



Respostas fisiológicas e morfoanatômicas de *Bowdichia virgilioides* Kunth. (Fabaceae) submetidas ao herbicida paraquat

Physiological and morphoanatomic responses of Bowdichia virgilioides Kunth. (Fabaceae) submitted to herbicide paraquat

Ana Paula Augusta de Oliveira¹, Alan Carlos Costa², Ailton Jose Crispim Filho³, Dhesy Allax Cândido de Freitas⁴, Kellen Lagares Ferreira Silva⁵

RESUMO: O avanço do agronegócio tem sido evidente e em consequência disso observa-se o aumento do uso de herbicidas. Em vista disso, objetivou-se avaliar as respostas fisiológicas e morfoanatômicas em plantas de *Bowdichia virgilioides* Kunth (Fabaceae), quando expostas ao herbicida paraquat, em condições controladas de casa de vegetação, e identificar possíveis padrões de respostas da espécie estudada, com o propósito de fornecer subsídios para o estudo da espécie, em áreas atingidas por deriva desse herbicida e/ou aqueles que possuem o mesmo mecanismo de ação. O delineamento foi em blocos ao acaso, com oito doses do herbicida, sendo: 25, 50, 100, 200, 400, 800 e 1200 g i.a ha⁻¹ e o controle (0), com quatro repetições para cada uma das doses. Foram analisados: trocas gasosas, emissão de fluorescência da clorofila *a*, conteúdo de pigmentos cloroplastídicos, permeabilidade de membrana e análises visuais e anatômicas. Os resultados mostraram que o paraquat é fitotóxico para *B. virgilioides*, pois, mesmo em doses baixas esse herbicida foi capaz de afetar todos os parâmetros analisados, causando inclusive a morte das plantas em doses mais elevadas. Houve também a confirmação da presença de compostos fenólicos. As respostas observadas neste estudo podem servir como ferramenta de diagnóstico dos efeitos desse herbicida sobre plantas jovens dessa espécie em fragmentos vegetais atingidos pela deriva desse herbicida.

Palavras-Chave: Agrotóxico. Cerrado. Fotossíntese. Sucupira-preta.

ABSTRACT: Agribusiness is on the increase and evidently the use of herbicides too. The physiological and morphoanatomic responses in *Bowdichia virgilioides* Kunth (Fabaceae) are evaluated when exposed to paraquat herbicide in green house conditions and possible response patterns of the species identified. The above will furnish subsidies for the study of the species in areas reached by the herbicide and/or those with the same mechanism. Design comprised randomized blocks with eight herbicide doses: 25, 50, 100, 200, 400, 800 and 1200 g i.a ha⁻¹ and control (0), with four replications for each dose. Gas exchange, emission of chlorophyll *a* fluorescence, contents of chloroplastic pigments, membrane permeability and visual and anatomic analyses were undertaken. Results showed that paraquat is phytotoxic for *B. virgilioides*, since even in small doses the herbicide affected all analyzed parameters. Death of plants occurred with higher dose rates. The presence of phenolic compounds was also confirmed. Responses may be used as diagnostic tools for the herbicide's effects on young plants of the species in vegetal fragments applied by herbicide spray.

Keywords: Agrotoxic. Photosynthesis. Sucupira-preta. The *Cerrado*.

¹ Mestre em Ecologia de Ecótonos pela Universidade Federal do Tocantins - UFT. Docente do Curso de Ciências Biológicas, Colegiado do Curso de Ciências Biológicas, Laboratório de Botânica, Faculdade de Caldas Novas - UNICALDAS, Caldas Novas (GO), Brasil.

² Doutor em Ciências Agrárias (Fisiologia Vegetal) pela Universidade Federal de Viçosa – UFV. Docente do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Departamento de Biologia vegetal, Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, Instituto Federal Goiano, Rio Verde (GO), Brasil.

³ Doutorando no Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela UFG, Departamento Melhoramento Genético, Laboratório de Melhoramento Genético de Plantas, Universidade Federal Goiás - UFG, Goiânia (GO), Brasil.

⁴ Pós-graduado em Planejamento e Gestão Ambiental pela Universidade Estadual de Goiás - UEG, Campus Sudoeste, Morrinhos (GO), Brasil.

⁵ Doutora em Botânica pela Universidade Federal de Viçosa - UFV. Docente do Programa de Pós-graduação em Ciências do Ambiente, Colegiado do curso de Ciências Biológicas, Laboratório de Anatomia Vegetal, Campus Palmas, Universidade Federal do Tocantins - UFT, Palmas (TO), Brasil.

Autor correspondente:

Ana Paula Augusta de Oliveira: anapaulaAugustaoliveira@gmail.com

Recebido em: 20/10/2020

Aceito em: 07/02/2021

INTRODUÇÃO

Por possuir um alto grau de espécies endêmicas e por sua relevância no oferecimento de serviços ecossistêmicos, o Cerrado é considerado um *hotspot* de biodiversidade (STRASSBURG *et al.*, 2017). Entretanto, cerca de 47% de todo o território foi convertido sobretudo em pastagens e plantios de grãos, e em apenas 8,6% de sua área se encontram áreas de proteção integral (MACHADO *et al.*, 2004; VIEIRA *et al.*, 2019). De acordo com Sano *et al.* (2008), aproximadamente 79% da cobertura vegetal do Tocantins encontra-se preservada, um dos maiores índices de vegetação remanescente do Cerrado. Todavia, vem sendo substituída de forma acelerada por monoculturas e pela fruticultura, despontando como o “novo polo agrícola do Brasil”, se destacando como o maior produtor de grãos da região Norte (SEAGRO, 2019).

Contudo, apesar de ter grande importância para a economia, o agronegócio tem causado diversos impactos aos recursos naturais do Estado, principalmente pelo uso exacerbado de agrotóxicos, que afetam diretamente o solo, os recursos hídricos e a biodiversidade (GOMES, 2019). Para Pelaez *et al.* (2010), os herbicidas, inseticidas e fungicidas movimentam 95% do consumo mundial de agrotóxicos. Dentre os herbicidas mais utilizados no Tocantins destacam-se o glifosato e o paraquat (ADAPEC, 2013). O paraquat é considerado um herbicida de contato não seletivo utilizado para o controle de plantas daninhas, principalmente em plantações de arroz, algodão e tabaco (RASHIDIPOUR *et al.*, 2019).

Conforme Rodrigues e Almeida (2011), o paraquat atua como inibidor do Fotossistema I, pertence ao grupo químico dos bipiridílios, moléculas que formam radicais superóxidos, que em contato com as membranas clorofiladas contribuem para uma rápida oxidação. Essa reação ocorre quando há a presença de luz no ambiente, por ser uma molécula aceptora de elétrons que causa deleção do NADPH e impede a fixação do CO₂. Como atuam no Fotossistema I os íons do herbicida reagem com os elétrons livres da membrana, formando radicais livres (MARTINS, 2013; DALCIN *et al.*, 2019). Esses promovem a degradação das membranas, ocasionando o vazamento do conteúdo celular, necrose dos tecidos e a morte da planta (FERREIRA *et al.*, 2005). Ressalta-se que o uso do paraquat foi proibido no Brasil em 2020, em decorrência de reavaliação toxicológica realizada pela Anvisa, entretanto, em reunião do fórum de agrotóxico em 2021, Juliano Milhomen Ribeiro, da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Tocantins (ADAPEC), afirma que mesmo com a proibição, ainda hoje ele é utilizado no Estado, visto que há lotes do produto adquiridos em data anterior à proibição (RIBEIRO, 2021).

Nesse contexto, é necessário investigar os possíveis danos causados pela deriva do paraquat sobre a vegetação nativa, visto que são poucos os estudos sobre os impactos

ambientais causados por esse herbicida. Para Tuffi Santos *et al.* (2007), a pulverização de herbicidas pode atingir áreas de vegetações remanescentes que ficam próximas às lavouras, causando assim efeitos fitotóxicos, como a redução do crescimento e a morte das plantas. Mas, nota-se ainda a escassez de estudos que a aplicação de herbicidas possa trazer sobre os potenciais prejuízos a espécies florestais (BRANCALION *et al.*, 2009). Portanto, o conhecimento prévio das respostas morfoanatômicas e fisiológicas de plantas nativas expostas aos herbicidas, adquirido em ambientes controlados é essencial, pois servirá como ferramenta para subsidiar o monitoramento dos efeitos da deriva em vegetações naturais.

