



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE**

LÍCIA PRISCILA NOGUEIRA AZEVEDO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOINDICADOR DE *Eugenia dysenterica* DC.
(Myrtaceae) EXPOSTA A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO E
FIPRONIL**

PALMAS (TO)

2021

LÍCIA PRISCILA NOGUEIRA AZEVEDO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOINDICADOR DE *Eugenia dysenterica* DC.
EXPOSTA A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO E FIPRONIL

Dissertação apresentada à UFT –
Universidade Federal do Tocantins –
Campus Universitário de Palmas como
requisito parcial à obtenção do grau de
Mestre em Ciências do Ambiente.

Orientador (a): Dr.^a Kellen Lagares.
Coorientador: Dr^o Eduardo Lemus.

PALMAS (TO)

2021

LÍCIA PRISCILA NOGUEIRA AZEVEDO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOINDICADOR DE *Eugenia dysenterica* DC.
EXPOSTA A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO E FIPRONIL

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Mestrado em Ciências do Ambiente, da Universidade Federal do Tocantins, na linha de pesquisa Biodiversidade e Recursos Naturais.

Data de Aprovação: 05/05/2021

Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Kellen Lagares Ferreira Silva – Orientadora - UFT

Prof. Dr. Eduardo Andrea Lemus Erasmo – Coorientador - UFT

Prof. Dr. Héber Rogério Grácio – Examinador - UFT

Prof. Dr. Alan Carlos da Costa – Examinador - IFG

*“Somos o que repetidamente fazemos.
Portanto, a excelência não é um feito, é um hábito.”*

Aristóteles

*Ao meu esposo, meu grande
incentivador, parceiro de todas
as horas, companheiro e a pai
maravilhoso.*

*A minha filha, meu tesouro, meu
amor, por ela são todos os meus
esforços.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, autor da vida, a Ele toda HONRA e toda GLÓRIA!

A Tiago (meu esposo), pela paciência, dedicação e incentivo. Anna Luísa, meu presente de Deus, você com seu jeito meigo sempre dizia: “mamãe vai dar tudo certo”, trazendo conforto nos dias difíceis.

Aos meus pais, em especial minha mãe (Ziza) por toda ajuda e a minha irmã Shuely por todas as palavras de incentivo.

A prof.^a Dr.^a Kellen Lagares, minha orientadora, um agradecimento especial por sua disponibilidade, apoio e conhecimentos transferidos, os quais foram essenciais para a conclusão dessa etapa em minha vida.

Ao prof.^o Dr. Eduardo Lemus, coorientador, pelas valiosas sugestões para a elaboração desse trabalho.

Ao Instituto Nacional de Reforma Agrária – INCRA, pela licença remunerada concedida para cursar o referido programa de Pós-Graduação.

As técnicas do Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, *campus* de Palmas, Rita e Clemilda, por toda colaboração na execução do experimento.

A prof.^a Dr.^a Elisandra Scapin e a técnica Raquel, pela permissão para uso do Laboratório de Química da Universidade Federal do Tocantins, *campus* de Palmas, para o processamento das análises de pigmentos cloroplastídicos.

A equipe de orientandas da prof.^a Dr.^a Kellen, Ana Beatriz, Any Karoline, Vanessa e Victorina, que me ajudaram durante a fase de execução do experimento.

A Flávia, por disponibilizar seu tempo para realizar as medições com o IRGA e pelos muitos conselhos que me ajudaram a conduzir essa pesquisa.

A Patrícia Siqueira, colega de curso, doutoranda pelo PPGCiamb, pela doação do DMSO e pela disponibilidade de seu tempo para preparo da solução.

A D. Maria, proprietária do Viveiro Sempre Viva, que ajudou a cuidar das mudas, sempre com muita paciência e boa vontade.

Ao Sr. Romilton Brito da Paixão, que com sua generosidade ofertou o insumo (fipronil) para a elaboração dessa pesquisa.

Aos professores do PPGCiamb, pelos ensinamentos compartilhados e trocas de experiências, a vocês minha gratidão.

Aos colegas da turma, pela convivência e a trocas de experiências, que muito contribuiu para o meu amadurecimento profissional.

Gratidão a todos que direto ou indiretamente estiveram torcendo e orando por mim,
MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O avanço agrícola sobre o Cerrado tem provocado inúmeros problemas ambientais. A vegetação nativa tem sido substituída por grandes monoculturas que fazem uso intensivo de agrotóxicos. Essas substâncias químicas provocam modificações indesejáveis nos ecossistemas, destacando a contaminação de espécies florestais nativas não alvo, através da deriva. Entre as diversas espécies frutíferas do Cerrado, *Eugenia dysenterica* DC., popularmente conhecida como cagaita, destaca-se por seu múltiplo uso pelas comunidades locais. Em função do potencial deletério dos agrotóxicos sobre a saúde humana e ao meio ambiente, torna-se imprescindível buscar mecanismos que monitorem as condições ambientais. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do glifosato e fipronil em *Eugenia dysenterica* DC. e o seu uso em potencial como bioindicadora da presença dessas substâncias no ambiente. Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação da Universidade Federal do Tocantins – UFT, *campus* de Palmas, e foram analisadas a toxicidade visual, as características fisiológicas e morfoanatômicas de *E. dysenterica*, exposta a concentrações de 0, 550, 1110 e 2220 g.e.a.ha⁻¹ do glifosato e 0, 260, 520 e 1040 g.i.a.ha⁻¹ de fipronil, respectivamente. Os resultados apontam que o glifosato causou toxicidade nas folhas em todos os tratamentos. Reduções gradativas da fotossíntese (*A*), condutância estomática (*gs*) e da transpiração (*E*), em resposta ao aumento da dose, no decorrer dos dias, também foram identificados. O glifosato causou danos às estruturas anatômicas das folhas de *E. dysenterica* em todas as doses. Em relação ao fipronil, houve sintomas de toxicidade na maior dose e decréscimo na fotossintética, condutância estomática e transpiração que variaram em função da dose e do tempo de exposição. Também foram identificadas modificações anatômicas nos tecidos em todos os tratamentos. Diante dos dados analisados, pode-se afirmar que as plantas de *E. dysenterica* são sensíveis a ação do glifosato e fipronil. Foram identificados efeitos negativos desses agrotóxicos nos parâmetros morfológicos, fisiológicos e anatômicos que foram potencializados em função da dose e do tempo de exposição. No entanto, ressalta-se a necessidade de pesquisas mais detalhadas, buscando ratificar em campo a eficácia dos parâmetros bioindicadores identificados nessa pesquisa.

Palavras-chave: Agrotóxico; Cerrado; Toxicidade; Saúde humana.

ABSTRAT

The agricultural advance over the Cerrado has caused countless environmental issues. The native vegetation has been replaced by large monocultures which make intensive use of pesticides. These chemical substances cause undesirable changes in ecosystems, highlighting the contamination of non target native forest species, through drift. Among the various fruit species of the Cerrado, *Eugenia dysenterica* DC, popularly known as cagaita, excels for its multiple use by local communities. Due to the deleterious potential of pesticides on human health and the environment, it is essential to seek mechanisms to monitor environmental conditions. Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of glyphosate and fipronil on *Eugenia dysenterica* DC. and its potential usage as a bioindicator of the presence of these substances in the environment. The experiments was conducted in the greenhouse of the Universidade Federal do Tocantins - UFT, Palmas *campus*, and the visual toxicity, physiological and morphoanatomical characteristics of *E. dysenterica* were analyzed, exposing it to concentrations of 0, 550, 1110 and 2220 g.e.a.ha⁻¹ of glyphosate and 0, 260, 520 and 1040 g.i.a.ha⁻¹ of fipronil, respectively. The results indicate that glyphosate caused toxicity in leaves in all treatments. Gradual reductions in photosynthesis (*A*), stomatal conductance (*gs*) and transpiration (*E*), in response to increasing doses, over the course of days, were also identified. Glyphosate caused damage to the anatomical structures of *E. dysenterica* leaves in all doses. Regarding fipronil, the individuals presented symptoms toxicity at the highest dose and decrease in photosynthetic, stomatal conductance, and transpiration that varied as a function of dose and exposure time. Anatomical changes were also identified in the tissues in all treatments. Given the data analyzed, it can be stated that *E. dysenterica* plants are sensitive to the action of glyphosate and fipronil. Negative effects of these agrochemicals were identified in morphological, physiological and anatomical parameters that were strengthened by the dose and exposure time. However, we emphasize the need for more detailed research, seeking to ratify in the field the effectiveness of the bioindicator parameters identified in this research.

Keywords: Agrotoxic; Cerrado; Toxicity; Human health.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 – Sintomas de toxicidade em plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas a diferentes doses de glifosato	40
Quadro 1 - Índice toxicidade das plantas de <i>E. dysenterica</i> expostas ao glifosato	40
Figura 2 – Sintomas de toxicidade em plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas a diferentes doses de fipronil	42
Quadro 2 - Índice toxicidade das plantas de <i>E. dysenterica</i> expostas ao fipronil	42
Figura 3 - Temperatura (°C) e Umidade Relativa do Ar (%) na casa de vegetação da UFT campus de Palmas correspondentes aos dias que foram realizadas as avaliações de trocas gasosas nos meses de julho a agosto	43
Figura 4 - A: Taxa fotossintética (A); B: Condutância estomática (gs); C: Transpiração (E); D: Relação do Carbono interno com carbono externo (C_i/C_a) de plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas à aplicação de glifosato	45
Figura 5 - A: Taxa fotossintética (A); B: Condutância estomática (gs); C: Transpiração (E); D: Relação do Carbono interno com carbono externo (C_i/C_a) de plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas à aplicação de fipronil	48
Figura 6 - Taxa de Liberação de Eletrólitos (TLE) em plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas a deriva de glifosato	51
Figura 7 - Taxa de Liberação de Eletrólitos (TLE) em plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas a deriva de fipronil	51
Figura 8 - Cortes anatômicos de folhas de <i>E. dysenterica</i> aos 60 DAA do glifosato	53
Figura 9 - Cortes anatômicos de folhas de <i>E. dysenterica</i> aos 60 DAA do fipronil	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - ANOVA do efeito do glifosato em diferentes tratamentos (Trat.) e dos dias após a aplicação (DAA) em relação a fotossíntese (<i>A</i>), Condutância estomática (<i>gs</i>), transpiração (<i>E</i>) e relação entre o carbono interno/ambiente (<i>Ci/Ca</i>) em plantas de <i>E. dysenterica</i>	44
Tabela 2 - ANOVA do efeito do fipronil em diferentes tratamentos (Trat.) e dos dias após a aplicação (DAA) em relação a fotossíntese (<i>A</i>), Condutância estomática (<i>gs</i>), transpiração (<i>E</i>) e relação entre o carbono interno/ambiente (<i>Ci/Ca</i>) em plantas de <i>E. dysenterica</i>	47
Tabela 3 - Clorofila A (<i>Chl a</i>), clorofila B (<i>Chl b</i>), clorofila total (<i>Chl a + Chl b</i>), carotenoides (<i>CaT</i>) e índice de feofitinação (<i>IF</i>) de plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas à aplicação do glifosato	49
Tabela 4 - Clorofila A (<i>Chl a</i>), clorofila B (<i>Chl b</i>), clorofila total (<i>Chl a + Chl b</i>), carotenoides (<i>CaT</i>) e índice de feofitinação (<i>IF</i>) de plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas à aplicação de fipronil	50
Tabela 5 - Morfometria dos tecidos foliares de plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas à aplicação do glifosato	54
Tabela 6 - Morfometria dos tecidos foliares de plantas de <i>E. dysenterica</i> submetidas à aplicação do fipronil	57

LISTA DE SIGLAS

A	Taxa fotossintética
Abrasco	Associação Brasileira de Saúde Coletiva
AIA	Ácido indolacético
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
bar	Unidade de pressão
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
<i>Chl a</i>	Clorofila A
<i>Chl b</i>	Clorofila B
<i>CaT</i>	Carotenoides
<i>Ci/Ca</i>	Relação carbono interno/ carbono externo
Cl	Cloroplasto
CO ₂	Dióxido de carbono
Cr	Cristais prismáticos
Cs	Canais secretores
C1	Condutividade elétrica inicial
C2	Condutividade elétrica final
DAA	Dias após a aplicação
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
<i>E</i>	Transpiração
Eab	Epiderme abaxial
EE	Extravasamento de eletrólitos
Eic	Espaço intracelular
EPI _s	Equipamento de Proteção Individual
EPSPS	5-en-olpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase
Es	Estômatos
EWRC	European Weed Research Council
FAA 50	Formalina, ácido acético e álcool etílico a 50%
Fi	Fibras
Fl	Floema

