

Alterações morfológicas e anatômicas em *Schizolobium parahyba* (vell.) Blake (Fabaceae) em resposta a subdoses de saflufenacil

Morphological and anatomical changes in Schizolobium parahyba (vell.) Blake (Fabaceae) in response to saflufenacil subdoses

Hugo Humberto de Araújo

Graduando do curso de Ciências Biológicas (UNIPAM).

E-mail: hugoharaujo@outlook.com

Vinícius de Moraes Machado

Professor orientador (UNIPAM).

E-mail: viniciusmm@unipam.edu.br

Resumo: A utilização de espécies vegetais para avaliação de contaminação ambiental tem-se mostrado um método chave para a compreensão do efeito de substâncias tóxicas, como herbicidas, em plantas não-alvo. Objetivou-se, com este estudo, verificar a morfoanatomia das mudas da espécie *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake em resposta à toxicidade de subdoses do herbicida saflufenacil. O experimental foi composto por 40 mudas de *Schizolobium parahyba*, submetidas à aplicação de saflufenacil nas concentrações 25; 50 e 100 g ha⁻¹ e cultivadas por 90 dias em casa de vegetação. Foram avaliados a fitotoxicidade por meio de escala visual, incremento na altura e diâmetro caulinar, massa seca da porção aérea e radicular além de análises micromorfológicas dos tecidos foliares processados. Foram observadas respostas relacionadas à intoxicação visual e alterações celulares. No entanto, não houve variações para massa seca, incremento em altura e circunferência, sugerindo resistência dessa espécie ao herbicida.

Palavras-chave: Morfoanatomia. Herbicida. Xenobióticos.

Abstract: Using plant to evaluate environmental contamination has been shown to be a key method for understanding the effect of toxic substances, such as herbicides, on non-target plants. This study aim to verify the morfoanatomy of the seedlings of the species *Schizolobium parahyba* (Vell) Blake in response to the toxicity of sub-doses of the saflufenacil herbicide. The experiment was composed of 40 *Schizolobium parahyba* seedlings submitted to saflufenacil at concentrations 25; 50 and 100 g ha⁻¹ and grown for 90 days under greenhouse conditions. It was evaluated parameters of the phytotoxicity by means of visual scale, increase in height and stem diameter, dry mass of the aerial part and root, besides micromorphometric analysis of the processed foliar tissues. Responses related to visual intoxication and cellular alterations were observed. However, there were no variations for dry mass, increase in height and circumference, suggesting resistance of this species to the herbicide.

Keywords: Morphoanatomy. Herbicide. Xenobiotics.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui agricultura com alto nível tecnológico, sendo um dos maiores produtores mundiais de alimentos devido à grande disponibilidade de áreas para agricultura e condições climáticas e do solo privilegiadas. No entanto, para garantir alta produtividade, a agricultura contemporânea faz uso crescente de insumos químicos se comparada a cultivos de subsistência. O Brasil é considerado, desde 2008, o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, sendo os herbicidas os mais comercializados no país (IBAMA, 2010; CATTANI *et al.*, 2014).

O Cerrado é um dos domínios mais ameaçados devido à expansão agropecuária e ao manejo inadequado dos seus recursos. Nos últimos 30 anos, 53% das áreas naturais desse domínio foram perdidos, grande parte substituída por plantações. Além disso, com a expansão agrícola, houve aumento do consumo e diversificação de herbicidas que podem contaminar áreas de vegetação nativa próximas às cultivadas (BATALHA, 2011; BEUCHLE *et al.*, 2015).

Em regiões onde há adoção do controle químico, relatos de deriva de herbicidas têm sido constatados com frequência. A própria cultura pode ser atingida pelo herbicida, desencadeando intoxicação, alterações no crescimento e, inclusive, a morte das plantas não-alvo. Dessa forma, a aplicação de maneira incorreta dos herbicidas pode ocasionar danos tanto à cultura quanto à vegetação do entorno, dependendo das concentrações e da susceptibilidade das espécies, além de contaminar corpos hídricos, comprometendo o abastecimento e os ecossistemas aquáticos (DAVIES *et al.*, 2003; TUFFI SANTOS *et al.*, 2007).

A recuperação de ambientes terrestres e aquáticos contaminados com compostos orgânicos e inorgânicos, incluindo os herbicidas, pode ser realizada por intermédio de métodos biológicos, sendo a fitorremediação um processo que vem ganhando destaque devido aos bons resultados obtidos, aos baixos custos e impactos ambientais. Para a implementação desse sistema, é imprescindível a determinação de espécies com potencial remediador, ou seja, que consigam se desenvolver em áreas contaminadas, absorvendo, neutralizando ou barrando contaminantes de modo a torná-los menos danosos ao ambiente (ZHOU *et al.*, 2008).

A sensibilidade das plantas em relação aos herbicidas depende de inúmeros fatores fisiológicos, morfológicos e estruturais. Nas últimas décadas, vários estudos vêm utilizando espécies florestais para avaliação dos efeitos da deriva simulada de subdoses de herbicidas e seletividade deles em espécies nativas como canafístula (*Senna multijuga* (Rich.) H. S. Irwin & Barneby), lobeira (*Solanum lycocarpum* A. St. Hill.) e pau-santo (*Kielmeyera lathrophyton* Saddi) (FERREIRA *et al.*, 2005; DUARTE *et al.*, 2006; MACHADO *et al.*, 2013).