Devido à supressão da vegetação natural do Cerrado provocada pela expansão do agronegócio, escolheu-se para esse estudo a espécie *Bowdichia virgilioides* Kunth. por ser uma espécie nativa, de ampla distribuição, encontrada no Cerrado, Caatinga, Pantanal e Mata Atlântica, e por ser classificada como uma planta pioneira, tolerante a terrenos secos e pobres, e com alto potencial para uso em recuperação de áreas degradadas e reflorestamento, além de ser bastante valorizada economicamente pelo seu potencial ornamental, medicinal e madeireiro. Conhecida como sucupira-preta, a espécie pertence à família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, pode atingir até 16m de altura, possui folhas compostas, pinadas, com folíolos pubescentes, suas flores são bissexuadas, diclamídeas, com corola de coloração lilás, os frutos são legumes do tipo indeiscentes, achatados, suas sementes são avermelhadas medindo de 3 a 5mm de comprimento, apresentando dormência tegumentar (SMIDERLE; SOUZA, 2003; LORENZZI, 2008; LIMA *et al.*, 2018).

Desse modo, o presente estudo teve por objetivo avaliar as respostas fisiológicas e morfoanatômicas em plantas de *Bowdichia virgilioides* Kunth. (Fabaceae), quando expostas ao herbicida paraquat, em condições controladas de casa de vegetação, e identificar possíveis padrões de respostas dessa exposição pela espécie estudada, com o propósito de fornecer subsídios para o estudo da espécie em áreas atingidas por deriva desse herbicida e/ou aqueles que possuem o mesmo mecanismo de ação.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 CONDIÇÕES DE CULTIVO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Ecofisiologia e Produtividade Vegetal, pertencente ao Instituto Federal Goiano - *Campus* Rio Verde (GO), com temperatura e umidade controladas. A temperatura mínima registrada foi de 23,9 °C e a máxima 29 °C. A umidade relativa do ar variou entre 60,2% e 80,9%. Antes do plantio as sementes da espécie *B. virgilioides* foram imersas em ácido sulfúrico concentrado (98%) por 8min, em seguida lavadas em água corrente por 10min para quebra de dormência, logo após colocadas para germinar em bandejas plásticas contendo areia. Após 45 dias as plântulas foram

transplantadas em vasos de polietileno contendo 3kg de substrato, que constou da mistura de duas partes de solo, tipo latossolo vermelho distroférrico, e uma de areia fina. Em cada vaso cultivou-se uma planta, que a cada vinte dias recebeu solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950), (meia força).

Os tratamentos foram realizados seis meses após o transplante. No momento da aplicação do paraquat as plantas apresentavam em média 20cm de altura, com duas a quatro folhas no ramo principal, contendo de três a cinco folíolos. O delineamento foi em blocos ao acaso, com oito doses do herbicida, sendo: 25, 50, 100, 200, 400, 800 e 1200 g i.a ha⁻¹ (gramas de ingrediente ativo por hectare) e o controle (0), com quatro repetições para cada uma. Para aplicação utilizou-se um pulverizador costal (pressão constante mantida por CO₂), munido com barra de quatro pontas (XRTeeJet®) das séries 110.02 VP, calibrado para aplicação de 180 l ha⁻¹ de calda. A pulverização foi feita uma só vez, nas quatro repetições de cada dose, ao mesmo tempo.

2.2 AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS

Para as trocas gasosas foram realizadas duas medições (24 e 48h após a aplicação), todas as leituras foram tomadas das 08 às 12h do dia, em folíolos completamente expandidos, na porção mediana da planta. Além das trocas gasosas a mesma área foi utilizada para avaliação de fluorescência da clorofila *a*. As taxas fotossintéticas (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 CO₂ (C_i/C_a) foram mensuradas utilizando um medidor portátil de fotossíntese modelo Li-COR (LI 6400 XT, LiCor, USA). Para a fluorescência da clorofila *a* foram realizadas dez medições (24, 48 e 72h após a aplicação do paraquat), avaliada utilizando um fluorômetro portátil modulado (MINI-PAM, Walz, GER), com pinça, modelo 2030-B (BILGER *et al.*, 1995; RASCHER *et al.*, 2000). O rendimento quântico potencial do fotossistema II (VAN KOOTEN; SNEL, 1990) foi calculado após 30 minutos de adaptação ao escuro.

As avaliações do conteúdo de pigmentos cloroplastídicos e permeabilidade de membranas ocorreram 72h após a aplicação do paraquat. Os pigmentos foram extraídos conforme metodologia descrita por Wellburn (1994) e Moura *et al.* (2018). Foram coletados, de cada repetição, três discos foliares, evitando-se a nervura central. Esses foram incubados em frascos de vidro envolvidos por papel alumínio, contendo 5ml de DMSO saturado com CaCO₃. Em seguida levadas ao banho-maria à temperatura de 65 °C por 24h. A absorvância foi determinada no espectrofotômetro UV-VIS, Evolutin 60S (Thermo Fischer Scientific, USA). Os comprimentos de ondas e as equações para o cálculo das concentrações de clorofila *a*, *b* e razão clorofila *a/b* foram baseados no trabalho de Wellburn (1994). A permeabilidade de membranas foi determinada por meio da taxa de liberação de eletrólitos. Foram coletados 15

discos foliares de 0,2cm² por repetição, imersos em 30ml de água deionizada em frascos de vidro, deixados em repouso por 24h. Após esse período, a condutividade elétrica livre e a condutividade total foram medidas, segundo a metodologia descrita por Vasquez-Tello *et al.* (1990) e Pimentel *et al.* (2002).

2.3 AVALIAÇÃO VISUAL DOS SINTOMAS FOLIARES

Para avaliação da fitotoxicidade visual foram realizadas três observações (24, 48 e 72h após a aplicação), mediante ajustes da metodologia descrita por Novak *et al.* (2003). A estimativa visual foi expressa inicialmente em porcentagem de área foliar afetada pelos sintomas, onde o número de folhas com sintomas visíveis foi verificado de acordo com a porcentagem de área afetada considerando as classes: 5% (N1), >5% a 25% (N2), >25% a 50% (N3), >50% a 75% (N4) e >75% a 100% (N5). Além disso, contou-se o número de folhas sem sintomas (N0) por planta. O número de folhas em cada classe (N0 a N5) foi usado para o cálculo do índice de injúria foliar (IIF) por planta usando-se a fórmula adaptada por El-Khatib (2003):

$$\text{IIF (\%)} = \frac{(N1 \times 1) + (N2 \times 2) + (N3 \times 3) + (N4 \times 4) + (N5 \times 5) \times 100}{(N0 + N1 + N2 + N3 + N4 + N5) \times 5}$$

Foi realizado o cálculo de severidade (IS) de sintomas visíveis por planta, dividindo-se o número de folhas com sintomas pelo número total de folhas da planta, o qual foi expresso em porcentagem.

$$\text{IS (\%)} = \frac{\text{Número de folhas com sintomas} \times 100}{\text{Total de folhas}}$$

2.4 ANÁLISES ANATÔMICAS

Para microscopia de luz foram coletadas quatro amostras de cada tratamento, 72h após a aplicação do herbicida. Foram retirados os folíolos completamente expandidos, e feitos cortes na região mediana, estes foram fixados em solução Glutaraldeído 1%, em tampão fosfato 0,2M, pH 7,2 (KARNOVSKY, 1965), durante 24h, e armazenadas em álcool 70%. Posteriormente levadas para o laboratório de anatomia vegetal da Universidade Federal do Tocantins, *Campus* de Porto Nacional (TO), e desidratadas, em um intervalo de tempo de 1h para cada troca, em série etílica e butílica (80, 90 e 100%), etílico butílico (3:1), etílico butílico (1:1), etílico butílico (1:3) e butílico puro, permanecendo “over night” em álcool butílico + parafina (1:1), depois foram submetidas a duas trocas de parafina por 1h cada. Após infiltração, as amostras foram

emblocadas (parafina + cera de abelha 8%), seguindo orientação do plano de corte (transversal), sendo quatro blocos para cada tratamento, um para cada repetição, totalizando 32 blocos.

