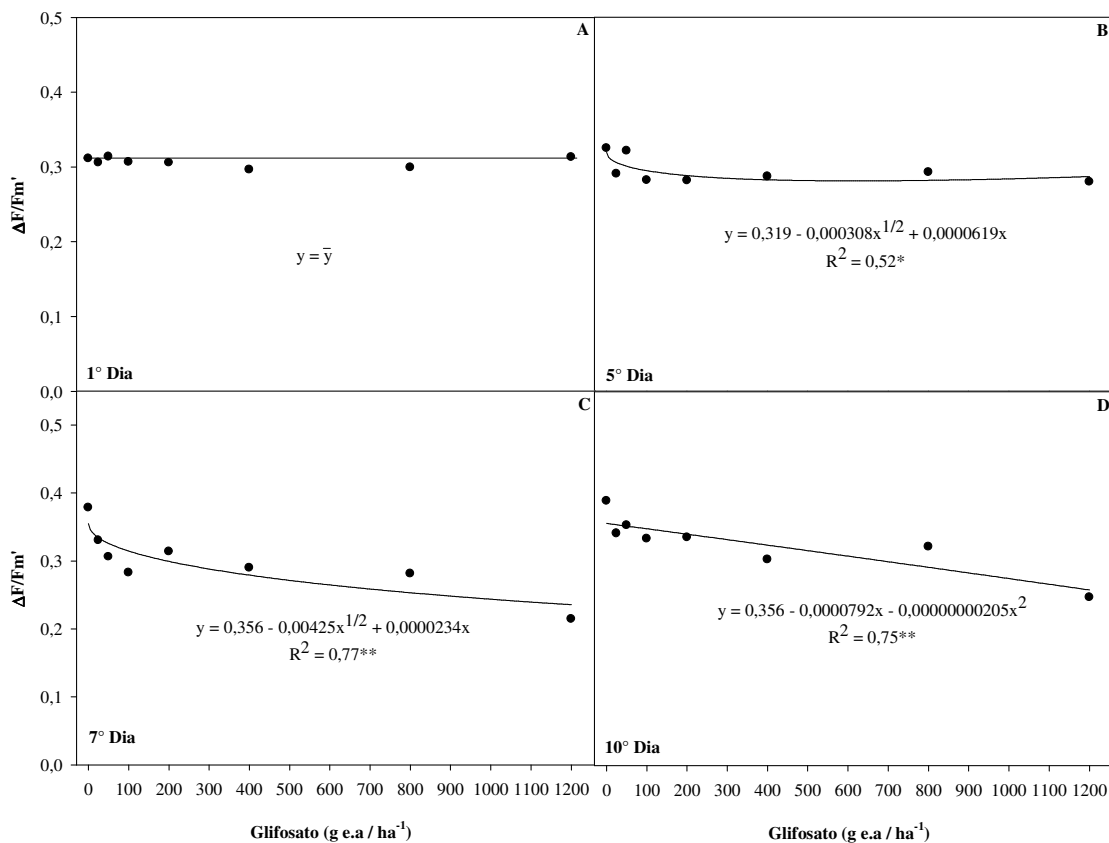




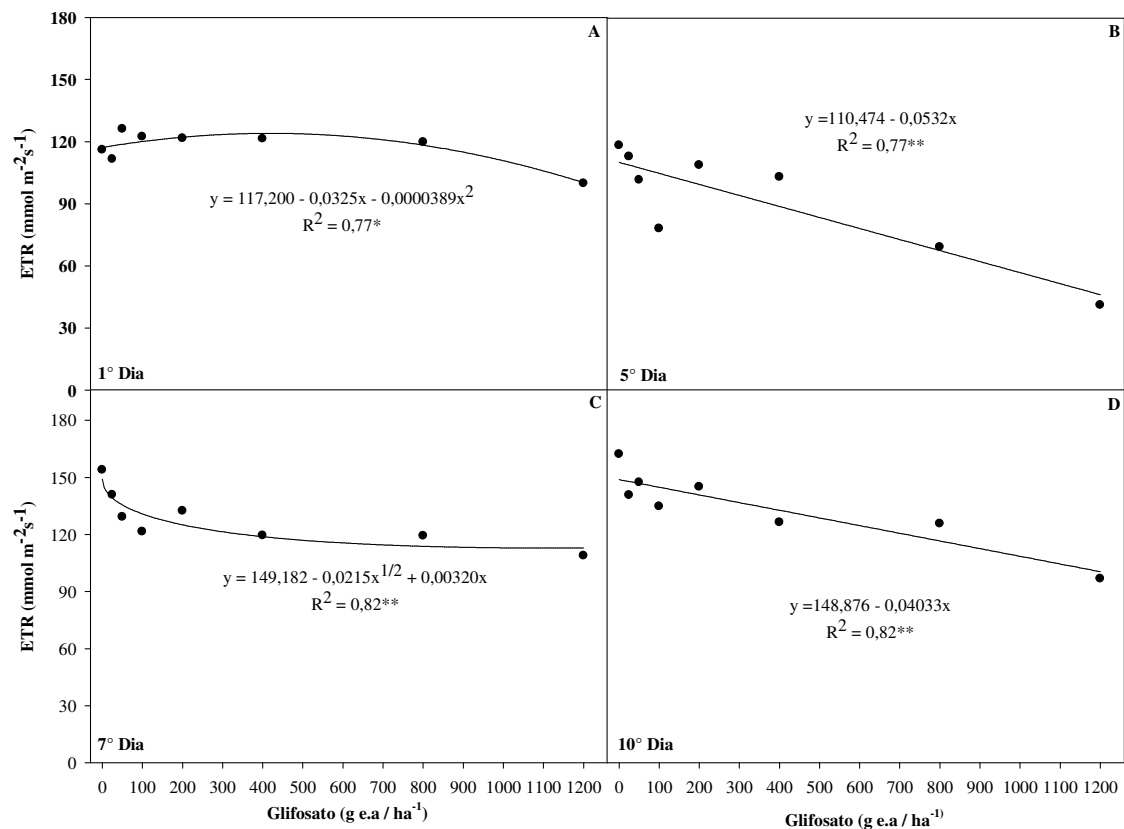
**Figura 10** - Rendimento quântico máximo do FS II ( $F_v/F_m$ ) em plantas de baru submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático em B e D. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância: \*\* $p < 0,01$ .

Verificou-se que o rendimento quântico efetivo do FS II ( $\Delta F/F_m'$ ) (Fig. 11) e a taxa de transporte de elétrons (ETR) (Fig.12), em plantas de guapeva, reduziram de acordo com o aumento das doses de glifosato. A redução foi mais pronunciada nos valores de  $\Delta F/F_m'$ , em plantas tratadas com concentrações iguais e superiores a 200 g e. a.  $ha^{-1}$  do produto, a partir do 7º DAA. Essa variação se manteve em torno de 41%, na maior dose aplicada, em relação ao controle a partir do 7º D.A.A (Fig. 11C-D).

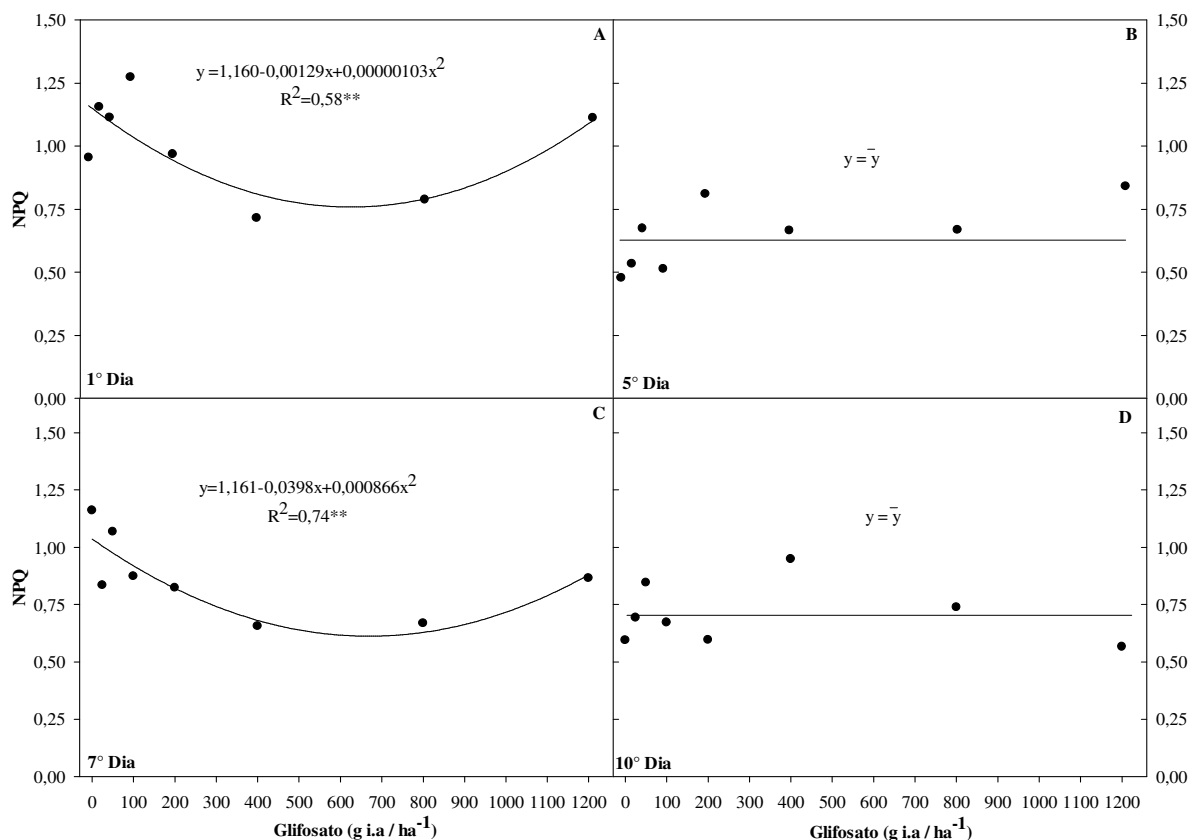
A ETR reduziu durante os dias de avaliações e em função da dose dos herbicidas, em relação ao controle (Figura 12). Do mesmo modo, a dissipação não fotoquímica (NPQ) dessas plantas diminuiu de acordo com as doses de glifosato no 1º e 7º DAA (Fig. 13A-D), não sendo significativas nos outros dias avaliados (Fig. 13 B-D).



**Figura 11** - Rendimento quântico efetivo do FS II ( $F_v/F_m$ ) em plantas de guapeva submetidas a diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada em B e C e modelo quadrático em D. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .



**Figura 12** - Taxa de transporte de elétrons (ETR) em plantas de guapeva submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático em A, modelo linear em B e D e modelo raiz quadrada em C. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .



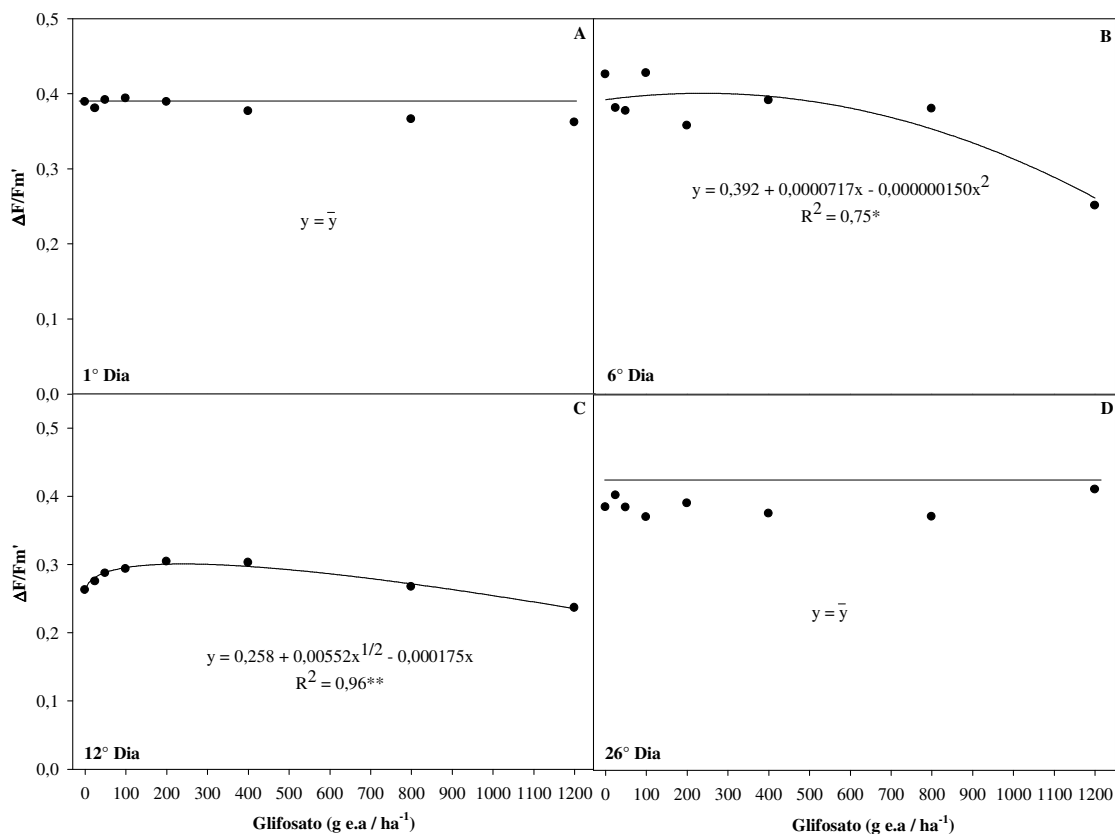
**Figura 13** - Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) em plantas de guapeva submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático em A e C. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

Conforme os resultados observados na Figura 14B, plantas de baru apresentaram a diminuição de até 41% no  $\Delta F/F_m'$ , em concentrações  $\geq 100$  g e. a. ha<sup>-1</sup> no 6° DAA, quando tratadas com a maior dose, em relação ao controle.

