

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

**ALTERAÇÕES NAS CARACTERÍSTICAS DA
FOTOSÍNTESE E DA ANATOMIA DE FOLHAS DE
PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) SOB DERIVA
SIMULADA DE GLYPHOSATE**

Autora: Lailla Queiroz Silva
Orientador: Prof. Dr. Adriano Jakelaitis

RIO VERDE - GO
Dezembro - 2014

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA

**ALTERAÇÕES NAS CARACTERÍSTICAS DA
FOTOSSÍNTESE E DA ANATOMIA DE FOLHAS DE
PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) SOB DERIVA
SIMULADA DE GLYPHOSATE**

Autora: Lailla Queiroz Silva
Orientador: Prof. Dr. Adriano Jakelaitis

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração: Tecnologias sustentáveis em sistemas de produção e uso do solo e água.

RIO VERDE - GO
Dezembro – 2014

S581a Silva, Lailla Queiroz.

Alterações nas características da fotossíntese e da anatomia de folhas de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) sob deriva simulada de glyphosate / Lailla Queiroz Silva - 2014.

53f. : ils.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Jakelaitis.

Dissertação (Mestre em Ciências Agrárias - Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, 2014.

Bibliografia

1. Pequi. 2. Fotossíntese. 3. Agronomia. I. Título. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

CDD: 581.981

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

**ALTERAÇÕES NAS CARACTERÍSTICAS DA
FOTOSSÍNTESE E DA ANATOMIA DE FOLHAS DE
PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) SOB DERIVA
SIMULADA DE GLYPHOSATE**

Autora: Laila Queiroz Silva
Orientador: Dr. Adriano Jakelaitis

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias - Agronomia - Área de
Concentração em Tecnologias sustentáveis em sistemas de produção e uso
do solo e água

APROVADA em 4 de dezembro de 2014.

Dr. Hugo de Almeida Dan
Avaliador externo
DCR FAPEG/UniRV

Prof. Dr. Alan Carlos Costa
Avaliador interno
IF Goiano/RV

Prof. Dr. Adriano Jakelaitis
Presidente da banca
IF Goiano/RV

Prof. Dr. Sebastião Carvalho V. Filho
Avaliador interno
IF Goiano/RV

DEDICATÓRIA

Aos meus Pais, Irmão, Companheiro, Filhos, Professores, Amigos e todos que acreditaram em meu trabalho, me deram força e me fizeram acreditar que com Deus e vontade tudo é possível.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por toda graça, sabedoria, alegria, amizade, inteligência que tem me proporcionado em todos os momentos da vida e o mais importante, pela minha família que me apoia sempre.

Aos meus pais, Madalena e Edio, pelo apoio incondicional e presença nos momentos mais distintos da minha vida. Ao meu companheiro Dailton e minhas vidinhas Thauany e Thallisson, por me fazerem rir quando na verdade queria chorar, estando e fazendo parte da minha vida, além de inspiração.

A minha avó Maura, pelas orações. Ao meu maninho Eduardo e cunhada Josiane, por toda ajuda. Minhas tias Suely e Marta, pela presença, solidariedade e por terem cuidado das minhas vidinhas quando era preciso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e incentivo à pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Jakelaitis, pela orientação, amizade, confiança em mim depositadas, além de muita compreensão perante minha gestação.

Aos professores Dr. Sebastião Vasconcelos, Dr. Alan Carlos Costa, Dr^a Clarice Megger, pela disposição e colaboração para que o trabalho fosse realizado da melhor forma possível.

A todos os demais professores e servidores vinculados ao Programa de Pós Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, pelo trabalho e suporte a mim prestados durante o curso.

Ao Bruno, pela verdadeira amizade, sempre se doando sem esperar nada em troca.

A Alana, que me auxiliou nos trabalhos com muita dedicação e competência te desejo sucesso. Ao Cássio, por toda ajuda prestada.

Aos demais e não menos importantes amigos, colegas de mestrado e estagiários do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal Fábria, Roberto, Danilo, Gabriel, Ailton e Priscila e do Laboratório de Anatomia Vegetal, Arthur, Douglas e Andreza, pela colaboração, auxílio na execução do trabalho, convívio e amizade.

A todos os familiares, que de uma forma ou de outra, contribuíram para concretização deste trabalho.

A todos, meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Laila Queiroz Silva, nascida em Iporá - Goiás, porém criada desde os 5 anos de idade em Rio Verde - Goiás, filha de Edio Tavares da Silva e Madalena Regina de Queiroz Silva, em 2005, iniciou sua formação acadêmica no CEFET de Rio Verde, com o curso Técnico em Administração, concluído em 2006 juntamente com o ensino médio.

Já no ano de 2007 é aprovada no vestibular para ingresso na primeira turma do curso de Agronomia do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, concluindo o mesmo em 2011.

Paralelo à graduação desenvolveu projetos de iniciação científica no Laboratório de Sementes servindo de base para sua formação acadêmica e despertando seu interesse pela ciência.

Em 2012, foi aprovada como aluna regular do curso de Mestrado em Ciências Agrárias – Agronomia, da mesma instituição de ensino, com pretensões de defesa de título para dezembro de 2014.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	ix
RESUMO.....	
ABSTRACT.....	
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Cerrado.....	3
2.2 Pequi (<i>Caryocar brasiliense</i> Camb.).....	4
2.3 Glyphosate.....	5
2.3 Deriva.....	6
3 OBJETIVO GERAL.....	7
3.1 Objetivos específicos.....	7
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	8
4.1 Avaliações fisiológicas.....	9
4.1.1 Trocas gasosas.....	9
4.1.2 Fluorescência da clorofila <i>a</i>	9
4.1.3 Concentração de clorofila.....	10
4.2 Avaliações Visuais.....	10
4.3 Avaliações Anatômicas.....	11
5 RESULTADOS.....	12
5.1 Variáveis fisiológicas.....	12
5.1.1 Trocas gasosas.....	12
5.1.2 Fluorescência da clorofila <i>a</i>	14
5.1.3 Concentração de clorofila.....	15
5.2 Variáveis Visuais.....	16
5.3 Variáveis Anatômicas.....	19
6 DISCUSSÃO.....	25
7 CONCLUSÕES.....	29
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Taxa fotossintética (A)(A) e condutância estomática (g_s)(B) em plantas de <i>C. brasiliense</i> em função das doses de glyphosate.....	13
Figura 2.	Taxa transpiratória (E)(A) e relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a)(B) em plantas de <i>C. brasiliense</i> em função das doses de glyphosate.....	13
Figura 3.	Rendimento quântico máximo do FSII (F_v/F_m)(A) e rendimento quântico efetivo do FSII ($\Delta F/F_m'$)(B) em plantas de <i>C. brasiliense</i> em função de doses de glyphosate.....	14
Figura 4	Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR)(A) e coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ)(B) em plantas de <i>C. brasiliense</i> em função das doses de glyphosate.....	15
Figura 5	Concentração de clorofila <i>a</i> (A), clorofila <i>b</i> (B) e clorofila total (C) em plantas de <i>C. brasiliense</i> em função das doses de glyphosate.....	15
Figura 6	Sintomas visuais em folhas de <i>C. brasiliense</i> em função das doses de glyphosate. 1. Folhas do ápice e 2. Folhas do terço médio; Letra maiúscula corresponde às doses em g e.a. ha ⁻¹ , em que: A. Controle, B. 50, C. 100, D. 250, E. 500, F. 1000 e G. 1500; Cl. Clorose e Nc. Necrose; Barras à direita = 2 cm.....	17
Figura 7	Porcentagem de fitointoxicação em plantas <i>C. brasiliense</i> em função das doses de glyphosate.....	18
Figura 8	Sintomas visualizados na fitointoxicação de plantas de <i>C. brasiliense</i> em função das doses de glyphosate. A: Murcha da planta; B: Necrose e enrolamento da borda da folha; C: Necrose na região marginal da folha; D e E: Início de necrose e enrolamento foliar apical; F: Morte acentuada do ápice das plantas nas doses de 1000 e 1500 g e.a. ha ⁻¹ ; G: Murcha, clorose e necrose de folhas da planta; H: Morte da região apical seguindo para folhas mais velhas e queda acentuada de folhas na dose de 1500 g e.a. ha ⁻¹	19
Figura 9	Micromorfometria dos tecidos foliares referentes à epiderme adaxial (A), abaxial (B), parênquima paliçádico (C) parênquima esponjoso (D) e mesofilo (E) das folhas do terço médio e do ápice de plantas de	20

Figura 10

C. brasiliense em função de doses de glyphosate. Medidos em μm
 Anatomia foliar de *C. brasiliense* em função das doses de glyphosate. Corte de folhas do ápice (Ap) e Corte de folhas do terço médio (TM). Número que acompanha letra maiúscula referente a: 1. Região do feixe vascular e 2. Região do mesofilo; Letra maiúscula corresponde às doses em g e.a. ha^{-1} , em que: A (Ap) e B (TM) Controle, C (Ap) e D (TM): 50, E (Ap) e F (TM): 100, G (Ap) e H (TM): 250, I (Ap) e J (TM): 500, K (Ap) e L (TM): 1000 e M (Ap) e N (TM): 1500; Xi: Xilema; Fl: floema; Ce: Células parenquimáticas do centro da nervura; Co: Células parenquimáticas do córtex; ED: Epiderme adaxial; EB: Epiderme abaxial; PP: Parênquima paliçádico; PE: Parênquima esponjoso; Tc: Tricoma; CP: Células plasmolisadas; AC: Acúmulo de compostos; CA: Células alteradas; Nc: Necrose; CC: Células colapsadas; *: Rompimento de parede.....

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

A.....	Taxa fotossintética ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
AC.....	Acúmulo de compostos
ANOVA.....	Análise de variância
Ap.....	Ápice
B.....	Boro
Ca.....	Cálcio
CA.....	Células alteradas
CaCO ₃	Carbonato de Cálcio
CC.....	Células colapsadas
Ce.....	Células parenquimáticas do centro da nervura
Cl.....	Clorose
<i>C_i/C_a</i>	Relação entre a concentração interna e externa de CO ₂
CO ₂	Dióxido de carbono
Co.....	Células parenquimáticas do córtex
CP.....	Células plasmolisadas
Cu.....	Cobre
CV.....	Coefficiente de variação (%)
DAA.....	Dias após a aplicação
DFF.....	Densidade de fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
<i>E</i>	Taxa transpiratória ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
EB.....	Epiderme abaxial
ED.....	Epiderme adaxial
ETR.....	Taxa relativa de transporte de elétrons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

Fe.....	Ferro
Fl.....	Floema
Fm.....	Fluorescência máxima
FSII.....	Fotossistema II
Fv/Fm	Rendimento quântico máximo do fotossistema II
F_0	Fluorescência inicial
$g \text{ e.a. ha}^{-1}$	Gramas de ingrediente ácido por hectare
$g \text{ L}^{-1}$	Gramas por litro
gs	Condutância estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
H + Al.....	Hidrogênio + Alumínio
h.....	Hora
K.....	Potássio
L.....	Litros
$L \text{ ha}^{-1}$	Litros por hectare
M.....	Molar
Mg.....	Magnésio
mL.....	Mililitro
min.....	Minuto
mm^2	Milímetros ao quadrado
Mn.....	Manganês
Mo.....	Molibidênio
Nc.....	Necrose
NPQ.....	Coefficiente de extinção não fotoquímica
P.....	Fósforo
PE.....	Parênquima esponjoso
pH.....	Potencial de hidrogênio
PP.....	Parênquima paliçádico
s.....	Segundo
S.....	Enxofre
Tc.....	Tricoma
TM.....	Terço médio
Xi.....	Xilema
Zn.....	Zinco

°C.....	Graus centigradus
$\Delta F/F_m'$	Rendimento quântico efetivo
*.....	Rompimento de parede
%.....	Porcentagem

RESUMO

SILVA, LAILLA QUEIROZ. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, novembro de 2014. **Alterações nas características da fotossíntese e da anatomia de folhas de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) sob deriva simulada de glyphosate.** Orientador: Adriano Jakelaitis. Co-orientador: Alan Carlos Costa.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a intoxicação, as variáveis fisiológicas e anatômicas de plantas de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) submetidas à deriva simulada do glyphosate. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso. Para as trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, concentração de clorofila e fitointoxicação foram usadas cinco repetições e para análise visual dos sintomas e as avaliações anatômicas foram destinadas quatro repetições. A unidade experimental foi constituída por uma planta de pequi em um vaso de 18 L. Os tratamentos foram de 0 (Controle), 50, 100, 250, 500, 1000 e 1500 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, aplicado 120 dias após o transplântio. As avaliações foram realizadas aos 1, 2 e 10 DAA para as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a*, para concentração de clorofila aos 4, 10 e 24 DAA, para fitointoxicação aos 7, 14 e 21 DAA, para a análise visual dos sintomas, anatomia e micromorfometria foram coletadas folhas do ápice e terço médio das plantas aos 23 DAA. As trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a* em plantas de pequi foram afetadas com o aumento das doses de glyphosate. A concentração de clorofilas foi reduzida em doses de glyphosate superiores a 1000 g e.a. ha⁻¹ e a sintomatologia surge tardiamente. Os principais sintomas visuais de intoxicação pelo glyphosate foram murcha, clorose seguida de necrose, enrolamento das folhas dos ápices e senescência foliar, principalmente nas doses acima de 500 g e.a. ha⁻¹. O glyphosate promoveu alterações anatômicas nas folhas de pequi, principalmente nas doses superiores a 500 g e.a. ha⁻¹, e os danos foram células plasmolisadas, ruptura da epiderme, hiperplasia, células colapsadas, tecidos necrosados e acúmulo de compostos fenólicos.