Para a caracterização anatômica foram feitos cortes transversais em micrótomo rotativo semi-motorizado (RM2245, Leica, GER), a 10 μ m de espessura e aderidos à lâmina com adesivo de Haupt (HAUPT, 1930). Foram confeccionadas três lâminas para cada bloco. Os cortes foram desparafinizados em série xilólica, hidratados em série etílica e corados em safranina 1% e azul de astra por 20min (GERLACH, 1984). Depois as lâminas foram lavadas em água destilada e desidratadas em serie etílica (30%, 50%, 70%, 85%, 95% e 100%), posteriormente submetidas em série xilólica e montadas entre lâmina e lamínula em bálsamo do Canadá. Em cada lâmina foram selecionados aleatoriamente três cortes. As imagens foram capturadas pelo microscópio óptico Leica (DM 500, Leica, GER) com câmera Leica (ICC50 HD, Leica, GER) acoplada. Para a micromorfometria, imagens obtidas sob objetiva de 40x, a partir das imagens foram realizadas em cada corte cinco mensurações da espessura da epiderme nas faces adaxial e abaxial, e espessura do parênquima paliçádico e esponjoso em cada lâmina, utilizando o *software* ANATI QUANTI, versão 2.0 para *Windows*® (AGUIAR *et al.*, 2007).

Os testes histoquímicos foram realizados no controle e na dose de 100 g.i.a.ha⁻¹, a escolha dessa dosagem ocorreu por esta apresentar colorações escuras no parênquima paliçádico, indicando possivelmente a presença de compostos fenólicos. Os cortes transversais das folhas, obtidos em micrótomo de mesa (ROBHE/LPC, BRA), foram submetidos aos reagentes Cloreto Férrico e Vanilina Clorídrica para a detecção de compostos fenólicos e taninos, respectivamente, cortes sem nenhum reagente foram denominados de branco.

2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos para as análises morfométricas foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo Teste Tukey, ao nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa *Statística 5.0*. Os dados das análises fisiológicas e de fitotoxicidade foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ajustados os modelos de regressão. Os gráficos e as análises estatísticas foram feitos com o *software SigmaPlot 10.0*.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISES FISIOLÓGICAS

A análise de regressão mostrou comportamento quadrático dos parâmetros de trocas gasosas (Figura 1). Os resultados obtidos mostraram redução na taxa fotossintética (*A*) (Figura 1A), condutância estomática (*gs*) (Figura 1B) e taxa transpiratória (*E*) (Figura 1C), de acordo

com o aumento das doses aplicadas, nas duas avaliações. Comportamento contrário foi verificado para relação entre a concentração interna e externa de CO₂ (Ci/Ca) (Figura 1D), que aumentou de acordo com o incremento das doses.

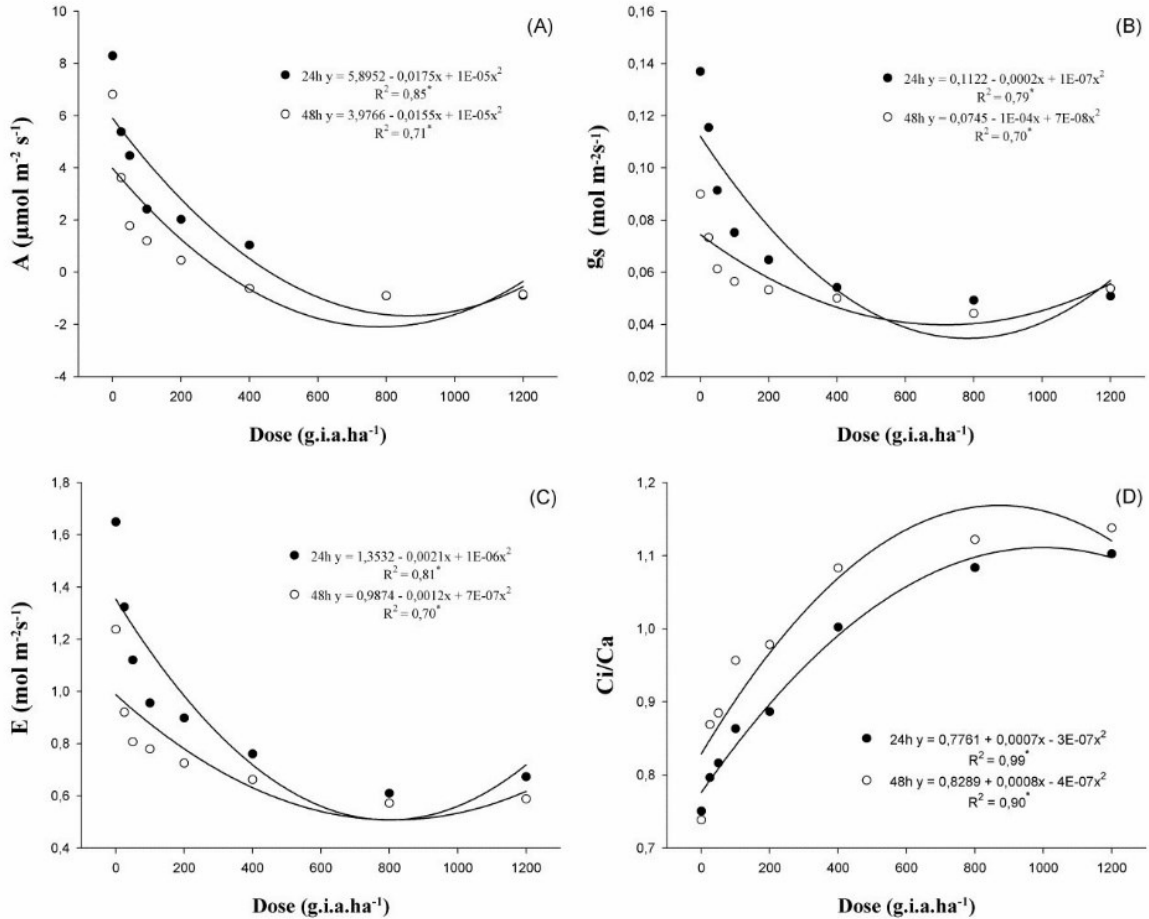


Figura 1. Efeitos do paraquat nos parâmetros de trocas gasosas de *Bowdichia virgilioides*. A: taxa fotossintética (A); B: taxa transpiratória (E); C: condutância estomática (gs); D: - razão Ci/Ca. Em todos os parâmetros o modelo de regressão ajustado foi polinomial quadrático. Significância * p < 0,05%.

Os valores dos parâmetros fisiológicos das trocas gasosas foram afetados significativamente já na primeira dose (25 g.i.a.ha⁻¹), em relação ao controle. A taxa fotossintética (A) apresentou redução de 35,1%, na avaliação de 24h, e 59,8%, em 48h após a aplicação. A condutância estomática (gs) diminuiu em 45,3%, em 24h, e 56,7%, 48h após a aplicação. A taxa transpiratória (E) apresentou 40% de redução, em 24h, e 37,7%, 48h após a aplicação. O acréscimo na relação Ci/Ca foi de 8,1%, em 24h, e 17,6%, 48h após a aplicação.

A redução nos valores A e gs, acompanhada de decréscimos E como observado neste estudo, sugerem que o herbicida tenha causado danos aos estômatos, fechando-os, e consequentemente diminuindo as taxas fotossintéticas e transpiratórias. Conforme Machado *et al.* (2010), quando os estômatos se fecham o fluxo de CO₂ disponível para realização da fotossíntese fica prejudicado, ou seja, quanto menor forem os valores da condutância estomática maior será a resistência na entrada de CO₂ causando efeitos significativos na fotossíntese e na

transpiração, o que reduz a eficiência carboxilativa. No entanto, esperava-se que devido à diminuição da condutância estomática, ocorresse a redução na relação C_i/C_a , uma vez que o fechamento dos estômatos limita a entrada de CO_2 , fazendo com que o CO_2 presente no mesófilo (C_i) seja consumido, diminuindo assim a relação C_i/C_a (SANTOS *et al.*, 2020). Contudo, foi observado um aumento significativo da C_i/C_a , provavelmente pelo acúmulo de CO_2 na cavidade subestomática, fato que evidencia que o efeito não foi provocado somente por limitações estomáticas. Fernandes *et al.* (2015) apontam que acréscimos em C_i estão relacionados ao CO_2 que chega às células do mesófilo e não são fixados na fase de carboxilação da ribulose 1,5 bifosfato carboxilase-oxigenase (Rubisco), provavelmente isso ocorre por lesões nos cloroplastos.