Fv	Feixe vascular
GABA	ácido γ -aminobutírico
g.ha ⁻¹	grama por hectare
g.e.a	Grama de equivalente ácido
g.i.a	Grama de ingrediente ativo
g_s	Condutância estomática
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IBAMA	Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais
Renováveis	
<i>IF</i>	Índice de feofitinação
INCRA	Instituto Brasileiro de Colonização e Reforma Agrária
INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
l/ha	Litro por hectare
Mb	Membranas da célula
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MMA	Ministério do Meio Ambiente
Mg	Magnésio
mg g ⁻¹ MF	miligrama por grama de Massa Fresca
mg l ⁻¹	miligrama por litro
mmol m ⁻² s ⁻¹	milimol por metro quadrado por segundo
mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	mol por metro quadrado por segundo
n	número de dados
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
nm	nanômetro
NPK	Nitrogênio, Fosforo e Potássio
ns	Não significativo
P	Fósforo
PI	Parênquima lacunoso
Pp	Parênquima paliçádico
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
Rubisco	ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase oxigenase
RURALTINS	Instituto de Desenvolvimento Rural do Tocantins
SEAGRO	Secretária Estadual de Agricultura, Pecuária e Aquicultura
TLE	Taxa de Liberação de Eletrólitos

Trat.	Tratamento
Xi	Xilema
$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	micromol por metro quadrado por segundo
μm	micrômetro

LISTA DE SÍMBOLOS

μ	micro
%	porcentagem
α	alfa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	HIPÓTESE	21
3	OBJETIVOS	21
3.1	Objetivo Geral	21
3.2	Objetivos Específicos	21
4	Revisão de Literatura	22
4.1	Questões socioambientais do uso de agrotóxico no Cerrado	22
4.2	<i>Eugenia dysenterica DC.</i>	25
4.3	Glifosato	26
4.4	Fipronil	28
4.5	Bioindicadores	30
4.6	Agrotóxico e saúde humana	32
5	MATERIAL E MÉTODOS	35
5.1	Material Vegetal	35
5.2	Análises toxicológicas	36
5.3	Análises dos Parâmetros Morfo-fisiológicos	36
5.3.1	Avaliações de trocas gasosas	36
5.3.2	Concentração de Pigmentos Cloroplastídicos	37
5.3.3	Permeabilidade de Membranas	38
5.3.4	Anatomia	38
5.4	Análise estatística	39
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6.1	Análises toxicológicas	39
6.2	Avaliações de trocas gasosas	43
6.3	Concentração de Pigmentos Cloroplastídicos	49
6.4	Permeabilidade de Membranas	50
6.5	Anatomia	52
7	CONCLUSÃO	58
8	REFERÊNCIAS	59

1. INTRODUÇÃO

O Cerrado é a segunda maior formação vegetal do Brasil, abrigando um terço da biodiversidade do país. Trata-se de um dos domínios mais ameaçados das Américas. Estima-se que já perdeu cerca de 50% da cobertura vegetal (INPE, 2019). As taxas de desmatamento são superiores às da Floresta Amazônica. A sua crescente degradação está associada a alguns fatores, como o fato de ter sido historicamente subvalorizado, sendo negligenciado pelas políticas públicas brasileiras com limitada proteção legal; implementação de obras de infraestruturas e a expansão da fronteira agrícola na região centro-oeste do país (OVERBECK, 2015; STRASSBURG et. al., 2017).

As alterações ocorridas no Cerrado, sobretudo em função do avanço do agronegócio, têm provocado transformações na sua paisagem natural. A vegetação nativa tem sido substituída por extensas áreas de monoculturas que fazem uso intensivo de agrotóxicos. Como consequência, o desmatamento e a introdução de substâncias como o agrotóxico no ambiente, coloca em risco de extinção inúmeras espécies nativas que possuem elevado potencial econômico, ecológico e social (SCARIOT; RIBEIRO, 2015).

Dentre as diversas espécies frutíferas do Cerrado, *Eugenia dysenterica* DC., popularmente conhecida como cagaita, destaca-se por seu múltiplo uso pelas comunidades locais. O seu fruto tanto é consumido *in natura*, quanto utilizado na produção de alimentos diversos (polpa, geleia, licor, sorvetes, doces, sucos, etc); a folha, flor e casca são utilizadas como fonte de medicamento e a madeira é empregada na produção de mourão, lenha e carvão (MARTINOTTO et. al., 2008). Além disso, desempenha importante papel ecológico na regeneração natural, através da rebrota de raízes, o que contribui para a recuperação da vegetação nativa. É uma espécie de grande relevância ambiental para as populações regionais. Todavia, a redução do Cerrado tem interferido na sua disponibilidade, limitando o tamanho e a quantidade das áreas onde a cagaiteira ocorre naturalmente (SCARIOT; RIBEIRO, 2015).

A expansão da fronteira agrícola na região do Cerrado transformou grandes extensões de terras antes consideradas inférteis em agricultáveis. Essa conversão foi implementada através do uso em larga escala de insumos químicos como fertilizantes e agrotóxicos (SILVA, 2018).

Habitualmente conhecidos como pesticidas, defensivos agrícolas, fitossanitários ou agroquímicos, os agrotóxicos são produtos químicos, utilizados para prevenir, destruir ou controlar diversas pragas e doenças (PERES; MOREIRA, 2003). No Brasil, são regulamentados pela Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a normatização dessas substâncias no país (BRASIL, 1989). Em virtude da grande diversidade, esses são classificados em: inseticidas, fungicidas, herbicidas, raticidas, acaricidas, nematocidas, molusquicidas e fumigantes. Dentre os produtos mais comercializados no Brasil, as classes dos herbicidas e inseticidas destacam-se pela sua ampla utilização no combate a erva daninha e pragas agrícolas, respectivamente (ANDREI, 2005).

O Brasil lidera o ranking mundial de consumo de agrotóxicos. O glifosato é o herbicida mais utilizado nas culturas agrícolas (IBAMA, 2019). Sua rápida eficiência associada ao amplo espectro de ação promove o uso indiscriminado desse produto, principalmente em culturas transgênicas, o que acaba comprometendo espécies nativas não alvo. Dentre os inseticidas, o fipronil se sobressai por ser amplamente utilizado em diversas culturas agrícolas, como milho, soja, algodão, arroz, batata, cana de açúcar, cevada, feijão e trigo (ANVISA, 2016). É também comumente empregado no combate de carrapatos e pulgas em animais domésticos. Esse inseticida possui alta persistência no ambiente, causando danos aos ecossistemas e a saúde humana (CHAGURI et. al., 2016).

O Tocantins está localizado na zona de transição entre o Cerrado e a Floresta Amazônica, com 91% do seu território ocupado pelo domínio Cerrado e suas variações fitofisionômicas (SILVA, 2007). Atualmente, é o maior produtor de grãos da região Norte do Brasil, com área plantada de 1,3 milhões de hectares. Destaque para a soja que representa 72% da produção (SEAGRO, 2019). Proporcionalmente, à medida que avança a produção agrícola, aumenta o uso de agrotóxicos. Estima-se que o estado utilizou aproximadamente 17.403.387 litros de produtos químicos em 2015, e passou a ser o segundo maior consumidor da região Norte (ALMEIDA, 2015; PIGNATI, 2017).

Esses produtos químicos causam sérios impactos ao meio ambiente através da contaminação dos recursos naturais (DUTRA, 2017). Após aplicado, parte dessas substâncias se dispersa no ambiente por meio da deriva, afetando espécies não alvo, contaminando fragmentos florestais, propriedades rurais adjacentes a

monoculturas como os assentamentos, e potencialmente os animais e os seres humanos (PEREIRA et. al., 2015; LUCADAMO et. al., 2018). De acordo com Gavrilesco (2005), do total de agrotóxicos aplicados, aproximadamente 55% não atinge seu alvo, dispersando-se pelos componentes bióticos e abióticos (água, solo, plantas e atmosfera) do ecossistema. Não existe uso de agrotóxico sem contaminação das áreas adjacentes, e conseqüentemente, sem afetar as pessoas que vivem ou trabalham nesse entorno (LONDRES, 2011).

Os transtornos causados pelos agrotóxicos extrapolam os danos ambientais, sendo considerados problema de saúde pública. Em função do acentuado uso desses produtos, é possível afirmar que a maioria da população está exposta de alguma forma, seja por meio do contato direto com o produto, ou indireto, através da deriva que atinge áreas adjacentes a sua aplicação, ou ainda por meio do consumo da água e alimentos contaminados (ALMEIDA, 2015).

Em função do potencial deletério dos agrotóxicos sobre a saúde humana e ao meio ambiente, torna-se imprescindível buscar mecanismos que monitorem as condições ambientais. Dentre as diversas técnicas empregadas tem-se o biomonitoramento. Essa ferramenta de avaliação permite diagnosticar as mudanças ocorridas no ambiente, através das respostas biológicas de espécies bioindicadoras (KAPUSTA, 2008).

As plantas são sensíveis às perturbações ambientais e, quando expostas ao agente estressor, reagem de forma previsível e mensurável, através de alterações nas suas funções vitais ou na sua composição química. Antes de surgirem os sintomas visíveis nas plantas ocorrem alterações bioquímicas, fisiológicas, anatômicas e morfológicas (LIMA, 2001).

Segundo LIMA (2001), os parâmetros morfológicos de plantas superiores são bioindicadores de alta eficácia, podendo ser empregados no monitoramento a curto ou longo prazo, com diferentes concentrações de poluentes. Desse modo, a utilização de plantas como bioindicadores de contaminantes químicos apresenta-se como uma alternativa eficiente que fornece informações sobre a qualidade ambiental, tornando-se peça-chave para a definição de ações que visem mitigar os impactos adversos pelo uso de agrotóxicos (ANDRÉA, 2008).

Como a cagaita é bastante usual entre os habitantes do Cerrado (pequenos produtores, comunidades quilombolas e ribeirinhos) estudos que busquem avaliar a

aptidão da espécie como bioindicadora da qualidade ambiental constituem ferramentas importantes para as comunidades regionais, pois permitem inferir sobre os riscos de contaminação por resíduos químicos, aos quais estão expostas. Nesse sentido, decisões no âmbito político e sanitário poderão ser tomadas, auxiliando na definição de estratégias para a prevenção e o monitoramento dos danos causados pelos agrotóxicos sobre o meio ambiente, a saúde e a segurança alimentar da população. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da deriva de agrotóxicos em *E. dysenterica* e o seu uso em potencial como bioindicador da presença dessas substâncias químicas no ambiente.

2. HIPÓTESE

O glifosato e o fipronil provocam alterações morfológicas, fisiológicas e anatômicas em plantas de *Eugenia dysenterica* e, essa espécie pode ser utilizada como bioindicadora de ambientes contaminados por esses agrotóxicos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do glifosato e fipronil em *E. dysenterica* e o seu uso em potencial como bioindicadora da presença dessas substâncias químicas no ambiente.

3.2. Objetivos Específicos

Identificar a toxicidade sofrida pela *E. dysenterica*, após exposição ao glifosato e fipronil;

Analisar as características anatômicas e fisiológicas de *E. dysenterica*, quando exposta à diferentes concentrações de glifosato e fipronil;

Investigar o potencial de *E. dysenterica* como espécie bioindicadora de ambientes contaminados pelo glifosato e fipronil, visando sua utilização pelas comunidades rurais em futuros programas de biomonitoramento ambiental.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Questões socioambientais do uso de agrotóxico no Cerrado

A abundância de recursos naturais, associados aos avanços tecnológicos, colocou o Brasil em posição de destaque no cenário agrícola mundial. A “Revolução Verde” foi o marco da modernização do campo. As inovações tecnológicas, como os insumos químicos industriais (fertilizantes e agrotóxicos), sementes modificadas, irrigação e mecanização promoveram a industrialização da agricultura (PEDLOWSKI et. al., 2006).

A evolução dos processos produtivos agrícolas a partir da década de 1960, baseado no uso intensivo de insumos químicos e recursos naturais, promoveu uma série de impactos ambientais. Perda da biodiversidade e patrimônio genético, redução das áreas florestais, erosão dos solos e desertificação, contaminação dos recursos naturais e dos alimentos são algumas das consequências decorrentes das rápidas e complexas transformações pelos quais passou o modelo de produção agrícola (BALSAN, 2006; WAICHMAN, 2012).

Inserido no pacote tecnológico, os agrotóxicos, também conhecidos como pesticidas ou agroquímicos, são agentes químicos utilizados para combater organismos considerados prejudiciais às culturas. Na década de 1970, o governo brasileiro inseriu o uso de agroquímicos como integrante da política agrícola de modernização do campo, atrelando o crédito rural a compra de agrotóxico. Essa tecnologia química foi introduzida na lavoura sem nenhuma adaptação às condições ecológicas e socioeconômicas do país (ALVES FILHO, 2000; ALVES FILHO, 2002).

Com o intuito de aumentar a produtividade, a agricultura passou a utilizar de maneira intensa esses produtos. O uso desordenado nas mais diversas condições ambientais acarretou numa série de transtornos e modificações nos ecossistemas, tais como: contaminação da água e solos, alteração das populações faunísticas, ocorrência de resíduos em alimentos, efeito em organismos não-visados e intoxicação de trabalhadores rurais (ALVES FILHO, 2000; CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003; PEDLOWSKI et. al., 2006; PELAEZ et. al., 2010).