PALAVRAS-CHAVES: Fotossíntese, herbicida, anatomia foliar, fitointoxicação.

ABSTRACT

SILVA, LAILLA QUEIROZ. Goiás Federal Instituto - Campus Rio Verde - GO, november 2014. **Changes in photosynthesis characteristics and anatomy of pequi leaves (*Caryocar brasiliense* Camb.) under simulated glyphosate drift.** Advisor: Adriano Jakelaitis. Co - advisor: Alan Carlos Costa.

The objective of this study was to evaluate intoxication, physiological and anatomical variables of pequi plants (*Caryocar brasiliense* Camb.) subjected to simulated glyphosate drift. There were used the randomized block design. For gas exchange, *a* chlorophyll fluorescence, chlorophyll concentration and phytotoxicity were used five replications and for visual analysis of symptoms and anatomical assessments were designed four replications. The experimental unit was constituted by a pequi plant in a pot of 18 L. The treatments were 0 (control), 50, 100, 250, 500, 1000 and 1500 g e.a. ha⁻¹ of glyphosate, applied 120 days after transplanting. The evaluations were performed at 1, 2 and 10 DAA for gas exchange and *a* chlorophyll fluorescence, for chlorophyll concentration at 4, 10 and 24 DAA, for phytotoxicity at 7, 14 and 21 DAA, for visual analysis of symptoms, anatomy and micromorphometrics apex of the leaves were collected and middle third of the plants at 23 DAA. Gas exchange and *a* chlorophyll fluorescence in Pequi were affected with increased rates of glyphosate. The chlorophyll concentration was reduced by glyphosate doses higher than 1000 g e.a. ha⁻¹ and the symptoms appear later. The main visual symptoms by glyphosate were wilting, chlorosis followed by necrosis, wrapping leaves of the apex and leaf senescence, especially in doses above 500 g e.a. ha⁻¹. Glyphosate promoted anatomical changes in leaves of pequi, especially in doses higher than 500 g e.a. ha⁻¹, and the damage was plasmolised cells, epidermal disruption, hyperplasia, collapsed cells, necrotic tissue and accumulation of phenolic compounds.

Key words: Photosynthesis, herbicide, leaf anatomy, plant injury.

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo domínio brasileiro que mais sofreu alterações com a expansão das fronteiras agrícolas. Devido ao incremento a produção de carne e de grãos para exportação, tem-se promovido esgotamento dos seus recursos naturais (MMA, 2009).

O pequizeiro é uma árvore símbolo do cerrado (DUBOC et al., 2009; MAY et al., 2001). Caracteriza-se por apresentar interesse econômico, principalmente pelo uso do seu fruto na culinária regional (ALMEIDA e SILVA, 1994) e constituir importante fonte de renda familiar das comunidades rurais (SANTOS et al., 2013).

O glyphosate é um dos herbicidas mais utilizados em todo o mundo. Sua utilização aumentou significativamente na última década principalmente por causa da expiração da sua patente em 2000, que culminou com a redução do seu custo e a adoção de culturas geneticamente modificadas que são resistentes aos seus efeitos tóxicos (SAMSEL e SENEFF, 2013).

Este herbicida age inibindo a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs). Afeta a via metabólica do chiquimato, responsável pela produção dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano (VELINI et al., 2009), que são indispensáveis na síntese de proteínas, divisão celular e crescimento da planta e levando a morte (FRANÇA et al., 2010).

Tem-se destacado entre os herbicidas não seletivos utilizados no manejo de plantas daninhas pelas suas características físico-químicas e econômicas, bem como pelo controle de grande número de espécies mono e dicotiledôneas (FRANÇA et al., 2010). Por não ser seletivo pode apresentar risco, pela deposição do produto fora do alvo (processo conhecido como deriva), causando sérios problemas ambientais e

econômicos (TIBURCIO et al., 2012), comprometendo o controle das plantas daninhas (PEREIRA et al., 2010).

A deriva de herbicidas é um problema atual e causa graves prejuízos em culturas adjacentes, sendo de grande importância a sua detecção e a identificação dos danos promovidos. O grau de injúria e os sintomas dependem de diversos fatores como a espécie cultivada não alvo, o estágio de desenvolvimento, o clima, a dose e a quantidade de princípios ativos que chegam à planta (RIGOLI et al., 2008; PEREIRA et al., 2010).

Pesquisas com “deriva simulada” de herbicidas têm possibilitado a avaliação da ocorrência de injúrias da queda no crescimento e até mesmo a morte da planta pela ação do glyphosate (TUFFI SANTOS et al., 2009; MACHADO et al., 2010). Os principais sintomas visuais observados após a intoxicação é a clorose da planta seguida de necrose (FRANÇA et al., 2010). Os danos de fitointoxicação representam a forma rápida na identificação da ocorrência de efeitos subletais no metabolismo das plantas (WAGNER e MEROTTO JUNIOR, 2014).

Outra importante ferramenta que auxilia na detecção dos danos provocados por herbicidas são as avaliações anatômicas da folha que determinam a facilidade com que os mesmos são absorvidos, interceptados ou retidos, e, a sua definição pode contribuir no entendimento sobre a barreira que cada espécie impõe a sua penetração (COSTA et al., 2011). As alterações micromorfológicas antecedem os danos visuais (TUFFI SANTOS et al., 2009).

Da mesma forma, a fotossíntese pode ser influenciada por diferentes herbicidas deslocados do local de aplicação pela deriva (MACHADO et al., 2010). O glyphosate é um deles e influencia de forma indireta nos processos fotossintéticos (WAGNER e MEROTTO JUNIOR, 2014) promovendo alterações no metabolismo do carbono e indução da fluorescência (ZOBIOLE et al., 2011). Neste contexto, a mensuração das trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a* e da concentração de clorofila podem constituir em importantes biomarcadores da ação deste herbicida no metabolismo da planta, mesmo submetidas a baixas doses.

Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a intoxicação, as variáveis fisiológicas e anatômicas de plantas de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) submetidas à deriva simulada do glyphosate.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cerrado

O cerrado é um dos maiores domínios brasileiros, conhecido por sua riqueza e diversidade, possui cerca de 2 milhões de km² de área, ou 22% do território nacional sendo ainda cortado pelas três das maiores bacias hidrográficas da América do Sul (SOUSA et al., 2012). É uma das 25 áreas no planeta mais ricas, apresentando diversas formações vegetais, variando desde campos abertos até formações densas de florestas (EMBRAPA, 2007). Sua vegetação constitui de plantas com folhas largas, espessas e rígidas, lisas e serosas ou ásperas e pilosas, características de ambientes áridos (RIBEIRO, 2005). Apresenta quase 12 mil espécies de plantas registradas, sendo que pelo menos 200 possuem algum potencial econômico. Dentre estas, o pequi se destaca sob o ponto de vista do agroextrativismo (OLIVEIRA et al., 2008). Seus frutos são muito apreciados pela população regional tanto no preparo de pratos típicos, como conserva, bebidas e óleo, tendo potencial para produção de biodiesel (DUBOC et al., 2009).

O clima da região é tropical estacional com período chuvoso que dura de outubro a março, com verão quente e inverno seco de abril a setembro. Apresenta pluviosidade média de 1300 a 1600 mm e temperaturas geralmente amenas ao longo do ano, entre 22 °C e 27 °C em média (KLINK e MACHADO, 2005; RIBEIRO e WALTER, 2008).

Com a implementação da “Revolução Verde” em meados 1970 houve a explosão das atividades agropecuárias no cerrado, sendo introduzidas gramíneas exóticas e extensas áreas cultivadas com milho, soja e outros grãos. Posteriormente em meados de 1980, a agricultura se tornou intensiva com a viabilização tecnológica do

cultivo da soja e o predomínio das grandes propriedades (AFONSO, 2012). Neste contexto, as principais ameaças à biodiversidade no Cerrado nos últimos tempos estão na expansão da agricultura e pecuária que se expandiu com uso intensivo de agrotóxicos, fertilizantes e corretivos, uso inadequado de fatores de produção, e emprego de alta tecnologia química e intensa mecanização (CUNHA et al., 2008).

2.2 Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)

Pertencente à família Caryocaraceae, o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma planta perene, frutífera ou oleaginosa, encontrada nos Cerrados brasileiros, popularmente chamada de pequi, piqui, piqui-do-cerrado, amêndoa de espinho, grão de cavalo, pequiá. Seu nome tem origem do tupi-pyqui, significando casca espinhosa. Possui distribuição nos estados da Bahia, Ceará, Pará, Maranhão, Piauí, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo (HERINGER, 1962; ALMEIDA e SILVA, 1994; ALMEIDA et al., 1998; MACEDO, 2005).

Apresenta floração nos meses de agosto a novembro, e a maturação dos frutos em meados de novembro, podendo ser encontrados até fevereiro. A planta pode atingir até 15 m de altura com produção média de quinhentos a dois mil frutos. Possui fruto do tipo drupoide, com mesocarpo carnoso, aromático e rico em tanino. O endocarpo possui uma camada de espinhos finos e rígidos. Possui de uma a cinco sementes com o formato de rim (SANTOS et al., 2013).

O pequi apresenta diversas utilizações. Sua casca e folhas fornecem uma tinta amarela acastanhada empregada em curtume (CARLOS et al., 2014). A madeira é utilizada como moirões, lenha, construção civil e naval, dormentes, fabricação de móveis e fonte de carvão para siderúrgicas. As folhas do pequi são usadas na medicina popular (OLIVEIRA et al., 2008). Os frutos são bastante apreciados na culinária regional e na fabricação de conservas, licores e sorvetes. Da castanha se faz farofas e doces e do óleo pode ser destinado a produção de biodiesel, na culinária e na produção de cosméticos (DUBOC et al., 2009; SANTOS et al., 2013)

A exploração dos frutos é realizada por meio extrativista e constitui importante fonte de renda familiar da comunidade rural. São comercializados por vendedores ambulantes, Centrais de Abastecimento Regionais (CEASA), supermercados e feiras e a maior dificuldade na comercialização e no consumo constante do pequi é o período extenso da entressafra (OLIVEIRA, 2006; SANTOS et al., 2013).

Na Central de Abastecimento do Estado de Goiás S.A. (CEASA-GO), o volume de comercialização de frutos de pequi, no ano de 2013, foi de aproximadamente 4.973,31 toneladas, com valor médio de venda de R\$ 1.191,96 a tonelada (CEASA – GO, 2013).

2.3 Glyphosate

O glyphosate foi descoberto por um químico suíço na década de 1950 em uma companhia farmacêutica, porém suas propriedades herbicidas foram descobertas no início da década de 1970. Chegou ao mercado como princípio ativo do Roundup® lançado pela empresa MONSANTO. Após duas décadas de seu lançamento, havia no mercado dezenas de marcas comerciais formuladas a partir desse ingrediente ativo (HALTER, 2009).

Foi registrado inicialmente na Malásia em cultivos de seringueira e no Reino Unido para o trigo. Dois anos mais tarde nos Estados Unidos sendo primeiramente usado em áreas sem destino agrícolas e logo após recomendado para quatro culturas e para o controle de plantas daninhas. Seu uso expandiu rapidamente e atualmente hoje está presente em mais de 120 países com mais de 150 marcas comerciais (HALTER, 2009; GALLI, 2009).

O glyphosate é um herbicida não seletivo, muito empregado por controlar inúmeras plantas daninhas (mono e dicotiledôneas). É recomendado em pós-emergência e apresenta ação sistêmica. Pertence ao grupo químico das glicinas substituídas, e é absorvido por partes verdes e translocado pelo floema para os tecidos meristemáticos (FRANÇA et al., 2010; RIGOLI et al., 2008).