Segundo Chagas (2007), o mecanismo de ação do paraquat ocorre mediante o bloqueio do fluxo de elétrons na cadeia transportadora da fotossíntese, que impossibilita a redução do $NADP^+$ a $NADPH_2$, no fotossistema I, acumulando elétrons e radicais tóxicos nos cloroplastos, promovendo graves danos no metabolismo celular. Os radicais gerados são instáveis e sofrem auto-oxidação muito rapidamente, produzindo radicais superóxidos, hidroxila, peróxido e oxigênio singleto, os quais constituem as espécies reativas de oxigênio (EROs), que, em excesso, são prejudiciais ao metabolismo celular como um todo.

O rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) (Figura 2A) apresentou alterações significativas nas três avaliações 24, 48 e 72h após a aplicação, sendo, na maior dose, reduzidas em 64,2%, 72,9% e 73,3% respectivamente, em relação ao controle. Comportamento semelhante foi verificado para o rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Delta F/F_m'$) (Figura 2B), apresentando reduções de 86,5%, 94% e 82,2%, na última dose, em relação ao controle. Para a taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) (Figura 2C) houve decréscimo de 87,8%, 94,7% e 82,9%, na dose mais elevada em relação ao controle. O coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) (Figura 2D) foi reduzido em 59,3%, 92%, 90,6%, em relação ao controle, na dose mais elevada.

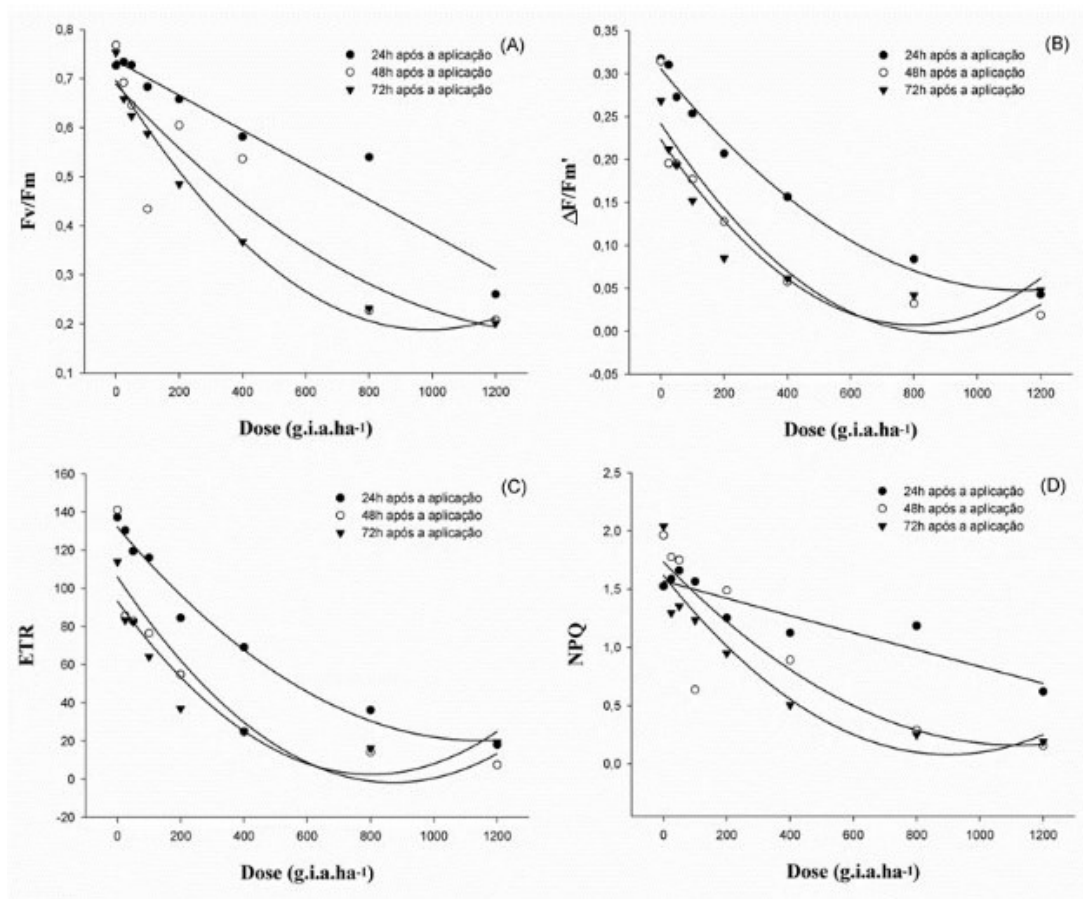


Figura 2. Efeitos do paraquat nos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* de *B. virgilioides*. A: rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m); B: rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Delta F/F_m'$); C: taxa de transporte de elétrons (ETR); D: coeficiente de dissipação não fotoquímica (NPQ). Em todos os parâmetros o modelo de regressão ajustado foi polinomial quadrático. Significância: * $p < 0,05\%$.

A diminuição significativa para relação F_v/F_m foi verificada em todas as doses aplicadas de paraquat, indicando que *B. virgilioides* sofreu danos no aparato fotossintético, provocando a fotoinibição, tal fenômeno frequentemente é provocado em decorrência de estresse ambiental que afetam a eficiência do FSII (KRAUSE; WEIS, 1991; LAISK *et al.*, 1998). De acordo com Silva *et al.* (2016), a F_v/F_m afere os efeitos da irradiância sobre a integridade do FSII e os valores desse parâmetro em plantas quando não expostas a condições estressantes varia entre 0,75 a 0,85. Diesel *et al.* (2012) observaram que o herbicida paraquat proporcionou a redução de F_v/F_m em plantas de Apaga-fogo (*Alternanthera tenella*), sendo que a menor dose em estudo para esse herbicida foi suficiente para promover a morte das plantas. Os autores relatam que isso ocorre devido ao fato de que esse herbicida paralisa a cadeia de transporte de elétrons resultando na produção de EROs. Apesar da planta citada não estar no grupo de plantas arbóreas, o mecanismo de ação desse herbicida na planta do presente estudo foi semelhante.

A redução dos valores referentes à razão $\Delta F/F_m'$, assim como de ETR é atribuída ao fato de que a molécula de paraquat ao penetrar nas folhas transforma-se num radical, que na

presença de luz reage como O₂ molecular formando EROs, e isso afetou a ETR nos tilacóides dos cloroplastos (CHAGAS, 2007). O autor indica que o decréscimo na eficiência quântica do transporte linear de elétrons ($\Delta F/F_m'$), através do FSII, se dá pelo acúmulo de quinonas (QA) no estado reduzido, e a habilidade do aparato fotossintético em remover elétrons das QA é um fator limitante do $\Delta F/F_m'$. Já os valores reduzidos de NPQ, observados neste estudo, sugerem que a energia absorvida durante o processo não foi liberada na forma de calor, e que não houve proteção do aparato fotossintético contra o excesso de energia fotossintetizante, induzida pela luz através da dissipação térmica de energia (AZEVEDO, 2011), indicando que a espécie estudada não conseguiu minimizar o estresse causado pela exposição ao paraquat.

Por ser considerado um herbicida de contato de efeito rápido, o paraquat age já nas primeiras horas após a sua aplicação fazendo com que apresente sintomas. Hawkes (2014) destaca que o paraquat, por atuar no fotossistema I da planta, provoca a paralização da fotossíntese e peroxidação lipídica, levando os tecidos à morte devido à produção de EROs. A produção de espécies reativas de oxigênio em grande quantidade é considerada uma resposta primária da planta frente ao estresse, pois há o rompimento da homeostase celular, configurando um dano oxidativo. Entretanto em condições normais de crescimento as plantas também produzem EROs, porém em pequenas quantidades (MELERO, 2016). Alguns autores relatam que apesar do aumento das espécies reativas de oxigênio significarem uma ameaça às células vegetais, elas podem agir também como sinalizadores para a ativação da resposta ao estresse e vias de defesa do vegetal (MITTLER, 2002; NEILL *et al.*, 2002).