A investigação de parâmetros morfoanatômicos pode ser utilizada na avaliação de respostas causadas por elementos xenobióticos, como contaminantes ambientais, metais pesados e herbicidas. Essas avaliações possibilitam identificar alterações celulares e morfológicas decorrentes da exposição a elementos potencialmente tóxicos, que podem inclusive levar à morte dos indivíduos (TUFFI SANTOS *et al.*, 2008; MACHADO *et al.*, 2013).

Este estudo se torna relevante na medida em que avaliações da sensibilidade a diferentes herbicidas em espécies vegetais nativas de mata ciliar, como *Schizolobium parahyba* (Fabaceae), são fundamentais na busca por plantas tolerantes para utilização em projetos de fitorremediação, reflorestamento, recuperação e proteção de regiões de mata ciliar, nascentes e corpos hídricos próximos a áreas agricultáveis. Por apresentar um rápido crescimento e desenvolvimento, a *Schizolobium parahyba* é uma espécie recomendada em programas de reflorestamento e recuperação de áreas degradadas.

Objetivou-se, com este estudo, verificar a morfoanatomia das mudas da espécie *Schizolobium parahyba* em resposta à toxicidade de subdoses do herbicida saflufenacil.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HERBICIDAS: HISTÓRICO, CLASSIFICAÇÃO E MECANISMO DE AÇÃO

A utilização de produtos químicos para o controle de plantas daninhas teve início por volta do começo do século XX, utilizando-se sais e ácidos fortes. No entanto, somente a partir de 1940 houve o uso em larga escala dos compostos químicos, denominados então de herbicidas. O termo herbicida deriva do latim *herba* (erva, planta) e *caedere* (matar) e refere-se aos produtos utilizados para controle de plantas daninhas, as quais competem por recursos como luz, nutrientes e água com culturas e espécies florestais, podendo ocasionar queda no desenvolvimento e produtividade destas (OLIVEIRA JÚNIOR *et al.*, 2011).

De modo geral, os herbicidas podem ser divididos, quanto à forma de aplicação, em duas classes: os de solo e os de folhas. Os de folhas podem ser classificados ainda em herbicidas de contato, os quais não são translocados, exercendo seus efeitos principalmente nos locais onde entram em contato com a planta, e em sistêmicos, os quais são absorvidos pelas folhas e translocam-se via xilema-floema para os sítios de ação, geralmente os pontos de crescimento da planta onde atuam (OLIVEIRA JÚNIOR *et al.*, 2011).

O saflufenacil é um herbicida seletivo condicional de contato, pertencente à classe pirimidinadiona (uracila). É recomendado em pré-emergência e apresenta atividade residual no solo. Atua na inibição da enzima protoporfirinogênio oxidase (Protox) que está relacionada à síntese da clorofila e dos citocromos. Em doses recomendadas, promove o aumento de radicais livres, altamente reativos, e promovem a peroxidação dos lipídeos nas membranas, acarretando morte celular (BASF, 2018).

2.2 EFEITO DERIVA E ECOTOXICOLOGIA DOS HERBICIDAS

O controle químico ganhou destaque e se difundiu rapidamente devido a seus rápidos resultados, facilidade de aplicação e eficiência, o que demanda menor mão de obra e a redução da reinfestação. No Brasil, os herbicidas são os agrotóxicos mais comercializados. No entanto, seu uso indiscriminado e manejo incorreto podem ocasionar efeitos indesejados como a deriva, a contaminação do solo, da água e de organismos não-alvo (IBAMA, 2010; PEREIRA *et al.*, 2010).

A deriva ocorre quando parte da pulverização de herbicidas desvia para fora da

área de aplicação em decorrência, principalmente, do vento, sendo uma das principais causas da perda de herbicidas. O efeito deriva está relacionado diretamente a fatores como manejo inadequado no momento da aplicação, quantidade de herbicida que é desviado, tamanho das gotículas pulverizadas, doses utilizadas e fatores climáticos. Assim, a depender das condições, a deriva pode ocasionar danos morfológicos e no desenvolvimento das plantas não-alvo e outros organismos (MILLER, 1993; PEREIRA *et al.*, 2010).

Quando esses produtos atingem os ecossistemas aquáticos e terrestres pela deriva, pela lixiviação ou pelo escoamento superficial, podem acarretar uma série de alterações nesses ambientes, afetando diretamente os organismos vivos e comunidades. Os agrotóxicos interferem nas cadeias tróficas e nos ciclos biogeoquímicos, acarretando mudanças na estruturação dos ecossistemas aquáticos e terrestres (DAVIES *et al.*, 2003; ARTS *et al.*, 2008).

Com base nos conhecimentos acerca dos mecanismos de ação desses compostos tóxicos, é possível realizar a identificação dos organismos resistentes ou sensíveis a eles. Logo, a escolha dos agrotóxicos deve levar em consideração diversos fatores como o custo-benefício de seu uso, riscos para o meio ambiente, forma correta de utilização e potencial toxicológico (VAN DEN BRINK *et al.*, 2006).

2.3 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE EM ESTUDO

A família Fabaceae inclui, aproximadamente, 19000 espécies distribuídas em cerca de 650 gêneros. É uma das famílias mais representativas dentro do grupo das Angiospermas. Em território brasileiro, existem relatos da ocorrência de 200 gêneros e 2700 espécies. A família abrange indivíduos com interesses para fins medicinais, econômicos e ambientais. Existem vários estudos de sensibilidade a herbicidas em espécies dessa família como *Senna multijuga* (Rich.) H.S.Irwin & Barneby (canafístula), *Bowdichia virgilioides* Kunth (sucupira-preta) e *Plathymenia reticulata* Benth. (vinhático) (FERREIRA *et al.*, 2005; SOUZA; LORENZI, 2008; MACHADO *et al.*, 2013).