O mecanismo de ação deste herbicida é representado pela inibição da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) afetando a via metabólica do chiquimato, que é responsável pela produção principalmente de aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano (REIS et al., 2014). Esses aminoácidos aromáticos são precursores de várias famílias de compostos envolvidos no desenvolvimento normal da planta e também no sistema de defesa (VELINI et al., 2009).

Em plantas que apresentam susceptibilidade ao glyphosate, a molécula não se liga à enzima livre, mas ao complexo da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase – chiquimato-3-fosfato (EPSPs-S3P), que impede a ligação do fosfoenolpiruvato (PEP) e formação do complexo inativo EPSPs-S3P-glyphosate. A ligação do glyphosate

ao complexo EPSPs-S3P é 75 vezes mais forte do que com PEP e sua dissociação é 2000 vezes mais lenta (VELINI et al., 2009). Cerca de 20 % do carbono fixado pelas plantas passam pela rota do ácido chiquimato, o seu bloqueio aumenta seus teores, diminui a produção dos aminoácidos e reduz a eficiência fotossintética (MESCHEDE et al., 2012).

A degradação do glyphosate pode ser por via química, biológica ou a interação das duas, sendo a via biológica a mais atuante. Quando chega ao solo, liga-se fortemente a argila e a matéria orgânica, e dessa forma, fica indisponível às plantas (ARAÚJO, 2002).

No Brasil, tem registro para as culturas do algodão, ameixa, arroz, banana, cacau, café, cana-de-açúcar, citros, coco, eucalipto, feijão, fumo, maçã, mamão, milho, nectarina, pastagens, pêra, pêssago, pinus, seringueira, soja, trigo e uva e nas forrageiras azevém e aveia preta (GALLI, 2009).

2.3 Deriva

O contato indesejado de herbicidas com organismos não alvos é caracterizado como deriva, e pode provocar prejuízos às plantas adjacentes (TUFFI SANTOS et al., 2006). Os danos provocados pela deriva dependem da concentração e da quantidade do glyphosate que vai chegar nas plantas (COSTA et al., 2009). França et al. (2013) afirma que o movimento do herbicida durante a aplicação pode variar de 1 a 10% do volume aplicado. Dentre as principais causas da deriva estão relacionadas a equipamentos de aplicação, as formulações utilizadas e as condições meteorológicas (TIBURCIO et al., 2012).

A utilização de barreiras físicas pode ser uma forma para evitar o contato indesejado das gotas do glyphosate no momento da pulverização, outros cuidados importantes que devem ser tomados na aplicação é a pressão de trabalho do pulverizador, a altura da barra, a velocidade de operação e o vento (FRANÇA et al., 2010).

A deriva de herbicidas é um problema grave causando grandes prejuízos em plantas adjacentes e ao meio ambiente, pode ainda comprometer o controle de plantas daninhas e levar o aumento compensatório da dose elevando o custo, sendo de grande importância sua detecção e a identificação dos danos promovidos (RIGOLI et al., 2008; PEREIRA et al., 2010).

3. OBJETIVO GERAL

Objetivou-se avaliar a intoxicação, as variáveis fisiológicas e anatômicas de plantas de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) submetidas à deriva simulada do glyphosate.

3.1 Objetivos Específicos

Avaliar e descrever os sintomas visuais relacionados a intoxicação de plantas de pequi submetidas à deriva simulada de glyphosate.

Determinar quais variáveis fisiológicas e anatômicas do pequizeiro são afetadas pelo glyphosate aplicados em diferentes dosagens.

Delimitar qual a dose de glyphosate, a partir da qual promove danos fisiológicos, visuais e anatômicos em plantas de pequizeiro expostos a deriva do herbicida.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação climatizada localizada no IF Goiano Campus – Rio Verde. As mudas de *Caryocar brasiliense* Camb. foram adquiridas em viveiro procedente da cidade de Guapó-GO. Foram adquiridas com altura média de 30 cm e posteriormente transplantadas para vasos com volume de 18 litros. Para o preenchimento dos vasos, utilizou-se terra de subsolo, acrescentado de fertilizantes, conforme análise química do solo, substrato utilizado possuía as seguintes características: pH em CaCl₂ de 5,6; 22,84 mg dm⁻³ de P; 190 mg dm⁻³ de K; 5,98 cmol_c dm⁻³ de Ca; 1,80 cmol_c dm⁻³ de Mg; 2,80 cmol_c dm⁻³ de H+Al; 24,5 g dm⁻³ de matéria orgânica e 74,7% de saturação por bases. No preparo do substrato foram utilizados 100 g/vaso de superfosfatos simples e 20 g/vaso de cloreto de potássio. Após transplante da muda a cada 30 dias foram utilizados 2g/vaso do produto comercial Forth Jardim[®], contendo (N: 13; P₂O₅: 5; K₂O: 13; B: 0,04; Ca: 1; Cu: 0,05; S: 5; Fe: 0,2; Mg: 1; Mn: 0,08; Mo: 0,005; Zn: 0,15%, respectivamente). Decorridos 120 dias do transplante as mesmas foram separadas por tamanho para a padronização dos blocos e foi iniciada a aplicação dos tratamentos.

A aplicação do herbicida glyphosate (Roundup Transorb[®], 480 g L⁻¹ do equivalente ácido) foi realizada utilizando pulverizador costal com pressão constante mantida por CO₂ comprimido, munido de barra com quatro pontas de pulverização e bico da série XR Teejet[®], tipo leque modelo XR11002 – VP. Aplicou-se 120 L ha⁻¹ de calda. A aplicação foi realizada às oito horas e no momento da aplicação a velocidade do vento era de 2.9 m s⁻¹, a temperatura média de 18,3 °C e umidade relativa de 90%. Os vasos foram transferidos para casa de vegetação após a aplicação dos tratamentos.

O experimento foi disposto em blocos ao acaso. Os tratamentos corresponderam a sete doses de glyphosate: 0 (Controle), 50, 100, 250, 500, 1000 e 1500 g e.a. ha⁻¹. A unidade experimental foi de um vaso contendo uma planta de pequi. Para as variáveis relacionadas às trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, teor de clorofila e fitointoxicação foram usadas cinco repetições e para análise visual dos sintomas e as avaliações anatômicas foram destinadas quatro repetições.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F e ajustados aos modelos de regressão, adotando o nível de significância de 5%. Os modelos foram escolhidos pela simplicidade, significado biológico e pelo coeficiente de determinação. As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa estatístico Assistat versão 7.7 beta 2014 (SILVA e AZEVEDO, 2009) e pelo software Sigmaplot V.12 (SPSS Inc., USA).

4.1 Avaliações fisiológicas

4.1.1 Trocas gasosas

As trocas gasosas das plantas de *C. brasiliense* foram avaliadas para registro das taxas fotossintéticas (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e transpiratória (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), da condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e da relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a). Estas avaliações foram realizadas utilizando analisador automático de fotossíntese modelo LI-6400XTR (Licor®, Nebraska, Estados Unidos) com temperatura do bloco de 24 °C e densidade de fluxo de fótons igual a 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

As avaliações foram realizadas no terceiro par de folhas totalmente expandidas, entre as 08h30min e 10h30min. Em cada folha foi utilizada sempre a mesma área. Foram realizadas avaliações com 1, 2 e 10 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos.

4.1.2 Fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada no terceiro par de folhas totalmente expandidas, paralelamente às medições de trocas gasosas, utilizando fluorômetro portátil modulado modelo MINI-PAM (Walz, Effeltrich, Germany), equipado com pinça especial para suporte da folha modelo 2030-B. As análises foram feitas segundo a metodologia proposta por Bilger et al. (1995) e Rascher et al. (2000). Inicialmente, as

folhas foram adaptadas ao escuro por 30 minutos. Após este período, os tecidos foliares foram expostos a luz vermelha modulada ($0,03 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e foi determinada a fluorescência inicial (F_0). Seguiu-se a aplicação de um pulso de 0,8 s de luz actínica saturante ($>6000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e foi determinada a fluorescência máxima (F_m). Com estes dados, pôde-se estimar o rendimento quântico potencial do fotossistema II, utilizando a equação $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$.

O rendimento quântico efetivo do fotossistema II (GENTY et al., 1989) foi determinado por meio da sobreposição de um 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 e LORETO, 1996); e 0,84 é o valor correspondente à fração de luz incidente absorvida pelas folhas (EHLERINGER, 1981). O coeficiente de extinção não fotoquímica de Stern-Volmer foi calculado como $\text{NPQ} = (F_m - F_m')/F_m'$ (BILGER e BJORKMAN, 1990).

As avaliações foram realizadas entre as 08h30min e 10h30min. Em cada folha foi utilizada sempre a mesma área. Foram realizadas avaliações com 1, 2 e 10 DAA.

4.1.3 Concentração de clorofila

A concentração de clorofila foi avaliada com medidor portátil, ClorofiLOG1030® (Falker®, Porto Alegre, Brasil), sendo obtido o teor de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total, expressos no índice Clorofilog.

As avaliações foram realizadas no terceiro par de folhas totalmente expandidas. Foram realizadas avaliações aos 4, 10 e 24 DAA.

4.2 Avaliações Visuais

As avaliações de fitointoxicação das plantas pelo glyphosate foram realizadas aos 7, 14 e 21 DAA, por meio da observação visual de cada unidade experimental, atribuindo notas de 0 a 100%, correspondendo a nenhum sintoma e morte total da

planta, respectivamente (SBCPD, 1995). Foram obtidas imagens (Máquina Fujifilm FinePix SL300[®] São Paulo, Brasil) das folhas do ápice e do terço médio de *C. brasiliense* aos 23 DAA do glyphosate, referentes aos danos visuais provocadas pelo efeito do herbicida.

4.3 Avaliações Anatômicas

Para as avaliações anatômicas foram coletados duas folhas completamente expandidas de cada planta, sendo uma do ápice e outra do terço médio da planta aos 23 DAA do glyphosate. De cada folha, foi retirada uma amostra de aproximadamente 25 mm² da região mediana, compreendendo a nervura central. Os cortes feitos foram colocados em tubos de ensaio com tampa e fixados em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) por 24 horas sendo posteriormente desidratadas em séria etílica crescente, pré-infiltradas e infiltradas em historesina (Historesin Leica) conforme recomendação do fabricante.

Os cortes foliares foram seccionados transversalmente a 5µm de espessura, em micrótomo rotativo (Modelo 1508R). Posteriormente, as secções transversais foram colocadas sobre lâminas histológicas, coradas com azul de toluidina – coloração policromática, a 0,05% em tampão fosfato 0,1 M, pH 6,8 (O'BRIEN et al., 1964) e as lâminas permanentes montadas com Bálsamo do Canadá.

As imagens foram obtidas em microscópio da marca Olympus modelo BX61, com câmera DP-72 e depois submetidas a análises micromorfométricas, sendo determinadas: a altura da epiderme das faces adaxial e abaxial, a espessuras do parênquima paliádico e esponjoso e do mesofilo. Os dados foram obtidos com auxílio do *software* ImageJ – Image Processing and Analysis in Java, versão 1.47, perfazendo o total de seis observações por repetição para cada avaliação.

5 RESULTADOS

5.1 Variáveis Fisiológicas

5.1.1 Trocas gasosas

Observaram-se efeitos significativos para as variáveis fisiológicas relativas à taxa fotossintética, condutância estomática, taxa transpiratória e relação entre a concentração interna e externa de CO₂ em avaliações realizadas aos 1, 2 e 10 dias após a aplicação (DAA) (Figuras 1 e 2).

Para a taxa fotossintética os resultados se ajustaram a modelos quadráticos, que comprovaram os efeitos negativos do glyphosate sobre as plantas de pequi em função das doses aplicadas (Figura 1A). Um dia após a aplicação observou efeito pronunciado e queda na taxa fotossintética, com redução de 9 para 4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ correspondente a 55 % menor para a maior dose 1500 g e.a. ha⁻¹ se comparada ao controle. Aos 2DAA simultaneamente houve redução de 9 para 5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ou 49 % em relação a maior dose e o controle e aos 10DAA de 9 para 3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ representando 63 % em relação a maior dose e ao controle (Figura 1A).

Ocorreu redução na condutância estomática do pequi à medida que se aumentaram as doses de glyphosate com redução de 68 % no primeiro dia após a aplicação, aos 2DAA com redução 53% e aos 10DAA com redução de 75% para a maior dose 1500 g e.a. ha⁻¹ comparada com o controle, os modelos que descrevem a resposta se ajustaram a modelos lineares (1 e 10DAA) e quadráticos (2DAA) (Figura 1B).