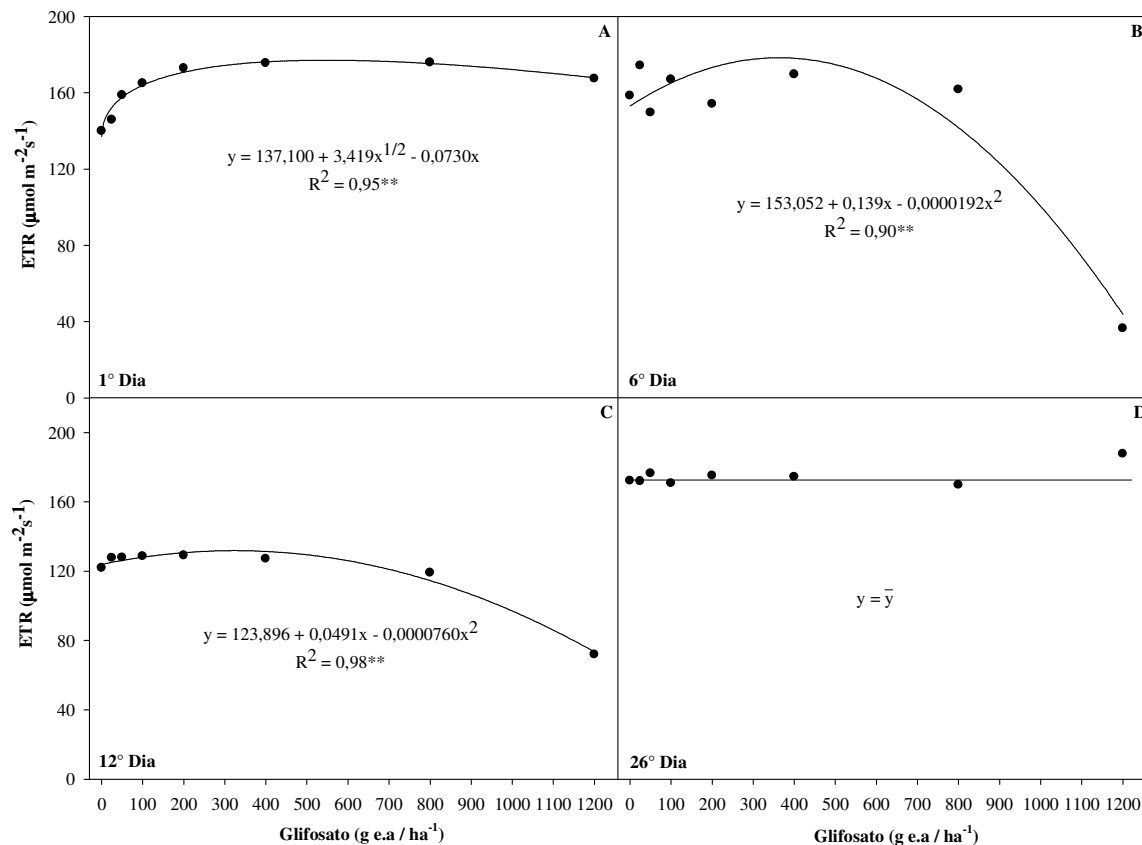
Para os valores de ETR houve o aumento em 20%, para a maior concentração, em relação ao controle, no 1° DAA (Fig. 15A). No entanto, esses valores diminuíram drasticamente no 6° e 12° DAA, com redução média de 59% para a maior dose aplicada em relação ao controle, de acordo com o aumento das doses (Fig. 15B-C). Já aos 26° DAA não se observou variações nos valores de ETR de plantas de baru em relação ao controle (Fig. 15-D).

O NPQ variou com o incremento das doses do herbicida, sendo essa variação maior nos 1° e 26° DAA (Fig. 16A-D), com o aumento em média de 108%, na maior

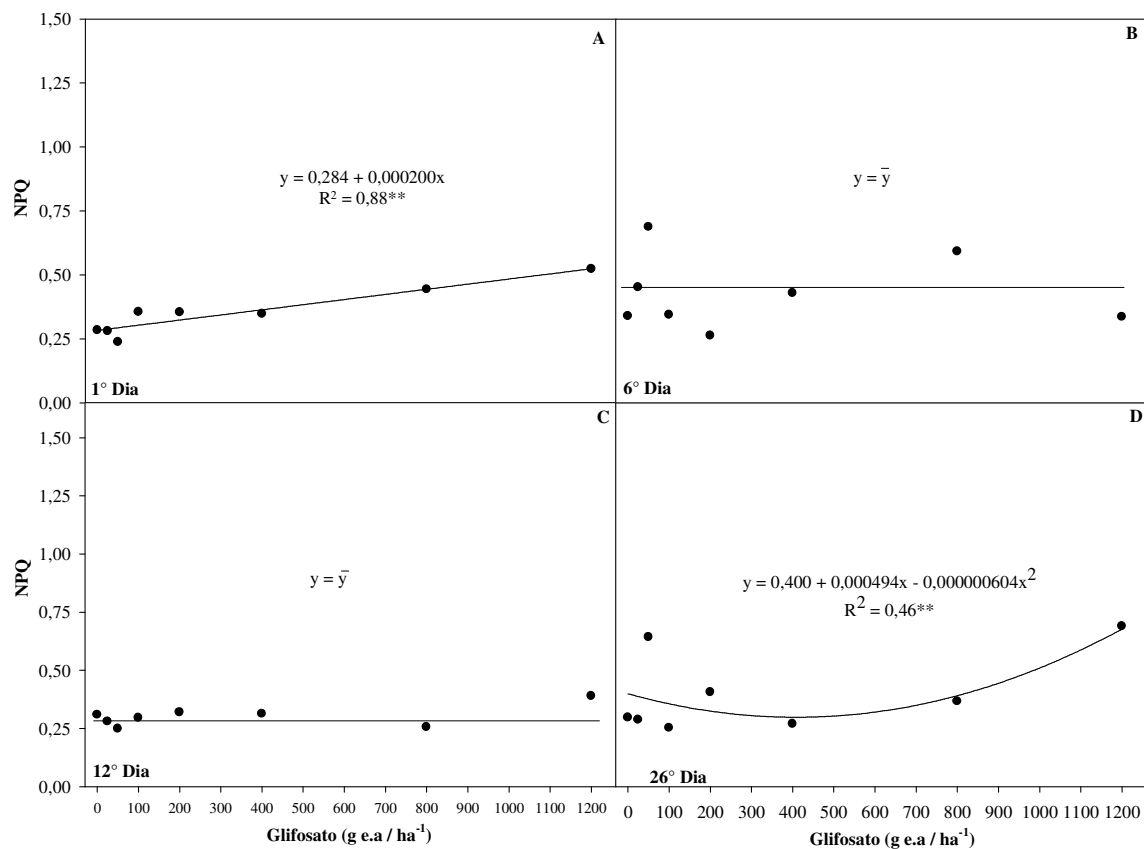
dose aplicada, em relação ao controle. Entretanto, essa variação não foi significativa nos 6° e 12° DAA (Fig. 16 B e C).



**Figura 14** - Rendimento quântico efetivo do FS II ( $\Delta F/F_m'$ ) em plantas de baru submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático em B e C. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .



**Figura 15** - Taxa de transporte de elétrons (ETR) em plantas de baru submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada em A e modelo quadrático em B e C. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .



**Figura 16** - Coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) em plantas de baru submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo linear em A e modelo quadrático em D. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .

### 3.3. Conteúdo de pigmentos cloroplastídicos e taxa de liberação de eletrólitos

Mediante a Análise de Variância, observou comportamento semelhante em relação às plantas de guapeva e baru. Constatou-se efeito do herbicida significativo em Cla, Clb, Car, Clt e TLE. Foi observado efeito das doses do herbicida glifosato entre as variáveis analisadas (Tabela 5 e 6). Porém para a relação Cla/Clb, Car/Cl e IF não se observou variação em função das doses do herbicida em ambas as espécies (Tabela 5 e 6).

**Tabela 05.** Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose) para clorofila *a* (Cla), Clorofila *b* (Clb), Carotenoides (Car), Clorofila total (Clt) razão clorofila *a*/clorofila *b* (Cla/Clb), razão carotenoides/clorofila (car/cl), índice de feofitinação (IF) e taxa de extravasamento de eletrólitos (TLE%) para plantas de guapeva

Tratamentos	Cla	Clb	Car	Clt	Cla/Clb	Car/Cl	IF	TLE
Dose	**	**	**	**	ns	ns	ns	**

Significância da ANOVA \*p<0,05, \*\*p<0,01, ns = não significativo

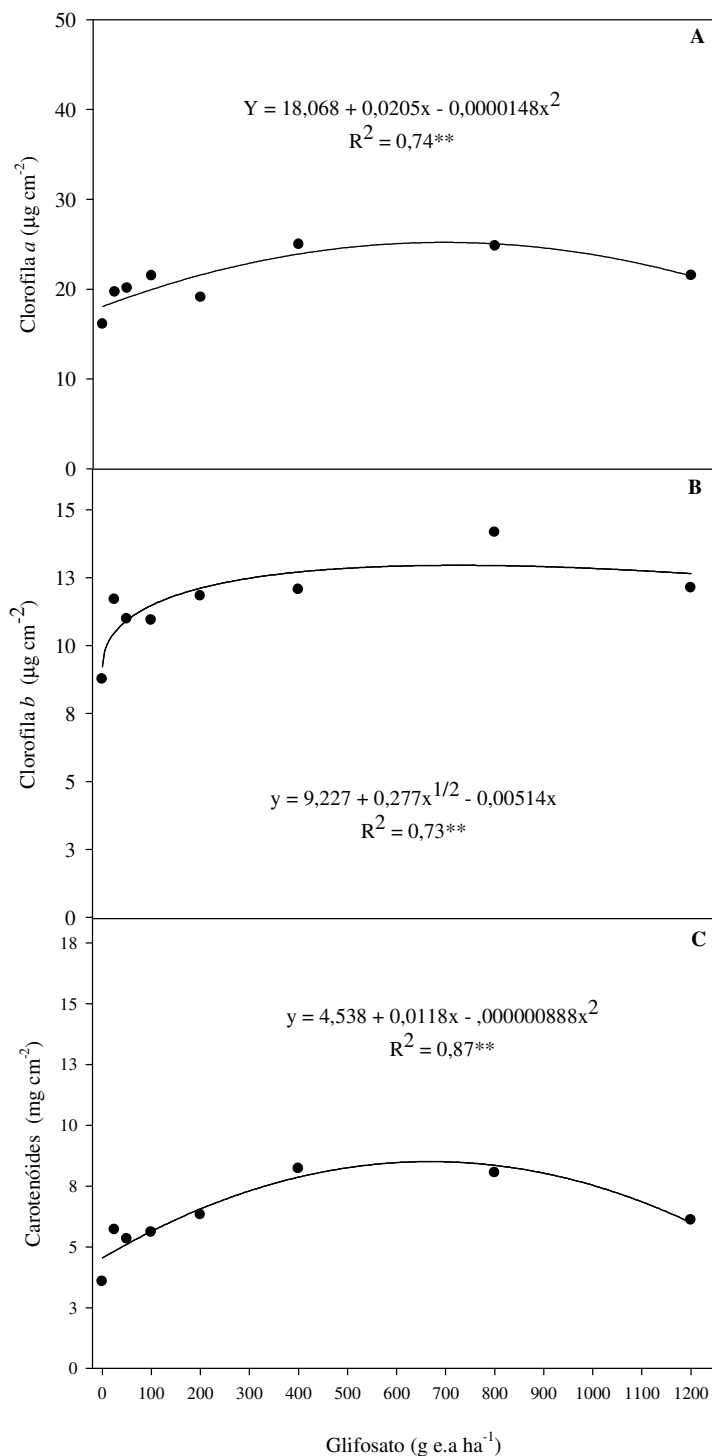
**Tabela 06.** Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose) para clorofila *a* (Cla), Clorofila *b* (Clb), Carotenoides (Car), Clorofila total (Clt) razão clorofila *a*/clorofila *b* (Cla/Clb), razão carotenoides/clorofila (car/cl), índice de feofitinação (IF) e taxa de extravasamento de eletrólitos (TLE%) para plantas de baru.