Schizolobium parahyba (Vell.) Blake, conhecida popularmente como guapuruvu, birosca ou pataqueira, é uma espécie arbórea nativa, pioneira decídua, que ocorre exclusivamente no Brasil e habita preferencialmente formações vegetais secundárias, sendo comum sua ocorrência em matas ciliares ao longo de rios e córregos (SOUZA; LORENZI, 2008).

As folhas dessa espécie são compostas, bipinadas e caracterizadas pelo formato dos folíolos, que são oblongos; as flores são amarelas vistosas, organizadas em inflorescências. A espécie pode ser utilizada para a ornamentação e recuperação de áreas degradadas, devido à alta taxa de propagação e crescimento. Sua madeira é leve e macia, podendo ser utilizada para fins artesanais e produção de celulose e papel (SOUZA; LORENZI, 2008; SAUERSSIG, 2014).

3 METODOLOGIA

3.1 LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi conduzido no *Campus* I do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), situado na cidade de Patos de Minas – MG. As mudas foram obtidas no Viveiro de Mudanças do Instituto Estadual de Florestas (IEF), localizado na Rodovia MG 354, Km 171, Patos de Minas – MG (S 18° 36' 46.57" / W 46° 28' 48.51"). O processamento anatômico foi realizado em parceria com o Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa *Campus* Rio Paranaíba (UFV-CRP), localizado na BR 354, Km 310, Rio Paranaíba - MG. As avaliações qualitativas e quantitativas referentes aos parâmetros morfológicos e micrométricos foram realizadas no UNIPAM.

3.2 PREPARAÇÃO DAS MUDAS

O plantio e desenvolvimento inicial das mudas de *Schizolobium parahyba* foi realizado no Viveiro de Mudanças do IEF. O substrato para o plantio constituiu-se da mistura de solo (40%), esterco bovino curtido (30%), casca de arroz carbonizada misturada com fibra de coco (30%) e adubo NPK (4-14-8), sendo previamente preparado e distribuído em fitocelas, com volume total de dois litros. As sementes para o plantio foram coletadas de matrizes maduras (plantas adultas em idade reprodutiva), na região próxima ao viveiro.

Para o experimento, foi avaliado um total de 40 mudas de *Schizolobium parahyba*, padronizadas quanto ao tamanho e diâmetro do caule. Elas foram transportadas à casa de vegetação do UNIPAM, onde permaneceram por um período de aclimação de 15 dias, para comporem o delineamento experimental. As regas foram feitas duas vezes ao dia, sempre nos mesmos horários, sendo que cada muda recebeu 300 mL de água por rega.

3.3 APLICAÇÃO DO HERBICIDA (TRATAMENTOS)

O herbicida utilizado foi o produto comercial Heat® com formulação à base de saflufenacil. A aplicação do herbicida foi realizada com a utilização de um pulverizador manual, munido com bico tipo leque 110-03, apresentando pressão de 3,5 bar, por meio de uma válvula reguladora de pressão, com volume de solução final de 200 L ha⁻¹. Após a aplicação, as mudas permaneceram por um período de 24 horas sem irrigação de modo a garantir a eficácia e melhor absorção do herbicida.

O experimento foi realizado no período de março a junho de 2018, em delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo o controle e três tratamentos (T1, T2, T3) com diferentes doses de herbicida e com 10 repetições. As concentrações utilizadas (25; 50 e 100 g ha⁻¹) correspondem a 25, 50 e 100% das doses recomendadas pelo fabricante para controle convencional de plantas daninhas.

A aplicação ocorreu no período matutino. No momento, não havia vento, a temperatura média era de 27 °C e a umidade relativa do ar era de 85%. A fim de se

evitar possível deriva, as mudas foram isoladas com uma barreira física, de modo a garantir a não contaminação entre os tratamentos por deriva. Durante a aplicação, foram utilizados os devidos equipamentos de proteção individual.

3.4 ESCALA VISUAL DE TOXICIDADE E REGISTRO FOTOGRÁFICO

A avaliação visual da fitotoxicidade das mudas em cada tratamento foi realizada nos 12 primeiros dias a partir da aplicação do herbicida, com base na escala da European Weed Research Council (EWRC) (Tabela 1), que varia de 1 a 9, em que a nota 1 indica ausência de sintomas de toxicidade e a nota 9 indica morte das plantas (EWRC, 1964). Padronizou-se o primeiro dia avaliação com nota 1. Para escala de toxicidade, foi ajustado modelo de regressão exponencial, em que todos os parâmetros da equação foram significativos ($p < 0,05$).