Em 1962, Rachel Carson em seu livro intitulado “Primavera Silenciosa”, já relatava os efeitos deletérios dos agrotóxicos no meio ambiente. Através de observações, a autora descreveu os impactos dos pesticidas na biodiversidade

faunística, mostrando a urgente necessidade de buscar alternativas mais sustentáveis para a produção agrícola.

O Brasil está entre os países que mais utiliza agrotóxicos no mundo. Estima-se que 19% da produção mundial seja consumido no país e destes, 60% são herbicidas. O elevado consumo desses produtos está relacionado com a “expansão da fronteira agrícola”, onde as florestas são suprimidas para dar lugar a grandes monoculturas (LONDRES, 2012; BOMBARDI, 2017; PIGNATI et. al., 2017). De acordo com Bombardi (2012), o agronegócio brasileiro é o grande responsável pelo elevado consumo dessas substâncias químicas.

A expansão do agronegócio e a uniformização das culturas, além de exigir extensas áreas, torna o plantio mais vulnerável ao aparecimento de pragas e conseqüentemente, maior necessidade de agrotóxicos. Como resultado da somatória desses fatores, nas três últimas décadas, o Cerrado vem passando por um intenso processo de degradação ambiental, com elevado risco de contaminação por agrotóxicos das suas bacias hidrográficas e aquíferos (SOARES; PORTO, 2007; PIGNATI et. al., 2017).

Com uma área de aproximadamente 2.036.448 Km², que corresponde a 24% do território brasileiro, o Cerrado é o segundo maior domínio da América do Sul. Estende-se pelos os estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí, Rondônia, Paraná, São Paulo e Distrito Federal, além dos enclaves no Amapá, Roraima e Amazonas. Apresenta alta diversidade biológica, sendo conhecido como a maior savana do mundo (MMA, 2019).

Antes visto como infértil, o Cerrado se tornou a maior fronteira agrícola do mundo. Nele encontra-se três das maiores bacias hidrográficas da América do Sul: a Amazônica, Paraná e do São Francisco. Trata-se de um bioma com grande importância fito e zoogeográfica. Com o avanço do desmatamento e a destruição do seu habitat muitas espécies nativas correm o risco de serem extintas (SILVA et. al., 2000; GOMES, 2008; CUNHA et. al., 2008; DE MEDEIROS, 2007).

Segundo Arruda et. al. (2012), existem mais de 58 espécies de frutos nativos do Cerrado, que são conhecidos e utilizados pela população. Entre os mais consumidos e vendidos estão: pequi, buriti, mangaba, cagaita, bacupari, cajuzinho do cerrado, araticum e as sementes do baru (MMA, 2019).

Para fins medicinais, são empregadas mais de 220 espécies no tratamento de diversas enfermidades. O conhecimento e a forma de utilização dessas plantas são transmitidos a população de geração para geração (ALVES et. al., 2008). Apesar do grande potencial socioeconômico, a vegetação do Cerrado é subutilizada, ficando seu uso restrito aos moradores locais, tendo no extrativismo sua principal forma de exploração (BRASIL, 2008; CARLOS, 2009).

Além da rica biodiversidade, o Cerrado tem grande importância social, ele é habitado por comunidades rurais de diferentes origens e que apresentam características peculiares. As populações tradicionais (indígenas, quilombolas, ribeirinhos, babaçueiras, etc.) sobrevivem dos seus recursos naturais, tendo como única fonte sobrevivência a biodiversidade do Cerrado. Esses grupos convivem com os ecossistemas de forma sustentável e são detentores de conhecimentos tradicionais. No entanto, com o avanço da fronteira agrícola, muitas dessas comunidades foram pressionadas a deixarem suas terras, alterando seu modo de vida. Como consequência desse processo, houve uma ruptura na interação do homem com a natureza, refletida diretamente nas alterações das práticas agrícolas, nas tradições, costumes e saberes tradicionais, que estão paulatinamente desaparecendo (SAWYER, 2008).

Além dos povos tradicionais, habitam no Cerrado os pequenos produtores rurais, que vieram de diferentes regiões do país, compostos em sua maioria, por agricultores familiares pobres que foram inseridos em programas sociais como o de reforma agrária (CARVALHO, 2006). No Estado do Tocantins existem 380 projetos de assentamentos que beneficiam 23.137 famílias (INCRA, 2020). Essas comunidades desenvolvem a agricultura de subsistência e produz uma variedade de produtos que abastecem o mercado local, além de utilizarem a biodiversidade do Cerrado como complemento da renda. Todavia, o avanço do agronegócio tem ameaçado a permanência do homem no campo e impactando o modo de vida dessas comunidades (CARVALHO, 2006).

Todo esse cenário de degradação do Cerrado não implica apenas em impactos ambientais. Estudos relatam que tanto os moradores de áreas adjacentes às monoculturas, quanto os trabalhadores rurais e os consumidores estão expostos aos riscos de contaminação por substâncias químicas (CARNEIRO et. al., 2012). Nesse contexto, ainda podemos ressaltar a injustiça socioambiental relacionado ao

uso de agrotóxicos. Pois além de contaminar os recursos naturais (água, solo, plantas e animais) que são essências para as comunidades rurais, afetam diretamente a saúde humana, restando as populações que vivem no campo apenas o ônus do avanço do agronegócio na região do Cerrado (VEIGA, 2007).

4.2. *Eugenia dysenterica* DC.

A Cagaita (*Eugenia dysenterica*) é uma espécie nativa do Cerrado. Pertence à família Myrtaceae, frutífera, de uso múltiplo e muito consumida pelas populações presente nesse domínio fitogeográfico, trata-se de uma árvore com altura mediana, entre 4m a 10m, tronco e ramos tortuosos; apresenta casca suberosa e fendada; folhas membranáceas quando novas e coriáceas na fase adulta, decíduas durante o florescimento; as flores são brancas; seus frutos são bagas globosas de cor amarelo claro e muito saborosos (MARTINOTTO et. al., 2008; BRASIL, 2008).

E. dysenterica é encontrada em formações savânicas em regiões de cerradão e Cerrado *stricto sensu*; apresenta resistência à seca e a solos de baixa fertilidade; ocorre naturalmente em São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará, Maranhão, Piauí e Goiás, além do Distrito Federal (NAVES et. al., 2002; BRASIL, 2008).

Destaca-se entre as espécies frutíferas encontradas no Cerrado, em função da sua múltipla opção de uso. Além de produzir frutos que são bastantes consumidos na culinária das comunidades locais e ser utilizada como planta medicinal, a cagaita é uma árvore corticeira, tanífera, fornecedora de madeira, muito utilizada como melífera e ornamental (JORGE et. al., 2010; OLIVEIRA et. al., 2011; VIEIRA et. al., 2012). Está entre as espécies mais importantes nos processos de regeneração natural do Cerrado *stricto sensu* (CORTES, 2012). A Cagaita também pode ser empregada em sistemas agroflorestais (SAFs), pois produz frutos, o que proporciona maior rentabilidade aos produtores (GONÇALVES et. al., 2015).

A cagaiteira tem sido muito explorada para fins medicinais. Levantamentos etnobotânicos apontam que a população faz uso dessa planta há muitos anos e para diversas finalidades: as folhas são usadas para tratar desarranjo intestinal (propriedade adstringente), problemas cardíacos, diabetes, icterícia, redução de colesterol, os frutos têm propriedade laxativa, as cascas são indicadas para tratar diarreia, diabetes e icterícia, a entrecasca tem ação anti-inflamatória sendo tomada

na forma de chá, a infusão das flores para os rins, bexiga e ciclo menstrual (VIEIRA; MARTINS, 2000; DUBOC; GUERRINI, 2007; COUTO et. al., 2009; LIMA et. al., 2010).

Segundo Silva et. al. (2015), *E. dysenterica* é uma espécie com grande potencial para o desenvolvimento de fitoterápicos, necessitando de maior investimento em pesquisa para o preenchimento das lacunas existentes em relação à eficácia e segurança.

E. dysenterica foi encontrada em regiões contaminadas com metais pesados como o cádmio e o zinco. França (2011) verificou a capacidade de retenção de cádmio e zinco em estruturas das plantas que se desenvolveram em solo contaminado por altas concentrações destes metais. Tal fato indica a possibilidade da cagaita ser empregada em processos de fitorremediação. De acordo com Silva (2013), a espécie pode também ser explorada para obtenção de fungos endofíticos com potencial ação biofúngida.

Segundo Silva et. al. (2015), não há registros na literatura sobre a existência de protocolos específicos para detecção de agrotóxicos em *E. dysenterica*. Levando-se em consideração sua ampla aplicabilidade como planta medicinal e alimentícia para os habitantes do Cerrado, informações sobre a presença de resíduos químicos na Cagaita são muito úteis, podendo ser empregada na prevenção e monitoramento das condições ambientais, haja vista que existe um elevado risco da população estar consumindo frutos e/ou outras partes da planta (folhas, cascas, flor, etc.) com altas taxas de resíduos de agrotóxicos, o que podem causar sérios danos à saúde humana.

4.3. Glifosato

O glifosato (N-(fosfometil) glicina) é o herbicida mais utilizado no mundo. No Brasil, seu consumo corresponde a 173.150,75 toneladas de ingrediente ativo. Trata-se de um herbicida com amplo espectro de ação, não seletivo, sistêmico, que é aplicado após a emergência das plantas daninhas (MONQUERO et. al., 2004; IBAMA, 2019).

A aplicação do glifosato é realizada através da pulverização, sendo absorvido por meio das folhas e dos caulículos, por onde são transportados para toda a planta. Ele atua inibindo a enzima 5-en-olpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS)

interrompendo a biossíntese de aminoácidos essenciais da cadeia aromática, causando o acúmulo do ácido chiquímico. O ácido aminometilfosfônico (AMPA) é um dos principais subprodutos resultante da degradação do glifosato e são comumente encontrados em folhas novas (AMARANTE JUNIOR et. al., 2002). O herbicida também causa interferência na divisão celular, em regiões meristemáticas da planta (COLE et. al., 1980; SINGH; SHANER, 1998; DE AMARANTE JUNIOR et. al., 2002).

Entre os diversos efeitos indesejáveis causados pelo glifosato, destaca-se a contaminação de organismos não alvo, através da dispersão por deriva. Tais perturbações podem acarretar desequilíbrio ecológico, com danos irreparáveis ao ecossistema, além de provocar a mortandade daquelas espécies suscetíveis ao herbicida (SINGH; SHANER, 1998; SOARES; PORTO, 2007).

Segundo Florencia et. al. (2017), o glifosato causa danos ecotoxicológicos em plantas nativas não alvo. Entretanto, verificou-se que há diferença quanto à tolerância, onde algumas espécies são sensíveis ao herbicida, enquanto outras toleraram dosagens mais elevadas. Para Ferreira et. al. (2005), a variação, em relação a resposta fitotoxicológica em plantas nativas, pode ocorrer entre diferentes famílias e dentro de uma mesma espécie e está associada à variabilidade genética dos indivíduos. Características (morfológicas, estruturais e fisiológicas) intrínsecas às plantas também influenciam quanto a tolerância à ação do herbicida. Singh e Shaner (1998) afirmaram que o não acúmulo do ácido chiquímico indica que a planta é resistente ao herbicida.

Tuffi Santos et. al. (2006) observaram que o glifosato causou injúrias severas e senescência das folhas, o que levou a redução do crescimento do diâmetro e da altura em clones de eucaliptos. Gusmão et. al. (2011) verificaram que o *Genipa americana* (jenipapo) é sensível ao herbicida glifosato, sofrendo significativa redução no crescimento em altura, sendo que, dosagens superiores a 345,6 g.ha⁻¹ ocasionaram a morte das plantas. De Sousa Santos et. al. (2020) relataram efeitos fisiológicos e danos anatômicos em plantas de *Cenostigma macrophyllum* expostas ao herbicida.

Apesar de ser considerado de baixa toxicidade, estudos comprovam que o glifosato promove a redução de espécies florestais nativas e o uso intensivo tem favorecido o surgimento de espécies resistentes, o que, no futuro, pode causar

sérios prejuízos econômicos e ambientais (DE AMARANTE JUNIOR et. al., 2002; FLORENCIA et. al., 2017).

Moraes e Rossi (2010) e Dos Santos et. al. (2018) ressaltaram a necessidade de estudos sobre os efeitos negativos do glifosato. Tais fatos são evidenciados pela presença de resíduos do herbicida em animais e alimentos utilizados na dieta humana, inclusive foram detectados resíduos de glifosato em grãos de soja imatura, que são usados diretamente como alimento pela população da Ásia (LORENZATTI et. al., 2004).