Os teores de conteúdo de pigmentos cloroplastídicos nas folhas de *B. virgilioides* sofreram decréscimos em função do aumento das doses aplicadas (Figura 3). Essas reduções foram mais evidentes a partir da dose de 50 g.i.a.ha⁻¹ para a clorofila *a* (Figura 3A), clorofila *b* (Figura 3B) e carotenoides (Figura 3C), com valores de 25%, 26,2% e 26,1% respectivamente, quando comparadas ao controle. Para a razão clorofila *a/b* (Figura 3D) os decréscimos ocorreram a partir da dose de 400 g.i.a.ha⁻¹, com valor igual a 51,8% a menos que o controle. Comparando a dose mais alta (1200 g.i.a.ha⁻¹) com o tratamento controle essas reduções foram de 92,6% para clorofila *a*, 84,3% para clorofila *b*, 86,6% para carotenoides e 52,9% para a razão clorofila *a/b*.

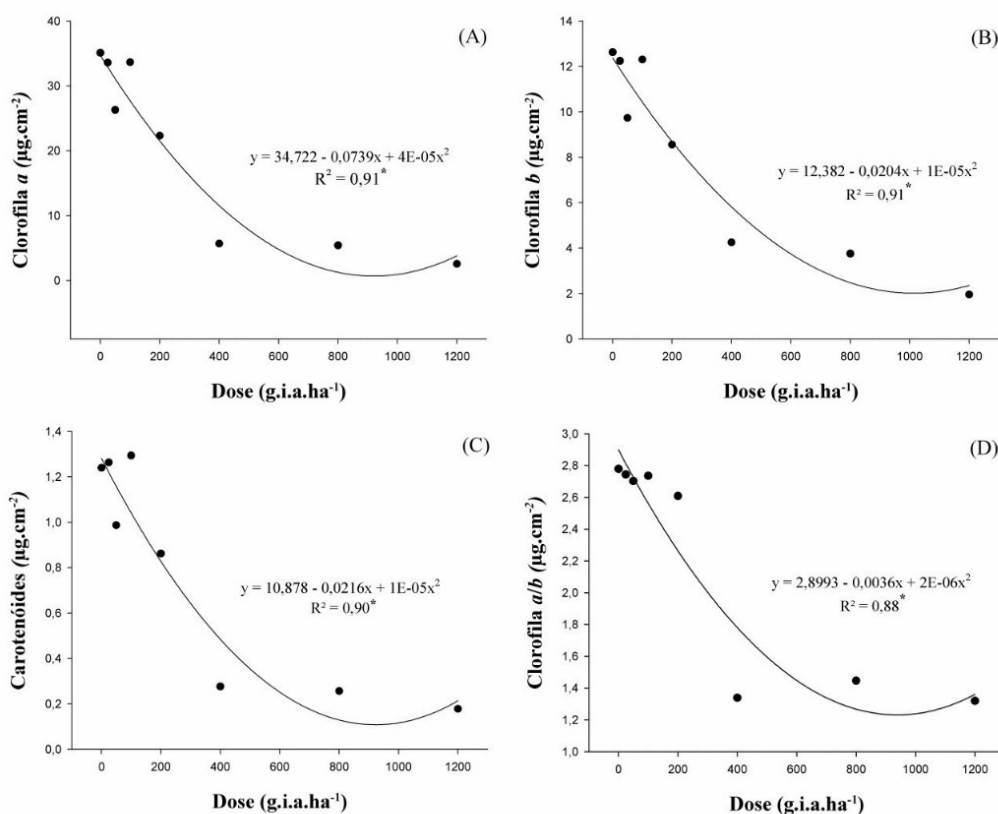


Figura 3. Conteúdo de pigmentos cloroplásticos de plantas de *B. virgilioides* submetidas a diferentes concentrações de paraquat. A: clorofila a; B: clorofila b; C: carotenoides; D: razão clorofila a/b. O modelo de regressão ajustado foi polinomial quadrático. Significância: * $p < 0,05\%$.

Benavides *et al.* (2000) observaram que em folhas de girassol expostas ao paraquat houve redução de 30% no conteúdo de clorofilas, quando comparadas com folhas de plantas controle. Apesar de não ser uma espécie arbórea os resultados foram semelhantes ao encontrado no presente estudo. De acordo com Wakabayashi e Boger (2004), os herbicidas em geral interferem na fotossíntese normalmente pela inibição da síntese de carotenoides que provoca degradação fotooxidativa e destruição das membranas. Eles apontam que as desaturases são enzimas alvo dos herbicidas, que afetam a biossíntese de carotenoides. Inibidores de carotenoides interferem em diferentes pigmentos no cloroplasto e podem exercer a sua ação fitotóxica pela ativação e aumento das EROs de maneira indireta, por não conseguir promover a dissipação do excesso de luz. Semelhante a isso Oliveira Junior (2011) descreve que o paraquat causa efeitos fitotóxicos nos cloroplastos, pois, em contato com a planta, age aceitando elétrons do receptor primário do FSI, como consequência há a formação de EROs, às quais causam estresse oxidativo, o que provoca danos em membranas, proteínas e degradação da clorofila.

Os resultados obtidos pelas avaliações da taxa de liberação de eletrólitos (TLE) apresentaram um aumento, em função do aumento das doses do herbicida (Figura 4). A partir da dose de 50 g.i.a.ha⁻¹ é que o efeito foi significativo em relação ao controle, com aumento de

13,1%, sendo que na dose mais elevada (1200 g.i.a.ha⁻¹) apresentou um acréscimo de 31,9% em relação ao controle.

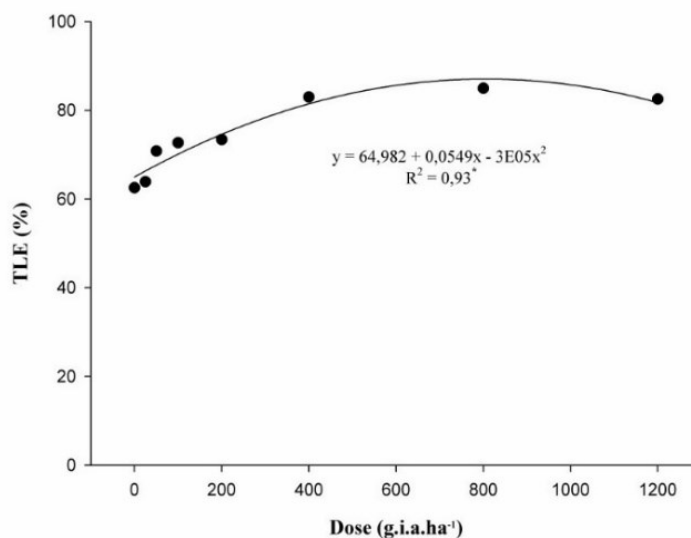


Figura 4. Taxa de liberação de eletrólitos em tecidos foliares de *B. virgilioides*, expostos a diferentes concentrações de paraquat. O modelo de regressão ajustado foi polinomial quadrático. Significância: * $p < 0,05\%$.

O aumento na taxa de liberação de eletrólitos evidencia que o paraquat afetou a permeabilidade da membrana da espécie em estudo. De acordo com Ferreira *et al.* (2005), esse herbicida age inibindo o FSI, produzindo radicais superóxidos, que sofrem dismutação, formando o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que na presença de Mg produz radicais hidroxila (OH^{*-}), que promovem a degradação das membranas, ocasionando o vazamento do conteúdo celular e a morte do tecido. Esse comportamento também foi observado em *B. virgilioides*, pois, após 24h já foi possível detectar injúrias como cloroses e necroses e, 72h após a aplicação, as plantas submetidas às maiores doses morreram.

3.2 AVALIAÇÃO VISUAL DOS SINTOMAS FOLIARES

As avaliações de sintomas visuais foram submetidas à análise de regressão e ajustadas ao modelo polinomial quadrático e estão apresentadas na Figura 5. Os efeitos foram potencializados à medida que se aumentava as dosagens e o tempo após exposição das plantas, mas na dose mais baixa e na primeira avaliação os efeitos já foram observados. Foram constatados elevados índices de IIF (Figura 5A) e IS (Figura 5B). Na avaliação de 24h, após a aplicação deste herbicida, os valores de IIF foram de 12,3%, para a dose de 25 g.i.a.ha⁻¹ e, na dose mais elevada (1200 g.i.a.ha⁻¹), esse valor chegou a 56,4%. Na última avaliação, esses valores chegaram a 25% e 94,3% respectivamente. Essas dosagens apresentaram IS de 53,1% e 100% na primeira avaliação e 87,8% e 100%, na avaliação de 72h após a aplicação.