Tratamentos	Cla	Clb	Car	Clt	Cla/Clb	Car/Cl	IF	TLE
Dose	**	**	**	**	ns	ns	ns	**

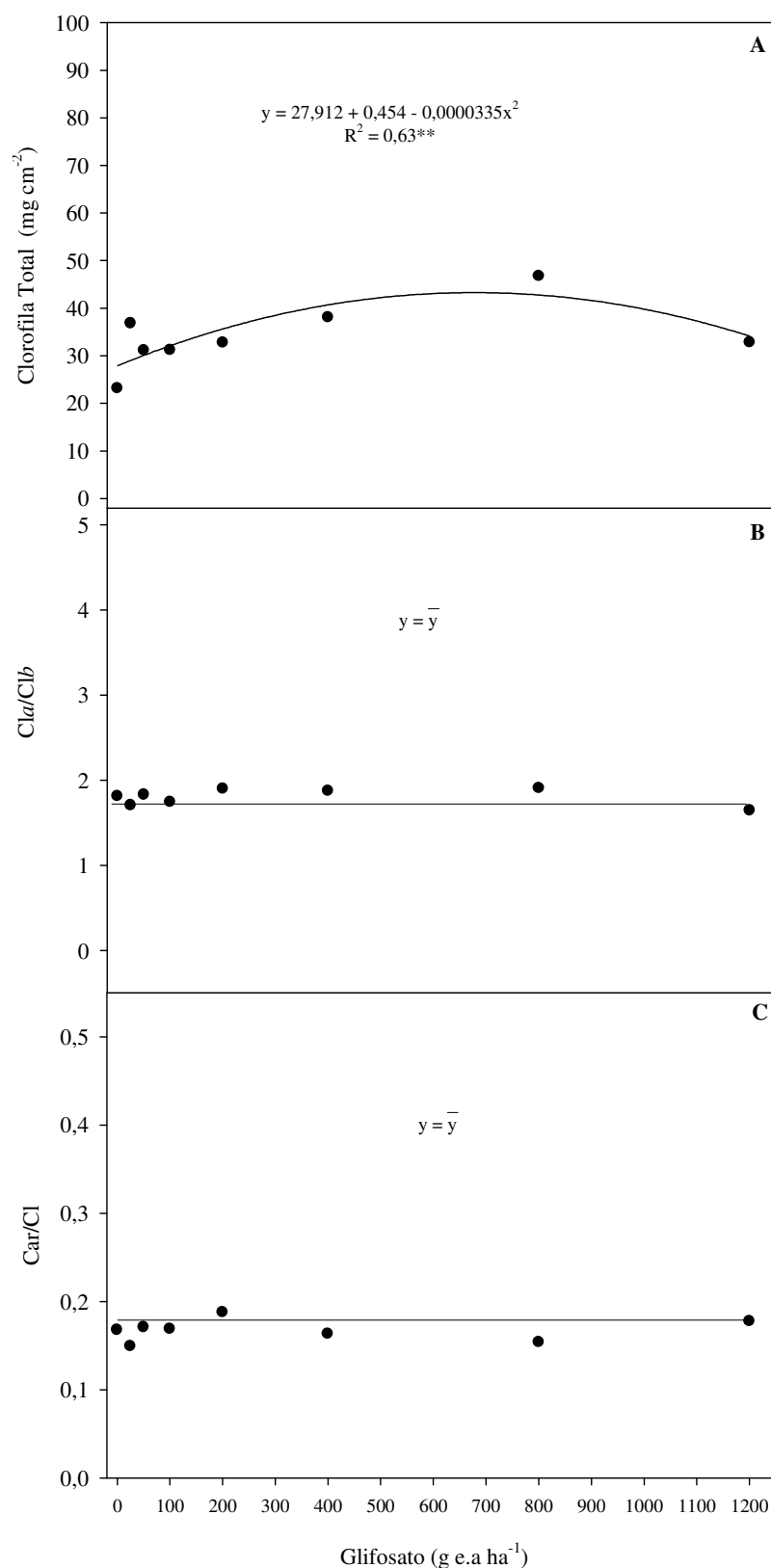
Significância da ANOVA \*p<0,05, \*\*p<0,01, ns = não significativo

Em plantas de guapeva o conteúdo de pigmentos cloroplastídicos variou significativamente em função do incremento das doses do herbicida. Esses valores foram aumentados em até 54% para o conteúdo de clorofila *a* (Cla) (Fig.17 A), 62% para clorofila *b* (Clb) (Fig. 17 B), 30% para carotenoides (car) (Fig. 17 C) e 100% para o conteúdo de clorofila total (Clt) (Fig. 18 A), para as maiores concentrações, em relação ao controle. No entanto, para as razões Cla/Clb (Fig.18B), Car/Cl (Fig.18C) e o índice de feofitinação (IF) (Fig.19) não foram observadas diferenças significativas.

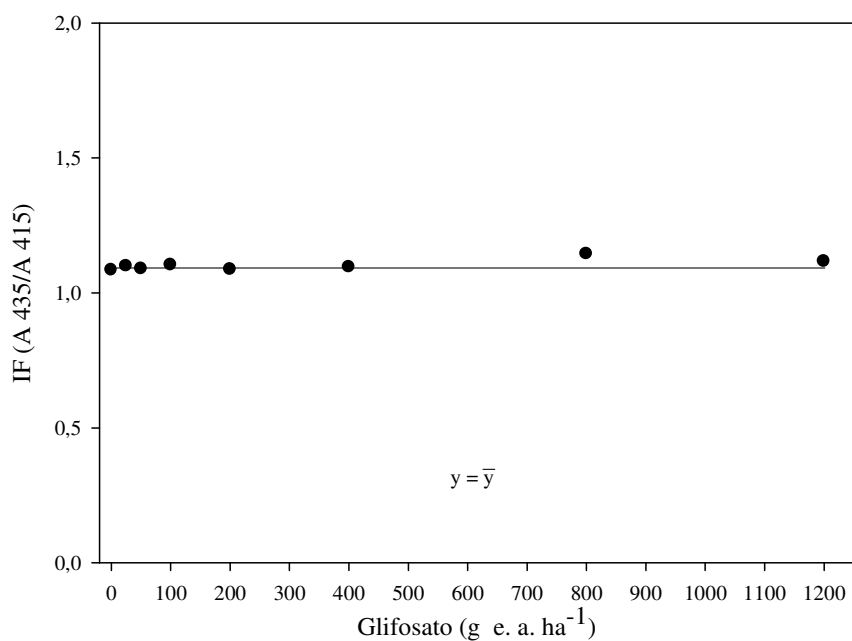




**Figura 17** - Clorofila *a* (Cl*a*) (A), clorofila *b* (Cl*b*) (B) e carotenóides (C) em plantas de guapeva submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático (A e C) e linear (B). Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

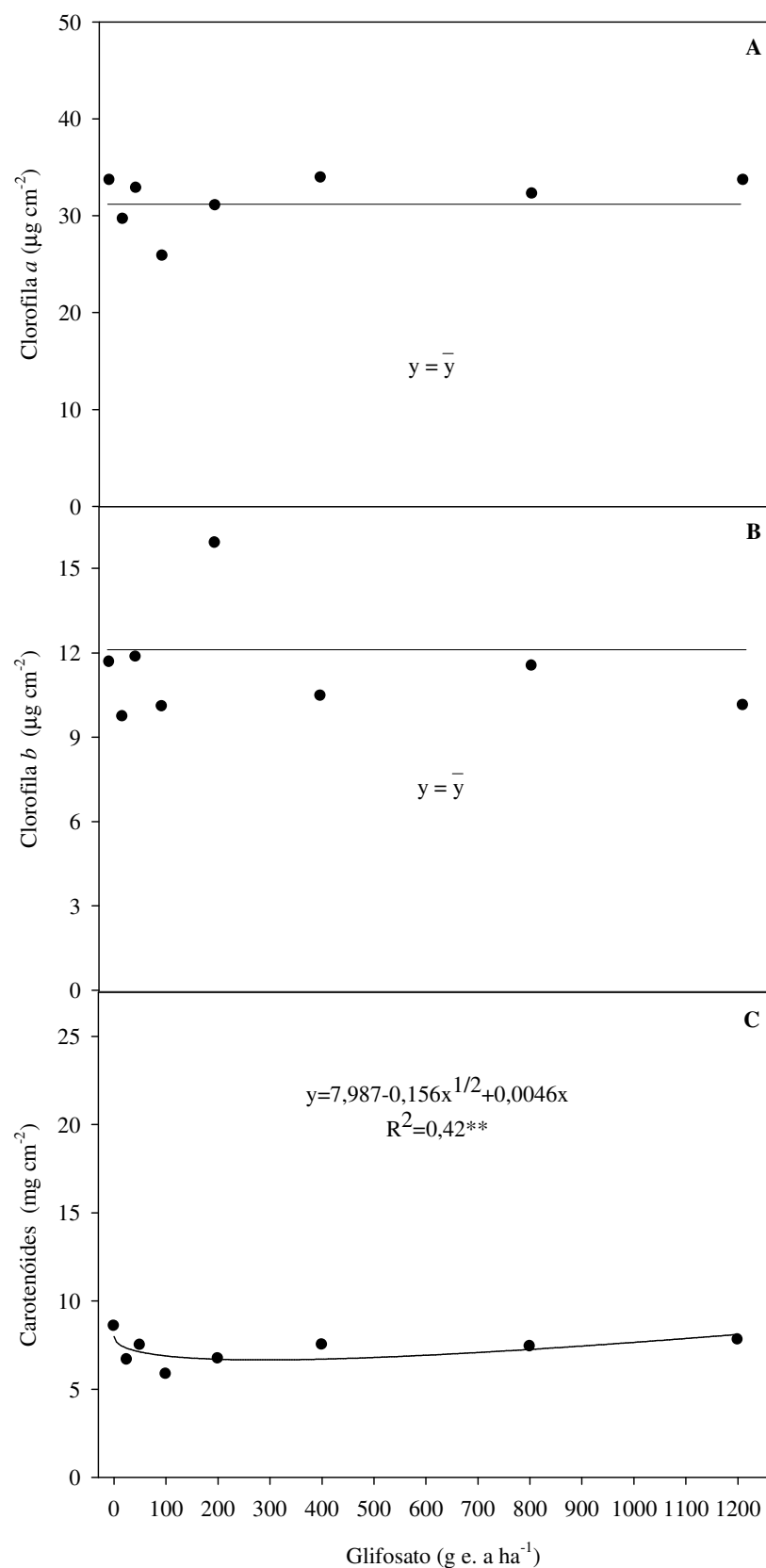


**Figura 18** - Clorofila total (A), razão entre clorofila *a* e clorofila *b* (*Cla/Clb*) (B) e razão entre carotenoides e clorofila (*Car/Cl*) (C) em plantas de guapeva submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático (A). Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

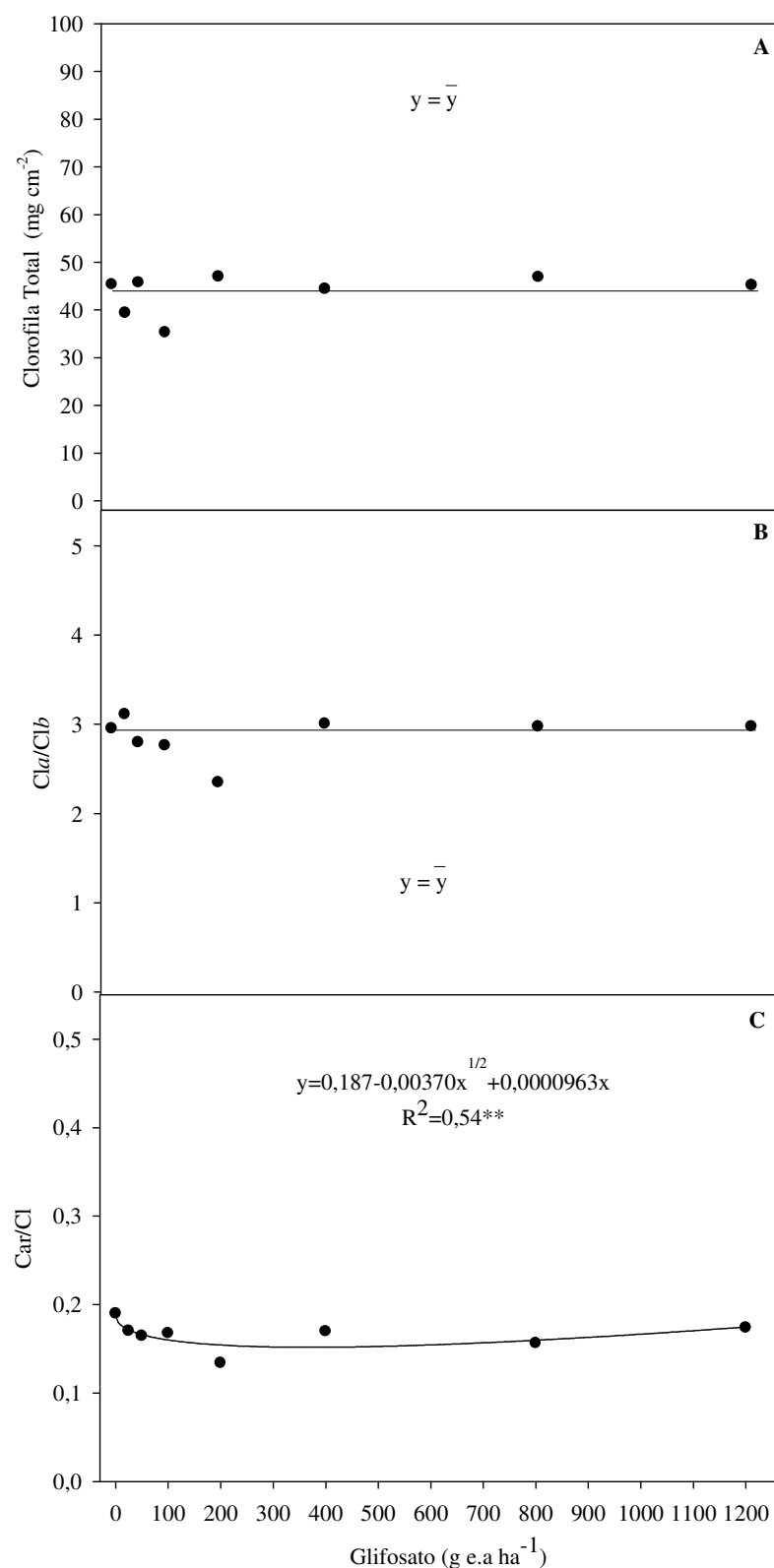


**Figura 19** - Índice de feofitinação (IF) em plantas de guapeva submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. Os dados são médias de  $n = 5$ .