4.4. Fipronil

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o fipronil é classificado como inseticida, formicida e cupinicida, pertence ao grupo químico pirazol, sendo considerado um produto altamente tóxico ao meio ambiente (Classe II) (ANVISA, 2005). É um inseticida sistêmico, de amplo espectro que atua no sistema nervoso do inseto como receptor de ácido γ -aminobutírico (GABA), interrompendo o influxo neuronal normal (MATSUDA et. al., 2001). Segundo Cole et. al. (1993), ele bloqueia a passagem do íon de cloro pelos canais neurotransmissores, que é controlado pelo sistema receptor GABA, levando a hiperexcitação neural provocando paralisia, convulsões e a morte do inseto.

É uma substância pouco solúvel em água, possui afinidade com compostos lipídicos, sendo estável em temperatura ambiente. Sua alta toxicidade, sobretudo para invertebrados, possibilita a sua utilização no controle de insetos resistentes a outros agentes como piretróides, organofosforados e carbamatos (GUNASEKARA et. al., 2007; BONMATIN et. al., 2015).

O fipronil pode ser aplicado no solo, na água, nas folhas e sementes. É comumente empregado para uso doméstico, veterinário, em culturas agrônômicas, no paisagismo urbano e até na saúde pública, para controle de vetores de doenças transmissíveis. O ingrediente ativo é comercializado nas seguintes formulações: isca (gel, pasta e granulada) líquido premiado, micro emulsão, pó seco e suspensão concentrada (ANVISA, 2005).

Com elevada persistência no ambiente, o fipronil pode se degradar em diferentes metabólitos mais tóxicos que o inseticida inicial. Como efeito, esses subprodutos se acumulam nos diversos compartimentos ambientais (solo, água, ar),

contaminando-os. Apesar de sua comprovada ação tóxica, o fipronil ainda é muito utilizado no Brasil, sobretudo, nos sistemas agrícolas (IGNÁCIO, 2014).

O fipronil causa impactos em uma ampla gama de invertebrados não-alvos em diferentes habitats (terrestre, aquáticos, marinhos e bentônicos) (PISA et. al., 2015). Segundo Colin (2004), estudos realizados na Europa comprovaram que o inseticida, após 10 dias de aplicado, provoca a morte de 10 a 65% da população de abelhas. No Brasil, Souza (2009) estudando efeitos de doses subletais em *Apis mellifera* L. (abelhas africanas) constatou que houve interferência no comportamento dos insetos, causando elevada mortalidade. Vidau et. al. (2001) relataram que exposição a doses subletais de fipronil e tiaclopride aumentou mortalidade de abelhas previamente infectadas por *Nosema ceranae*. Em *Drosophila melanogaster* (mosca das frutas), o inseticida causou alterações mutagênica e carcinogênica em células somáticas (MORAIS, 2015).

Em torno de 75% da alimentação humana depende direta ou indiretamente de plantas polinizadas ou beneficiadas pela polinização de insetos. A eliminação desses agentes biológicos pode promover o declínio na produção de alimentos com impactos socioeconômicos em escala mundial (KLEIN et. al., 2007; IMPERATRIZ-FONSECA, 2012).

Pesquisas também relataram que a exposição repetida ao fipronil coloca em risco a saúde humana. Resíduos do inseticida podem se acumular no tecido adiposo sendo potencialmente transferido via cadeia trófica (JENNINGS et. al., 2002; GUNASEKARA et. al., 2007). Foram encontrados resquícios dessa substância no tecido adiposo do gado, evidenciando seu efeito acumulativo com meia vida em torno de 18 dias (TINGLE et. al., 2003). Le Faouder et. al. (2007) detectaram a presença de fipronil em leite de vaca, possivelmente foi transferido através da ração, indicando uma contaminação difusa dessa substância no ambiente.

Estudos realizados com peixes identificaram o efeito nocivo desse inseticida para a biota aquática. Ignácio et. al. (2014) identificaram que o fipronil é altamente tóxico para a espécie pacu (*P. mesopotamicus*). Em *Oncorhynchus mykiss* (truta arco-íris), a concentração de 0,248 mg/l⁻¹ foi letal e em tilápia (*Oreochromis niloticus*) a dose 0,25 mg/l⁻¹ apresentou maior mortalidade (USEPA, 1996).

Efeitos indesejados também são verificados em mamíferos. Estudos com ratos indicaram que o fipronil pode alterar o funcionamento normal do sistema

endócrino, causando efeitos reprodutivos adversos em ratos fêmeas (OHI et. al., 2004). Através da análise de hepatócitos isolados de ratos foi comprovado que esse inseticida causa redução progressivas na produção de ATP podendo ocasionar a morte das células (GUELF, 2015).

Em cães e gatos foram detectados concentração do fipronil em glândulas sebáceas e em camadas epiteliais que rodeiam os pelos dos animais dois meses após o tratamento por via tópica (JACKSON et. al., 2009). Estudos evidenciam que o tratamento prolongado com fipronil leva a perturbações comportamentais em camundongos, indicando um efeito acumulativo da exposição desse produto a baixas doses (KOSLOWSKI et. al., 2020).

Devido ao seu caráter sistêmico, nos vegetais, ele pode ser absorvido pelas raízes e folhas, sendo translocado para todas as partes das plantas (SIMON-DELISO et. al., 2015). Segundo Ahemad e Khan (2011), avaliando o efeito do fipronil sobre espécies leguminosas, observaram vários graus de toxicidades na parte aérea seca, biomassa e na clorofila das plantas testadas. Yildirim e Agar (2016) observaram alterações genótípicas e interferência no crescimento da raiz em mudas de *Vicia faba* (feijão-fava).

Há carência de pesquisas em relação aos efeitos fitotoxicológicos do fipronil sobre a biota, incluindo o homem e suas implicações na manutenção da biodiversidade (TINGLE et. al., 2003). Portanto, é possível inferir que os danos desse inseticida sobre o meio ambiente podem ser ainda mais nefastos. Dessa forma, pesquisas que têm como objetivo rastrear e monitorar os efeitos desse inseticida em espécies não alvo, como plantas, poderão contribuir para diagnosticar áreas e possíveis alimentos contaminados que podem gerar riscos à população.

4.5. Bioindicadores

O uso intensivo de substâncias químicas inerentes às atividades antrópicas tem provocado alterações significativas no meio ambiente, comprometendo o equilíbrio dos ecossistemas e colocando em risco a saúde das populações. Os impactos ambientais podem ser observados em escala local, regional ou global. Tais perturbações exercem grande influência sobre plantas e animais, que respondem por meio de modificações do estado morfológico, bioquímico e fisiológico (RAI, 2016).

Segundo Lima (2001), a utilização de organismos como indicadores ambientais é uma prática muito antiga. Os primeiros relatos ocorreram há cerca de 400 anos, onde foram observadas alterações morfológicas em plantas decorrentes das influências antrópicas. Entretanto, somente nos anos 60 é que se passou a utilizar o termo bioindicador.

Os bioindicadores são seres bióticos ou comunidades que sofrem alterações de suas funções vitais e/ou sua composição química, em resposta a modificações sofridas pelo ambiente, os quais permitem inferir sobre saúde do ecossistema. Apesar de não morrerem por conta das mudanças do ambiente, eles respondem por meio de reações comportamentais ou metabólicas mensuráveis (ANDRÉA, 2008). Cairns et. al. (1993) afirmaram que o número de indicadores potenciais é infinito, porém, selecioná-los é uma tarefa bem complexa.

A bioindicação consiste no emprego de organismo como indicador da situação ambiental. Trata-se de uma ferramenta utilizada em estudo, diagnóstico e monitoramento das condições de determinada área. Diferenciar as alterações naturais das antrópicas é uma das maiores dificuldades encontradas no biomonitoramento (KAPUSTA, 2008). Para mitigar o problema supracitado é necessário ter conhecimento do ecossistema estudado, dominar a metodologia de análise do bioindicador e conhecer as atividades antrópicas desenvolvidas na região (LIMA, 2000).

Através dos bioindicadores é possível caracterizar os riscos ecológicos advindos do agente estressor (substâncias químicas e contaminantes), indicar o grau de perigo, fazer o diagnóstico dos impactos ambientais e acompanhar a eficácia dos programas destinados a restaurar o ecossistema (ANDRÉA, 2008).

Segundo Silva et. al. (2003), os biomarcadores correspondem a respostas bioquímicas, fisiológicas, histológicas e anatômicas que reflete o risco sobre um perigo potencial que pode ser químico, físico ou biológico e são usados para identificar alterações adversas do ambiente. Os impactos na biota tendem a ocorrer primeiramente nos níveis celulares e subcelulares, e posteriormente, em níveis mais elevados (estrutura da comunidade). Assim, recomenda-se utilizar ensaios em laboratórios, para determinar os efeitos ecotoxicológicos nos organismos. Trata-se do método conhecido como *botton-up* (de baixo para cima), que consiste na exposição de organismos a um determinado agente estressor. Através de

simulações simples dos sistemas é possível fazer o prognóstico de mudanças mais complexas que ocorrem nos ambientes naturais (CAIRNS et. al., 1993).

Entre os vegetais, o grupo da angiosperma é o que apresenta a maior quantidade de espécies sendo utilizadas como bioindicadoras. Os vegetais podem ser empregados no monitoramento ativo ou passivo e, as respostas analisadas, podem ser invisíveis como: alterações metabólicas, taxa de fotossíntese, análise da assimilação do CO₂, acúmulo de metais, etc., e/ou visíveis tais como: necrose, clorose, queda foliar, redução do crescimento, mortalidade entre outros (DE FIGUEIREDO AQUINO et. al., 2011). De acordo com Lima (2001), estruturas menores (cloroplastos, mitocôndrias), reações bioquímicas e fisiológicas são mais sensíveis às perturbações ambientais, sendo, portanto, bons indicadores do grau de perturbação de uma determinada área, mesmo antes do aparecimento dos sintomas visíveis.

Carneiro (2004) e Savóia et. al. (2009) ressaltam a importância do emprego de bioindicadores para análise dos riscos aos quais as comunidades bióticas estão expostas e destaca a necessidade de pesquisas visando estabelecer protocolos mais rápidos e eficientes para análise *in situ* das condições ambientais.

4.6. Agrotóxico e saúde humana

O aumento do uso de agrotóxicos, sobretudo herbicidas, ameaça a saúde humana. Os efeitos nocivos não se restringem apenas aos trabalhadores expostos, mas a toda população (PERES; MOREIRA, 2003; CASSAL, 2014). Trata-se de um problema de saúde pública. No Brasil, são os principais responsáveis por intoxicação aguda e mortes registradas, com destaque para os estados de Tocantins, Espírito Santo, Paraná, Roraima e Goiás, que apresentaram valores acima do dobro da média nacional (DE SIQUEIRA et. al., 2013; BRASIL, 2018).

No Tocantins foram notificados, no período de 2015 a 2019, 1.575 casos de intoxicação causados por agrotóxicos (TOCANTINS, 2020). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), existe um alta índice de subnotificação, estima-se que para cada registro de intoxicação, existem 50 subnotificados.

Os problemas de saúde decorrentes da exposição humana aos agrotóxicos, acarreta gastos públicos que são custeados pela população. Os riscos de contaminação estão intrinsecamente relacionados com a maneira que as pessoas se

relacionam com os perigos existentes e são influenciados por fatores de ordens social, econômico e cultural (FARIA et. al., 2007; DE MOREIRA et. al., 2015).

Nos seres humanos, os agrotóxicos são absorvidos pelo contato direto, através das vias respiratória, dérmica e oral, ou indireto, por meio da ingestão de alimentos, água e respiração do ar contaminado, causando quadros de intoxicação aguda ou crônica (SILVA et. al., 2005).

Os sintomas podem aparecer durante ou pós-contato da pessoa com o pesticida e seus efeitos variam entre leve, moderado ou grave. Dependendo do agente químico, da quantidade do produto absorvido e do tempo de exposição, as consequências vão desde alergias (irritação na pele, nariz, garganta e olhos), a distúrbios gastrointestinais, problemas respiratórios, reprodutivos, até mortes e suicídios (LUNDBERG et. al., 1997; BRASIL, 2018).

As intoxicações crônicas são causadas pela exposição prolongada aos agrotóxicos e pode acarretar problemas como: paralisias, lesões cerebrais e hepáticas, tumores, alterações comportamentais, sendo também responsáveis pelo elevado índice de suicídios. Em mulheres grávidas, podem levar ao aborto e à malformação congênita (BRASIL, 2018).

Os primeiros registros de intoxicação por organoclorados foram notificados na década de 60, em trabalhadores rurais (ARAÚJO et. al., 2007). De acordo com Guyton et. al. (2015), as substâncias químicas utilizadas na produção agrícola apresentam elevado potencial cancerígenos, inclusive o glifosato. Bréga et. al. (1998), relataram que os pesticidas podem causar mutações gênicas e aberrações cromossômicas em indivíduos expostos, mesmo usando EPIs, e, quando absorvidos pelo ser humano, essas substâncias têm potencial de causar lesões nos rins, fígado, coração, cérebro, na medula óssea e alterações no DNA, levando ao câncer.