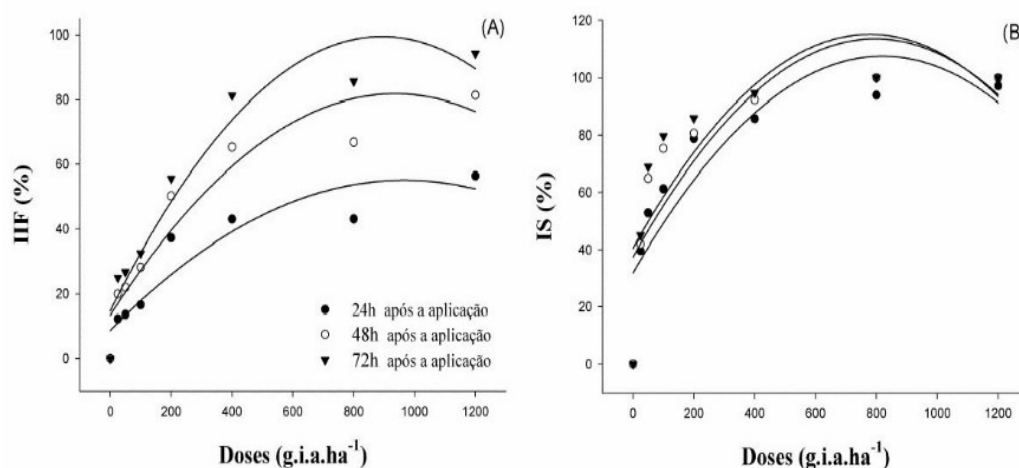


Figura 5. Fitotoxicidade de folhas de *Bowdichia virgilioides* Kunth submetidas a diferentes doses dos herbicidas paraquat, após 24, 48 e 72h. A: Índice de injúria foliar (IIF); B: Índice de severidade (IS).

Como consequência dos danos fisiológicos evidenciados, os sintomas visuais de intoxicação das plantas expostas ao paraquat caracterizaram-se em doses menores pela presença de clorose e necrose das folhas, e, nas doses mais altas (800 e 1200 g.i.a.ha⁻¹), as plantas morreram após 72h da aplicação do herbicida. Conforme exposto por Oliveira Junior (2011), após poucas horas da aplicação do paraquat, quando há a presença de luz, verifica-se severas injúrias nas folhas de plantas expostas e, quanto maior for a intensidade luminosa, maior a intensidade, sendo capaz de provocar a morte da planta em um ou dois dias. Pelo fato da translocação desse herbicida ser limitada nas plantas, os sintomas aparecem no local de contato com a folha, iniciam-se como pontuações enegrecidas, seguidas de necrose do tecido foliar (MONACO; WELLER; ASHTON, 2002).

3.3 ANÁLISES ANATÔMICAS

As alterações nas folhas de *B. virgilioides*, quando submetidas ao paraquat, foram: 1 - alteração na espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso e na forma de suas células (Figura 6), desde o tratamento 25 g.i.a.ha⁻¹ (Figura 6D). Nas doses mais altas (400, 800 e 1200 g.i.a.ha⁻¹) os tecidos ficaram totalmente colapsados, tornando menos evidente a distinção entre eles, apresentando total desorganização do mesófilo (Figuras 6L, 6N, 6P); 2 - acúmulo de conteúdos com coloração avermelhada a partir da dose 100 g.i.a.ha⁻¹ (Figura 6H), principalmente no parênquima paliçádico, provavelmente devido ao aumento de compostos fenólicos; 3 - redução na espessura dos tecidos de uma maneira geral, ocasionando a redução da espessura do folíolo (Tabela 1), sendo que, na última dose (1200 g.i.a.ha⁻¹), houve redução de 33,5% em relação ao controle.

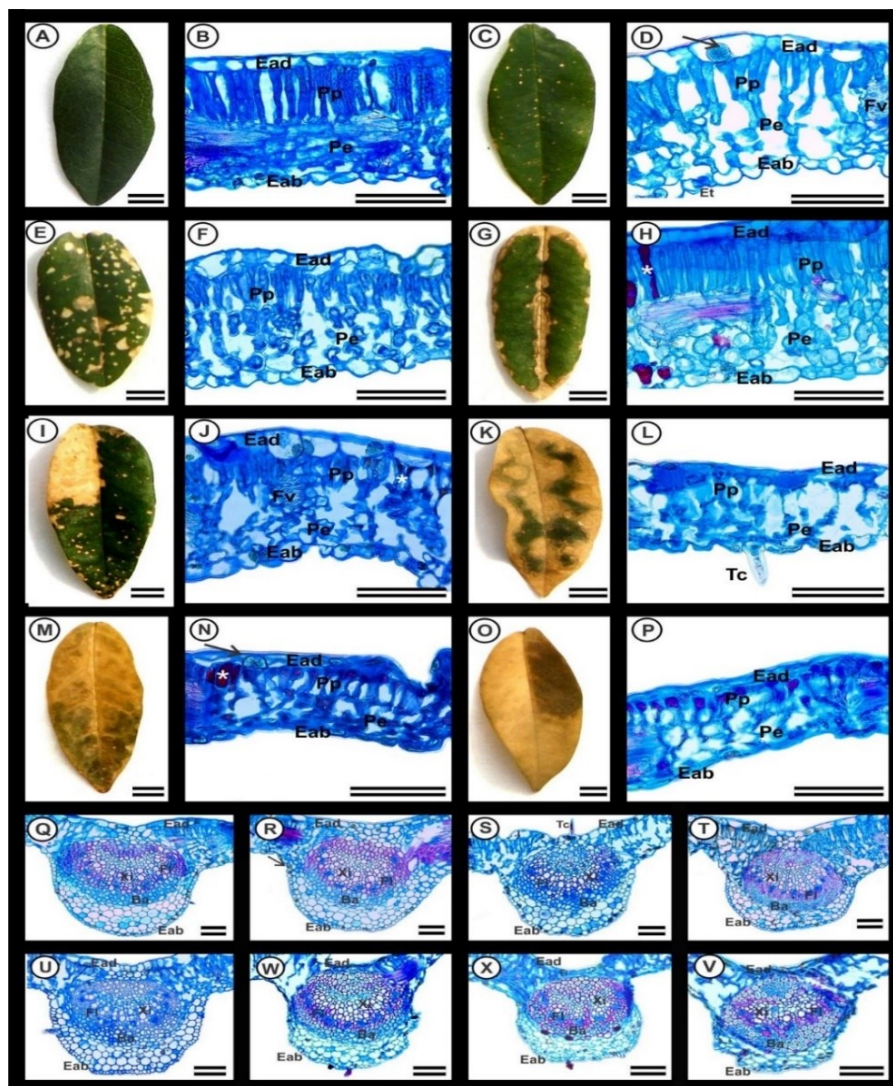


Figura 6. Estrutura do folíolo de *Bowdichia virgilioides* Khunt. submetidos à ação do paraquat A, B, Q: Controle (0); C, D e R: (25 g.i.a.ha⁻¹); E, F e S: (50 g.i.a.ha⁻¹); G, H e T: (100 g.i.a.ha⁻¹); I, J e U: (200 g.i.a.ha⁻¹); K, L e V: (400 g.i.a.ha⁻¹); M, N e W: (800 g.i.a.ha⁻¹); O, P e X: (1200 g.i.a.ha⁻¹). Ead: Epiderme adaxial; Eab: epiderme abaxial; Pp: parênquima paliçádico; Pe: Parênquima esponjoso; Et: Estômato; Fv: Feixe vascular; Xi: Xilema; Fl: Floema; Ba: Bainha; Tc: Tricoma; Cristais de natureza não definida (→); Composto fenólico (*). Barra = 1cm: (A, C, E, G, I, K, M, O); Barra = 50 μm: (B, D, F, H, J, L, N, P); Barra = 100 μm: (Q, R, S, T, U, V, W, X).