Tabela 1 – Escala de fitotoxicidade da European Weed Research Council (EWRC) com notas de avaliação e principais sintomas visuais

NOTAS	SINTOMAS DE FITOTOXICIDADE
1	Ausência de sintomas de toxicidade.
2	Sintomas de toxicidade muito leves, com pequenas alterações visíveis (descoloração, deformação) em algumas plantas.
3	Sintomas de toxicidade leves, com pequenas alterações visíveis (clorose e encarquilhamento) em muitas plantas.
4	Sintomas de toxicidade considerados moderados, com forte descoloração ou razoável deformação, sem ocorrer necrose.
5	Sintomas classificados como duvidosos, com necrose de algumas folhas acompanhada de deformação em folhas e brotos.
6	Sintomas que aparentam causar toxicidade forte, com redução no porte das plantas, com encarquilhamento e necrose das folhas.
7	Toxicidade forte com mais de 80% das folhas destruídas.
8	Toxicidade muito forte sobrando pequenas áreas verdes nas plantas.
9	Morte das plantas.

Fonte: Adaptado de EWRC (1964).

Foi feito também o registro fotográfico das mudas, com uso de câmera digital, durante o período de análise, para posterior confecção de pranchas comparativas entre os diferentes tratamentos.

3.5 INCREMENTO EM ALTURA, DIÂMETRO E DETERMINAÇÃO DA MASSA SECA

A coleta de dados referentes à altura e circunferência da porção aérea das plantas foi feita no dia da aplicação do herbicida e após o período de avaliação (90 dias após a aplicação). A quantificação da altura foi realizada com auxílio de fita métrica inextensível; já os valores referentes ao diâmetro foram coletados com auxílio do

paquímetro digital (CEZAR *et al.*, 2015). O valor de incremento é resultante da diferença entre o valor final (aos 90 dias) e o valor inicial (no dia da aplicação).

Ao término do período de avaliação, foi realizada a separação da porção aérea e radicular das plantas analisadas. As raízes foram lavadas em água corrente para retirada das partículas de solo e foram secas em papel absorvente. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa, com circulação de ar à temperatura de 60°C até obtenção de massa constante (OLIVEIRA, 2010). A massa seca por planta se deu pelo somatório do peso da porção aérea e subterrânea após a secagem.

3.6 PROCESSAMENTO ANATÔMICO E MICROMORFOMETRIA FOLIAR

Decorridos 12 dias após a aplicação (DAA) do herbicida, foram coletados foliólulos de folhas completamente expandidas. Foram coletadas amostras de 0,5 cm² na região mediana da nervura de maior porte dos foliólulos. O processamento do material foi realizado com base nos métodos usuais em anatomia vegetal.

As amostras foliares foram fixadas em FAA_{50%} (formaldeído, ácido acético glacial e etanol) (JOHANSEN, 1940), estocadas em etanol 70%, posteriormente incluídas em hidróxi-etil-metacrilato (Leica Historesin®) e seccionadas em micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM 2255), obtendo-se secções transversais de 7 µm de espessura. As lâminas foram coradas com Azul de Toluidina e montadas com resina sintética "Permound®" (KRAUS; ARDUIN, 1997). As imagens foram obtidas com auxílio de fotomicroscópio.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

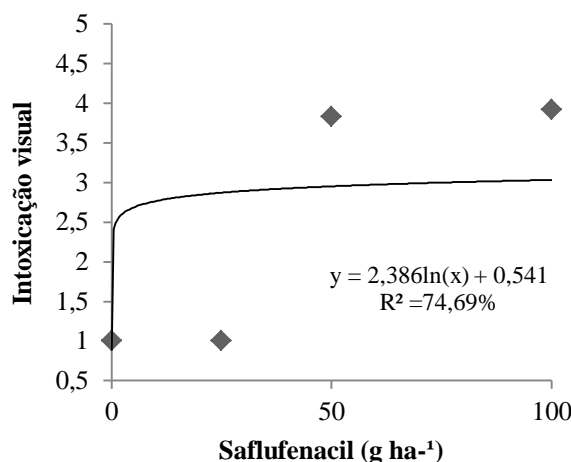
Para os dados de fitotoxicidade visual, foi aplicada regressão exponencial. Os dados quantitativos foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) e ao teste Tukey para dados morfológicos e Scott-Knott para variáveis anatômicas, ambos a 5% de significância. Os dados foram analisados pelo pacote estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESCALA VISUAL DE TOXICIDADE

O saflufenacil ocasionou respostas de intoxicação visual em todos os tratamentos, com exceção da menor dose (25 g ha⁻¹). Os aumentos das doses do herbicida estimularam maiores danos visuais. A análise de regressão (Gráfico 1) foi significativa para o modelo testado ($p < 0,05$).

Gráfico 1- Análise de regressão para intoxicação visual das mudas *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Fabaceae) submetidas a diferentes doses do herbicida saflufenacil para um período de 12 dias de avaliação.



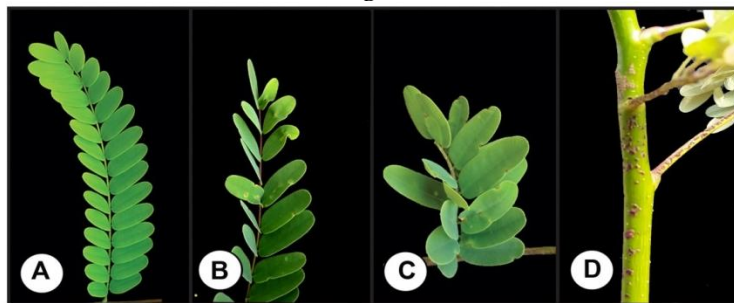
Fonte: Dados da pesquisa.