Os agrotóxicos atuam no organismo humano causando diversos distúrbios, que vão desde de irritações na pele e nos olhos, dores de cabeças, tremores, incluindo tonturas, perda de consciência, desmaio e câncer em diversos órgãos. Pesquisas apontam que há uma correlação positiva entre intoxicação por agrotóxicos e problemas de saúde como transtornos neurológicos e sintomas respiratórios (FARIA et. al., 1999; FARIA et. al., 2005). Lundberg et. al. (1997) observaram que sintomas como: diminuição das defesas imunológicas, anemia, impotência sexual masculina, cefaleia, insônia, alterações da pressão arterial,

alterações do humor e distúrbios comportamentais são manifestações que estão relacionados com a intoxicação por agrotóxicos. A exposição crônica aos pesticidas pode aumentar o risco de desenvolver Doença de Parkinson (BHATT et. al., 1999).

Após aplicação, parte das substâncias químicas se dispersa no ambiente por meio da deriva e podem atingir espécies não alvo de plantas, animais e humanos, potencializando os danos (CARNEIRO et. al., 2012). Pignati et. al. (2007) afirmaram que derivas de pulverizações aéreas de agrotóxicos ultrapassaram a propriedade rural e atingiram o município de Lucas do Rio Verde/MT, causando sérios impactos sanitários, sociais e ambientais. Carneiro et. al. (2012) relataram que os agrotóxicos se acumulam no organismo humano e podem contaminar inclusive o leite materno, comprometendo a saúde dos recém-nascidos.

Estudos evidenciaram que o glifosato pode afetar o sistema endócrino de mamíferos (RICHARD et. al., 2005). Segundo De Almeida et. al. (2017), o herbicida pode causar lesões celulares no sistema reprodutivo e hepático. Richard et. al. 2005 relataram interferência no sistema reprodutivo humano dificultando gravidez de trabalhadoras que utilizam o glifosato. A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) constatou que a herbicida causa danos ao DNA e cromossomos de células humanas sendo considerado cancerígeno ao homem (INCA, 2015).

O fipronil causa intoxicação em humanos, levando a complicações cardíacas e respiratórias, enfermidades da vista e da pele, disfunções digestivas e desmaios (GODOY, 2006). Segundo Tingle et. al. (2003), a exposição ao fipronil durante a pulverização pode comprometer a saúde do trabalhador, estudos relataram o aparecimento de sintomas como reações oculares, respiratórias e gastrointestinais.

Tang et. al. (2004) identificaram efeitos deletérios do fipronil em células hepáticas humana. O metabólico sulfona (subproduto do fipronil) foi detectado em placenta, indicando a sua transferência para o feto, o que resulta em danos adversos a saúde em recém-nascidos (KIM et. al., 2019).

Inúmeros são os riscos à saúde humana, principalmente para as comunidades regionais, causados pelo uso intensivo de agrotóxicos. Investir em mecanismo de controle e monitoramento dessas substâncias no ambiente são ferramentas indispensáveis para proporcionar a população, principalmente aquelas que vivem na zona rural, uma melhor qualidade de vida (BRASIL, 2018).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Material vegetal

Os ensaios foram conduzidos na casa de vegetação da Universidade Federal do Tocantins – UFT, *campus* de Palmas, com coordenadas geográficas 10°10'35.8"S 48°21'29.3"W, no período entre março a novembro de 2020.

As mudas foram adquiridas do Viveiro Sempre Viva, localizado no município de Palmas/TO, com idade de dez meses. Para a produção das mudas foram coletadas sementes de frutos maduros originados de plantas matrizes localizadas no próprio viveiro. A semeadura foi realizada diretamente em sacos de polietileno de baixa densidade (dimensões 18 x 25 cm) com furos para a drenagem da água. E o substrato utilizado era composto pela mistura de Latossolo Vermelho do Cerrado, terra preta e composto orgânico (palha de arroz, esterco bovino e folhagem) na proporção de 3:1:1, acrescido de adubo NPK 4:14:8 (500 g), calcário dolomítico (2 Kg).

Além da irrigação diária, uma vez por semana as mudas receberam aplicação do adubo foliar orgânico na proporção de 50 ml do adubo diluído em 500 ml de água e era composto por torta de mamona, algodão e esterco bovino. Ele foi utilizado visando fornecer os principais macronutrientes para as plantas (nitrogênio, fósforo e potássio).

As mudas saudáveis foram selecionadas visando padronizar a altura e posteriormente, trazidas para a casa de vegetação da UFT. A aclimatação durou 115 dias, e no dia 30 de junho de 2020, ocorreram as aplicações dos agrotóxicos (glifosato e fipronil) na área externa a casa de vegetação, iniciando às 09:00 h e finalizado às 10:40 h. A temperatura, a umidade e a velocidade do vento no local foram registradas pelo aparelho Termo-higroanemômetro LM 8000 da marca ASKO. As condições atmosféricas no momento da aplicação foram: 35°C (temperatura média); 33,3 % (umidade relativa do ar) e 3,9 km/h (velocidade do vento).

Para aplicação dos agrotóxicos utilizou-se um pulverizador manual de compressão prévia da All Agri com pressão de 2.8 bar, munido de barra contendo um pico com ponta de pulverização do tipo cone vazio BX-AP/70, com volume de calda de 200 l/ha.

Os agrotóxicos utilizados foram Roundup Original® DI (sal de Di-amônio de N-(phosphonomethyl) glycine com 37% de equivalente ácido) e o Eventra® 800 WG ((RS)-5-amino-1-(2,6-dichloro- α,α,α -trifluoro-p-tolyl)-4-trifluoro methylsulfinylpyrazole-3-carbonitrile com 80% de ingrediente ativo) nas seguintes concentrações, respectivamente: 0 (T0), 555 (T1), 1110 (T2) e 2220 (T3) g.e.a.ha⁻¹ e, 0 (T0), 260 (T1), 520 (T2), 1040 (T3) g.i.a.ha⁻¹. Não há registro do glifosato e fipronil para uso em plantios de espécies nativas.

Após a aplicação, as plantas permaneceram no local por aproximadamente uma hora para secagem do produto. Depois desse período, foram transportadas à casa de vegetação.

Foram realizados dois experimentos utilizando o delineamento inteiramente casualizado (DIC), composto por 4 tratamentos com 4 indivíduos (repetições), totalizando 16 mudas, onde cada muda representava uma parcela.

5.2. Análises toxicológicas

Os indivíduos foram acompanhados diariamente e os sintomas visíveis registados através de fotografias obtidas com uma câmera digital de 12 megapixel. No entanto, a avaliação do índice de toxicidade levou em consideração os sintomas apresentados aos 60 DAA e seguiu a escala de EWRC (Frans, 1972), com ajuste. As notas foram atribuídas de 1 a 7, de acordo com os sintomas de toxicidade descritos a seguir: 1 -nula; 2 - muito leve; 3 - leve; 4 – médio; 5 - forte; 6 – muito forte; 7 – severo.

5.3. Análises dos parâmetros morfo-fisiológicos

As análises dos parâmetros morfo-fisiológicos foram realizadas na casa de vegetação e no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Tocantins, *campus* de Palmas.

Foram analisados os seguintes parâmetros: avaliações fisiológicas, concentração de pigmentos cloroplastídicos, permeabilidade de membranas e análises anatômicas.

5.3.1 Avaliações de trocas gasosas

As avaliações das trocas gasosas foram realizadas com o aparelho analisador de trocas gasosas por infravermelho LI-6400 XT (IRGA, LI-COR Biosciences Inc., Nebraska, USA), em uma folha completamente expandida situada no terço superior da planta com 3 repetições para cada indivíduo. As medições das taxas fotossintética (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiratória (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a relação entre a concentração interna e externa de CO_2 (C_i/C_a , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}/\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ocorreram em folhas já expandidas, por indivíduo em cada tratamento, no período da manhã (9 h às 10 h). O IRGA foi calibrado com temperatura de 30°C , umidade relativa do ar variando entre 50% a 60%, concentração atmosférica de CO_2 entre 380 a $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e radiação fotossinteticamente ativa de $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Durante as medições foram registradas a temperatura e umidade local por meio do aparelho Termo-higroanemômetro LM 8000 da marca ASKO. As avaliações foram realizadas no 1° , 9° , 20° , 33° e 47° DAA.

5.3.2. Concentrações de pigmentos cloroplastídicos

A concentração de pigmentos cloroplastídicos foi mensurado no 60° DAA dos agrotóxicos e seguiu a metodologia descrita por Ronen e Galun (1984), ajustada, com 3 repetições para cada indivíduo. Para a extração de pigmentos utilizou-se o solvente dimetilsulfóxido (DMSO) previamente saturado com carbonato de cálcio (CaCO_3). Foram coletados, de cada repetição 3 discos foliares de 6 mm de diâmetro. Os discos foram incubados em frascos de vidro protegidos da luz por papel alumínio, contendo 3 ml de DMSO saturado com CaCO_3 . As amostras permaneceram em banho-maria a temperatura de 65°C por 24 horas. Em seguida realizou-se as leituras no espectrofotômetro UV-VIS, modelo Evolution 60S (Thermo Fisher Scientific, Madison – USA).

Os comprimentos de onda, as equações e os cálculos para determinar o conteúdo de clorofilas a (480 nm), b (649 nm) e carotenoides (665 nm) seguiram metodologia de Wellburn (1994). A degradação da clorofila foi avaliada por espectrofotometria, adotando o índice de feofitinação ($\text{IF} = A_{435}/A_{415}$), segundo Ronen e Galun (1984).

Equações Welburn (1994):

$$Chla = [(12,19 \times A_{665}) - (3,45 \times A_{649})];$$

$$Chlb = [(21,99 \times A649) - (5,32 \times A665)];$$

$$ChIT = (Chla + Chlb)$$

$$CaT = [(1.000 \times A480) - (2,14 \times Chla) - (70,16 \times Chlb)] / 220$$

Onde: Clorofila a = (*Chla*); Clorofila b = (*Chlb*); Clorofilas totais = *ChIT*;
Carotenoides totais= *CaT*

5.3.3. Permeabilidade de membranas

A permeabilidade de membranas foi medida pelo extravasamento de eletrólitos (EE) com 3 repetições para cada indivíduo e quantificado segundo a metodologia de Szalai et. al. (1996), com modificações. No 60º DAA dos agrotóxicos foram excisados em cada repetição 15 discos foliares de 6 mm de diâmetro. Os discos lavados e imersos por três vezes em água deionizada foram acondicionados em tubo “falcon” de 15 ml com 5 ml de água deionizada, por vinte quatro horas à temperatura ambiente. A condutividade elétrica inicial (C1) foi aferida com um condutímetro portátil Akso® Exact Instrument. Posteriormente, as amostras seguiram para a estufa onde permaneceram por uma hora a 100º C, subsequentemente, colocadas à temperatura ambiente para resfriarem. Após esse período, mediu-se a condutividade final (C2). O extravasamento de eletrólito foi expresso em porcentagem, através da formula: TEE (%)= (C1/C2) *100.

5.3.4. Anatomia

No 60º após a aplicação dos agrotóxicos foi coletado uma folha completamente expandida de cada indivíduo para as análises anatômicas. O corte ocorreu na região mediana, mais próximos da borda direita, evitando a nervura. As amostras foram fixadas em solução de FAA 50 e acondicionadas a vácuo por 72 h. Para o processo de desidratação e inclusão, as amostras foram submetidas a série etílica e butílica, uma hora cada, (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), e submetidas a duas trocas de parafina por 1 hora cada. Após infiltração, as amostras foram emblocadas (parafina + cera de abelha 8%), seguindo orientação do plano de corte (transversal).

Para a caracterização anatômica foram realizados cortes transversais em micrótomo rotativo semi-motorizado (RM2245-Leica), a 12 µm de espessura e aderidos à lâmina com adesivo de Haupt (HAUPT, 1930). Cinco lâminas foram

confeccionadas com aproximadamente 10 cortes para cada bloco. Posteriormente, os cortes foram desparafinizados em série xilólica, hidratados em série etílica e corados em safranina 1% e azul de astra, por 20 minutos (GERLACH, 1984). As lâminas passaram pelo processo de lavagem em água destilada, desidratadas em série etílica (30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%) e submetidas a série xilólica com posterior montagem das lâminas com bálsamo do Canadá. Em cada lâmina foram selecionados três cortes aleatoriamente. As imagens foram capturadas pelo microscópio óptico Leica DM 500, com câmara Leica ICC50 HD acoplada. A morfometria foliar foi realizada com auxílio do software de análise de imagens ANATI QUANTI, versão 2.0 para Windows® (AGUIAR et. al., 2007).

5.4. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, com auxílio do *software* SISVAR versão 5.7 (FERREIRA, 2018). Nas variáveis de trocas gasosas realizou-se análise de regressão e os gráficos foram confeccionados com *software* Excel.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Análises toxicológicas

As avaliações toxicológicas realizadas durante o experimento demonstraram que as plantas submetidas aos tratamentos com glifosato e fipronil são sensíveis a ação desses agrotóxicos (Figs. 1-2).