A análise micromorfométrica evidenciou diferenças significativas na espessura da epiderme adaxial (Ead), do parênquima paliçádico (Pp), do parênquima esponjoso (Pe), espessura da epiderme da face abaxial (Eab) e espessura do folíolo (Ef), sendo as reduções mais expressivas nas doses de 800 e 1200 g.i.a.ha⁻¹, quando comparadas ao controle (Tabela 1).

Tabela 1. Morfometria da lâmina foliar de *Bowdichia virgilioides* Kunth. após exposição a diferentes doses de Paraquat

Paraquat (g.i.a.ha ⁻¹)	Ead (µm)*	Pp (µm)*	Pe (µm)*	Eab (µm)*	Ef (µm)*
0	28,29 a	70,61 a	80,89 a	17,62 a	196,80 a
25	26,40 ab	64,24 ab	70,22ab	15,96 ab	176,83 ab
50	25,94 ab	55,97 abc	73,36 ab	16,46 ab	171,72 abc
100	28,34 a	57,76 abc	76,89ab	16,44 ab	179,42ab
200	26,31 ab	55,96 abc	71,35 ab	16,94 ab	170,58 abc
400	21,04 bc	41,83 bc	61,81 ab	13,37 bc	138,06 bc
800	17,33 c	43,78bc	57,11 ab	10,22 c	128,45 c
1200	17,61 c	39,39 c	58,82 b	10,75 c	126,57 c
CV(%)	3,99	19,36	4,40	12,23	12,38

(*) Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. Ead: Epiderme adaxial; Pp: Parênquima paliçádico; Pe: Parênquima esponjoso; Eab: Epiderme abaxial; Ef: Espessura do folíolo.

Observou-se que quanto maior a dose aplicada, maior eram as alterações observadas na organização do mesófilo e na forma das células, confirmando que os efeitos estão diretamente ligados ao aumento das doses. Moskova *et al.* (2011) verificaram que em plantas de *Pisum sativum* L. expostas ao paraquat houve redução da espessura da folha, porém houve aumento dos parênquimas paliçádico e esponjoso. Esses autores relatam que houve a indução da desidratação das folhas, assim como a desorganização celular. Mensurar as espessuras dos tecidos foliares ajuda no dimensionamento da atividade metabólica da planta, uma vez que a parte fotossinteticamente ativa está presente no mesófilo. Autores como Bussotti *et al.* (1995), Evans *et al.* (1996) e Gerosa *et al.* (2003) afirmam que variações na espessura do mesófilo são atributos que auxiliam na determinação da sensibilidade da planta aos poluentes.

Quando submetidos ao cloreto férrico foi observada uma coloração enegrecida no parênquima paliçádico, indicando dessa forma a presença de compostos fenólicos gerais. A coloração não foi observada no tratamento controle. A vanilina clorídrica não indicou reação positiva para taninos. Os compostos fenólicos estão envolvidos em, praticamente, todas as interações da planta com fatores abióticos. Esses fatores abióticos podem ser naturais, como irradiação solar, luz UV, seca, nutrientes e estações do ano. Todos esses fatores podem influenciar no metabolismo e produção destes compostos (SILVA *et al.*, 2014). Pelos resultados obtidos acredita-se que a produção desses compostos fenólicos foi uma reação da planta diante da exposição ao paraquat. Entretanto, seria importante investigar a natureza química dos compostos evidenciados pelos testes histoquímicos.

4 CONCLUSÃO

Os resultados indicaram que o paraquat é fitotóxico a plantas jovens de *Bowdichia virgilioides* Khunt., nas doses estudadas, pois promoveu alterações em todos os parâmetros visuais, fotossintéticos e anatômicos analisados. Os danos variaram de acordo com as doses

aplicadas do herbicida, sendo mais expressivas com o aumento do tempo de exposição das plantas. As alterações observadas neste estudo são possivelmente consequência de limitações estomáticas, e pela superprodução de EROs, que são produzidas principalmente quando as plantas estão sob algum tipo de estresse, comprovando assim a sensibilidade de *B. virgilioides* ao paraquat. Dessa maneira, as respostas observadas podem servir como ferramenta de diagnóstico dos efeitos desse herbicida sobre plantas jovens dessa espécie, em fragmentos vegetais atingidos pela deriva desse herbicida.

Destaca-se que mesmo estando proibido no Brasil, lotes de paraquat adquiridos em datas anteriores à proibição ainda estão sendo utilizados em alguns lugares. Entretanto, logo não será mais, por isso, os parâmetros aqui avaliados podem servir também de base para o monitoramento do efeito do diquat sobre plantas jovens de *B. Virgilioides*, visto que o herbicida possui o mesmo mecanismo de ação, e ainda tem o uso e comercialização permitidos pelos órgãos reguladores de agrotóxicos do país.

5 AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Tocantins, ao Instituto Federal Goiano-Campus Rio Verde pela parceria, ao CNPq pela bolsa concedida, e ao PROPESQ pelo auxílio na publicação.

REFERÊNCIAS

ADAPEC - Agência de defesa agropecuária do estado do Tocantins. 2013.

AGUIAR, T. V.; SANTANNA-SANTOS, B. F.; AZEVEDO, A. A.; FERREIRA, R. S. ANATI QUANTI: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta daninha**, v. 25, n. 4, p. 649-659, 2007. DOI: 10.1590/S0100-83582007000400001.

AZEVEDO, H.; OLIVEIRA, R.; LINO-NETO, T.; TAVARES, R. M. **Transcriptome of Quercus suber challenged by drought, salinity, and oxidative stresses**. 2011. Disponível em: <https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/15814/1/Cork%20Oak1.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2020.

BENAVIDES, M. P.; GALLEGOS, S. M.; COMBA, M. E.; TOMARO, M. L. Relationship between polyamines and paraquat toxicity in sunflower leaf discs. **Plant Growth Regulation**, v. 31, n. 3, p. 215-224, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1006316926002>.

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, n. 4, p. 425-432, 1995. DOI: 10.1007/BF00341354.

BRANCALION, P. H. S.; ISERNHAGEN, I.; MACHADO, R. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; RODRIGUES, R. R. Seletividade dos herbicidas setoxidim, isoxaflutol e bentazon a espécies arbóreas nativas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 251-257, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2009000300005>.

BUSSOTTI, F.; BOTTACCI, A.; BARTOLESI, A.; GROSSONI, P.; TANI, C. Morpho-anatomical alterations in leaves collected from beech trees (*Fagus sylvatica* L.) in conditions of natural water stress. **Environmental and experimental botany**, v. 35, n. 2, p. 201-213, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0098-8472\(94\)00040-C](https://doi.org/10.1016/0098-8472(94)00040-C).

CHAGAS, R. M. **Alterações fotossintéticas e respostas oxidativas em plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) tratadas com paraquat**. 2007. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2007.

DALCIN, L. S.; TERRA, T. G. R.; DE BARROS LEAL, T. C. A.; TERRA, M. A.; CHAVES, C. C. Efeito residual de herbicidas em dessecação de pré-plantio na cultura do sorgo granífero. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 7, n. 3, p. 363-373, 2019. DOI: <https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v7n3.dalcin>.

DIESEL, F.; PASSOS, A.; PAZUCH, D.; MARCHESE, J. A.; TREZZI, M. M.; CAPELIN, D.; FERRARI, A. P. Avaliações do rendimento quântico do fotossistema II de plantas de Apaga-fogo em resposta a aplicação isolada e em misturas de herbicidas causadores de estresse oxidativo. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 28., 2012, Campo Grande. **Anais [...]**. Campo Grande: SBCPD, 2012.

ELKHATIB, A. A. The response of some common Egyptian plants to ozone and their use as biomonitors. **Environ. Pollut.**, v. 124, n. 3, p. 419-428, 2003. DOI:10.1016/S0269-7491(03)00045-9.

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

FERREIRA, F. A.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R. Mecanismos de ação de herbicidas. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 5., 2005, Salvador. Algodão, uma fibra natural: **Anais [...]**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005.

FERNANDES, E. T.; CAIRO, P. A. R.; NOVAES, A. B. Physiological responses of eucalyptus clones grown in a greenhouse under water deficit. **Ciência Rural**, v. 45, n. 1, p. 29-34, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20120152>.

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

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

GOMES C. S. Impactos da expansão do agronegócio brasileiro na conservação dos recursos naturais. **Cadernos do Leste**, v. 19, n. 19, 2019. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/caderleste/article/view/13160/10396>. Acesso em: 20 dez. 2020.