Quando submetidas ao saflufenacil, os danos observados incluíram surgimento de manchas necróticas pontuais no limbo e no caule, queda das folhas mais jovens no terço superior da planta e do meristema apical caulinar nas maiores doses e encarquilhamento dos foliólulos (Figura 1). Esses sintomas foram similares aos observados por Almeida Rodrigues (2017) em *Coffea arabica* na dose de saflufenacil de 49 g ha⁻¹ e em associação com outros herbicidas.

Os primeiros sintomas, como manchas claras, surgiram no terceiro DAA nas plantas submetidas às maiores doses do herbicida. Do quarto ao sexto DAA em *S. parahyba*, houve o surgimento de poucas manchas necróticas bem definidas, em algumas plantas apenas, sendo que na concentração de 25 g ha⁻¹ não foram observadas alterações em nenhuma planta.

Experimento conduzido por Almeida Rodrigues (2017) com diferentes herbicidas mostrou que o saflufenacil puro, em associação com sethoydim, causou os maiores níveis de injúria no sétimo DAA. Houve formação de lesões necróticas amareladas em folhas mais velhas, necrose nas folhas e brotos jovens, além de necrose marginal no limbo. Esses resultados foram, em parte, similares aos observados em *S. parahyba*.

Figura 1 - Morfologia dos folíolos de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Fabaceae) após a aplicação do herbicida saflufenacil. Em que: A = Controle, sem alterações; B = dose de 50 g ha⁻¹, evidenciando manchas necróticas, C = dose de 100 g ha⁻¹, evidenciando encarquilhamento e D = dose de 100 g ha⁻¹, evidenciando manchas no caule.



Fonte: Dados da pesquisa.

A partir do oitavo DAA, houve estabilização dos principais sintomas visuais. As manchas necróticas tornaram-se mais intensas, com encarquilhamento de algumas folhas mais jovens, porém sem queda das folhas e poucos danos ao caule. No tratamento com menor concentração de saflufenacil, não foram observadas alterações em *S. parahyba*.

O surgimento de sintomas de necrose e clorose nos tecidos foliares pode ser justificado pelo mecanismo de ação do herbicida. O saflufenacil, assim que entra em contato com as células fotossintéticas, compete com a enzima PROTOX, impedindo a produção de protoporfirinogênio – IX e provocando o acúmulo de protoporfirinogênio no cloroplasto. A protoporfirina IX, fora do sítio de reação, origina oxigênio singlete (¹O₂), um radical livre altamente reativo, a partir da reação com luz e oxigênio. Esse radical livre promove a peroxidação lipídica de membranas, o que pode ocasionar a morte celular (CARVALHO; NETTO, 2016).

Nas mudas submetidas ao saflufenacil aos 90 DAA, as manchas necróticas permaneceram nas folhas da porção inferior, sem outros danos visíveis. Houve rebrota total na região do ápice caulinar afetado, com surgimentos de folhas saudáveis, sem danos visíveis. A recuperação da porção aérea, com emissão de folhas saudáveis, indica seletividade ao herbicida e está relacionada ao mecanismo de ação local do saflufenacil e sua maior eficiência em plantas nos primeiros estádios de desenvolvimento.

4.2 INCREMENTO EM ALTURA, DIÂMETRO CAULINAR E MASSA SECA

Quanto aos parâmetros de incremento na altura e diâmetro caulinar nos tratamentos submetidos a doses crescentes de saflufenacil, observou-se aos 90 DAA que para a espécie não houve variações significativas no incremento na altura e diâmetro na altura do coleto (Tabela 2).

Resultados similares foram obtidos por Almeida Rodrigues (2007) em plantas de *Coffea arabica* L., em que também não houve interferência no crescimento, e por Paz (2017) em plantas de *Khaya senegalensis* A. Juss. submetidas à dose de 98 g ha⁻¹ para o mesmo herbicida.

De acordo com Carvalho e Netto (2016), plantas jovens (estádio inicial de desenvolvimento) que apresentam até seis pares de folhas são mais sensíveis aos herbicidas inibidores de PROTOX, como o saflufenacil. As mudas testadas apresentaram estágio de desenvolvimento avançado, o que pode justificar os valores de altura e diâmetro caulinar não significativos para ambas as espécies submetidas ao herbicida.

Os sintomas de intoxicação visuais como surgimento de manchas necróticas nas folhas e encarquilhamento não interferiram de maneira significativa no incremento, na altura e diâmetro caulinar.

Tabela 2 - Análise de variância e comparação das médias (teste Tukey) para incremento na altura e diâmetro caulinar de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Fabaceae) submetidas a diferentes doses do herbicida saflufenacil

FV	GL	Valores de F	
		Diâmetro	Altura
Tratamento	3	0,249 ^{ns}	0,997 ^{ns}
CV (%)		29,09	36,62
		Médias (cm)	
Controle		4,252 a	21,950 a
T1 (25 g ha ⁻¹)		4,059 a	17,150 a
T2 (50 g ha ⁻¹)		4,158 a	22,250 a
T3 (100 g ha ⁻¹)		3,817 a	21,500 a
MG		4,071	20,712

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. Em que: GL = grau de liberdade, CV = coeficiente de variação, MG = média geral. FV: fonte de variação; ^{ns}: não significativo ($p \geq 0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com Oliveira Júnior (2011), os fatores que determinam a seletividade de espécies vegetais ligados à própria planta estão relacionados a retenção e absorção diferenciadas, cultivar utilizada, translocação diferencial, idade, estágio fenológico e mecanismos de desintoxicação. Quanto à seletividade, em herbicidas com ação inibidora de PROTOX, as espécies consideradas tolerantes apresentam, em geral, rápida recuperação das folhas afetadas. Além disso, a espécie possui rápido desenvolvimento, o que pode ter contribuído para os resultados observados.