As plantas de *E. dysenterica* submetidas ao glifosato apresentaram danos nas folhas em todos os tratamentos que variou em função das doses (Fig. 1). Na dose de 2220 g.e.a.ha⁻¹, os primeiros sintomas se tornaram visíveis 3 DAA, com surgimento de pontos necróticos distribuídos na lâmina foliar (Fig. 1G). Aos 11 DAA, as plantas que receberam a dose de 1110 g.e.a.ha⁻¹, apresentaram as primeiras manchas foliares (Fig. 1E). Pequenas descolorações começaram a aparecer nas folhas, aos 25 DAA para os indivíduos que receberam a dose de 550 g.e.a.ha⁻¹ (Fig. 1C).

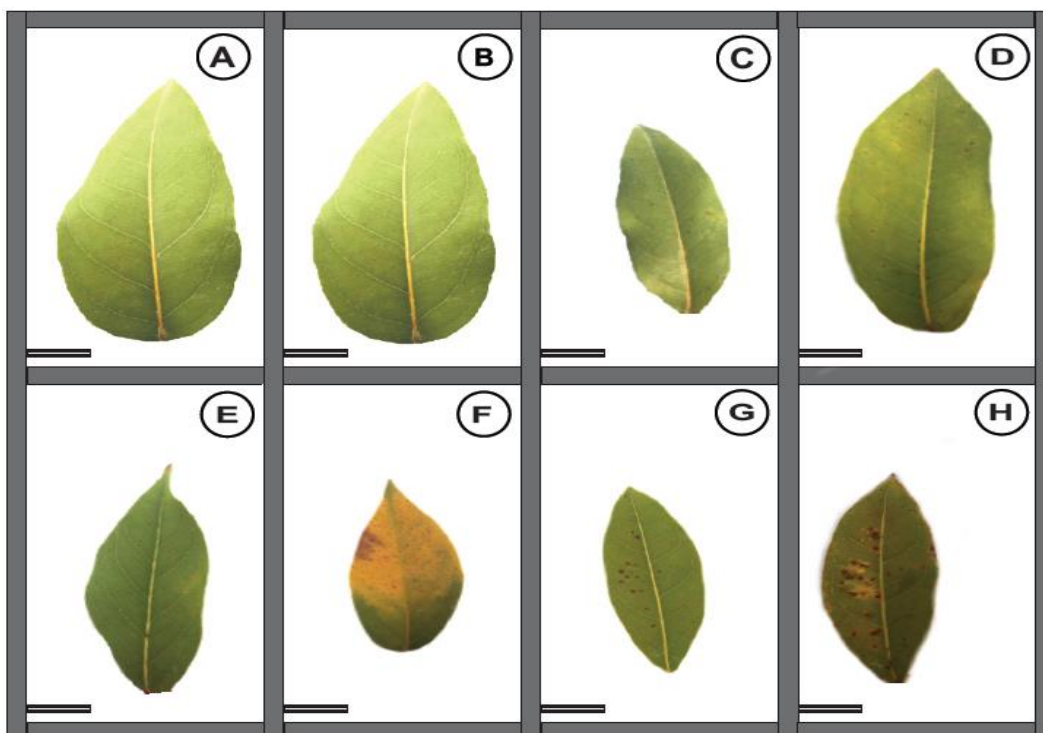


Figura 1: Sintomas de toxicidade em plantas de *E. dysenterica* submetidas a diferentes doses de glifosato. A, B: tratamento com 0 g.e.a.ha⁻¹ (T0); C, D: tratamento com 555 g.e.a.ha⁻¹ (T1); E, F: tratamento com 1110 g.e.a.ha⁻¹ (T2); G, H: tratamento com 2220 g.e.a.ha⁻¹ (T3). A, C aos 25 DAA; B, D, F, G aos 60 DAA; E aos 11 DAA; G aos 3 DAA. Barra = 2 cm.

Em relação ao índice de toxicidade, constatou-se que, quanto maior a dose do glifosato, mais significativos foram os sintomas e, conseqüentemente, maior a intoxicação das plantas (Quadro 1).

Quadro 1 – Índice toxicidade das plantas de *E. dysenterica* expostas ao glifosato com doses de 0 (T0), 555 g.e.e.ha⁻¹ (T1), 1110 g.e.a.ha⁻¹ (T2) e 2220 g.e.a.ha⁻¹(T3).

Tratamento	Índice de Toxicidade
	Glifosato
0	0
1	2
2	4
3	5

Aos 60 DAA, 100% dos indivíduos expostos a dose de 2220 g.e.a.ha⁻¹ apresentaram sintomas de necrose e clorose em suas folhas (nota 5) (Fig. 1H). Na dose de 1110 g.e.a.ha⁻¹, 50% das plantas tiveram forte descoloração com clorose na lâmina foliar (nota 4) (Fig. 1F); já a dose de 555 g.e.e.ha⁻¹, 75% dos indivíduos tiveram baixo nível de intoxicação, apenas pequenas descolorações no limbo foliar

(nota 2) (Fig. 1D). O glifosato não causou a mortalidade das plantas em nenhum dos tratamentos.

Após aplicado, o glifosato é rapidamente absorvido pela planta, sendo translocado das folhas para as raízes e regiões meristemáticas. Por ser um formulado muito estável na planta, com poder residual prolongado, seus efeitos tóxicos são irreversíveis (GRUYS e SIKORSKI, 1999). Sintomas de intoxicação (clorose e necrose) em plantas expostas a ação do glifosato podem estar relacionados com a degeneração dos cloroplastos e a produção de espécie ROS (DUKE e POWLES, 2008; ISLAM et. al., 2016). Em função dos danos visuais apresentados em folhas de *E. dysenterica*, é possível inferir, que a espécie estudada é sensível a ação do glifosato, com capacidade de resposta rápida, apresentando potencial para ser empregada em estudos de biomonitoramento de áreas expostas a ação desse herbicida. Rezende-Silva et. al. (2019) encontraram resultados semelhantes em *Pouteria torta*, onde foram observados sintomas visuais de intoxicação causada pelo glifosato, sendo considerada uma espécie útil para monitorar os efeitos desse herbicida na vegetação do Cerrado. Cruz et. al. (2021) identificaram sintomas visíveis em *Eugenia uniflora* apenas 3 DAA do glifosato, apresentando-se como uma espécie promissora para o biomonitoramento em vegetação nativa.

Indivíduos expostos ao fipronil, apresentaram sintomas de intoxicação na dose de 1040 g.i.a.ha⁻¹ (Fig. 2). Os primeiros indícios surgiram aos 2 DAA, com manchas arroxeadas nas folhas, atingido 50% dos indivíduos (Fig. 2E). Nas doses de 260 g.i.a.ha⁻¹ e 520 g.i.a.ha⁻¹, não foram observados danos referentes a aplicação do inseticida (Figs. 2C-D). As manchas arroxeadas que surgiram nas folhas de *E. dysenterica*, evoluíram para clorose, causando o amarelecimento das partes afetadas (Fig. 2F).

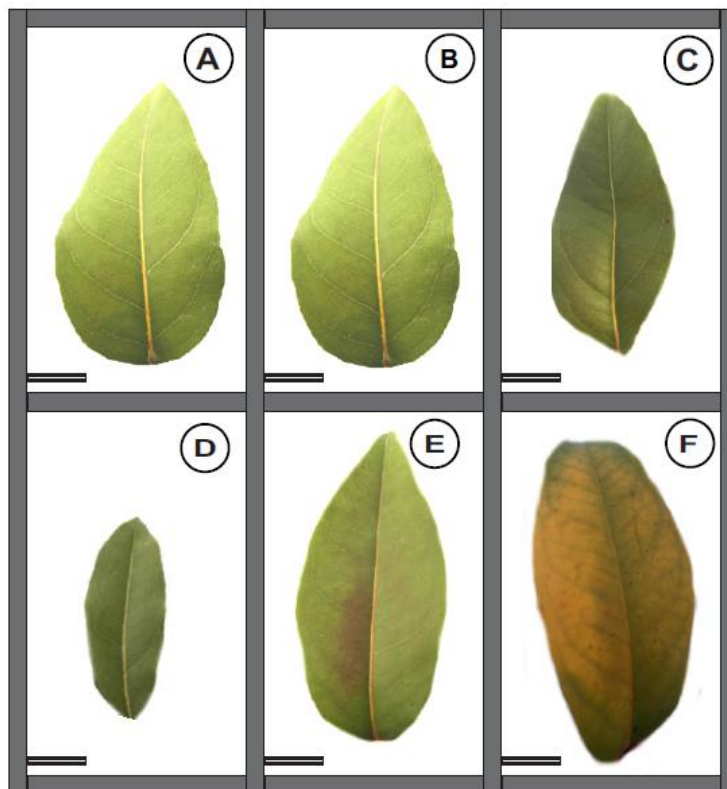


Figura 2: Sintomas de toxicidade em plantas de *E. dysenterica* submetidas a diferentes doses de fipronil. A, B: 0 g.e.a.ha⁻¹ (T0); C: 260 g.i.a.ha⁻¹ (T1); D: 520 g.i.a.ha⁻¹ (T2); E, F: 1040 g.i.a.ha⁻¹ (T3). A, E aos 2 DAA; B, C, D, F aos 60 DAA. Barra = 2 cm.

Em relação ao nível de intoxicação, constatou-se que, quanto maior a dose do fipronil, mais significativos foram os sintomas (Quadro 2). As plantas submetidas a dose de 1040 g.i.a.ha⁻¹ apresentaram índice de toxicidade 4. Enquanto que os demais tratamentos (260 g.i.a.ha⁻¹ e 520 g.i.a.ha⁻¹) obtiveram nota 0.

Quadro 2 – Índice toxicidade das plantas de *E. dysenterica* expostas ao fipronil com doses de 0 (T0), 260 g.i.a.ha⁻¹ (T1), 520 g.i.a.ha⁻¹g.e.a.ha⁻¹ (T2) e 1040 g.i.a.ha⁻¹ (T3).

Tratamento	Índice de Toxicidade
	Fipronil
0	0
1	0
2	0
3	4

O fipronil é um produto de efeito sistêmico limitado nas plantas, mas pode ser bastante persistente nas folhas, com duração mínima de 3 semanas (BELAYNEH, 1998). Pesquisas apontam que inseticidas podem interferir na disponibilidade e captação do fósforo, já que afetam as enzimas envolvidas no metabolismo desse nutriente (BOLDT e JACOBSEN, 1998; AHMAD e KHAN, 2011). Um dos principais

sintomas visuais da deficiência de fósforo é justamente o aparecimento de manchas com coloração arroxeadas em folhas mais velhas, causadas pelo acúmulo de antocianinas. Esses sintomas foram perceptíveis nas folhas expostas a maior dose do presente estudo. Salamandane (2015) constatou que os inseticidas, quando aplicado em doses elevadas, causam toxicidade, ressalta ainda que, apesar de doses superiores apresentarem maior toxicidade, o uso sucessivo pode afetar tanto as culturas, quanto espécies não alvo à sua aplicação.

6.2 Avaliações de trocas gasosas

Durante a coleta dos dados das análises de trocas gasosas foram registradas a temperatura e umidade local (Fig. 7). No período compreendido entre julho e agosto as condições atmosféricas apresentavam temperaturas mais elevadas e umidade relativa do ar baixa. Todos os tratamentos, incluindo o controle estavam submetidos as mesmas condições ambientais.

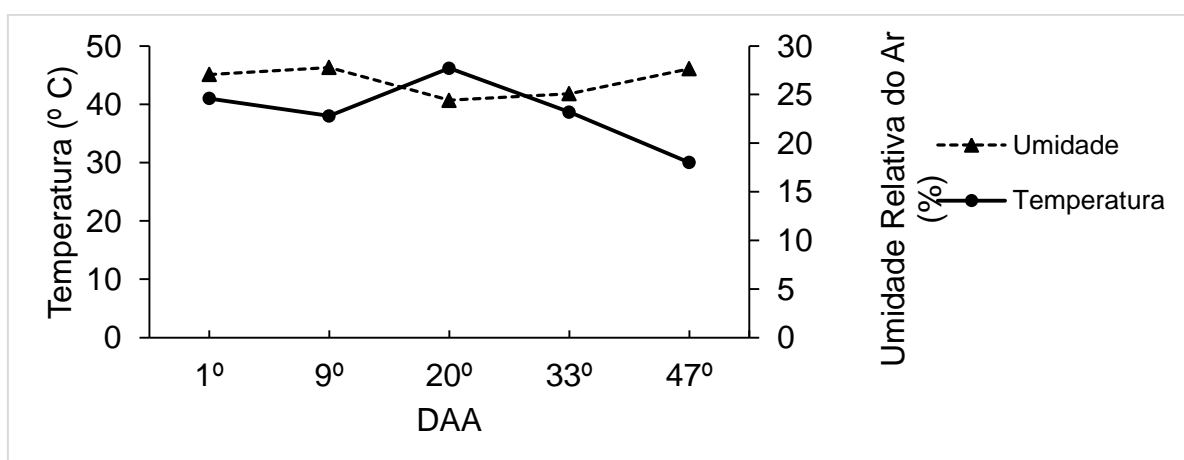


Figura 3: Temperatura (°C) e Umidade Relativa do Ar (%) na casa de vegetação da UFT campus de Palmas correspondentes aos dias que foram realizadas as avaliações de trocas gasosas nos meses de julho a agosto.