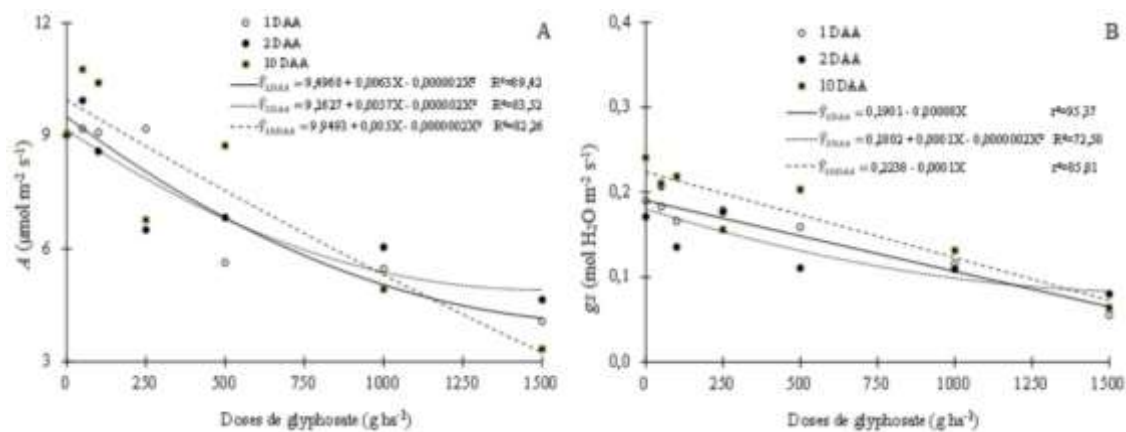


Figura 1. Taxa fotossintética (A) e condutância estomática (gs)(B) em plantas de *C. brasiliense* em função das doses de glyphosate.

Para a taxa transpiratória, os efeitos observados foram similares à taxa fotossintética e de condutância estomática para todas as épocas avaliadas (Figura 2A) sendo mais pronunciada aos 10DAA, com redução de 68% para a maior dose de herbicida em relação ao controle.

A relação C_i/C_a também foi afetada pelas doses do produto havendo aumento da concentração interna de CO₂ em função do aumento das doses do herbicida. Os modelos que descrevem a resposta se ajustaram a modelos lineares e se caracterizou por aumento de 70% aos 1 e 10DAA, e de 53% aos 2DAA com relação a maior dose e o controle. (Figura 2B).

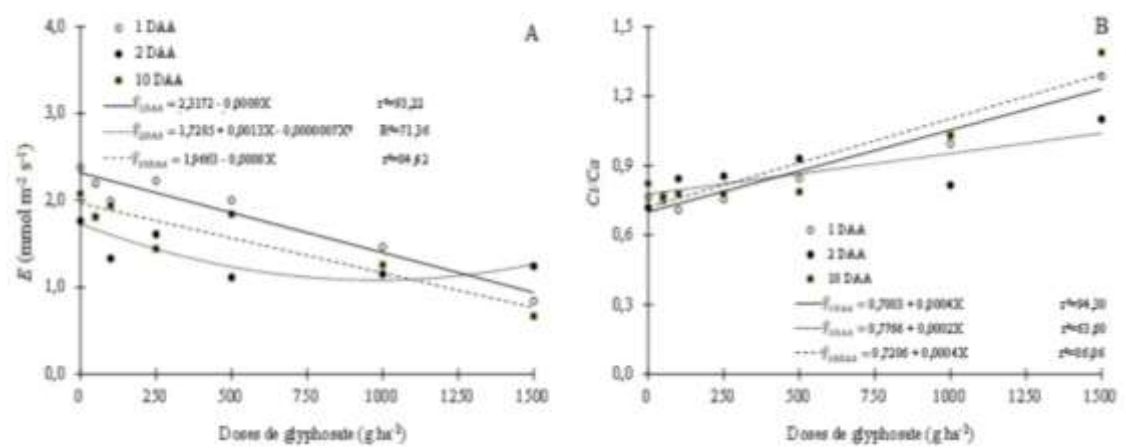


Figura 2. Taxa transpiratória (E)(A) e relação entre a concentração interna e externa de CO₂ (C_i/C_a)(B) em plantas de *C. brasiliense* em função das doses de glyphosate.

5.1.2 Fluorescência da clorofila *a*

Observaram-se efeitos das doses de glyphosate nas variáveis concernentes a fluorescência da clorofila *a* observadas nas diferentes épocas de avaliação após a aplicação do glyphosate (Figuras 3 e 4).

Aos 10 DAA nas doses acima de 500 g e.a. ha⁻¹ o herbicida promoveu efeitos negativos no aparato fotossintético (Figura 3A) com redução de 15% em relação a maior dose e o controle. Para as demais avaliações do rendimento quântico máximo do FSII (F_v/F_m) os valores ficaram entre 0,81 e 0,82 para 1 e 2 DAA, respectivamente (Figura 3A).

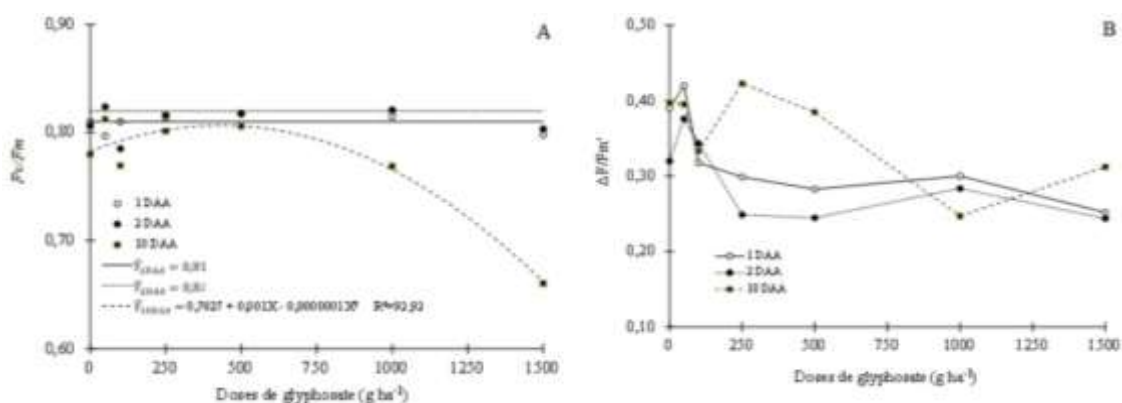


Figura 3. Rendimento quântico máximo do FSII (F_v/F_m)(A) e rendimento quântico efetivo do FSII ($\Delta F/F_m'$)(B) em plantas de *C. brasiliense* em função de doses de glyphosate.

Para o rendimento quântico efetivo do FSII ($\Delta F/F_m'$) e a ETR houve comportamento semelhante manifestado pela redução destas variáveis em função do aumento das doses de glyphosate, contudo, não foram possíveis os ajustes dos modelos de regressão linear e não linear, sendo os resultados representados por gráficos de linhas (Figuras 3B e 4A). Foram observadas para ambas as variáveis, que aos 10 DAA nas doses de 250 e 500 g e.a. ha⁻¹ houve a possível recuperação da planta, e em doses superiores queda expressiva nestes valores.

Já para o NPQ (Figura 4 – B) os resultados se ajustaram ao modelo quadrático e foram observados acréscimo dos valores com o aumento das doses principalmente aos 10DAA.

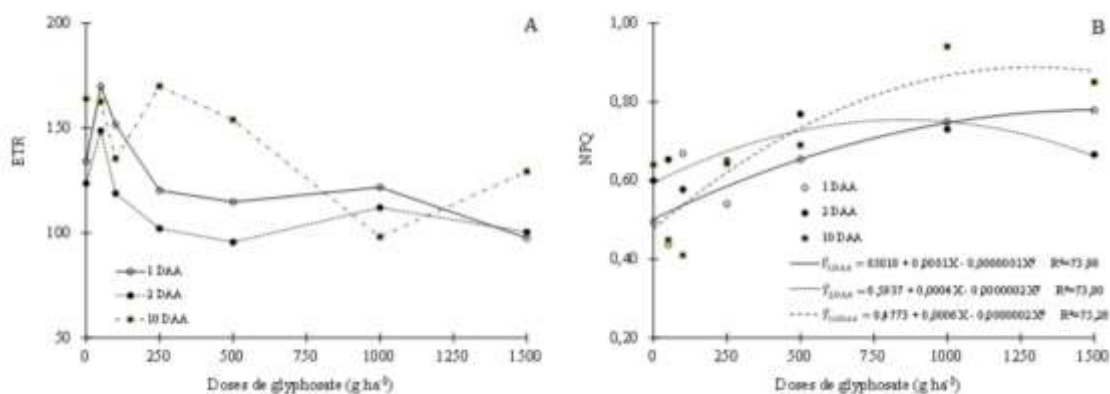


Figura 4. Taxa relativa de transporte de elétrons (ETR)(A) e coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ)(B) em plantas de *C. brasiliense* em função das doses de glyphosate.

5.1.3 Concentração de clorofila

Aos 4 e 10 DAA para as variáveis clorofila *a*, *b* e total não foram observados efeitos significativos em função das doses aplicadas (Figuras 5 – A, B e C). Contudo aos 24 DAA em doses superiores a 1000 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate houve redução no teor de clorofila *a*, *b* e total (Figuras 5 – A, B e C).

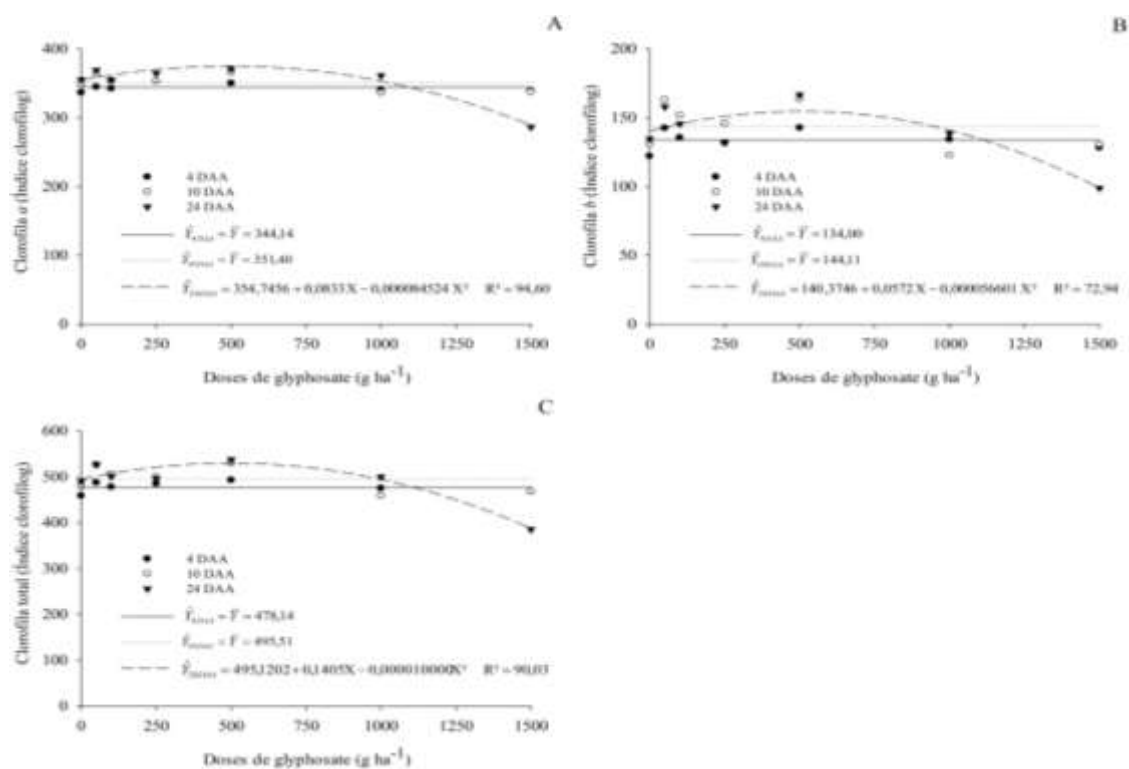


Figura 5. Concentração de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B) e clorofila total (C) em plantas de *C. brasiliense* em função das doses de glyphosate.

5.2 Variáveis Visuais

Nas folhas das plantas de *C. brasiliense* foi observado clorose leve em doses acima de 250 g e.a. ha⁻¹ na região do ápice (Figura 6 – D1, E1, F1 e G1) com início de necrose nas doses acima de 500 g e.a. ha⁻¹ (Figura 6 – E1, F1 e G1). A clorose ocorreu na região marginal das folhas, e a necrose foi observada, principalmente, nas margens e ápice foliar.