A ausência de sintomas visuais nas menores doses do herbicida e a não interferência no crescimento e incremento caulinar sugerem que *S. parahyba* é uma espécie tolerante a esse herbicida.

Para *S. parahyba*, em todas as dosagens do herbicida, não houve variação nos valores de massa seca entre os tratamentos (Tabela 3), apesar dos danos visuais registrados na porção aérea. Nos tratamentos com saflufenacil, não houve sintomas de fitotoxicidade e de danos no sistema radicular, que se mostrou íntegro para ambas as espécies em todas as doses do herbicida.

Tabela 3 - Análise de variância e comparação das médias (teste Tukey) para massa seca da porção aérea (MSPA), radicular (MSPR) e total (MST) de mudas *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Fabaceae) submetidas a diferentes doses do herbicida saflufenacil

FV	GL	Valores de F		
		MSPA	MSPR	MST
Tratamento	3	1,58 ^{ns}	0,96 ^{ns}	1,56 ^{ns}
CV (%)		27,45	24,26	39,18
		Médias (g)		
Controle		33,65 a	9,85 a	43,50 a
T1 (25 g ha ⁻¹)		26,15 a	8,93 a	35,14 a
T2 (50 g ha ⁻¹)		28,86 a	10,65 a	39,50 a
T3 (100 g ha ⁻¹)		28,09 a	10,49 a	38,58 a
MG		29,18	9,99	39,18

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância. Em que: GL = grau de liberdade, CV = coeficiente de variação, MG = média geral. FV: fonte de variação; ns: não significativo ($p \geq 0,05$).

Fonte: Dados da pesquisa.

Resultados similares foram obtidos por Almeida Rodrigues (2017) em mudas de *Coffea arabica* submetidas ao saflufenacil; não foi verificado nenhum tipo de alteração ou comprometimento do sistema radicular nas mudas de café. De acordo com Grossmann *et al.* (2011), a ação de contato deste herbicida e o modo de aplicação (diretamente sobre a parte aérea) são responsáveis pela ausência de interferência no sistema radicular.

4.4 MICROMORFOMETRIA E ALTERAÇÕES ANATÔMICAS QUALITATIVAS

A análise anatômica permitiu observar que, em *S. parahyba*, as folhas apresentam epiderme uniestratificada e são hipoestomáticas. As células da epiderme da face adaxial de *S. parahyba* são maiores que as da face abaxial. O mesofilo é dorsiventral, com parênquima paliçádico constituído de uma única camada de células, o qual ocupa cerca de metade do mesofilo. O parênquima lacunoso apresenta de 4-6 camadas de células, de formato irregular, com muitos espaços intercelulares.

Houve alterações significativas para espessura dos tecidos foliares (Tabela 4). O saflufenacil nas doses de 25 e 50 g ha⁻¹ em *S. parahyba* promoveu o aumento na espessura da lâmina foliar, enquanto, no controle e na maior dosagem, a espessura total se manteve menor. Para os valores do parênquima paliçádico, houve aumento da espessura na menor dose. Esses dados sugerem que, em baixas concentrações, o saflufenacil estimula o espessamento foliar em *S. parahyba*, devido, principalmente, ao espessamento do mesofilo.

Tabela 4 – Valores de F e teste de médias, teste Scott-Knott a 5% de significância para micromorfometria das folhas de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Fabaceae) submetidas a diferentes doses do herbicida saflufenacil. Em que: EAD = epiderme da face adaxial, PP = parênquima paliçádico, PL = parênquima lacunoso, EAB = epiderme da face abaxial e LMB = limbo.

FV	GL	Valores de F				
		EAD	PP	PL	EAB	LMB
Tratamento	3	13,38*	21,28*	12,90*	3,92*	7,73*
CV (%)		18,45	17,28	19,79	36,19	12,17
		Médias (μm)				
Controle		17,48 a	48,55 d	44,04 b	12,15 b	122,22 b
T1 (25 g ha ⁻¹)		15,46 b	56,15 b	46,17 a	12,33 b	130,12 a
T2 (50 g ha ⁻¹)		14,66 c	59,38 a	42,04 b	12,22 b	128,31 a
T3 (100 g ha ⁻¹)		16,07 b	51,72 c	38,26 c	14,25 a	120,31 b
MG		15,92	53,95	42,63	12,74	125,24

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância; GL = grau de liberdade, CV = coeficiente de variação, MG = média geral. FV: fonte de variação; *: significativo ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