HAUPT, A. W. A gelatin fixative for paraffin sections. **Stain Technology**, Los Angeles, v. 5, n. 3, p. 97-98, 1930. DOI: <http://doi.org/10.3109/10520293009115555>.

HAWKES, T. R. Mechanisms of resistance to paraquat in plants. **Pest management science**, v. 70, n. 9, p. 1316-1323, 2014. DOI: 10.1002/ps.3699.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural of Experimental Station Bull**, v. 347, p. 1-32, 1950. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19500302257>. Acesso em: 10 out. 2020.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, n. 1, p. 137-139, 1965.

KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. **Annual review of plant biology**, v. 42, n. 1, p. 313-349, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.42.060191.001525>.

LAISK, A.; LORETO, F. Determining photosynthetic parameters from leaf CO₂ exchange and chlorophyll fluorescence (ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase specificity factor, dark respiration in the light, excitation distribution between photosystems, alternative electron transport rate, and mesophyll diffusion resistance. **Plant Physiology**, v. 110, n. 3, p. 903-912, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.110.3.903>.

LIMA, J. M. E.; SMIDERLE, O. J.; OLIVEIRA, J. A.; CARVALHO, M. L. M. D. Técnicas de análise de imagem para caracterização da qualidade de sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth). **Ciência Florestal**, v. 28, n. 3, p. 1202-1216, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/1980509833367>.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. Vol. 3, p. 384.

MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E. F.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro**. Brasília: Conservação Internacional, 2004. Relatório técnico não publicado.

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. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582010000200011>.

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. **Semina: Ciências biológicas e da saúde**, v. 34, n. 2, p. 175-186, 2013. DOI: 10.5433/1679-0367.2013v34n2p175.

MELERO, M. M. **Aplicação de subdoses dos herbicidas glyphosate, 2, 4-de paraquat em algodoeiro**. 2016. 76f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual

Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Engenharia Campus de Ilha Solteira, São Paulo, 2016.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**, New York, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9).

MONACO, T. J.; WELLER, S. C.; ASHTON, F. M. **Weed science: principles and practices**. Nova York: John Wiley & Sons, 2002.

MOSKOVA, I.; TODOROVA, D.; ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I. Leaf morphology and histology changes of pea plants treated with hydrogen peroxide and paraquat. **Comptes rendus de l'Academie bulgare des Sciences**, v. 64, n. 12, p. 1695-1700, 2011. Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84855250649&partnerID=MN8TOARS>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MOURA, L. M. F.; COSTA, A. C.; MÜLLER, C.; SILVA-FILHO, R. O.; ALMEIDA, G. M.; VITAL, R. G.; *et al.* Drought tolerance in potential oilseed plants for biofuel production. **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 2, p. 289-298, 2018. DOI: 10.21475/ajcs.18.12.02.pne836.

NEILL, S. J.; DESIKAN, R.; CLARKE, A.; HURST, R. D.; HANCOCK, J. T. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1237-1247, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1237>.

NOVAK, K.; SKELLY, J. M.; SHAUB, M.; KRÄUCHI, N.; CRISTÃO, A.; LANDOLT, W.; BLEULER, P. Ozone air pollution and foliar injury development on native plants of Switzerland. **Environ. Pollut**, v. 125, n. 1, p. 41-52, 2003. DOI: 10.1016/S0269-7491(03)00085-X.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. Mecanismos de ação de herbicidas. *In*: OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. Vol. 1, p. 141-192.

PELAEZ, V.; TERRA, F. H. B.; SILVA, L. R. A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente. **Revista de Economia**, v. 36, n. 1, p. 27-48, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/re.v36i1.20523>.

PIMENTEL, C.; SARR, B.; DIOUF, O.; ABOUD, A. C. S.; ROY-MACAULEY, H. Tolerância protoplasmática foliar à seca, em dois genótipos de caupi cultivados em campo. **Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida**, v. 7, n. 1, p. 14-22, 2002.

RASCHER, U.; LIEBIG, M.; LÜTTGE, U. Evaluation of instant light-response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. **Plant, Cell & Environment**, v. 23, n. 12, p. 1397-1405, 2000. DOI: 10.1046/j.1365-3040.2000.00650.x.

RASHIDIPOUR, M.; HEYDARI, R.; MALEKI, A.; MOHAMMADI, E.; DAVARI, B. Salt-assisted liquid-liquid extraction coupled with reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction for sensitive HPLC determination of paraquat in environmental and food

samples. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 13, n. 1, p. 269-276, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9941-y>.

RIBEIRO, J. M. **19º Reunião Ordinária Fórum de Combate aos Impactos do Agrotóxicos do Tocantins**. Disponível em: <https://mpto.mp.br/forum-combate-agrotoxicos/tags/ata>. Acesso em: 23 jun. 2021.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de Herbicidas**. 6. ed. Londrina: Edição dos autores, 2011. 697p.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G. Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, n. 1, p. 153-156, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2008000100020>.

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

SILVA, F. B.; COSTA, A. C.; ALVES, R. R. P.; MEGGUER, C. A. Chlorophyll Fluorescence as an Indicator of Cellular Damage by Glyphosate Herbicide in *Raphanus sativus* L. Plants. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 1, p. 2509-2519, 2014. DOI: [10.4236/ajps.2014.516265](https://doi.org/10.4236/ajps.2014.516265).

SILVA, L. Q.; ARAÚJO, A. C. F.; ALMEIDA, G. M.; CRISPIM FILHO, A. J.; COSTA, A. C.; JAKELAITIS, A. Modificações fisiológicas em folhas de pequi (*Caryocar brasiliense*) causadas pela aplicação de glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 15, n. 2, p. 165-174, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.7824/rbh.v15i2.472>.

SEAGRO. Secretaria da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Estado do Tocantins. **Agricultura**. Disponível em: <https://seagro.to.gov.br/agricultura/>. Acesso em: 22 nov. 2019.

SMIDERLE, O. J.; SOUSA, R. C. P. Seed dormancy of paricarana tree (*Bowdichia virgilioides* Kunth)-Fabaceae-Papilionidae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 2, p. 48-52, 2003. DOI: [10.1590/S0101-31222003000400007](https://doi.org/10.1590/S0101-31222003000400007).

STRASSBURG, B. B. N.; BROOKS, T.; FELTRAN-BARBIERI, R.; IRIBARREM, A.; CROUZEILLES, R.; LOYOLA, R.; LATAWIEC, A. E.; OLIVEIRA FILHO, F. J. B.; SCARAMUZZA, C. A. M.; SCARANO, F. R.; *et al.* Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology & Evolution**, v. 1, n. 4, p. 1-3, 2017. DOI: [10.1038/s41559-017-0099](https://doi.org/10.1038/s41559-017-0099).

TUFFI SANTOS, L. D.; MACHADO, A. F. L.; VIANA, R. G.; FERREIRA, L. R.; FERREIRA, F. A.; SOUZA, G. V. R. Eucalyptus growth under the effect of glyphosate drift. **Planta daninha**, v. 25, n. 1, p. 133-137, 2007. DOI: [10.1590/S0100-83582007000100014](https://doi.org/10.1590/S0100-83582007000100014).

VAN KOOTEN, O.; SNEL, J. F. H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. **Photosynthesis Research**, v. 25, n. 3, p. 147-150, 1990. DOI: [10.1007/bf00033156](https://doi.org/10.1007/bf00033156).

VASQUEZ-TELLO, A.; ZUILY-FODII, Y.; THI, E. P.; VIEIRA DA SILVA, J. B. Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in Phaseolus and Vigna species. **Journal Experimental Botany**, v. 41, n. 7, p. 827-832, 1990. DOI: 10.1093/jxb/41.7.827.

VIEIRA, R. R. S.; PRESSEY, R. L.; LOYOLA, R. The residual nature of protected areas in Brazil. **Biological Conservation**, v. 233, p. 152-161, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.02.010>.

WAKABAYASHI, K.; BÖGER, P. Phytotoxic sites of action for molecular design of modern herbicides (Part 1): the photosynthetic electron transport system. **Weed Biology and Management**, v. 4, n. 1, p. 8-18, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2003.00118.x>.

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**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994. DOI: 10.1016/S0176-1617(11)81192-2.