Os sintomas visuais observados foram maiores em doses acima de 500 g e.a. ha⁻¹ e somente em folhas da região do ápice (Figura 6 – E1, F1 e G1). Não foram observados danos visuais na dose de 50 e 100 g e.a. ha⁻¹ para folhas do ápice (Figura 6 – B1 e B2). E não foram observados danos visuais para folhas do terço médio (Figura 6 – A2, B2, C2, D2, E2, F2 e G2).

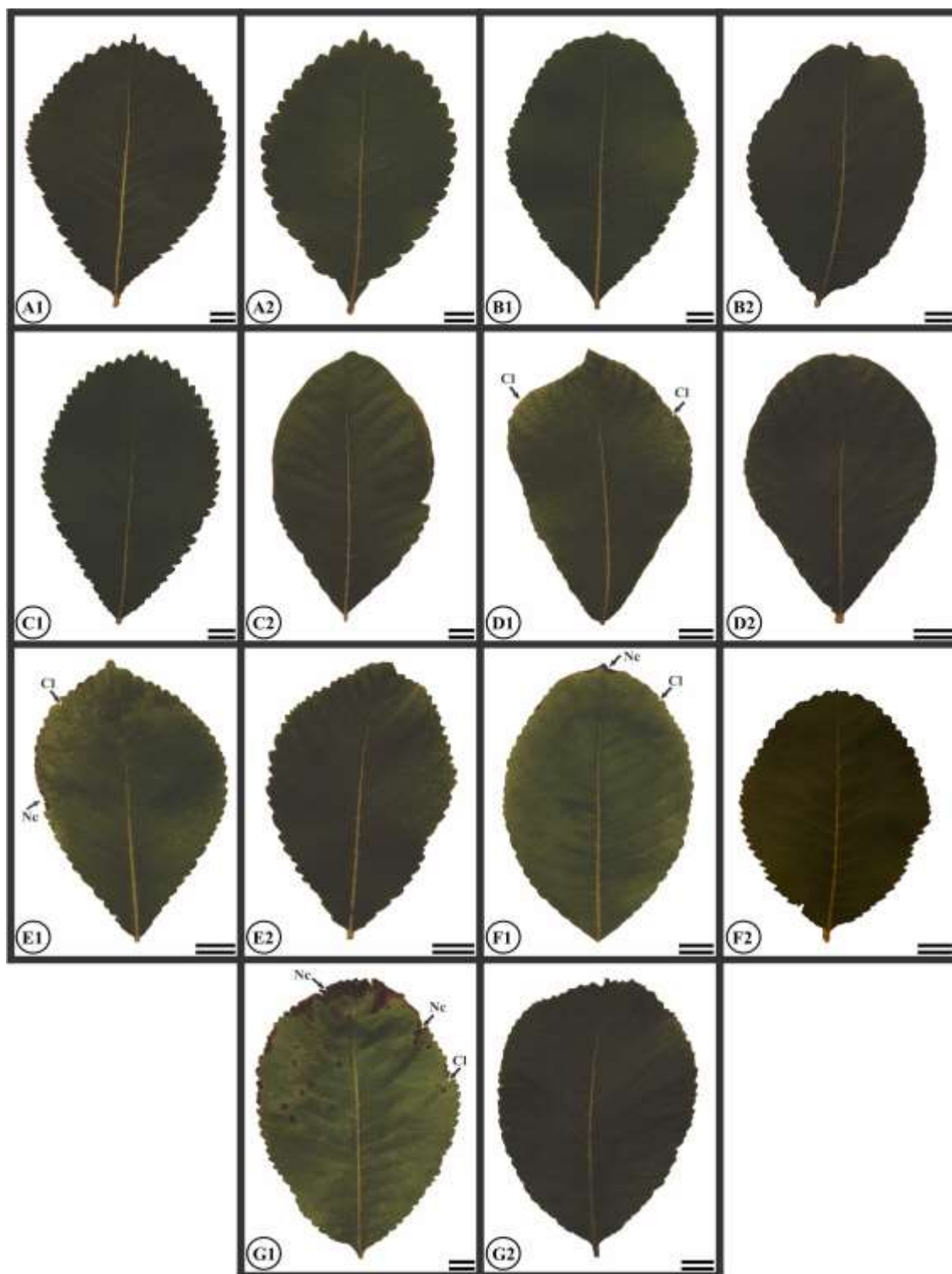


Figura 6. Sintomas visuais em folhas de *C. brasiliense* em função das doses de glyphosate. 1. Folhas do ápice e 2. Folhas do terço médio; Letra maiúscula corresponde às doses em g e.a. ha⁻¹, em que: A. Controle, B. 50, C. 100, D. 250, E. 500, F. 1000 e G. 1500; Cl. Clorose e Nc. Necrose; Barras a direita = 2 cm.

A intoxicação das plantas variou em função do aumento das doses testadas ($p < 0,05$) aos 7, 14 e 21 DAA, sendo tanto maior quanto maiores as doses de glyphosate (Figura 7). Aos 7 DAA houve aumento dos danos até 250 g e.a. ha⁻¹ e em doses superiores houve a estabilização dos efeitos. Aos 14 e 21DAA houve aumento linear das injúrias com o acréscimo da dose, com mais de 50% de danos em relação a maior dose de 1500 g e.a. ha⁻¹ e o controle.

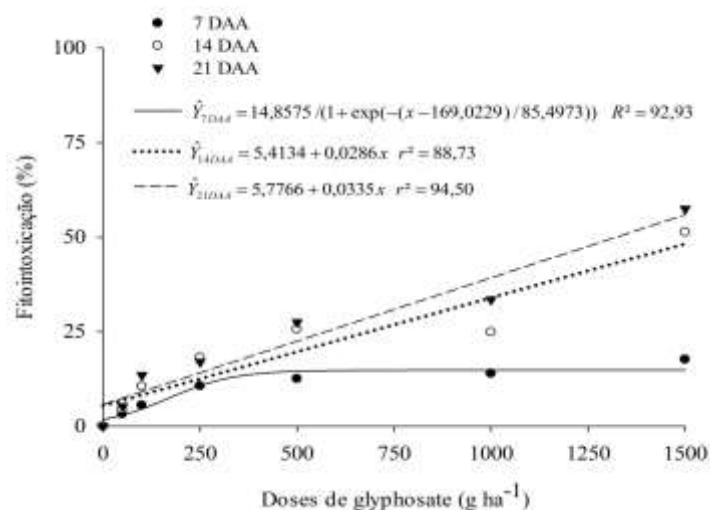


Figura 7. Porcentagem de fitointoxicação em plantas *C. brasiliense* em função das doses de glyphosate.

Na espécie estudada, verificou-se inicialmente murcha, clorose não muito acentuada (Figura 8 – A e G), enrolamento das folhas dos ápices e necrose das bordas de plantas pulverizadas com as doses a partir de 250 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate (Figura 8 – B, C, D e E) e com maior intensidade nas doses de 1000 e 1500 g e.a. ha⁻¹. Os sintomas nas plantas evoluíram para ápices deformados (Figura 8 – F), necroses bem desenvolvidas nos bordos das folhas, senescência foliar acentuada (Figura 8 – H) em doses a partir de 500 g e.a. ha⁻¹ a partir dos 14 DAA.

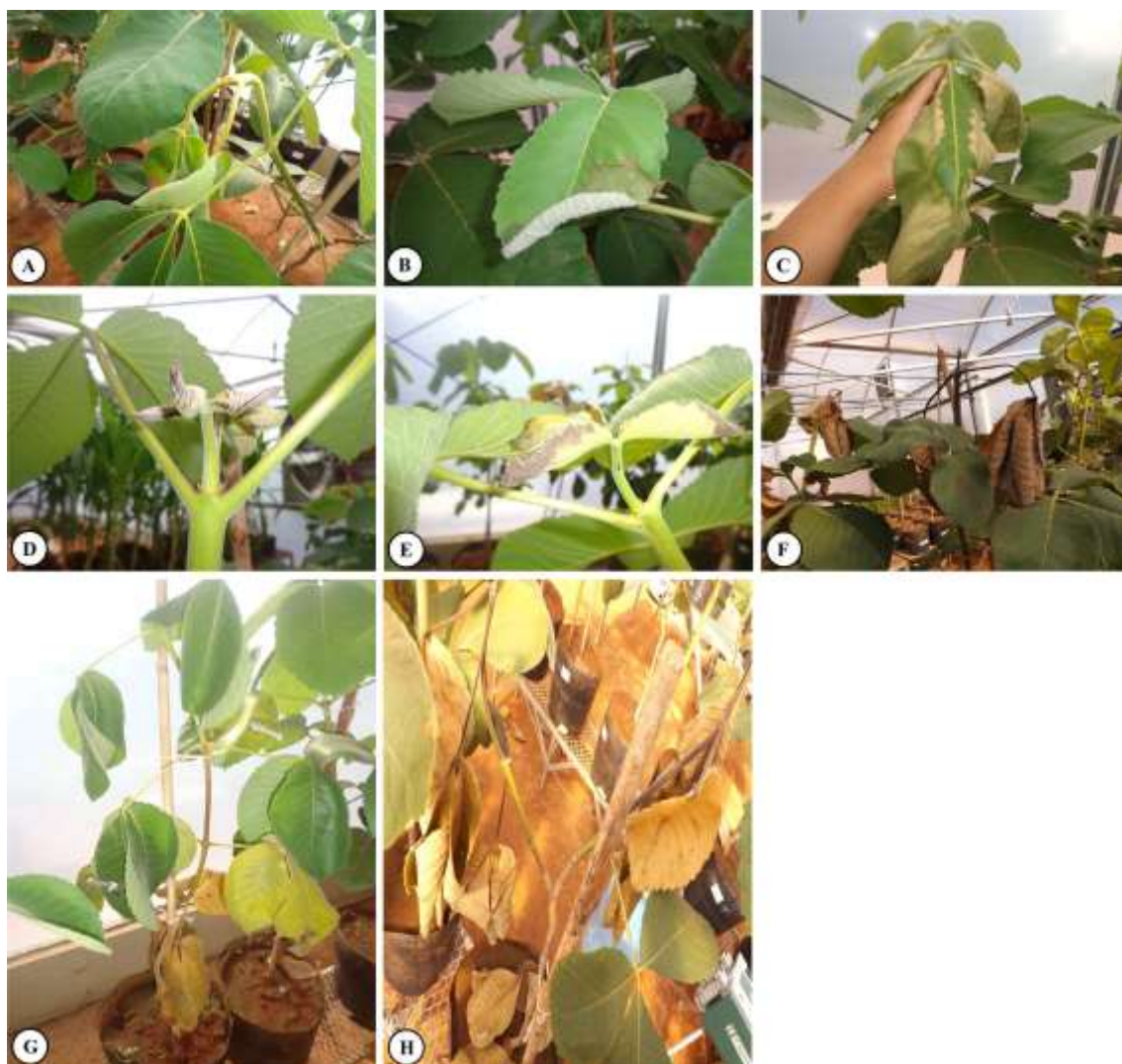


Figura 8. Sintomas visualizados na fitointoxicação de plantas de *C. brasiliense* em função das doses de glyphosate. A: Murcha da planta; B: Necrose e enrolamento da borda da folha; C: Necrose na região marginal da folha; D e E: Início de necrose e enrolamento foliar apical; F: Morte acentuada do ápice das plantas nas doses de 1000 e 1500 g e.a. ha⁻¹; G: Murcha, clorose e necrose de folhas da planta; H: Morte da região apical seguindo para folhas mais velhas e queda acentuada de folhas na dose de 1500 g e.a. ha⁻¹.

5.3 Variáveis Anatômicas

Na análise micromorfométrica o efeito da dose não foi significativo pelo teste F a 5% de probabilidade para a espessura dos tecidos foliares das folhas do terço médio e do ápice das plantas de pequi (Figura 9), exceto para o parênquima esponjoso (Figura 9

- D) em que: foi significativo, contudo, não foi possível o ajuste de modelos de regressão.