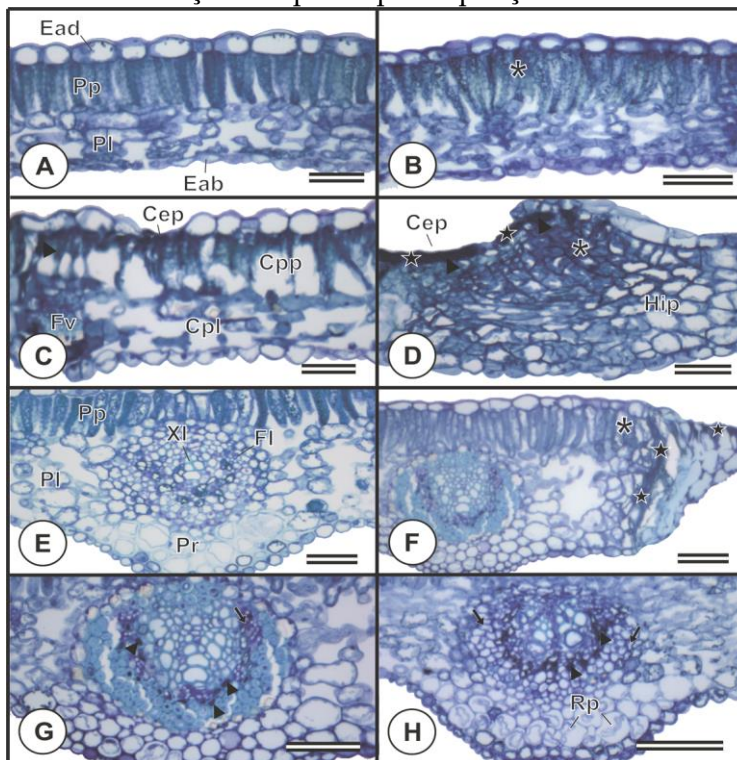
Fonte: Dados da pesquisa.

Esses dados demonstram que a resposta anatômica pode ser muito específica em diferentes organismos, mesmo se tratando de um único herbicida, como observado neste estudo. Fatores genéticos podem ocasionar esses diferentes mecanismos de ação nas plantas não alvo, além do efeito de hormese observado em alguns estudos com compostos fitotóxicos (CALABRESE; BALDWIN, 2000; FERREIRA *et al.*, 2005).

As variações significativas nos parâmetros micromorfométricos de *S. parahyba* submetidos ao herbicidas reforçam a importância de se avaliarem essas variáveis, visto que alterações nos tecidos podem ser observadas antes da instalação de danos visuais. Para Marques *et al.* (2012), a organização anatômica foliar de tecidos como tricomas, epidermes, feixes vasculares, parênquimas e espessura da lâmina foliar podem ser indicativos associados a diferentes graus de intoxicação e de sensibilidade ou resistência aos herbicidas.

Quanto às alterações anatômicas, o saflufenacil causou danos celulares (Figura 2) sendo que nas maiores doses as alterações foram mais marcantes.

Figura 2 - Anatomia foliar (corte transversais – microscopia de luz) de *Schizolobium parahyba* 12 dias após a exposição das doses crescentes do herbicida saflufenacil. Controle (A e E). Submetidas a 25 g ha⁻¹ (B); 50 g ha⁻¹ (C, F e G) e 100 g ha⁻¹ (D e H). Em que: Ead = epiderme da face adaxial; Eab = epiderme da face abaxial; Pp = parênquima paliçádico; Pl = parênquima lacunoso; Fv = feixe vascular; Xl = xilema; Fl = floema; Pr = parênquima; Hip = hiperplasia celular; Cpp = colapso do parênquima paliçádico; Cep = colapso da epiderme; Cpr = colapso do parênquima; Rp = retração do protoplasto; Seta preta = alterações no floema; Ponta de seta = acúmulo de compostos; Estrela = necrose; Asterisco = alterações no parênquima paliçádico. Barras: 50 µm.



Fonte: Dados da pesquisa.

Nas maiores doses, os primeiros sintomas foram a formação de manchas necróticas isoladas no limbo e no mesofilo, além de colapso das células (Figura 2 – D e F). As células do mesofilo ao entorno da necrose sofreram hiperplasia limitando-se à região, sem atingir tecidos mais distantes (Figura 2 – D). Na maior dose de saflufenacil em *S. parahyba*, foram observados danos no floema da nervura de maior porte e retração do protoplasto de células parenquimáticas próximas (Figura 2 – H).

A formação de manchas necróticas nas plantas submetidas ao saflufenacil decorre da peroxidação das membranas celulares desencadeada pela formação de radicais livres, já que o herbicida é inibidor da enzima protoporfirinogênio oxidase (Protox) (QUEIROZ *et al.*, 2014). Os compostos intensamente corados observados são similares a compostos fenólicos (Figura 2 – C, D, G e H), no entanto a confirmação depende de testes histoquímicos. De acordo com Dickson (2000), as interações entre plantas e fatores artificiais, como os poluentes ambientais, podem influenciar a formação desses compostos.

A ação de contato explica o surgimento de necroses localizadas em pontos

específicos do limbo, atingindo apenas tecidos próximos. No entanto, como afirmam Ashigh e Hall (2010), esse herbicida possui propriedades químicas e físicas que possibilitam sua translocação via floema. Isso possibilitou o surgimento de alterações visíveis nesse tecido (Figura 2 – G e H), que foi intensamente corado e apresentou células com parede irregular.

5 CONCLUSÃO

Houve alterações morfológicas e anatômicas nas mudas de *S. parahyba* submetidas ao saflufenacil em subdoses. Em maiores doses, o herbicida provocou danos intensos, principalmente em termos de intoxicação visual e alterações celulares, no entanto sem comprometer a produção de massa seca e incremento em altura e circunferência ao final do experimento. Sugere-se então que *S. parahyba* possui características de resistências ao saflufenacil nas doses testadas.

Este estudo reforça também a importância da avaliação de parâmetros morfoanatômicos para avaliação da sensibilidade a contaminantes ambientais, visto que foram observadas alterações celulares mesmo sem variações morfológicas significativas.