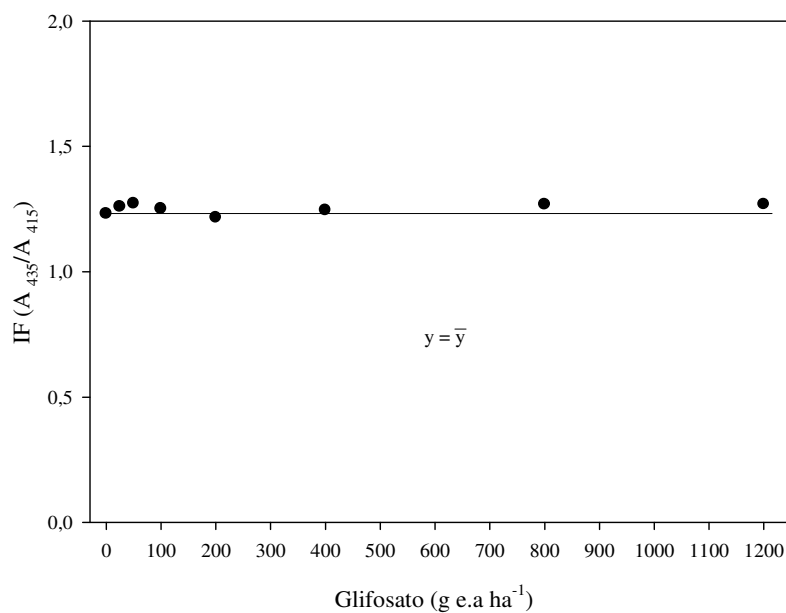
Por outro lado, em plantas de baru, não foi possível ajustar um modelo de regressão compatível com os dados em nenhuma das características relacionadas ao conteúdo de pigmentos cloroplastídicos (Fig. 20, 21 e 22).



**Figura 20** - Clorofila *a* (Cla) (A), clorofila *b* (Clb) (B) e carotenoides (C) em plantas de baru submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada (C). Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

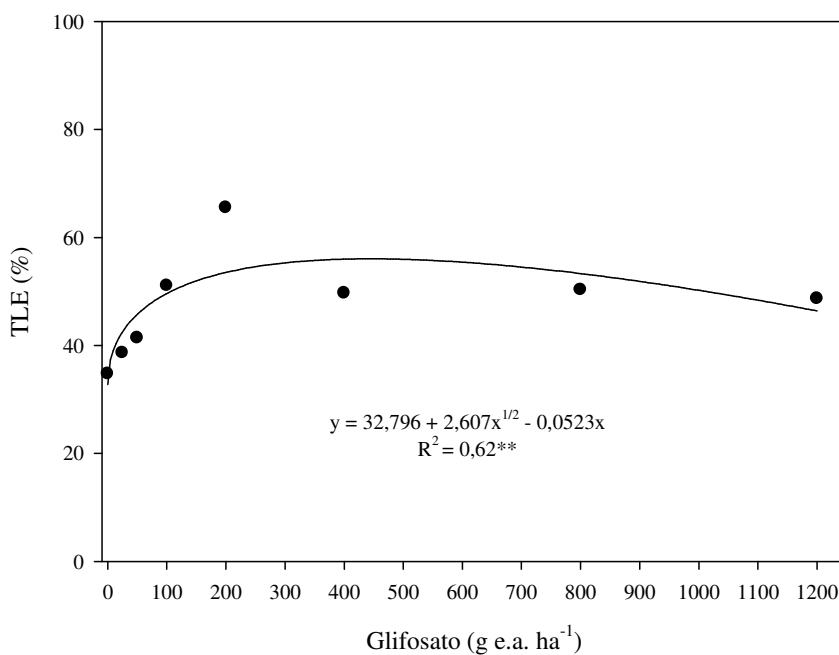


**Figura 21** - Clorofila total (A), razão entre clorofila *a* e clorofila *b* (Cla/Clb) (B) e razão entre carotenoides e clorofila (Car/Cl) (C) em plantas de baru submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada (C). Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

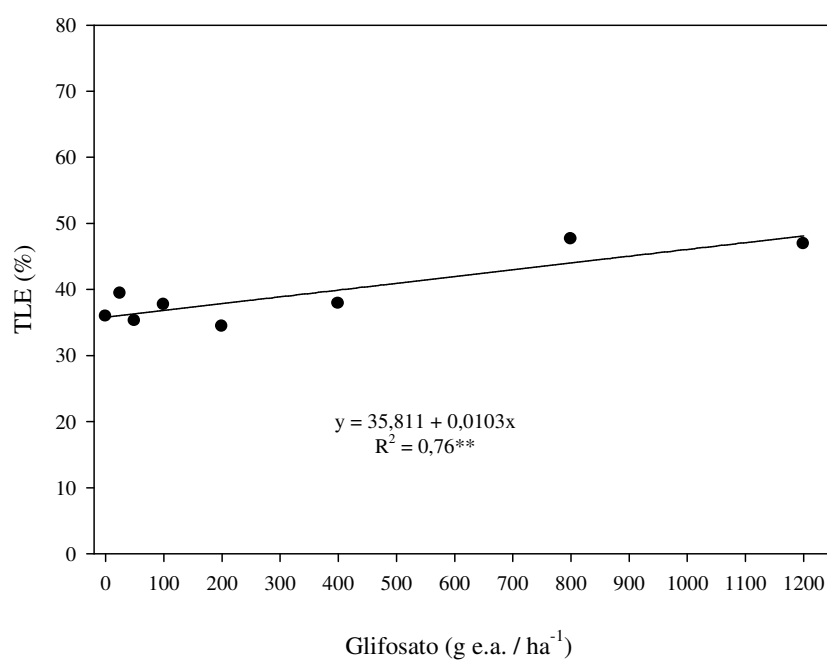


**Figura 22** - Índice de feofitinação (IF) em plantas de baru submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. Os dados são médias de  $n = 5$ .

O glifosato aumentou a taxa de extravasamentos de eletrólitos (TLE), tanto em plantas de guapeva, quanto em plantas de baru. Nas plantas de guapeva o aumento da TLE foi mais pronunciado nas doses mais baixas do herbicida (Fig. 23). Já em plantas de baru o aumento na TLE foi linear com o aumento das doses do herbicida (Fig. 24).



**Figura 23** - Taxa de liberação de eletrólitos (TLE %) em plantas de guapeva submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo raiz quadrada. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância: \*\* $p < 0,01$ .



**Figura 24** - Taxa de liberação de eletrólitos (TLE%) em plantas de baru submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo linear. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

### 3.4. Açúcares

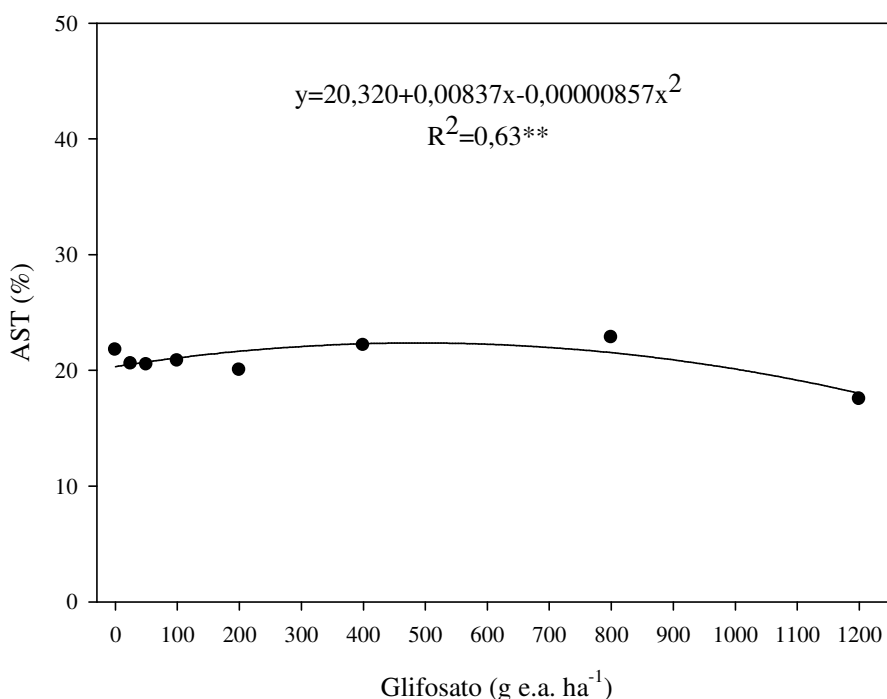
Mediante a Análise de Variância, observou comportamento semelhante em relação às plantas de guapeva e baru. Constatou-se efeito do herbicida significativo para AST%. Foi observado efeito das doses do herbicida glifosato para a variável analisada (Tabela 7).

**Tabela 07.** Análise de variância para determinação do efeito das doses de glifosato (Dose) para açúcares totais (AST%) em plantas de guapeva e baru

Espécies	Tratamentos	AST
Baru	Dose	**
Guapeva		**

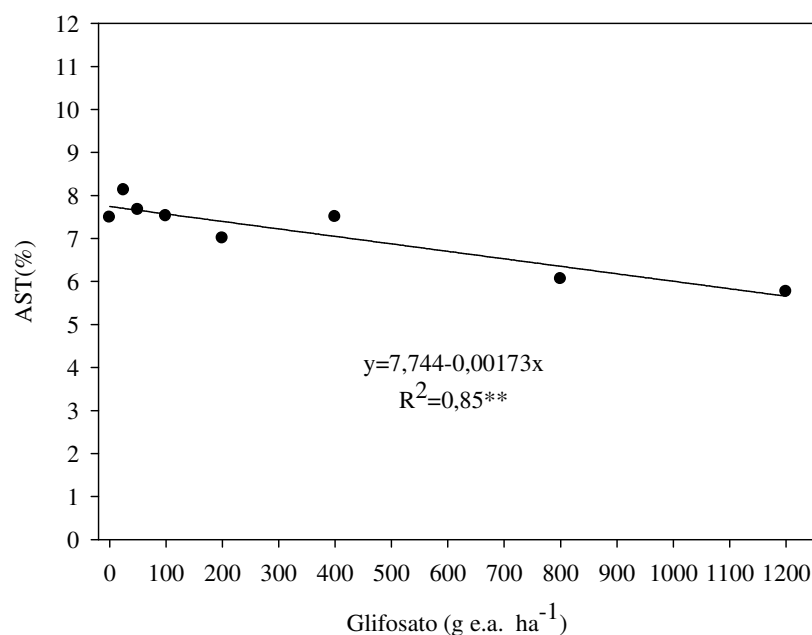
Significância da ANOVA \*p<0,05, \*\*p<0,01, ns = não significativo

Em plantas de guapeva a porcentagem de açúcares totais (AST%) aumentou em 21%, em doses de glifosato de até 400 g e. a. ha<sup>-1</sup> com posterior redução em doses superiores (Fig. 25). Enquanto em plantas de baru o AST% diminuiu linearmente com o aumento das doses do herbicida (Fig.26).



**Figura 25** - Açúcares totais (AST%) em plantas de guapeva submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo quadrático. Os dados são médias de n = 5. Significância: \*\*p<0,01.