Nas plantas expostas ao glifosato foram observados efeitos significativos em relação aos tratamentos, com reduções gradativas da fotossíntese (A), condutância estomática (g_s) e da transpiração (E), em resposta ao aumento das doses e do tempo de exposição. A interação tratamento x DAA foi significativa apenas para a variável C_i/C_a , denotando que o efeito das doses decorreu em função do tempo. É

possível afirmar que as maiores concentrações de glifosato afetaram fisiologicamente as plantas de *E. dysenterica* ao longo do tempo (Tab. 1).

Tabela 1. ANOVA do efeito do glifosato em diferentes tratamentos (Trat.) e dos dias após a aplicação (DAA) em relação a fotossíntese (*A*), condutância estomática (*g_s*), transpiração (*E*) e relação entre o carbono interno/ambiente (*C_i/C_a*) em plantas de *E. dysenterica*. (n = 4)

Fonte de Variação	<i>A</i>	<i>g_s</i>	<i>E</i>	<i>C_i/C_a</i>
Trat.	**	*	*	*
DAA	**	**	**	**
Trat. x DAA	ns	ns	ns	*

Níveis de significância: *5%, **1% e ns = não significativo

Em relação a taxa fotossintética, o modelo de regressão que melhor se ajustou aos resultados foi o quadrático. Os efeitos foram mais pronunciados nas doses de 1110 g.e.a.ha⁻¹ (T2) e 2220 g.e.a.ha⁻¹ (T3) diferindo significativamente da testemunha e da menor dose 555 g.e.e.h⁻¹ (T1), com queda de 60,21% e 47,41%, respectivamente aos 47 DAA (Fig. 4A).

Para a condutância estomática e transpiração os efeitos observados foram semelhantes a taxa fotossintética com os resultados ajustados pelo modelo da regressão quadrática. A dose de 555 g.e.a.ha⁻¹, 1100 g.e.a.ha⁻¹ e 2220 g.e.a.ha⁻¹ (T3) apresentaram decréscimos significativos quando comparada à testemunha, com reduções em função da dose, ao longo do tempo (Figs. 4B-C).

Na relação carbono interna e externo (*C_i/C_a*), os resultados foram ajustados pelo modelo de regressão cúbica, com efeitos potencializados nas maiores doses, em função do maior tempo de exposição ao glifosato. A maior concentração interna CO₂ foi observado na dose de 2220 g.e.a.ha⁻¹ aos 47 DAA e caracterizou-se pelo aumento de 41% em relação a testemunha (Fig. 4D).

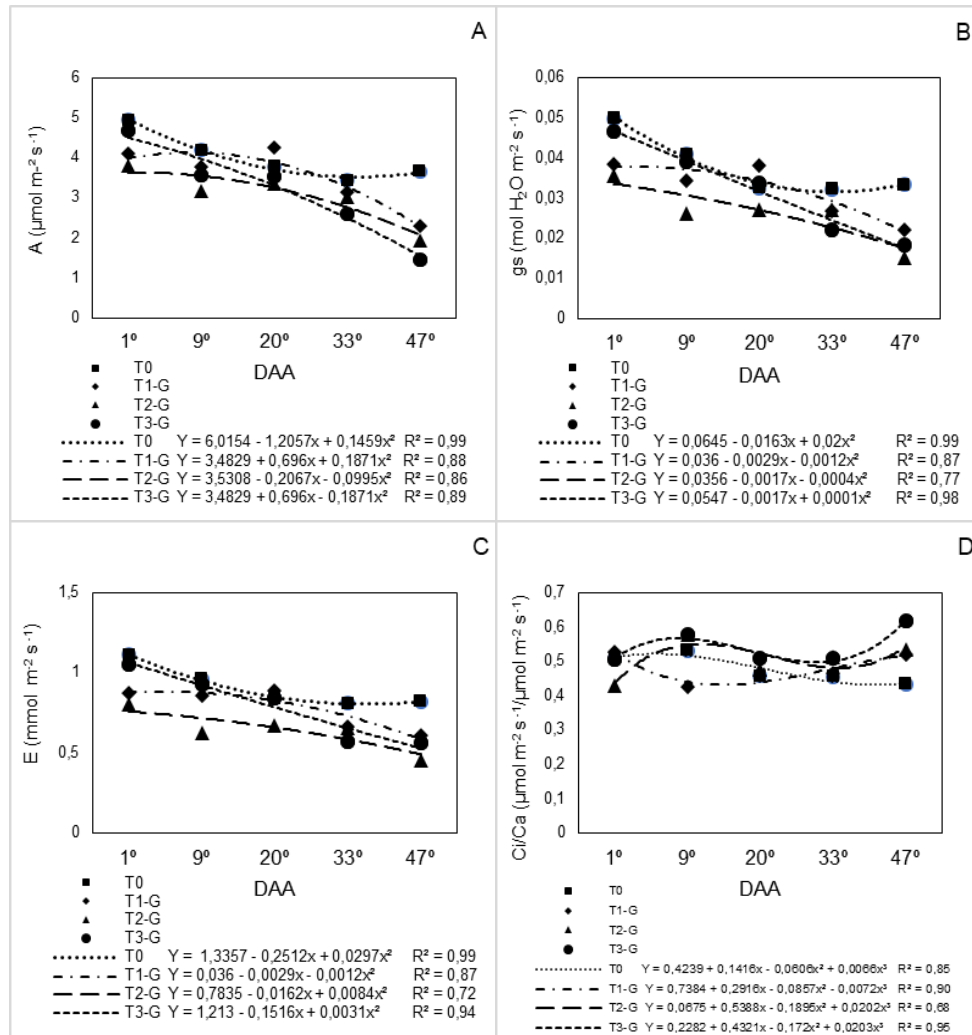


Figura 4: A: Taxa fotossintética (A); B: Condutância estomática (g_s); C: Transpiração (E); D: Relação do Carbono interno com carbono externo (Ci/Ca) de plantas de *E. dysenterica* submetidas à aplicação de glifosato nas doses de 0 (T0), 555 g.e.e.h⁻¹ (T1), 1110 g.e.a.ha⁻¹ (T2) e 2220 g.e.a.ha⁻¹ (T3). (n = 4)

Em relação as trocas gasosas, o tempo necessariamente longo requerido para observar os efeitos do glifosato nas plantas, indica que a fotossíntese não é o mecanismo primário de ação do herbicida, que atua paulatinamente e indiretamente nos processos fotossintéticos (SPRANKLE et. al.,1975; WAGNER e MEROTTO JUNIOR, 2014). Ele age sobre as células-guarda, promovendo o fechamento dos estômatos, causando a interrupção do metabolismo celular e acarretando a desestabilização das células estomáticas por meio do fechamento dos seus poros (ostíolos) (YAMADA e CASTRO, 2007). A fotossíntese está intrinsecamente relacionada a condutância estomática, limitações na abertura dos estômatos, altera o fluxo de gases, comprometendo a assimilação de CO₂, provocando a redução da

eficiência carboxilativa, com efeitos significativos sobre as atividades metabólicas das plantas (MACHADO et. al., 2010; DEM e KA, 2016).

A desregulação na absorção de CO₂, causada pela ação do glifosato sobre a enzima ribulose-1, 5-bifosfato carboxilase (rubisco), além de comprometer o ciclo de Calvin-Benson, interfere em outras rotas essenciais ao desenvolvimento e processos fisiológicos das plantas. Em torno de 20% do CO₂ absorvido é destinado a rota do chiquimato. Interferências na ação da enzima EPSPS, podem provocar um colapso na via metabólica do ácido chiquímico, e como consequência, o carbono acumula-se tornando indisponível para a síntese de fotoassimilados necessários para o desenvolvimento, proteção e crescimento das plantas (STEPHENSON et. al., 2006; DUKE e POWLES, 2008). Estudos com diferentes espécies como: *Caryocar brasiliense* (SILVA et. al., 2016); *Pouteria torta* (BATISTA et. al., 2018); *Cenostigma macrophyllum* (DE SOUSA SANTOS et. al., 2020); *E. uniflora* (CRUZ et. al., 2021), encontraram efeitos semelhantes quanto a ação do glifosato sobre as taxas fotossintéticas, transpiratória e condutância estomática.

A relação C_i/C_a refere-se à quantidade de CO₂ presente na câmara subestomática e no ambiente, alterações nessas concentrações estão relacionadas com limitações nas estruturas estomáticas e/ou metabólicas envolvidas no processo fotossintético das plantas. O glifosato inibe a eficiência da rubisco (carboxilase ou oxigenase) reduzindo a sua capacidade de assimilação do CO₂ e O₂ presentes no estroma (FARQUHAR e SHARKEY 1982; DING et. al., 2011). É provável, que o glifosato tenha afetado a atividade da rubisco nas plantas de *E. dysenterica* elevando a concentração de CO₂ na região subestomática. Os resultados desse estudo corroboram com os encontrados por De Sousa Santos et. al. (2020) e Cruz et. al. (2021).

Plantas expostas ao fipronil apresentaram queda na taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e na relação C_i/C_a , em função do aumento das doses e do tempo de exposição, com os resultados ajustados pelo modelo de regressão quadrático (Tab. 2).

Tabela 2. ANOVA do efeito do fipronil em diferentes tratamentos (Trat.) e dos dias após a aplicação (DAA) em relação a fotossíntese (*A*), condutância estomática (*g_s*), transpiração (*E*) e relação entre o carbono interno/ambiente (*C_i/C_a*) em plantas de *E. dysenterica*. (n = 4)

Fonte de Variação	<i>A</i>	<i>g_s</i>	<i>E</i>	<i>C_i/C_a</i>
Trat.	**	*	*	*
DAA	**	**	**	*
Trat. x DAA	ns	ns	ns	ns

Níveis de significância: *5%, **1% e ns = não significativo

As plantas submetidas às doses de 520 g.i.a.ha⁻¹ (T2) e 1040 g.i.a.ha⁻¹ (T3) apresentaram reduções para fotossíntese na ordem de 75,5% e 60% (Fig. 5A), condutância estomática nos valores de 75,5% e 54,2% (Fig. 5B) e para transpiração de 68% e 41,25% (Fig. 5C), respectivamente, aos 47 DAA, diferindo estatisticamente da dose de 260 g.i.a.ha⁻¹ (T1) e da testemunha.

Segundo Ahemad e Khan (2011), inseticidas em geral prejudicam as atividades metabólicas das plantas e seus efeitos são mais notórios em doses elevadas, o que corroboram com os resultados encontrados. Wani et. al. (2005) e Ahemad e Khan (2011) observaram que plantas submetidas a estresse com inseticidas apresentaram redução do AIA, em função do aumento das doses. Esse hormônio atua em conjunto com outras substâncias produzidas pela planta na regulação (abertura e fechamento) dos estômatos e na absorção da luz, com reflexos diretos na eficiência do aparato fotossintético (MANSFIELD e MCAINSH, 1995). Portanto, é possível inferir que o fipronil tenha causado redução na biossíntese do AIA em *E. dysenterica* com efeitos adversos sobre o a fotossíntese, condutância estomática e transpiração. Os dados apresentados sobre o efeito do fipronil em trocas gasosas de plantas são inéditos, não havendo descrição de testes em outra espécie.