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem ao Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM) pelo apoio financeiro e logístico. Ao Instituto Estadual de Florestas (IEF) pelo fornecimento das mudas. Ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa – CRP pela parceria no processamento histológico das amostras vegetais. À Prof^a. Dra. Jaqueline Dias Pereira pelas considerações.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA RODRIGUES, R. J. **Eficácia e seletividade de herbicidas isolados e em associações no cafeeiro**. 2017. 108 p. Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2017.

ARTS, G. H. P. *et al.* Sensitivity of submersed freshwater macrophytes and endpoints in laboratory toxicity tests. **Environ. Pollut.** v. 153, p.199–206, 2008.

ASHIGH, J. J.; HALL, C. Bases for interactions between saflufenacil and glyphosate in plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 58, n. 12, p. 7335-7343, 2010.

BASF . **HEAT®. Hannibal Plant**. São Paulo: BASF, 2018. Bula de herbicida.

BATALHA, M. A. O cerrado não é um bioma. **Biota Neotrop.** , v. 11, n.1. 2011.

BEUCHLE, R. *et al.* Land cover changes in the Brazilian Cerrado and Caatinga biomes from 1990 to 2010 based on a systematic remote sensing sampling . **Appl. Geogr.** v. 58, p.116-127, 2015.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Defning hormesis. **Human & Experimental Toxicology**, Hampshire, v. 21, n. 1, p. 91-97, 2002.

CARVALHO, S. J. P.; NETTO, A. G. Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas aos Inibidores de PROTOX (GRUPO E). In: CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M. (coord.) **Aspectos da Resistência de Plantas Daninhas**. 4. ed. Piracicaba: ESALQ, p.151-164, 2016.

CATTANI, D. *et al.* Mechanisms underlying the neurotoxicity induced by glyphosate-based herbicide in immature rat hippocampus: Involvement of glutamate excitotoxicity. **Toxicology**, v.320, p.34-45, 2014.

CEZAR, A. M. A. *et al.* Aplicação foliar de GA3 no crescimento e desenvolvimento de *Passiflora edulis* Sims f. Flavicarpa Degener. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 4, p. 902 -912, dez. 2015.

DAVIES, J. *et al.* Herbicide risk assessment for non-target aquatic plants: sulfosulfuron – a case study. **Pest. Manag. Sci.**, v. 59, p. 231–237, 2003.

DICKISON, William C. **Integrative Pant Anatomy**. California, Academic Press. 2000.

DUARTE, N. F. *et al.* Seletividade de herbicidas sobre *Myracrodruon urundeuoa* (aroeira). **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 24, n. 2, p. 329-337, 2006.

EUROPEAN WEED RESEARCH COUNCIL. Report of 3rd and 4rd meetings of EWRC. Cittee of methods in weed research. **Weed Research**, Oxford, v.4, n.1, p.88. 1964.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**.Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

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

GROSSMANN, K. *et al.* The herbicide saflufenacil (KixorTM) is a new inhibitor of protoporphyrinogen IX oxidase activity. **Weed Sci.**, v. 58, n. 1, p. 1-9, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil**: uma abordagem ambiental. Brasília: IBAMA, 84 p. 2010.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York : Mc Graw-Hill, 1940. 523p.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198 p.

MACHADO, V. M. *et al.* Sensibilidade de mudas de espécies florestais nativas ao glyphosate. **Biosci J.** v. 29, n. 19, p.41-51, 2013.

MARQUES, R.P. *et al.* 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.

MILLER, P.C.H. Spray drift and its measurement. In: MATTHEWS, G. A.; HISLOP, E. C. Application technology for crop protection. Trowbridge: CAB International, 1993. p. 101-122.

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

OLIVEIRA, C. **Características morfoanatômicas e fisiológicas na avaliação do potencial bioindicador e fitorremediador de Pistia stratiotes L. na presença de cádmio, chumbo e arsênio**. 2010. 163 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

PAZ, L. C. CRUZ, C. **Resposta do mogno africano a herbicidas fotodependentes**. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado) Curso de Proteção em Plantas – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2017.

PEREIRA, M. R. R. *et al.* Efeito da deriva de glyphosate sobre algumas características fisiológicas em plantas de eucalipto. **Interciência**, v.35, n.4, p.279-283, 2010.

QUEIROZ, L.S. *et al.* Morpho-anatomical changes of pequi leaves (*Caryocar brasiliense* Cambess.) exposed to simulated drift of glyphosate. **Revista Árvore**, v. 40, n. 4, p.669-677, ago. 2016.

SAUERSSIG, D. *Plantas do Brasil: árvores nativas*. Irati: Plantas do Brasil, 2014. v. 1.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

TUFFI SANTOS, L. D. *et al.* Morphological responses of different eucalypt clones submitted to glyphosate drift. **Environ. Exp. Bot.**, v. 59, p.11-20, 2007.

TUFFI SANTOS, L. D. *et al.* Danos visuais e anatômicos causados pelo glyphosate em folhas de *Eucalyptus grandis*. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 26, n. 1, p. 9-16, 2008.

VAN DEN BRINK, P. J. *et al.* Predictive value of species sensitivity distributions for effects of herbicides in freshwater ecosystems. **Hum. Ecol. Risk Assess**, v.12, p. 645-674, 2006.

ZHOU, Q. A. *et al.* Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Analytica Chimica Acta**. Amsterdam, v. 606, n. 2, p. 135-150, jan. 2008.