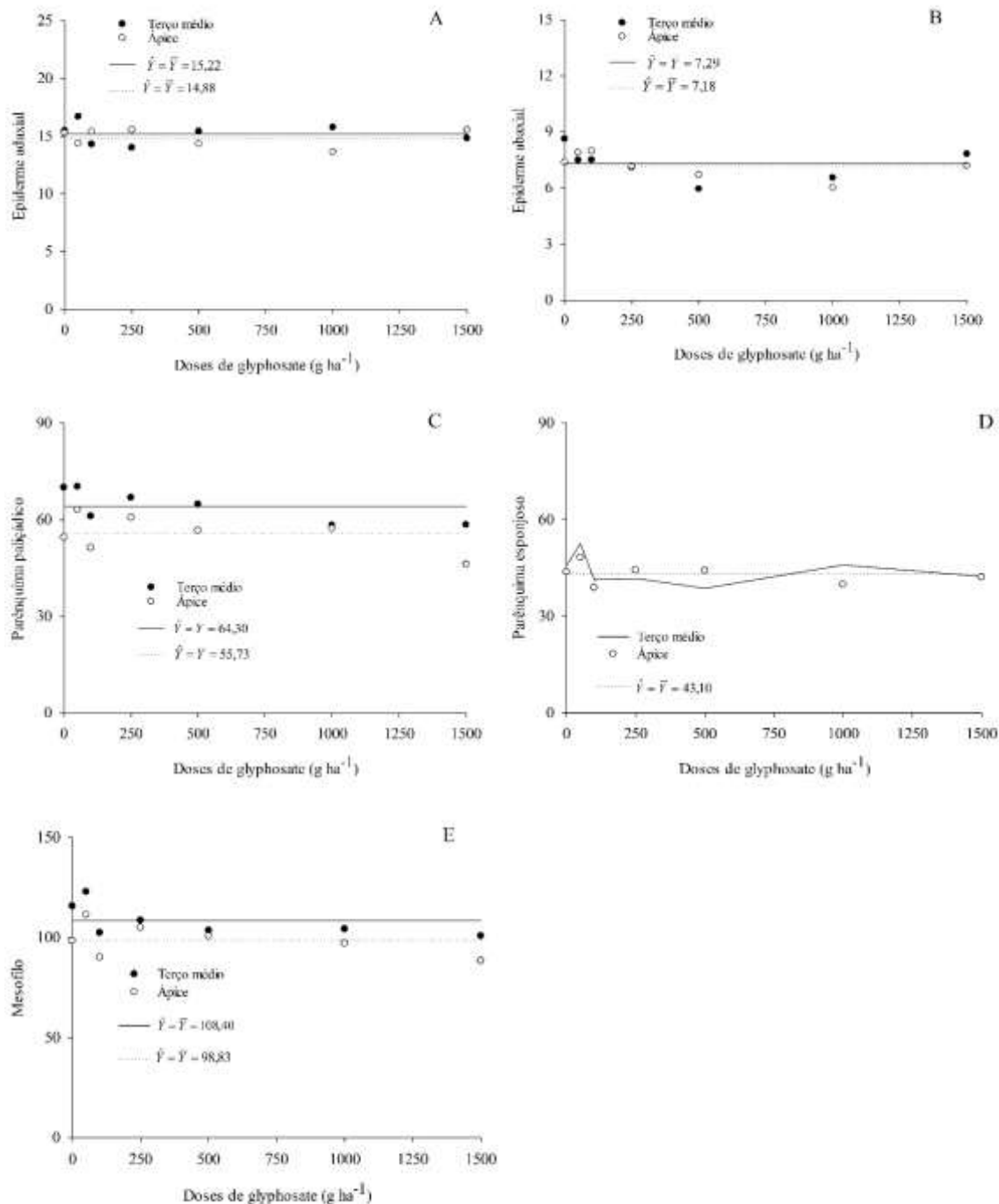


Figura 9. Micromorfometria dos tecidos foliares referentes à epiderme adaxial (A), abaxial (B), parênquima paliçádico (C) parênquima esponjoso (D) e mesofilo (E) das folhas do terço médio e do ápice de plantas de *C. brasiliense* em função de doses de glyphosate. Medidos em μm .

A folha de *C. brasiliense* possui epiderme simples em ambas as faces, é hipoestomática, sendo o parênquima clorofiliano heterogêneo do tipo dorsiventral (Figura 10 – A2 e B2). O feixe vascular é do tipo colateral (Figura 10 – A1 e B1).

Apesar das folhas de *C. brasilienses* terem se apresentado visualmente sem danos nas doses de 50 e 100 g e.a. ha⁻¹ as amostras coletadas para os estudos anatômicos apresentaram alterações estruturais na região do feixe vascular e mesofilo em cortes foliares do ápice e terço médio. Com o aumento da dose foram observadas maiores alterações anatômicas e acentuação dos danos principalmente em doses superiores a 500 g e.a. ha⁻¹.

Foram caracterizadas células plasmolisadas (CP) na face adaxial da epiderme mesmo em doses baixas como 100 g e.a. ha⁻¹ sendo visualizada até na maior dose que é de 1500 g e.a. ha⁻¹ no ápice (Figura 10 – E2, G2, I2 e M2) e terço médio na dose de 250 g e.a. ha⁻¹ (Figura 10 – H2). No feixe vascular ocorreu plasmólise no xilema na dose de 50 g e.a. ha⁻¹ no ápice (Figura 10 – C1) e terço médio (Figura 10 – D1), em células parenquimáticas do centro da nervura na dose de 250 g e.a. ha⁻¹ (Figura 10 – G1) e em células parenquimáticas do córtex nas doses de 250 e 500 g e.a. ha⁻¹ (Figura 10 – G1 e I1) nas folhas do ápice.

Houve ruptura da epiderme (*) adaxial na dose de 100 g e.a. ha⁻¹ nas folhas do terço médio (Figura 10 – F2). Ruptura da epiderme abaxial na dose de 1000 g e.a. ha⁻¹ no ápice (Figura 10 – K2) e no terço médio nas doses de 500 e 1500 g e.a. ha⁻¹ (Figura 10 - J2 e N2).

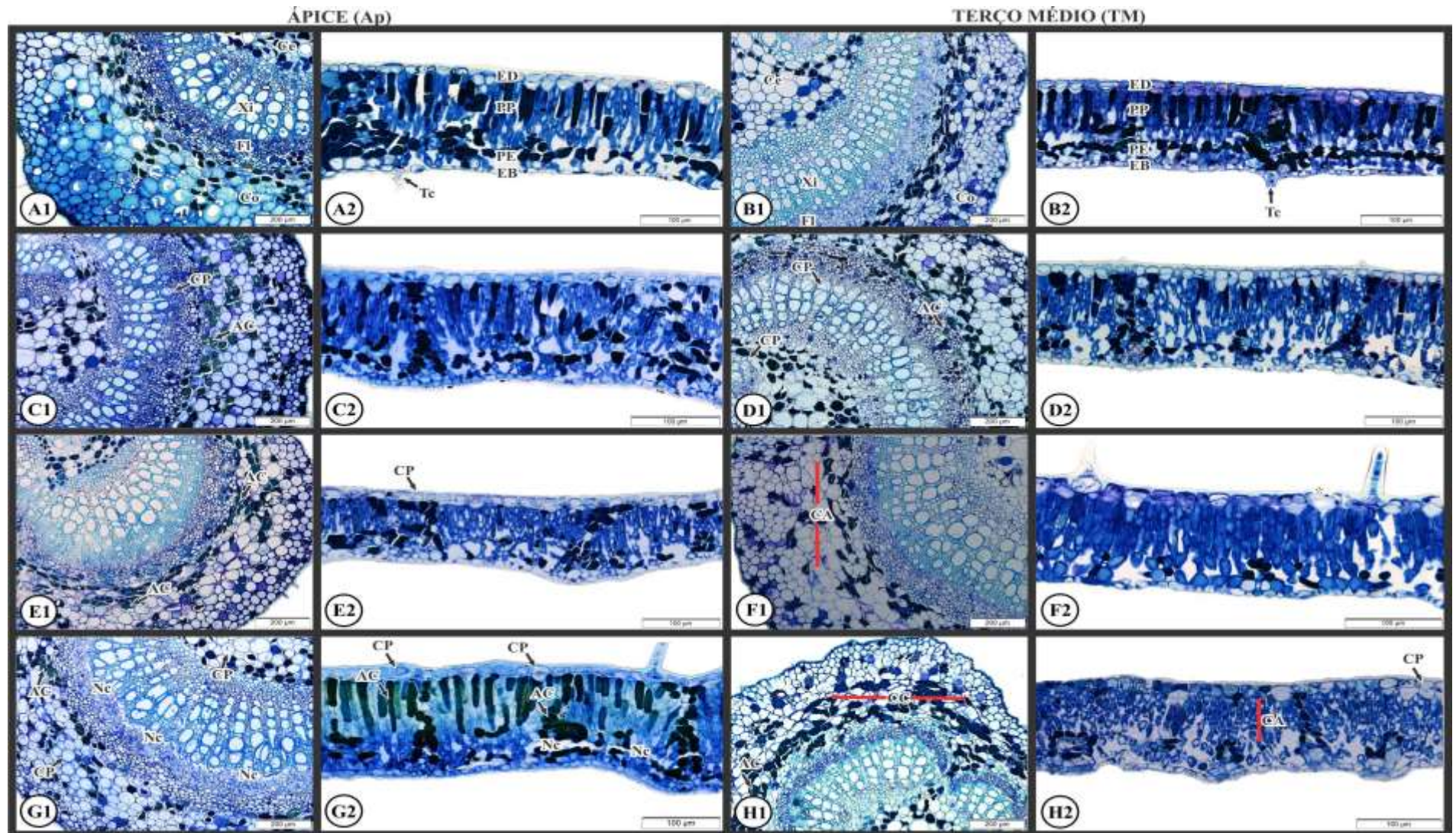
Foram visualizadas células alteradas (CA) apresentando enrugamento do parênquima do córtex na dose de 100 g e.a. ha⁻¹ no terço médio (Figura 10 – F1). Diminuição, aumento e formato diferenciado do parênquima paliçádico e esponjoso na dose de 250 g e.a. ha⁻¹ no terço médio (Figura 10 – H2). Hiperplasia na dose de 500 g e.a. ha⁻¹ no floema (Figura 10 – J1) no terço médio. Hiperplasia na dose de 1000 g e.a. ha⁻¹ no terço médio em células que correspondem ao mesofilo (Figura 10 – L2) e na dose de 1500 g e.a. ha⁻¹ no parênquima paliçádico e esponjoso (Figura 10 – M2) no ápice.

Foram observadas células colapsadas (CC) com ruptura e compactação celular nas doses acima de 500 g e.a. ha⁻¹ no ápice na região de xilema (Figura 10 – I1), em células parenquimáticas do córtex (Figura 10 – K1) e floema (Figura 10 – M1). Nas

doses de 250 e acima de 1000 g e.a. ha⁻¹ no terço médio em células parenquimáticas do córtex (Figura 10 – H1, L1, L2 e N1).

Os danos anatômicos foram acentuados apresentando tecidos necrosados (Nc) no ápice na dose de 250 g e.a. ha⁻¹ na região entre o xilema e floema (Figura 10 – G1), parênquima esponjoso (Figura 10 – G2) e em doses acima de 1000 g e.a. ha⁻¹ no parênquima do centro da nervura (Figura 10 – K1 e M1), no xilema (Figura 10 – M1), parênquima paliçádico e esponjoso (Figura 10 – K2 e M2). No terço médio a necrose foi observada em doses acima de 500 g e.a. ha⁻¹ entre o xilema e floema (Figura 10 – J1), no parênquima do centro da nervura, parênquima do córtex (Figura 10 – L1 e N1), parênquima paliçádico e esponjoso (Figura 10 – J2 e N2).

No ápice na região do feixe vascular, foi visualizado acúmulo de compostos fenólicos em doses a partir de 50 g e.a. ha⁻¹ principalmente em células do parênquima do córtex (Figura 10 – C1, E1, G1, I1, K1 e M1) e no mesofilo em doses acima de 250 até 1000 g e.a. ha⁻¹ (Figura 10 – G2, I2 e K2). Já no terço médio foi observado o acúmulo de compostos fenólicos nas doses de 50 e 250 g e.a. ha⁻¹ em células do parênquima do córtex (Figura 10 – D1 e H1) e no mesofilo nas doses de 500 e 1500 g e.a. ha⁻¹ (Figura 10 - J2 e N2).