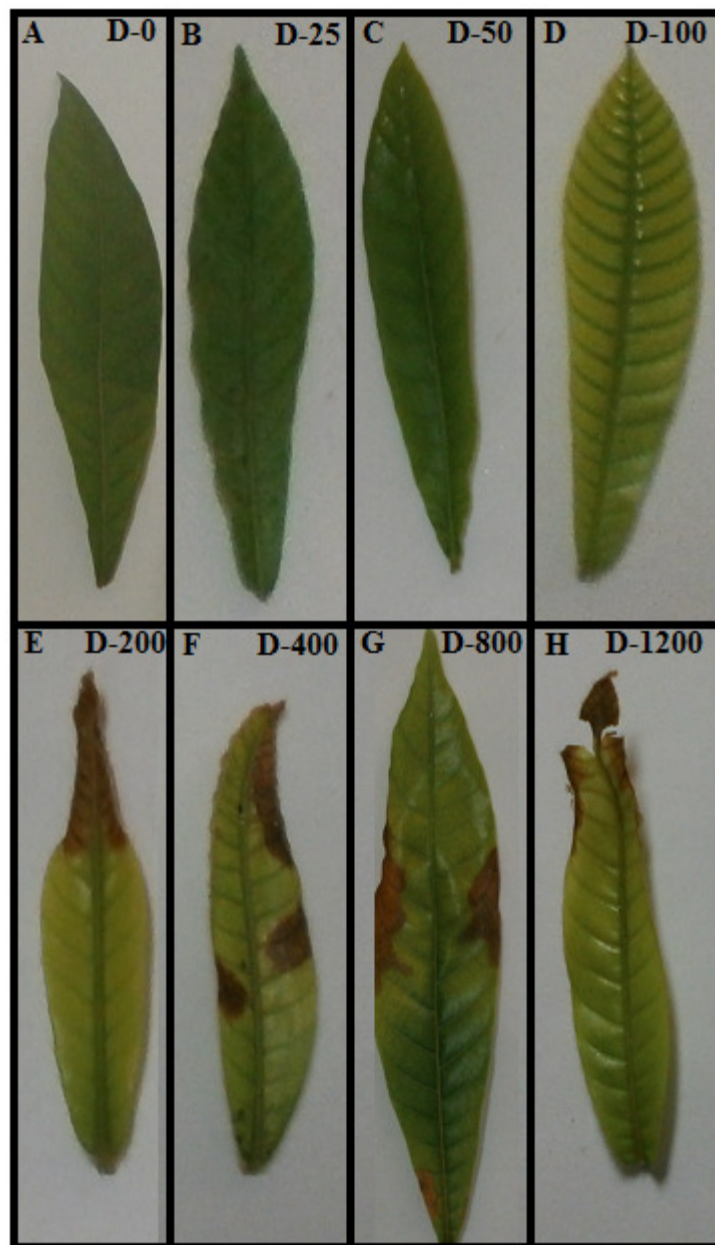


**Figura 26** - Açúcares totais (AST%) em plantas de baru submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato. O efeito do herbicida é explicado pelo modelo linear. Os dados são médias de  $n = 5$ . Significância:  $**p < 0,01$ .

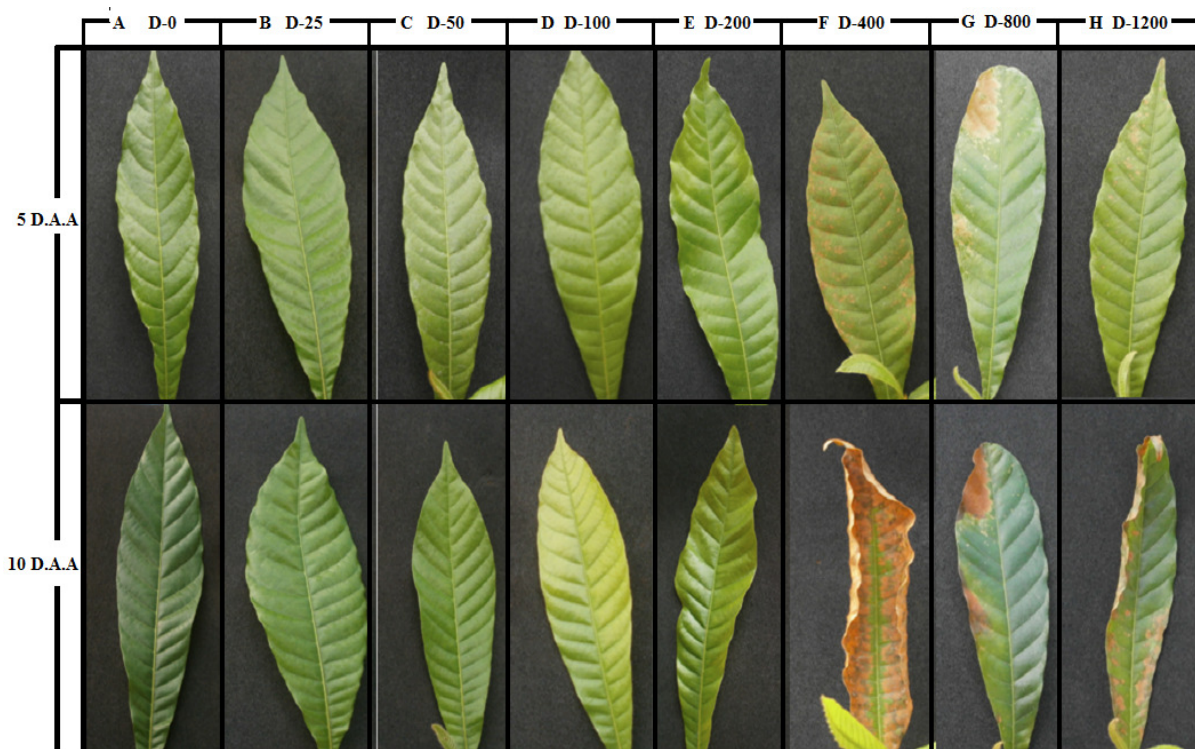
### 3.5 Sintomas visuais dos danos

Tanto em plantas de baru, quanto em plantas de guapeva, sintomas de amarelecimento, clorose e necrose foram observados, principalmente em concentrações mais elevadas de glifosato. Nas plantas de guapeva esses sintomas foram mais proeminentes no 5º DAA, principalmente nas folhas jovens (Fig.27), com amarelecimento em toda a superfície foliar, em concentrações de 100 e 200 g e. a. ha<sup>-1</sup> e pontuações necróticas em doses  $\geq 400$  g e. a. ha<sup>-1</sup>.

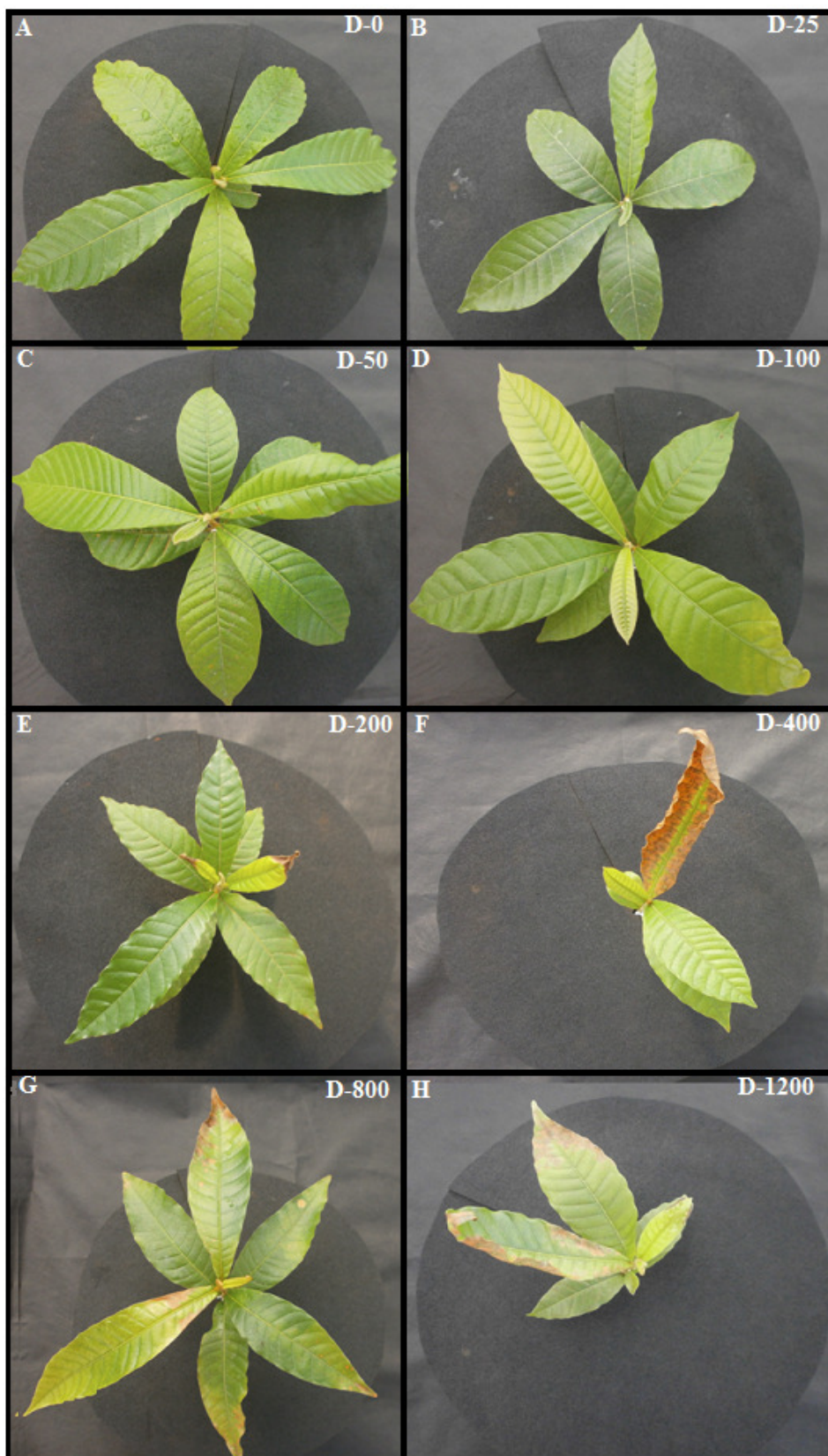
Observou-se ainda nas plantas de guapeva progressão dos sintomas após o 10º DAA, com necrose da ponteira das brotações nas concentrações  $\geq 100$  g e. a. ha<sup>-1</sup> e clorose e necrose parcial no restante das folhas, principalmente nas jovens. Em doses  $\geq 800$  g e. a. ha<sup>-1</sup> observou-se a evolução das necroses para todo o limbo foliar e a consequente senescência da folha (Fig. 28-29).



**Figura 27** – Sintomas visuais de intoxicação nas folhas jovens de plantas de guapeva aos 10 DAA do herbicida glifosato.

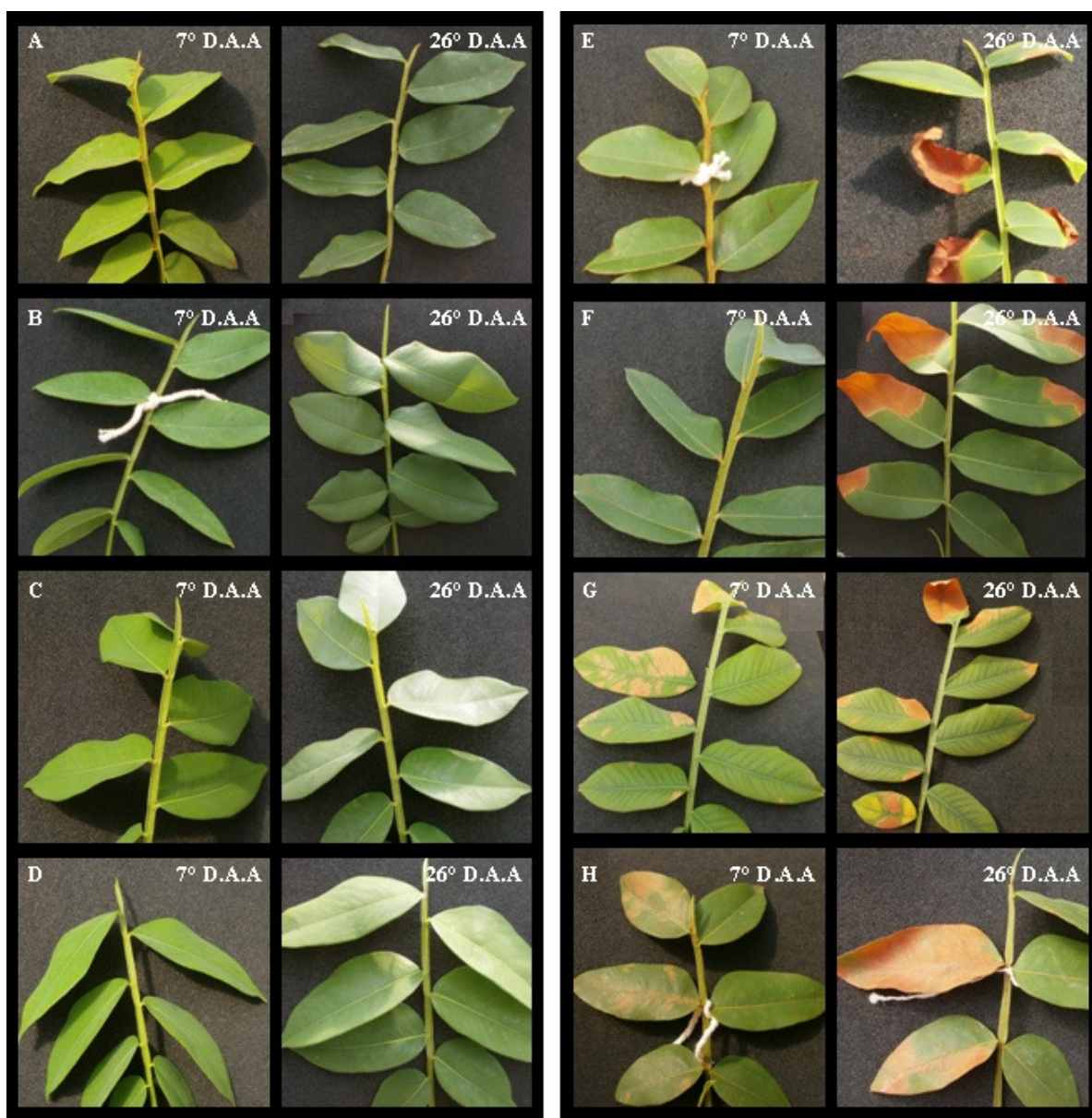


**Figura 28** – Sintomas visuais de intoxicação nas folhas maduras de guapeva aos 5 e 10 DAA, em diferentes concentrações do herbicida glifosato.