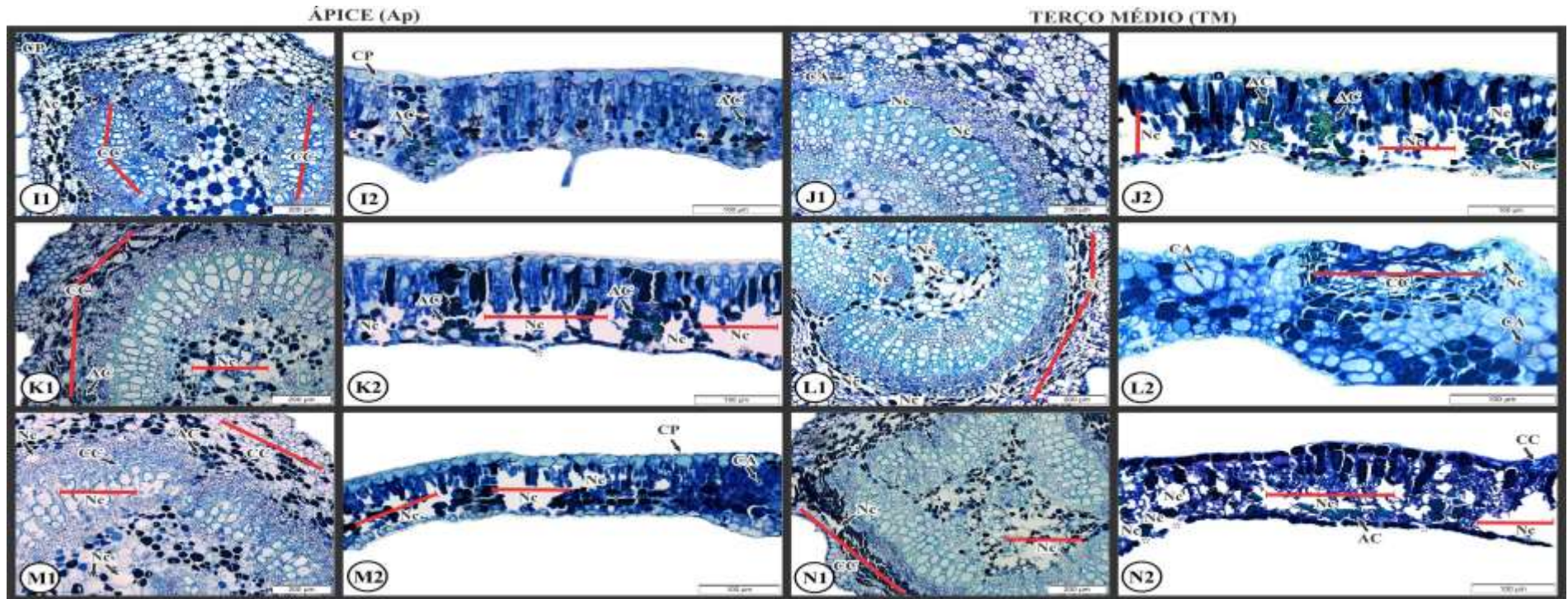


Figura 10. Anatomia foliar de *C. brasiliense* em função das doses de glyphosate. Corte de folhas do ápice (Ap) e Corte de folhas do terço médio (TM). Número que acompanha letra maiúscula referente a: 1. Região do feixe vascular e 2. Região do mesofilo; Letra maiúscula corresponde às doses em g e.a. ha⁻¹, em que: A (Ap) e B (TM) Controle, C (Ap) e D (TM): 50, E (Ap) e F (TM): 100, G (Ap) e H (TM): 250, I (Ap) e J (TM): 500, K (Ap) e L (TM): 1000 e M (Ap) e N (TM): 1500; Xi: Xilema; Fl: floema; Ce: Células parenquimáticas do centro da nervura; Co: Células parenquimáticas do córtex; ED: Epiderme adaxial; EB: Epiderme abaxial; PP: Parênquima paliçádico; PE: Parênquima esponjoso; Tc: Tricoma; CP: Células plasmolisadas; AC: Acúmulo de compostos; CA: Células alteradas; Nc: Necrose; CC: Células colapsadas; *: Rompimento de parede.

6 DISCUSSÃO

O uso inapropriado de agroquímicos, particularmente de herbicidas, tem promovido a contaminação ambiental de alimentos, intoxicação de pessoas, problemas associados com as próprias práticas agrícolas, a intoxicação de culturas subsequentes e o surgimento de plantas daninhas com resistência adquirida aos herbicidas. Relacionando ao uso inadequado de herbicidas, Francischini e Vieira Junior (2013) em pesquisas realizada no município de Rio Verde-GO sobre as condicionantes que afetam a produção da cultura da soja constataram o uso inadequado de herbicidas como uma das principais variáveis. Contudo, são escassos os trabalhos na literatura mostrando a influência dos herbicidas afetando a biodiversidade vegetal do entorno das áreas agrícolas, principalmente quando estes são carregados pelo vento durante a aplicação.

Embora a fotossíntese não seja afetada diretamente pela ação do glyphosate, diversos trabalhos relatam alterações no metabolismo do carbono (MACHADO et al., 2010; ZOBIOLE et al., 2011) confirmados no presente estudo por alterações nas trocas gasosas de plantas de pequi.

Essas alterações podem estar relacionadas com a desregulação da abertura e fechamento estomático que é um importante fator que contribui na assimilação de CO₂, como a fotossíntese depende do seu constante fluxo e a condutância estomática (*gs*) é responsável pelo fluxo de gases nos estômatos, quanto menor for a abertura maior a resistência estomática e a sua redução provoca efeitos significativos na taxa fotossintética (*A*) e transpiratória (*E*) (MACHADO et al., 2010; ZOBIOLE et al., 2010a). Houve redução da *gs* já no primeiro dia após a aplicação (DAA) e conseqüentemente redução na *A* e *E* que manteve essa queda até os 10 DAA.

Os dados corroboram com Zobiolo et al. (2010b) que trabalhando com soja geneticamente modificada para resistência ao glyphosate (RR) e com diferentes doses aplicadas de glyphosate 600, 900, 1200, 1800 e 2400 g e.a ha⁻¹ também verificou que a *gs*, *A* e *E* foram reduzidas e houve acréscimo na relação *Ci/Ca* com o aumento das doses. Os dados também são confirmados por Machado et al. (2010) que avaliando diferentes doses de glyphosate (43,2; 86,2; 129,6 e 172,8 g ha⁻¹) em clones de eucalipto, constatou que aos 21DAA, com o incremento da dose de glyphosate, houve a redução na *gs*, *E* e *A*.

O parcial fechamento estomático que levou a diminuição *gs*, e consequentemente promoveu o aumento no CO₂ subestomático (*Ci*) demonstrado pelo aumento da relação entre a contração interna e externa de CO₂ (*Ci/Ca*) indica que houve interferência do produto na fase bioquímica da fotossíntese representado por alterações nos parâmetros da fluorescência da clorofila *a* (MAGALHÃES FILHO et al., 2008).

A fluorescência da clorofila *a* é uma medida da eficiência fotossintética e a produtividade da planta, podendo ser usada como ferramenta no estudo de vários aspectos fotossintéticos refletindo alterações na organização da membrana dos tilacoides (ZOBIOLE et al., 2010b). Com o aumento da dose do glyphosate houve reduções nos valores do rendimento quântico máximo do FSII (*Fv/Fm*), no rendimento quântico efetivo do FSII ($\Delta F/Fm'$) e na taxa de transporte de elétrons (ETR) e aumento no coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ). O aumento do NPQ esta indicando que o glyphosate promoveu danos às plantas de pequi e que elas estão dissipando mais energia na forma de calor (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Valores de referência para *Fv/Fm* quando a planta está com seu aparelho fotossintético intacto, variam entre 0,75 e 0,85, e as plantas de pequi aos 10 DAA apresentaram valores abaixo da referência indicando danos ao aparato fotossintético (WAGNER e MEROTTO JUNIOR, 2014). Já a redução nos valores de $\Delta F/Fm'$ refletiu na diminuição da eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reações abertos do FSII, corroborando com as observações dos menores valores de ETR encontrados nas menores doses (LU et al., 2003).

Resultados semelhantes também foram observados por Zobiolo et al. (2010a) que em pesquisas com soja geneticamente modificada para resistência ao glyphosate tratadas com as doses de 800, 1200 e 2400 g e.a. ha⁻¹, verificaram que os parâmetros da

fluorescência da clorofila *a* foram afetados pelo glyphosate, e houve a diminuição linear da *gs* e da ETR com o aumento das doses.

No presente trabalho, houve redução na concentração de clorofilas *a* e *b* aos 24 DAA, as mesmas são os principais pigmentos envolvidos nos processos fotossintéticos são responsáveis pela captação de radiação solar, que é convertida em energia química na forma de ATP e NADPH (MARENCO, 2005; TAIZ e ZEIGER, 2009).

Diversos trabalhos relatam que a redução da clorofila promovida pelo glyphosate pode estar relacionada com sua atuação na degeneração dos cloroplastos e na inibição da sua formação (TUFFI SANTOS et al., 2006; 2008; WAGNER JÚNIOR et al., 2008; FRANÇA et al., 2010; COSTA et al., 2012), ou mesmo na imobilização de nutrientes necessários a produção tais como Magnésio e Manganês (ZOBIOLE et al., 2011). Pode ainda reduzir indiretamente sua síntese, através da inibição da porfirina ou estimulando a degradação pela luz, provocando a morte da planta susceptível em alguns dias ou semanas (FRANÇA et al., 2010; MONQUERO et al., 2004). De acordo com Hatfield et al. (2008) o estresse promovido à planta pelo herbicida pode promover perda das clorofilas e conseqüentemente reduzir a capacidade fotossintética.

A descrição dos sintomas é a principal ferramenta utilizada para avaliar os danos causados por fatores bióticos e abióticos em plantas (TUFFI SANTOS et al., 2008). Da mesma forma, outra importante ferramenta é a descrição anatômica dos danos, pois as alterações micromorfológicas antecedem o aparecimento de danos visuais demonstrando dados adicionais importantes como injúrias invisíveis ao olho desarmado (TUFFI SANTOS et al., 2009). Nesta pesquisa, simulando deriva de glyphosate em plantas de pequi, o surgimento de clorose seguida de necrose nos bordos foliares ocorreu pela alta mobilidade do glyphosate no simplasto. O glyphosate é absorvido e translocado principalmente pelo floema para os tecidos meristemáticos (RIGOLI et al., 2008), sendo que as primeiras injúrias são relatadas nas partes mais jovens da planta se estendendo em seguida, para folhas mais velhas (TUFFI SANTOS et al., 2009).

Embora o primeiro local de ação do glyphosate seja a via do chiquimato, e por conseqüência, afeta a disponibilidade de aminoácidos aromáticos o primeiro sintoma visual de ação do herbicida é a clorose em folhas jovens (VELINI et al., 2009), seguida de necrose (FRANÇA et al., 2010; 2013), confirmando a sintomatologia descrita neste trabalho.

Mesmo sendo observados sintomas visuais nas menores doses aplicadas do glyphosate na primeira semana após a aplicação (Figura 7) e não sendo confirmada diferenças estatísticas quanto as variáveis micromorfométricas (Figura 9) os danos e as injúrias provocados pela deriva de glyphosate em plantas não alvo dependem da concentração e da quantidade do princípio ativo que chega até o sítio de ação (COSTA et al., 2009). Velini et al. (2009) em pesquisas com doses respostas de herbicidas destacam que as plantas possuem uma faixa inicial em que não são encontrados efeitos e a segunda onde os efeitos são intensificados com o aumento da dose e todas podem apresentar sintomas de intoxicação variados dependendo de espécie para espécie.

Em diferentes culturas se observa efeitos prejudiciais da deriva de glyphosate e o aumento da porcentagem de injúria com o incremento da dose, a exemplo do cafeeiro (FRANÇA et al., 2013), eucalipto (PEREIRA et al., 2010), maracujá amarelo (WAGNER JÚNIOR et al., 2008) e pinhão-manso (COSTA et al., 2009).

A ocorrência de células plasmolisadas, epiderme com ruptura, células alteradas, colapsadas, hiperplasia e tecidos necrosados nas folhas de pequi tratadas com glyphosate são também confirmadas Tuffi Santos et al. (2008) que avaliando a exposição de clones de *Eucalyptus grandis* ao glyphosate verificaram que os principais danos anatômicos foram plasmólise, hipertrofia e hiperplasia celular, formação de tecidos de cicatrização e coloração intensa em células danificadas. Da mesma forma, Tuffi Santos et al. (2005) em eucalipto tratado com diferentes doses de glyphosate observaram áreas necrosadas, hiperplasia das células do parênquima clorofiliano e epiderme e o colapso dos mesmos.