**Figura 29** – Sintomas visuais de intoxicação nas plantas de guapeva aos 10 DAA do herbicida glifosato.

Notou-se a ocorrência de manchas pardas nos folíolos jovens, em plantas de baru, a partir do 7º DAA (Fig.30). Aos 22 DAA (Fig. 31) verificou-se a evolução dos sintomas com necrose e senescência dos folíolos afetados, em concentrações  $\geq 800$  g e. a. ha<sup>-1</sup>, porém não foi observada evolução dos danos nas outras partes das plantas. Aos 26 DAA os sintomas observados anteriormente não evoluíram, mantendo-se estáveis (Fig. 32).



**Figura 30** – Sintomas visuais de intoxicação nos folíolos jovens de baru aos 7 e 26 DAA, em diferentes concentrações do herbicida glifosato.



**Figura 31** – Sintomas visuais de intoxicação nos folíolos jovens de baru 22 DAA do herbicida glifosato



**Figura 32** – Sintomas visuais de intoxicação de plantas de baru 26 DAA do herbicida, em diferentes concentrações.

#### 4 – DISCUSSÃO

Nesse estudo plantas de baru e guapeva, quando submetidas às diferentes doses do herbicida glifosato, demonstraram alterações nas características de trocas gasosas. Houve redução na taxa fotossintética, em plantas de baru e guapeva para as maiores concentrações do herbicida. Resposta semelhante foi observada em maiores concentrações do herbicida glifosato, em espécies como *Glycine max* L. (ZOBIOLE et al., 2011) e *Hordeum vulgare* L. (OLESEN & CEDERGREEN, 2010).

A fotossíntese não é considerada alvo primário da ação do herbicida glifosato (MADSEN et al., 1995). Possivelmente, a diminuição na  $A$  ocorreu pelo aumento da resistência da folha à entrada do  $\text{CO}_2$ , mediante a diminuição da condutância estomática. Efeito semelhante já foi mencionado por Shaner & Lyon (1979).

A taxa fotossintética e a taxa transpiratória se relacionam de maneira proporcional com a condutância estomática (SCHULZE & HALL, 1982). Aparentemente, o herbicida afeta as células-guarda diretamente, que pode provocar o fechamento estomático (DUKE & BRECKE, 1980; YANNICCARI et al., 2012). As células-guarda constituem um dos sistemas mais sensíveis à disrupção do metabolismo celular causado pelo glifosato (YAMADA & CASTRO, 2007), contribuindo assim, para a diminuição na assimilação de  $\text{CO}_2$ .

Nesse estudo, os resultados da  $g_s$ , para as plantas de baru e guapeva, demonstraram resposta similar com a taxa fotossintética. Fuchs et al. (2002) relataram que o decréscimo na condutância estomática foi fator importante na redução da fotossíntese causada pelo glifosato, sendo esse comportamento também observado por Machado et al. (2010) e Olesen & Cedergreen (2010).

De maneira geral, poluentes gasosos causam intoxicação nos organismos. Hoshika et al. (2011) observaram fechamento estomático em plantas pulverizadas com ozônio ( $\text{O}_3$ ).

Assim como os demais poluentes, o ozônio pode induzir a sensibilidade estomática ao ácido abscísico, provocado pelo aumento na produção de etileno (WILKINSON & DAVIES, 2010; HOSHIKA et al., 2011).

Sugere-se ainda que o fechamento estomático esteja associado ao decréscimo na concentração de sacarose nas células-guarda (TAIZ & ZEIGER, 2009). Em ambas as espécies desse estudo foi observado a redução na concentração de açúcares totais.



Possivelmente, o decréscimo na  $A$  gerou menor disponibilidade de  $\text{CO}_2$  para o ciclo de Calvin-Benson, reduzindo assim, o acúmulo de carboidratos produzidos na fotossíntese.

O efeito do glifosato sobre a  $E$  foi similar aos encontrados para  $A$  e a  $g_s$ , em plantas de guapeva. Assim como em  $A$ , pressupõe-se que a redução da  $E$  seja pela ação direta do glifosato sobre as células-guardas, promovendo a perda do controle das células estomáticas e o fechamento do ostíolo (YAMADA & CASTRO, 2007). Resultados semelhantes foram observados por Machado et al. (2010) em plantas de eucalipto, submetidas à doses crescentes de glifosato. No entanto, a  $E$  de plantas de baru não foi afetada em função do aumento das doses do herbicida, mesmo sendo constatada a redução na  $g_s$  nesta espécie.

Os resultados observados em ambas as espécies desse estudo sugerem que os efeitos do glifosato nas trocas gasosas destas plantas foram proeminentemente estomáticos, uma vez que a relação  $C_i/C_a$  permaneceu inalterada. A relação  $C_i/C_a$  é considerada um indicador apropriado para o estudo das limitações estomáticas e não estomáticas da fotossíntese (FARQUHAR & SHARKEY, 1982).

A diminuição na abertura estomática limita a entrada de  $\text{CO}_2$  na câmara substomática, diminuindo a quantidade de substrato disponível para o ciclo de Calvin-Benson. A relação  $C_i/C_a$  integra a concentração de  $\text{CO}_2$  na câmara substomática e no ambiente (RODRIGUES, 2011), envolvendo também as causas estomáticas e metabólicas que estejam promovendo alterações na taxa fotossintética. A manutenção dos valores da relação  $C_i/C_a$  em plantas tratadas com o glifosato, em relação às plantas controle, indica que o metabolismo do carbono destas plantas não foi afetado pelo herbicida.

A etapa fotoquímica de ambas as espécies também não foi afetada pelo glifosato, quando aplicado em doses inferiores a  $400 \text{ g e. a. ha}^{-1}$ , conforme demonstrado por meio das medidas de fluorescência da clorofila  $a$ . Segundo Krause & Winter (1996), a fluorescência da clorofila  $a$  é uma das maneiras de se avaliar plantas submetidas a diversos fatores de estresse. Essa avaliação consiste no monitoramento da inibição ou da redução da transferência de elétrons entre os fotossistemas, mesmo quando as injúrias não são visíveis.

Entretanto, em doses maiores do que  $400 \text{ g e. a. ha}^{-1}$ , observaram alterações significativas nas características da fluorescência da clorofila  $a$ , em ambas as espécies.

A fluorescência variável ( $F_v$ ) é a diferença entre a fluorescência máxima ( $F_m$ ) e a fluorescência inicial ( $F_0$ ), quando toda quinona  $a$  ( $Q_a$ ) encontra na forma oxidada.  $F_m$

é a medida que se dá quando toda a  $Q_a$  se encontra na forma reduzida no fotossistema II (SCHREIBER et al., 1998).

A relação  $F_v/F_m$  representa o “*quenching*” fotoquímico da fotossíntese. Refere-se o quanto de energia interceptada pela folha é utilizada na etapa fotoquímica da fotossíntese, que pode ser destinada a correspondente assimilação de  $CO_2$  (ORTÍZ, 2004). Valores entre 0,75 e 0,85 em plantas não estressadas são considerados adequados, enquanto decréscimos nestes valores são indicativos de fotoinibição (MAXWELL & JOHNSON, 2000). Porém, Li et al. (2004), em estudo com 99 espécies de plantas da Mongólia, verificaram valores médios normais de  $F_v/F_m$  em torno de 0,72, em plantas  $C_3$ .

Contudo, a diminuição da razão  $F_v/F_m$  em ambas as espécies, nas maiores doses aplicadas é indicativo de danos no aparato fotossintético, principalmente ao fotossistema II. Diversos autores observaram diminuição na razão  $F_v/F_m$  em função da aplicação de xenobióticos (MORAES et al., 2004; ZOBIOLE et al., 2011; GRAVENA et al., 2012).

Corroborando com essa constatação, tanto nas plantas de baru quanto de guapeva, observou-se diminuição no rendimento quântico efetivo do fotossistemas II ( $\Delta F/F_m'$ ) e na taxa de transporte de elétrons (ETR), principalmente nas maiores concentrações. Esses dados estão de acordo com Mateus-Najaro et al. (2009), que verificaram danos ocasionados por herbicidas ao observarem diminuição na razão  $F_v/F_m$ , no  $\Delta F/F_m'$  e diminuição na ETR em *Spartina densiflora*.

A energia não utilizada em processos fotossintéticos pode ser dissipada na forma de calor, processo conhecido como dissipação não fotoquímica (NPQ). De maneira geral, os valores de NPQ podem variar na faixa de 0,5-3,5, porém alterações nestes valores são aceitos dependendo da espécie, ambiente e condição da planta (MAXWELL & JOHNSON, 2000). Nas plantas de guapeva desse estudo, mesmo se observando o declínio no rendimento quântico efetivo do fotossistemas II e da taxa de transporte de elétrons, não foi verificado aumento na dissipação de energia na forma de calor, sugerindo que a maior parte da energia de excitação foi dissipada em processos fotoquímicos. Além disso, o maior conteúdo de carotenoides em função do aumento das doses de glifosato, em plantas de guapeva, sugere mecanismo de proteção do aparato fotoquímico dessas plantas. Em plantas de baru, observou-se o incremento em NPQ nas maiores concentrações de glifosato. De maneira geral, herbicidas podem contribuir para o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROS), o que indiretamente pode interferir

na fotossíntese pela inibição da síntese de diferentes pigmentos (clorofila e carotenoides) (WAKABAYASHI & BORGER, 2004).

Nesse contexto, mesmo se observando aumento no NPQ, não foi constatado aumento no conteúdo de carotenoides, o glifosato pode diminuir a síntese desse pigmento (MUÑOZ-RUEDA et al., 1986). Os carotenoides estão presentes nas membranas do cloroplasto e tem a função de dissipar na forma de calor, a energia absorvida pelas clorofilas (VIDAL, 2007). Mateus-Naranjo et al. (2009), em estudo com plantas de *Spartina densiflora* tratadas com o herbicida glifosato, observaram diminuição do conteúdo de carotenoides com o incremento das doses do herbicida.

Nesse estudo, constatou-se efeitos divergentes no conteúdo de pigmentos de baru e guapeva. Enquanto nas plantas de baru o aumento das doses de glifosato não promoveu alterações significativas no conteúdo de clorofila *a* e *b*, em plantas de guapeva foram observados aumento no conteúdo destes pigmentos e também no conteúdo de carotenoides. Na literatura, os trabalhos indicam que o glifosato promoveu redução do conteúdo de clorofila *a* e *b* nas plantas estudadas (VIVANCOS et al., 2011; ZOBIOLE et al., 2011; HUANG et al., 2012). Uma possível explicação para os resultados encontrados nesse estudo, relacionados ao conteúdo de pigmentos nas folhas, pode estar associada ao efeito pronunciado do herbicida em folhas jovens, diferente daquelas que foram utilizadas na avaliação do conteúdo dos pigmentos. Como observado, as principais injúrias visíveis foram detectadas nas folhas jovens, enquanto o conteúdo de pigmentos foi avaliado em folhas fisiologicamente maduras.

O glifosato é conhecido como um "herbicida autolimitante", porque a toxicidade provocada na planta diminui a eficiência da translocação da molécula (LORRAINE-COLWILL et al., 2003), incorrendo assim em efeitos não sistêmicos, como aqueles observados nas plantas de guapeva.