Segundo Marques et al. (2012) as estruturas anatômicas da folha como epiderme, feixe vascular, parênquima, tricomas e espessura da folha podem estar associadas a maior ou menor resistência ou tolerância da planta ao glyphosate, bem como na descrição dos sintomas. Costa et al. (2011) comentam que a análise anatômica da folha pode ser aplicada na identificação de espécies susceptível, tolerante ou resistente a herbicidas. O biomonitoramento por meio de alterações anatômicas, alterações nas trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* em folhas de pequizeiro pode se tornar a alternativa rápida para detectar efeitos de contaminação de glyphosate em fragmentos florestais circunvizinhos as áreas de lavouras.

7 CONCLUSÕES

1. As trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a* em plantas de pequi são afetadas com o aumento das doses de glyphosate.
2. A concentração de clorofilas foi reduzida em doses de glyphosate superiores a 1000 g e.a. ha⁻¹ e a sintomatologia surge tardiamente.
3. Os principais sintomas visuais de intoxicação pelo glyphosate foram murcha, clorose seguida de necrose, enrolamento das folhas dos ápices e senescência foliar, principalmente nas doses acima de 500 g e.a. ha⁻¹.
4. O glyphosate promoveu alterações anatômicas nas folhas de pequi, principalmente nas doses superiores a 500 g e.a. ha⁻¹, e os danos foram células plasmolisadas, ruptura da epiderme, hiperplasia, células colapsadas, tecidos necrosados e acúmulo de compostos fenólicos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, S. R. **A política pública de incentivo à estruturação da cadeia produtiva do pequi (*Caryocar brasiliense*)**. 2012. 162 p. Tese (Ciências Florestais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: **EMPRAPA – CEPAC**, 1998.

ALMEIDA, S. P; SILVA, J. A. Piqui e buriti: importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: **EMBRAPA-CPAC**, p. 38, 1994.

ARAÚJO, A. S. F. **Biodegradação, extração e análise de glifosato em dois tipos de solos**. 2002. 83f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2002.

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

BILGER, W.; BJORKMAN, 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. 173 - 185, 1990.

CARLOS, L.; VENTURIN, N.; MACEDO, R. L. G.; HIGASHIKAWA, E. M.; GARCIA, M. B.; FARIAS, E. de S. Crescimento e nutrição mineral de mudas de pequi sob efeito da omissão de nutrientes. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 1, p. 13-21, 2014.

CENTRAIS DE ABASTECIMENTO DE GOIÁS S/A. (CEASA – GO). **Análise Conjuntural**, nº 38, 2013. Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2014-10/anAlise-anual-2013.pdf>. Acesso em: 3 nov. 2014.

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

COSTA, N. V.; MARTINS, D.; RODELLA, R. A.; RODRIGUES-COSTA, A. C. P. Alterações anatômicas foliares em *Eichhornia crassipes* submetidas à aplicação de herbicidas. **Planta Daninha**, v. 29, n. 1, p. 17-23, 2011.

COSTA, N. V.; ERASMO, E. A. L.; QUEIROZ, P. A.; DORNELAS, D. F.; DORNELAS, B. F. Efeito da deriva simulada de glyphosate no crescimento inicial de plantas de pinhão-manso. **Planta Daninha**, v. 27, p. 1105-1110, 2009

CUNHA, N. R. S.; LIMA, J. E.; GOMES, M. F. M.; BRAGA, M. J. A intensidade da exploração agropecuária como indicador da degradação ambiental na região dos Cerrados, Brasil. Piracicaba/SP. **RER**, São Paulo, v. 46, n. 2, p. 291-323, 2008.

DUBOC, E.; FRANÇA, L. V.; PALUDO, A.; OLIVEIRA, L. dos S. Efeito de doses de fertilizantes de liberação controlada em mudas de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). Planaltina: **EMBRAPA Cerrados**, 2009.

EHLERINGER, J. Leaf absorptances of Mohave and Sonoran desert plants. **Oecologia**, v. 102, p. 366 - 370, 1981.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária. **A EMBRAPA nos biomas brasileiros**. Brasília, 2007.

FRANÇA, A. C.; FREITAS, M. A .M.; FIALHO, C. M. T.; SILVA, A. A.; REIS, M. R.; GALON, L.; VICTORIA FILHO, R. Crescimento de cultivares de café Arábica submetidos a doses do glyphosate. **Planta Daninha**, v. 28, n. 3, p. 599-607, 2010.

FRANÇA, A. C.; CARVALHO, F. P.; FIALHO, C. M .T.; D'ANTONINO, L.; SILVA, A. A.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, L. R. Deriva simulada do glyphosate em cultivares de café Acaiá e Catucaí. **Planta Daninha**, v. 31, n. 2, p. 443-451, 2013.

GALLI, A. J. B, A molécula glyphosate e a agricultura brasileira. In: **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 496p. 2009.

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**, v.990, p.87-92, 1989.

HALTER, S. História do herbicida agrícola glyphosate. In: **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 496p. 2009.

HATFIELD, J. L.; GITELSON, A. A.; SCHEPERS, J. S.; WALTHALL, C. L. Application of spectral remote sensing for agronomic decisions. **Agronomy Journal**, v. 100 (Supplement), p. 117-131, 2008.

HERINGER, E. P. Pequiizeiro (*Caryocar brasiliense* Cambess). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL. **Instituto Agrônômico de Minas Gerais**. Belo Horizonte, p. 113 - 118, 1962.

KARNOVSKY, M. J. A. formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 137-138, 1965.

KLINK, C.; MACHADO, R.B. A Conservação do Cerrado Brasileiro. **Megadiversidade**, v.1, n.1, jul, 2005.

LAISK, A.; LORETO, F. Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence. **Plant Physiology**, v.110, p.903-912, 1996.

LU, C.; WANG, B.; ZHANG, J. Salinity treatment shows no effects on photosystem II photochemistry, but increases the resistance of photosystem II to heat stress in halophyte *Suaeda salsa*. **Journal Experimental Botany**, v.54, n.383, p.851-860, 2003.

MACEDO, J. F. Pequi: do plantio à mesa. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais**, Boletim Técnico, Belo Horizonte, p. 44, 2005.

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

MAGALHÃES FILHO, J. R.; AMARAL, L. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C. Deficiência hídrica, trocas gasosas e crescimento de raízes em laranjeira “Valencia” sobre dois tipos de porta enxerto. **Bragantia**, v.67, n.1, p.75-82, 2008.

MARQUES, R. P.; RODELLA, R. A.; MARTINS, D. Características da anatomia foliar de espécies de Braquiária e sua relação com a sensibilidade a herbicidas. **Planta Daninha**, v.30, n.4, p.809-816, 2012.

MAY, P.H.; POZO, O. C.; REYDON, B. P.; ANDRADE, A. G. Compilación y Analisis sobre los Productos Florestales no Madereros (PFNM) en el Brasil. **FAO**. Santiago, Chile, 2001.

MESCHEDE, D. K.; VELINI, E. D.; TONIN, F. G.; CARBONARI, C. A. Alterações no metabolismo da cana-de-açúcar em função da aplicação de maturadores. **Planta daninha**, v. 30, n. 1, p. 113-119, 2012.

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

MMA - Ministério do Meio Ambiente. **Relatório Técnico de Monitoramento do Desmatamento no Bioma Cerrado, 2002 a 2008: Dados Revisados**. Novembro, 2009.

O'BRIEN, T. P; FEDER, N; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p.368-373, 1964.

OLIVEIRA, M. E. B. de; GUERRA, N. B.; BARROS, L. de M.; ALVES, R. E. Aspectos agronômicos e de qualidade do pequi. Fortaleza: **EMBRAPA Agroindústria Tropical**, 2008.

OLIVEIRA, E. **Exploração de espécies nativas como uma estratégia de sustentabilidade socioambiental - o caso do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) em Goiás**. Tese de doutorado, Universidade de Brasília, UNB CDS, p. 294, 2006.

PEREIRA, M. R. R.; RODRIGUES, A. C. P.; COSTA, N. V. da; MARTINS, D.; KLAR, A. E.; SILVA, M. R. da. Efeito da deriva de glyphosate sobre algumas características fisiológicas em plantas de eucalipto. **INTERCIENCIA**, v. 35 n.4, 2010.

RASCHER, U.; LIEBIG, M.; LUTTGE, U. Evaluation of instant light-response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. **Plant, Cell and Environment**, v.23, p.1397-1405, 2000.

REIS, R. M.; ALMEIDA, W. L.; REIS, M. R. dos; RONCHI, C. P.; SILVA, D. V. Desempenho fotossintético e micorrização em plantas de soja Roundup Ready tratadas com diferentes formulações de glyphosate. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 4, p. 1033-1040, 2014.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. As Principais Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. Cerrado: ecologia e flora. **Embrapa Cerrados**, Brasília, DF, 2008.

RIBEIRO, R. F. Florestas Anãs do Sertão – o Cerrado na História de Minas. **Belo Horizonte: Autêntica**, v.1, p. 480, 2005.

RIGOLI, R. P.; FONTANA, L. C.; FIGUEREDO, S. S.; NOLDIN, J. A. Resposta de plantas de beterraba (*Beta vulgaris*) e de cenoura (*Daucus carota*) à deriva simulada de glyphosate e clomazone. **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 451-456, 2008.

SAMSEL, A. e SENEFF, S. Glyphosate's Suppression of Cytochrome P450 Enzymes and Amino Acid Biosynthesis by the Gut Microbiome: Pathways to Modern Diseases. **Entropy**, n.15, p.1416-1463, 2013.

SANTOS, F. S.; SANTOS, R. F.; DIAS, P. P.; ZANÃO JR, L. A.; TOMASSONI, F. A cultura do Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Acta Iguazu**, v.2, n.3, p. 46-57, 2013.

SILVA, F. DE A. S. E. e AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SOUSA, F. C. de; SILVA, L. M. de M.; SOUSA, E. P. de; LIMA, A. K. V. de O.; FIGUEIREDO, R. M. F. de. Parâmetros físicos e físico-químicos da polpa de pequi. **Revista Verde**, v.6, n.1, p. 12 – 15, 2012.

SBCPD - SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. **Londrina: SBCPD**, p. 42, 1995.

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

TIBURCIO, R. A. S.; FERREIRA, F. A.; PAES, F. A. S. V.; MELO, C. A. D.; MEDEIROS, W. N. Crescimento de mudas de clones de eucalipto submetidos à deriva simulada de diferentes herbicidas. **Revista Árvore**, v.36, n.1, p.65-73, 2012.

TUFFI SANTOS, L. D.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; MEIRA, R. M. S. A.; FERREIRA, F. A.; TIBURCIO, R. A. S. T.; SILVA, E. C. F. Micromorfologia foliar na análise da fitotoxidez por glyphosate em *Eucalyptus grandis*. **Planta Daninha**, v. 27, n. 4, p. 711-720, 2009.

TUFFI SANTOS, L. D.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; MEIRA, R. M. S. A.; TIBURCIO, R. A. S.; FERREIRA, F. A.; MELO, C. A. D.; SILVA, E. F. S. Danos visuais e anatômicos causados pelo glyphosate em folhas de *Eucalyptus grandis*. **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 9-16, 2008.

TUFFI SANTOS, L. D.; IAREMA, L.; THADEO, M.; FERREIRA, F. A.; MEIRA, R. M. S. A. Características da epiderme foliar de eucalipto e seu envolvimento com a tolerância ao glyphosate. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 513-520, 2006.

TUFFI SANTOS, L. D.; FERREIRA, F. A.; MEIRA, R. M. S. A.; BARROS, N. F.; FERREIRA, L. R.; MACHADO, A. F. L. Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sob efeito de deriva do glyphosate. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 133-142, 2005.

VELINI, E. D.; DUKE, S. O. TRINDADE, M. L. B.; MESCHEDE, D. K.; CARBONARI. Modo de ação do glyphosate. In: **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 496p. 2009.

ZOBIOLE, L. H. S.; KREMER, R. J.; OLIVEIRA JUNIOR, 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.

ZOBIOLE, L. H. S.; KREMER, R.J. ; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J. Glyphosate affects photosynthesis in first and second generation of glyphosate-resistant soybeans. **Plant and Soil**, v. 336, p. 251-265, 2010a.

ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; KREMER, R. J.; CONSTANTIN, J.; BONATO, C. M.; MUNIZ, A. S. Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 97, p. 182-193, 2010b.

WAGNER, J. F. e MEROTTO JUNIOR, A. Parâmetros fisiológicos e nutricionais de cultivares de soja resistentes ao glifosato em comparação com cultivares isogênicas próximas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, 2014.

WAGNER JÚNIOR, A.; TUFFI SANTOS, L. D.; SANTOS, C. E. M.; SILVA, J. O. C.; PIMENTEL, L. D.; BRUCKNER, C. H.; FERREIRA, F. A. Deriva simulada de formulações comerciais de glyphosate sobre maracujazeiro amarelo. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 677-683, 2008.