Corroborando com essa hipótese, a absorção do glifosato pelas plantas, ocorre principalmente pela superfície foliar (KIRKWOOD et al., 2000), em que o herbicida penetra pela cutícula e membrana plasmática dos tecidos fotossintetizantes e seu transporte ocorre de forma simplástica pelo floema, na direção fonte-dreno (MONQUERO et al., 2004), acumulando principalmente nas regiões meristemáticas.

Aliada à rápida absorção do herbicida glifosato, a maior velocidade de absorção e translocação do Roundup Transorb®, utilizado neste estudo, em relação às demais formulações encontradas no mercado à base de glyphosate (ALBRECHT & ÁVILA, 2010), agrava mais a severidade do dano à planta.

A razão clorofila *a/b*, de ambas as espécies deste estudo, estão de acordo com a literatura, em que estes valores podem variar entre 2,0 a 4,4 para o FSI e 1,5 a 4,0 para o FSII (MORISHIGE & DREYFUSS 1998). A estabilidade do índice de feofitinação (IF), em ambas as espécies, indica que o glifosato não promoveu degradação de clorofilas nas folhas avaliadas, mesmo nas doses mais elevadas. Segundo Streit et al. (2005), o IF representa a degradação de clorofilas por meio da feofitinação direta ou indireta.

Embora as injúrias relacionadas ao conteúdo de pigmentos não tenham sido detectadas, os resultados da taxa de liberação de eletrólitos (TLE) indicam que o glifosato promoveu danos às membranas das células das plantas. Em doses crescentes do herbicida, maior TLE foi observada. Esses resultados sugerem que a integridade das membranas foi comprometida, aumentando assim a liberação do conteúdo do protoplasma celular (OMASA, 1990). O glifosato estimula a síntese de etileno, que por sua vez estimula a síntese de enzimas de degradação de fosfolípidos (YAMADA & CASTRO, 2007), diminuindo a estabilidade das membranas celulares. Outro efeito está associado ao aumento da formação de EROS, ou radicais livres, promovida por xenobióticos de modo geral (SCANDALIOS, 2005), que contribuem para a peroxidação de fosfolípidos e outros componentes das membranas celulares (MARTINEZ 1998).

As EROS promovem ainda danos a diversas proteínas (DRÖGE, 2001), dentre elas a proteína D1 do fotossistema (JUNG, et al., 2000; LUPÍNKOVÁ & KOMENDA, 2004). A proteína D1 é essencial no processo de transferência de energia durante a fotossíntese, que é facilmente avaliado por meio das medidas de fluorescência da clorofila *a*. É possível que o aumento na formação de EROS tenha contribuído tanto para o aumento da taxa de extravasamento de eletrólitos, como também, para a diminuição da ETR e da  $F_v/F_m$ , em função do aumento das doses de glifosato, tanto nas folhas avaliadas de plantas de baru quanto de guapeva.

Aliado a esse fator, a redução na ETR diminuiria o fornecimento de NADPH e ATP para o ciclo de Calvin-Benson, comprometendo o acúmulo de açúcares totais. Portanto, os dados observados neste estudo relacionados à diminuição do conteúdo de açúcares totais, parecem estar relacionados à diminuição da quantidade de carbono para o Ciclo de Calvin, por meio da limitação estomática, em coerência com os dados obtidos das trocas gasosas e da fluorescência da clorofila. É possível ainda que a redução da taxa fotossintética seja também um efeito da inibição de enzimas do Ciclo de Calvin (SHIEH et al., 1991) no entanto, esta hipótese foi descartada neste estudo em

função da ausência de variações na relação  $Ci/Ca$ . No entanto, se faz necessários estudos complementares para confirmar os reais efeitos diretos ou indiretos do glifosato nesta rota metabólica. O grau de intoxicação observado em plantas está relacionado diretamente à penetração do herbicida nas folhas. Segundo Baker (1982), a taxa de absorção foliar de herbicidas e, conseqüentemente sua eficácia, estão diretamente ligadas aos tipos de estruturas encontradas na folha e à permeabilidade da cutícula. A cutícula é a principal via de absorção de herbicidas pela planta (FERREIRA et al., 2002; FERREIRA et al., 2003; GALVAN et al., 2011). Em particular, a cutícula das células-guarda parece ser mais fina e permeável do que outras células epidérmicas (HESS & FALK 1990; GALVAN et al., 2011), proporcionando assim, efeito mais proeminente do herbicida justamente no movimento estomático.

Nas plantas deste estudo, os resultados evidenciaram efeito pronunciado do herbicida, diminuindo as trocas gasosas, promovendo especialmente a limitação estomática, conforme discutido anteriormente. Possivelmente, esse efeito está relacionado com a maior absorção do glifosato pelas células-estomáticas, sobretudo em plantas de guapeva. Em plantas de baru, a menor intensidade dos efeitos provavelmente está relacionada à maior espessura da camada de cera epicuticular nesta espécie, que funcionou como a barreira no processo de absorção do herbicida. Varanda & Santos (1996) sugerem que plantas do Cerrado tenham maior depósito de cera epicuticular em relação à plantas de outras vegetações.

Posteriormente às alterações fisiológicas e bioquímicas, em função da presença de poluentes atmosféricos, alterações macroscópicas normalmente ocorrem em plantas nestas condições. De modo geral, poluentes atmosféricos promovem diminuição de crescimento, necroses e descoloração das folhas ou outras partes da planta (FIGUEIREDO et al, 2007), em função da intoxicação avançada. Também neste estudo, tanto em plantas de guapeva quanto em plantas de baru, sintomas de injúrias como clorose, necrose e senescência, foram verificados principalmente nas folhas jovens e nas maiores concentrações de glifosato. Esses resultados estão de acordo com Gravena (2006), em estudo com plantas de citrus, com doses crescentes de glifosato.

As injúrias observadas nas plantas de baru e guapeva são reflexos de alterações bioquímicas, fisiológicas e também estruturais, como os danos nas membranas celulares, constatado por meio do aumento da taxa de liberação de eletrólitos. Segundo estudos de Starke & Oliver (1998) com glifosato marcado, a absorção do herbicida foi efetiva já nas primeiras 72 horas após sua aplicação.

A maioria dos resultados sugere que o transporte do herbicida pode ocasionar danos na planta (YAMADA & CASTRO, 2007), porém a severidade deste dano está ligada a diversos fatores, como contato do herbicida com a planta, penetração, absorção, movimento (entre órgãos, tecidos, células e organelas), metabolismo, interação do herbicida com o sítio de ação e desencadeamento de eventos que efetivamente levem a planta à paralisação do crescimento ou morte (VELINI et al., 2009).

Sugere-se ainda, que o estresse provocado nas plantas pela aplicação de glifosato pode ser ocasionado pelo desarranjo metabólico e fisiológico, gerado pela inibição da ação da enzima EPSPS (5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase), que catalisa a reação do chiquimato 3-P com fosfoenol piruvato, essa inibição promove o acúmulo do ácido chiquímico (VELINI et al., 2008).

A inibição dessa via impede a biossíntese dos aminoácidos aromáticos triptofano, fenilalanina e tirosina. Esses aminoácidos são responsáveis pela síntese de metabólitos secundários, como compostos fenólicos e nitrogenados, que são essenciais aos processos de defesa, reprodução, proteção contra radiação ultravioleta e suporte mecânico (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Cerca de 20% dos esqueletos carbônicos do ciclo de Calvin-Benson são utilizados na produção do ácido chiquímico (ALDESUQUY & IBRAGUM, 2000) e este desequilíbrio metabólico interfere na fixação de carbono e muitas vezes induz mudanças na fluorescência da clorofila (CHRISTENSEN & TEICHER, 2003; DAYAN & ZACCARO, 2012). Estudos posteriores com as espécies do presente estudo poderão indicar de forma precisa o efeito do glifosato nesta via.

Assim, os efeitos do glifosato podem ser avaliados precocemente por meio de medidas da fluorescência da clorofila, anteriormente à detecção de sintomas de injúrias visíveis nas folhas.

## CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste estudo, com as plantas de baru e guapeva, demonstraram que ambas espécies sofreram danos nos aparatos fotossintéticos e nas estruturas morfológicas, contudo de forma mais proeminente, apenas nas maiores concentrações do herbicida glifosato.

Mediante a utilização da técnica da fluorescência da clorofila, foi possível detectar efeitos do glifosato na eficiência fotoquímica de folhas fisiologicamente maduras, antes mesmo que os sintomas visíveis fossem detectados.

Sobretudo nas doses mais elevadas, constatou-se alterações nas características das trocas gasosas, da fluorescência da clorofila *a*, no conteúdo de açúcares totais, na estabilidade das membranas celulares e nas características visuais das plantas de baru e guapeva.

A condutância estomática indicou ser o principal componente afetado pelo herbicida, influenciando desta forma, as demais características das trocas gasosas. Nesse sentido, a condutância estomática possui potencial para ser utilizada como um biomarcador da toxidez promovida pelo glifosato.

As plantas de baru apresentaram menor sensibilidade ao herbicida, e mesmo apresentando danos nas folhas, as características fisiológicas demonstraram alta estabilidade, principalmente aos 26 DAA. Esse desempenho limitaria a utilização dessa planta como biomonitora da contaminação da vegetação nativa pelo glifosato.

As plantas de guapeva foram mais sensíveis às doses do herbicida, mesmo em concentrações intermediárias. Além dos distúrbios fisiológicos observados na espécie, ela ainda apresentou alterações morfológicas características de intoxicação pelo glifosato, em menores concentrações. Assim, essa espécie possui maior potencial na utilização em estudos de biomonitoramento da contaminação da vegetação nativa, por deriva do glifosato.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, L. P.; ÁVILA, M. R. Manejo de glifosato e em soja RR e a qualidade das sementes. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 2, p. 45-54, 2010

ALDESUQUY, H. S.; IBRAHIM, A.H.A. The role of shikimic acid in regulation of growth, transpiration, pigmentation, photosynthetic activity and productivity of *Vigna sinensis* plants. **Phyton**, v. 40, n.2, p. 277-292, 2000.

BAKER, E. A. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes, 1982. Em CUTLER, D.F.; ALVIN, K.L. PRICE, C.E. The Plant Cuticle. **Academic Press**. Londres, RU. pp. 140-161.

BILGER, W. & BJÖRKMAN, O. Role of xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. **Photosynthesis Research** v. 25, p. 73-185, 1990.

BILGER, W.; SCHREIBER U.; BOCK M. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. **Oecologia**, v.102, p.425-432, 1995.

CATANEO, A.C.; DÉSTRO, G.F.G.; FERREIRA, L.C.; CHAMMA, K.L.; SOUSA, D.C.F. Atividade de glutatona s-transferase na degradação do herbicida glifosato em plantas de milho (*zea mays*). **Planta Daninha**, v.21, n.2, p.307-312, 2003.

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

CHRISTENSEN, M. G.; TEICHER, H.B.; STREIBIG, J. C. Linking fluorescence induction curve and biomass in herbicide screening. **Pesticide Management Science**, v.59, p. 1303, 2003



DAYAN, F. E.; ZACCARO, M. L. M. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 102, p. 189-197, 2012.

DRÖGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. **Physiological Reviews**, v.82, p.47–95, 2002.

DUBOIS, M; GILLES, K .A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars, and related substances. **Analytical Chemistry**., v. 28, p. 350-356, 1956

DUKE, W.B.; BRECKE, B.J. Effect of glyphosate on intact ben plants (*Phaseolus vulgaris* L.) and isolated cells. **Plant Physiology**, v. 66, p. 656-659, 1980.

EHLEINGER, J. R. Leaf absorptances of mohave and sonoran desert plants. **Oecologia** v. 49 p. 366-370, 1981

FARQUHAR, G.D.; SHARKEY, T.D. Stomatal Conductance and Photosynthesis. **Plant Physiology**, v.33, p.317-345, 1982

FERREIRA, E. A. et al. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas. II - *Bidens pilosa*, *Emilia sonchifolia*, *Ageratum conyzoides* e *Sonchus asper*. **Planta Daninha**, v. 20, n. 3, p. 327-335, 2002

FERREIRA, .; PROCÓPIO, S.O.; SILVA, .M.; SILVA, A.A.; RUFINO, R.J.N. ESTUDOS ANATÔMICOS DE F OLHAS DE ESPÉCIES DE P LANTAS DANINHAS DE GRANDE OCORRÊNCIA NO BRASIL. IV - *Amaranthus deflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Alternanthera tenella* e *Euphorbia heterophylla*. **Planta Daninha**, v.21, n.2, p.263-271, 2003

FIGUEIREDO, A.M.G.; NOGUEIRA, C.A.; SAIKI, M.; MILIAN, F.M.; DOMINGOS, M. Assessment of atmospheric metallic pollution in the metropolitan region of São

Paulo, Brazil, employing *Tillandsia usneoides* L. as biomonitor. **Environmental Pollution**, v.145, p.279-292, 2007.

FRÄNZLE, O. Complex bioindication and environmental stress assessment. **Ecological Indicators**, v. 6, p114–136, 2006.

FUCHS, M. A.; GEIGER, D. R.; REYNOLDS, T. L.; BOURQUE, J. E. Mechanisms of glyphosate toxicity in velvetleaf (*Abutilon theophrasti medikus*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.74, p. 27–39, 2002.

GALVAN, J.; RIZZARDI, M.A.; CARNEIRO, C.M.; BIANCHI, M.A. Anatomia foliar de *Iolium multiflorum* sensível e resistente ao glyphosate. **Planta Daninha**, v. 30,n. 2, p. 407-413, 2012

GRAVENA, R.; VICTORIA FILHO, R.; ALVES, P. L. C.; MAZZAFERA, P.; GRAVENA, A. R. Glyphosate has low toxicity to citrus plants growing in the field. **Canadian Journal of Plant Science**, v.92, p.119-127, 2012.

GRAVENA, R. Resposta bioquímicas e fisiológicas de plantas de citrus atingidas pelo glifosato. **Tese**. Universidade de São Paulo, 2006.

GENTY, B., BRIANTAIS, J.M. & BAKER, N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. **Biochimica et Biophysica Acta** 990:87-92, 1989.]

HESS, F. D.; FALK, R. H. Herbicide deposition on leaf surfaces. **Weed Science**, v. 38, n. 3, p. 280-288, 1990.1

HOSHIKA, Y.; OMASA, K.; PAOLETTI, E. Both ozone exposure and soil water stress are able to induce stomatal sluggishness. **Environmental and Experimental Botany**, “impresso” 2011.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. **California Agriculture Experimental Station Circular**, 347 p. 1950

HUANG, J.; SILVA, E. N.; SHEN, Z.; JIANG, B.; LU, H. Effects of glyphosate on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and physicochemical properties of cogongrass (*Imperata cylindrical* L.). **Plant Omics Journal**, v. 5, n. 2, p. 177-183, 2012.

JESUS, T. B.; CARVALHO, C.V.E. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecologia Brasiliensis**, v.12, n.4, p.680-693, 2008.

JUNG, S.; KIM, J.S.; CHO, K.Y.; TAE, G.S.; KANG, B.G. Antioxidant responses of cucumber (*Cucumis sativus*) to photoinhibition and oxidative stress induced by norflurazon under high and low PPFDs. **Plant Science**, v.153, p.145-154, 2000.

KIRKWOOD, R. C.; HETHERINGTON, R.; REYNOLDS, T. L.; MARSHALL, G. Absorption, localisation, translocation and activity of glyphosate in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L) Beauv): influence of herbicide and surfactant concentration. **Pesticide Management Science**. v. 56, p. 359-367, 2000.

KRAUSE, G. H.; WINTER, K. Photoinhibition of photosynthesis in plants growing in natural tropical forest gaps: a chlorophyll fluorescence study. **Botanica Acta**, v. 109, n. 6, p. 456-462, 1996

LI, Y.G.; LI, L.H.; JIANG, G.M.; NIU, S. L.; LIU, M.Z.; GAO, L.M.; PENG, Y.; JIANG, C.D. Traits of chlorophyll fluorescence in 99 plants species from the sparse-elm grassland in Hunshandak Sandland. **Photosynthetica**, v.2, p.243-249, 2004.

LUPÍNKOVÁ, L.; KOMENDA, J. Oxidative modifications of the Photosystem II D1 protein by reactive oxygen species: from isolated protein to cyanobacterial cells. **Photochem Photobiology**. v.79, p.152-62 2004

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

LAISK A, LORETO F. Determining photosynthetic parameters from leaf CO<sub>2</sub> exchange and chlorophyll fluorescence. **Plant Physiology** 110, 903-91, 1996.

LORRAINE-COLWILL, D.F., POWLES, S.B., Hawkes, T.R., Hollinshead, P.H., Warner, S.A.J., Preston, C., Investigations into the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v,74, p.62–72, 2003.

MACHADO, A.F.L., FERREIRA, L.R., SANTOS, L.D.T., FERREIRA, F.A., VIANA, R.G., MACHADO, M.S.; FREITAS, F.C.L. Eficiência fotossintética e uso da água em plantas de eucalipto pulverizadas com glifosato. **Planta Daninha** v. 28, n. 2, p. 319-327, 2010.

MADSEN, K.H.; HEITHOLT, J.J.; DUKE, S.O.; SMEDA, R.J.; STREIBIG, J.C. Photosynthetic parameters in glyphosate-treated sugarbeet (*Beta vulgaris* L.). **Weed Research**, v.35, p. 81-88, 1995.

MARTÍNEZ-CAYUELA, M. Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. **Ars Pharmaceutica**, v.39, p.5-18, 1998

MATEOS-NARANJO, REDONDO-GOMEZ, S.; COX, L.; CORNEJO, J. Effectiveness of glyphosate and imazamox on the control of the invasive cordgrass *Spartina densiflora*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p. 1694 – 1700, 2009.

MMA – MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE; IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite – **Acordo de cooperação técnica MMA/IBAMA** – Monitoramento do bioma cerrado, 2011.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. Chlorophyll fluorescence-*a* guide. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.51, p.659-668, 2000.

MOLDES, C.A. Respostas de enzimas e antioxidantes à aplicação do herbicida glifosato em variedades de soja transgênica e não transgênica. **Tese**. Universidade de São Paulo, 2011

MONQUERO, P.A., CHRISTOFFOLETI, P.J., OSUNA, M.D. e DE PRADO, R.A. Absorção, translocação e metabolismo do glifosato por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. **Planta Daninha**, v. 22, n. 3, p. 445-451, 2004.

MORAES, R.M., FURLAN, C.M., BULBOVAS, P., DOMINGOS, M., MEIRELLES, S.T., SALATINO, A., DELITTI, W.B.C., SANZ, M.J. Photosynthetic responses of tropical trees to short-term exposure to ozone. **Photosynthetica**, v.42, p.291-293, 2004.

MORISHIGE, D. T.; DREYFUSS, B. W. Light-harvesting complexes of higher plants. In: Raghavendra, A. S (Ed). **Photosynthesis: A comprehensive treatise**. Cambridge, Cambridge University Press. p. 18-28, 1988.

MUÑOZ-RUEDA, A; GONZALEZ-MURUA,C.; BECERRIL, J.M.; SÁNCHEZ, DÍNIZ, M.F. Efeccts of glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] on photosynthetic pigments, stomatal response and photosynthetic electron transport in *Medicago sativa* and *Trifolium pretense*. **Physiologia Plantarum**, v. 66, n. 1, p. 63-68, 1986.

PAOLETTI, M. G. Using bioindicators based on biodiversity to assess landscape sustainability. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.74, p.1-18, 1999.

PAOLETTI, M.G., BRESSAN, M. Soil invertebrates as bioindicators of human disturbance. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.15, n.1, p.21-62, 1996.

PIMENTEL, C.; SARR, B.; DIOUF, O.; ABBOUD, A. C. S.; MACAULEY, H. R. Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivados em campo. **Revista Universidade Rural**. Série Ciências da Vida, n.22, p.07-14, 2002.

RASCHER U, LIEBIG M, LÜTTGE U. Evaluation of instant lightresponse curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. **Plant Cell Environment**. V. 23 p.1397-1405, 2000.

RODRIGUES, O.L.; Produtividade e características fisiológicas do consórcio milho-braquiária. **Dissertação**, Universidade Federal de Viçosa, 2011.

SCANDALIOS, J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 995-1014, 2005.

SCHREIBER, U.; BILGER, W.; HORMANN, H.; NEUBAUER, C. In: **Photosynthesis: a comprehensive treatise**. (ed.) Raghavendra, A.S.. Cambridge University Press, Cambridge, (1998). 363p.

SCHULZE, E.D.; HALL, A.E. Stomatal responses, water loss and CO<sub>2</sub> assimilation rates of plants in contrasting environments. **Physiological Plant Ecology: II. Water relations and carbon assimilation**. Berlin: Springer-Verlag, p.181-229, 1982

SHANER, D.L.; LYON, J.L. Somatal cycling in *Phaseolus vulgaris* L. in response to glyphosate. **Plant Science Letters**, v.15, p. 83-87, 1979.

SHIEH, W. J.; GEIGER, D. R.; SERVIATES, J. C. Effect of N-(Phosphonomethyl) glycine on carbon assimilation and metabolism during a simulated natural day. *Plant Physiology*, Rockville, v. 97, n. 3, p. 1109-1114, 1991.

STARKE R.J.; OLIVER L.R. Interaction of glyphosate with chlorimuron, fomesafen, imazethapyr and sulfentrazone. **Weed Science**, v. 46, p. 652-660, 1998.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As Clorofilas. **Ciência Rural**, v.35, n.3, 2005.

OLESEN, C. F.; CEDERGREEN, N. Glyphosate uncouples gas exchange and chlorophyll fluorescence. **Pesticide Management Science**, v. 66 p. 536–542, 2010.

Omasa, K. Study on changes in stomata and their surroundings cells using a nondestructive light microscope system: responses to air pollutants. **Journal Agriculture Meteorology**, v.45, p. 251–257, 1990.

ORTÍZ, C. E. R. Avaliação fisiológica de plantas de urucum (*Bixa orellana* L.). **Tese**. Universidade Federal de Viçosa.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre. Artmed (2009). 848p.

RIZZARDI, M.A.; FLECK, N.G.; AGOSTINETTO, D.; BALDINOT JR, A.A. Ação de Herbicidas sobre mecanismos de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**. v.33, n.5, p.957-965, 2003

RONEN, R.; GALUN, M. Pigment extracion from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 24. n. 3, p. 239-245, 1984.

SILVA, J.S. Considerações sobre a ocupação do cerrado na microrregião do sudoeste de goiás: modernização versus degradação. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.3, n.1, p. 89-99, jan./abr. 2010.

VAN KOOTEN, O.; SNEL, J. F. H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v.25, n.3, p.147–150, 1990.

TEMMERMAN, L.; BELL J.N.B.; GARREC, J.P.; KLUMPP, A.; KRAUSE, G.H.M.; TONNEIJCK A.G. Biomonitoring of air pollution with plants – considerations for the future. In: A. Klumpp, W. Ansel, G. Klumpp (eds.). **Urban Air Pollution, Bioindication and Environmental Awareness**. Cuvillier Verlag, Göttingen, p. 337-373, 2004.

VASQUEZ-TELLO, A., Y. ZUILY-FODIL, A. T. PHAM THI & J. VIEIRA DA SILVA. 1990. Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. **Journal of Experimental Botany**, 41: 827-32, 1990

VARANDA, E.M.; SANTOS, D.Y.A.C. Ceras epiculares de espécies congêneres da mata e do cerrado. **Acta Botânica Brasilica**, v.10, p. 51-58, 1996.

VELINI, E.D.; ALVES,E.; GODOY, M.C.; MESCHEDE,D. K.; SOUZA, R. T.; DUKE, S.O. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pesticide Management Science**, v. 64, p.489-496, 2008.

VELINI, E. D; MESCHEDE, D. K; CARBONARI, C.A; TRINDADE, M .L. B. **Glyphosate**. 1.ed. Botucatu, FEPAF (2009). 496p.

VIDAL R. A, (1997) Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas. Porto Alegre, Brasil. pp. 39-44.

VIVANCOS, P. D.; DRISCOLL, S. P.; BULMAN, C. A.; YING, L.; EMAMI, K.; TREUMANN, A.; MAUVE, C.; NOCTOR, G.; FOYER, C. H. Perturbations of amino acid metabolism associated with glyphosate-dependent inhibition of shikimic acid metabolism affect cellular redox homeostasis and alter the abundance of proteins involved in photosynthesis and photorespiration. **Plant Physiology**, v, 157, p. 256-268, 2011.

ZOBIOLE L. H.S. ; KREMER, R. J.; OLIVEIRA JR, R.S.; CONSTANTIN, J. Glyphosate affects chlorophyll, nodulation and nutrient accumulation of “second generation” glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.99, p.53-60, 2011.

WAKABAYASH, K; BÖGER, P. Phytotoxic sites of action for molecular design of modern herbicides (Part 1): the photosynthetic electron transport system. **Weed Biology and Management**, Oxford, v. 4, n. 1, p. 8-18, 2004.



WELLBURN, A.R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology** 144:307-313, 1997.

WILKINSON, S.; DAVIES, W.; Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant community. **Plant Cell Environment**. V. 33, p.510–525, 2010.

YAMADA, T.; CASTRO, P.R.C. Efeitos do glyphosate nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, v. 119, p. 1-24, 2007.

YAN, K.; CHEN, W.; HE, X.; ZHANG, G.; XU, S.; WANG. Responses of photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant system in leaves of *Quercus mongolica* to elevated O<sub>3</sub>. **Environmental and Experimental Botany**, v.69, p. 198–204, 2010.

YANNICCARI, M.; ISTILART, C.; GIMÉNEZ, D.O.; CASTRO, A. M. Glyphosate resistance in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) from Argentina. **Crop Protection**. v.32, p. 12-16, 2012.

ZHAO TE; LIN CHAO-YANG; SHEN ZHI-CHENG. Development of Transgenic Glyphosate-Resistant Rice with G6 Gene Encoding 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate Synthase. **Agricultural Sciences in China**, v.10, p.1307-1312, 2011.