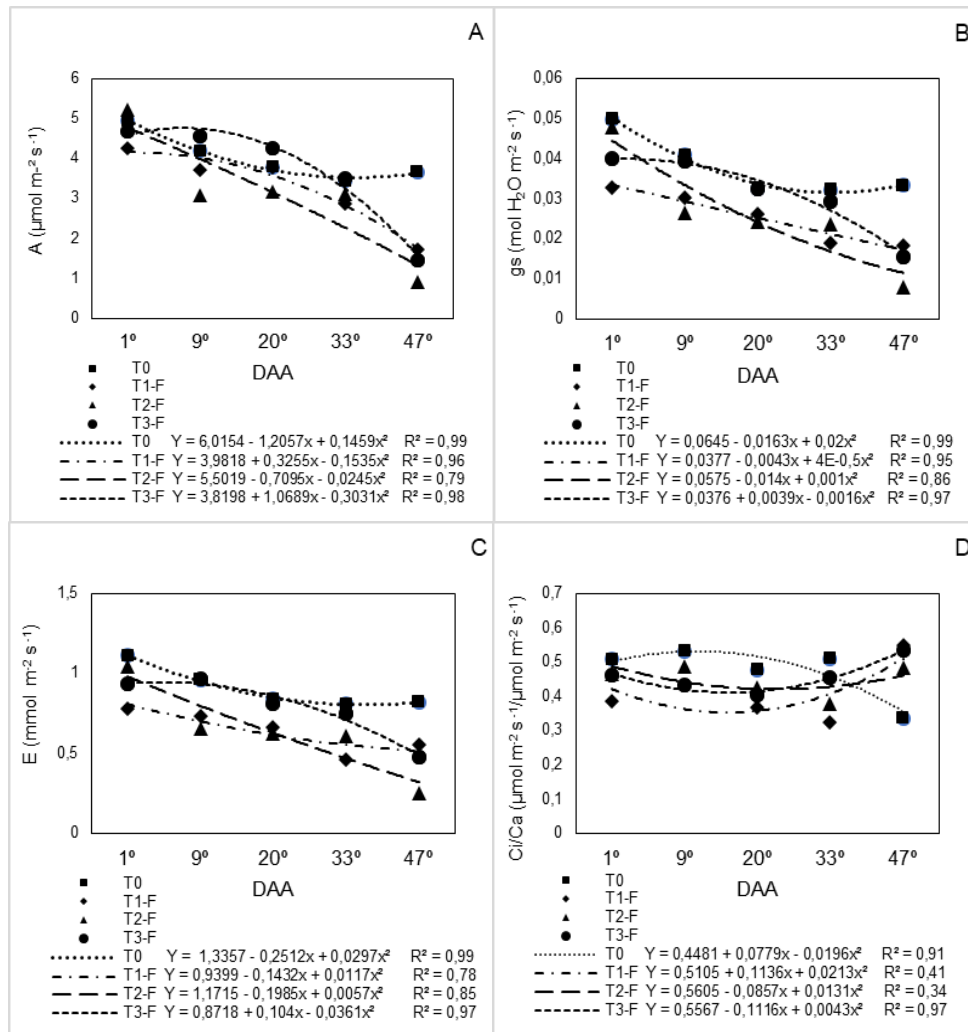


Figura 5: A: Taxa fotossintética (A); B: Condutância estomática (g_s); C: Transpiração (E); D: Relação do Carbono interno com carbono externo (Ci/Ca) de plantas de *E. dysenterica* submetidas à aplicação de fipronil nas doses de 0 (T0), 260 g.i.a.h⁻¹ (T1), 520 g.i.a.ha⁻¹ (T2) e 1040 g.i.a.ha⁻¹ (T3). (n = 4)

No tocante a Ci/Ca , houve diferença significativa entre os tratamentos em função do tempo de exposição. As plantas submetidas a dose de 1040 g.i.a.ha⁻¹ apresentaram aumento da relação Ci/Ca , com efeito mais expressivo no 47^o DAA, diferindo dos demais tratamentos e da testemunha (Fig. 5D). Estudos relataram que os inseticidas afetam o funcionamento das enzimas redutoras de carbono fotossintético (PCR), como Rubisco 3-PGA, NADP, NAD-gliceraldeído-3-PGA-desidrogenase e aldolase (BOLDT e JACOBSEN, 1998). Interferências nas atividades enzimáticas da rubisco promovem alterações na biossíntese do CO₂, com interferências direta na assimilação do carbono pelos vegetais. Sendo assim, o

aumento da relação *Ci/Ca* pode estar diretamente associado a ação do fipronil nas plantas de *E. dysenterica*, ratificando os resultados encontrados

6.3 Concentrações de pigmentos cloroplastídicos

Em relação aos pigmentos cloroplastídicos das plantas estudadas, observou-se que, quanto maior a dose do glifosato, maior a degradação dos pigmentos fotossintetizantes. Indivíduos expostos à dose de 2220 g.e.a.ha⁻¹ apresentaram maior redução no teor das clorofilas a (*Chl a*), b (*Chl b*) e clorofila total (*Chl a + Chl b*), na ordem de 41%, 23%, 39%, respectivamente, quando comparados com o controle. No tocante aos carotenoides (*CaT*) e o índice de feofitinação (*IF*) verificou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tab. 3).

Tabela 3: Clorofila A (*Chl a*), clorofila B (*Chl b*), clorofila total (*Chl a + Chl b*), carotenoides (*CaT*) e índice de feofitinação (*IF*) de plantas de *E. dysenterica* submetidas à aplicação do glifosato com doses de 0 (T0), 555 g.e.e.h⁻¹ (T1), 1110 g.e.a.ha⁻¹ (T2) e 2220 g.e.a.ha⁻¹ (T3).

Pigmentos Cloroplastídicos	Tratamento				CV
	T0	T1	T2	T3	
<i>Chl a</i> (mg g ⁻¹ MF)	0,86a	0,61ab	0,64ab	0,44b	24,05%
<i>Chl b</i> (mg g ⁻¹ MF)	0,52a	0,43b	0,48ab	0,4b	16,73%
<i>Chl a+b</i>	1,38a	1,05ab	1,11ab	0,84b	20,57%
<i>CaT</i>	4,57a	3,86a	4,82a	4,56a	23,42%
<i>IF</i>	0,9a	0,88a	0,85a	0,78a	4,05%

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. (n = 4)

As plantas de *E. dysenterica* expostas a ação do herbicida apresentaram alterações dos pigmentos cloroplastídicos. Esses pigmentos exercem importante função no processo fotossintético (TAIZ et. al., 2017) e sua redução causa danos severos as plantas. O glifosato interfere na biossíntese da clorofila, pois inibe as atividades enzimáticas da EPSPS (5-enolpiruvilshikimate-3-fosfato sintase) (GALLI e MONTEZUMA, 2005; KASPARY et. al., 2014) e a síntese do ácido aminolevulínico (ALA) diminuindo a produção de pigmentos fotossintetizantes (KITCHEN et. al., 1981; CARVALHO e ALVES, 2011). Ademais, a atividade quelante do glifosato também acarreta deficiência de ferro prejudicando a ação de duas enzimas (catalase e a peroxidase), que são essenciais na biossíntese da clorofila (ZOBIOLE et. al., 2010). Tais fatos estão em consonância com os resultados observados em relação ao teor dos pigmentos da espécie estudada. Silva et. al. (2016), Batista et. al. (2018)

e Cruz et. al. (2021) também relataram alterações dos pigmentos fotossintetizantes em plantas expostas ao glifosato.

As plantas expostas ao fipronil apresentaram redução significativa das clorofilas a (*Chl a*), b (*Chl b*), clorofila total (*Chl a + Chl b*). O tratamento com a maior dose (1040 g.i.a.ha⁻¹) foi o que apresentou maior redução, quando comparado ao controle (Tab. 4). No entanto, não houve diferença significativa para o teor de carotenoides (*CaT*) e índice de feofitinação (*IF*).

Tabela 4: Clorofila A (*Chl a*), clorofila B (*Chl b*), clorofila total (*Chl a + Chl b*), carotenoides (*CaT*) e índice de feofitinação (*IF*) de plantas de *E. dysenterica* submetidas à aplicação de fipronil com doses de 0 (T0), 260 g.i.a.h⁻¹ (T1), 520 g.i.a.ha⁻¹ (T2) e 1040 g.i.a.ha⁻¹ (T3).

Pigmentos Cloroplastídicos	Tratamento				CV
	T0	T1	T2	T3	
<i>Chl a</i> (mg g ⁻¹ MF)	0,86a	0,69ab	0,78ab	0,49b	22,54%
<i>Chl b</i> (mg g ⁻¹ MF)	0,52a	0,48ab	0,48ab	0,4b	11,84%
<i>Chl a+b</i>	1,38a	1,17ab	1,26ab	0,89b	17,77%
<i>CaT</i>	4,57a	3,95a	3,96a	4,27a	17,33%
<i>IF</i>	0,9a	0,9a	0,88a	0,86a	3,40%

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. (n = 4)

De acordo com Boldt e Jacobsen (1998), os inseticidas afetam o metabolismo enzimático, inibindo o funcionamento das enzimas redutoras de carbono fotossintético (PCR), como rubisco 3-PGA, NADP, NAD-gliceraldeído-3-PGA-desidrogenase e aldolase, interferindo, portanto no teor de clorofila. Resultados semelhantes foram relatados por Ahemad e Khan (2011) estudando o efeito tóxico do fipronil em leguminosas, onde constataram que o teor de clorofila diminuiu substancialmente na presença do inseticida, com danos mais severos em plantas de grão de bico, lentilha e ervilha, respectivamente. Não existem relatos sobre a ação do fipronil em espécies da flora do Cerrado, em face do avanço agrícola sobre esse bioma, é interessante ampliar os estudos sobre os efeitos desse agrotóxico em plantas nativas.

6.4 Permeabilidade de Membranas

As plantas submetidas ao glifosato não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos quando comparada com o controle para a Taxa de Liberação de Eletrólitos (TLE) (Fig. 6).

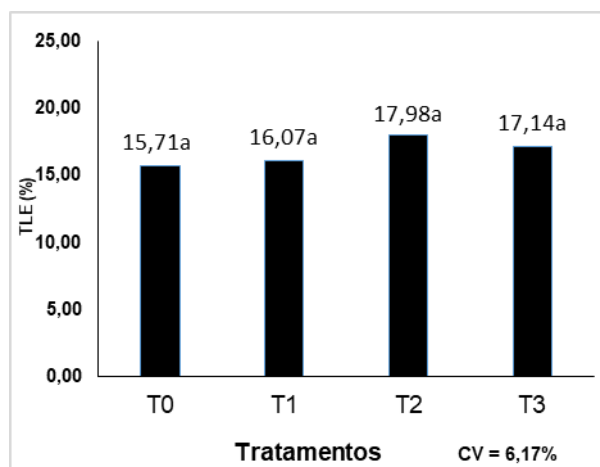


Figura 6: Taxa de Liberação de Eletrólitos (TLE) em plantas de *E. dysenterica* submetidas a deriva de glifosato com doses de 0 (T0), 555 g.e.e.h⁻¹ (T1), 1110 g.e.a.ha⁻¹ (T2) e 2220 g.e.a.ha⁻¹ (T3). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. (n = 4)

De acordo com Cole (1985), os efeitos do glifosato nas membranas plasmáticas podem ser insignificantes em algumas espécies. Resultados semelhantes foram encontrados por De Sousa Santos et. al. (2020) em plantas de *Cenostigma macrophyllum* expostas ao glifosato.

Em relação ao fipronil, verificou-se que também não houve diferença significativa entre os tratamentos quando comparados ao controle para a Taxa de Liberação de Eletrólitos (TLE) (Fig. 7).

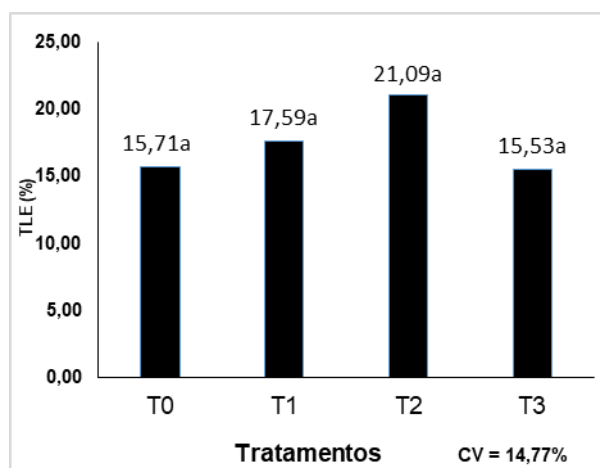


Figura 7: Taxa de Liberação de Eletrólitos (TLE) em plantas de *E. dysenterica* submetidas a deriva de fipronil com doses de 0 (T0), 260 g.i.a.h⁻¹ (T1), 520 g.i.a.ha⁻¹ (T2) e 1040 g.i.a.ha⁻¹ (T3). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. (n = 4)

Ressalta-se que a permeabilidade de membranas não se mostrou um bom bioindicador para respostas das plantas de *E. dysenterica* expostas tanto ao glifosato quanto ao fipronil, haja visto que essa variável foi pouco afetada pelos

agrotóxicos estudados. Além de ser essa uma característica muito comum em tecidos vegetais submetidos a ação de agentes estressores, independentemente da sua natureza (WHEELER, 1978), o que acaba comprometendo a utilização dessa variável no biomonitoramento.

6.5 Anatomia

As folhas de *E. dysenterica* apresentam epiderme uniestratificada em ambas as faces (adaxial e abaxial) recobertas por uma cutícula espessa. Os estômatos estão presentes apenas na face abaxial (hipoestomática) (Figs. 8A, 9A). O mesofilo dorsiventral possui uma camada de parênquima paliçádico e várias camadas (entre 4 a 7) de parênquima lacunoso que apresenta poucos espaços intercelulares. Presença de cavidades secretoras são visíveis em toda a extensão do mesofilo foliar (Figs. 8B - 9B). A região da nervura central é composta por um feixe vascular colateral em forma de arco, contornado por fibras pericíclicas. Há presença de cristais prismáticos ao longo do mesofilo e associados aos feixes vasculares (Figs. 8C - 9C). As características anatômicas descritas no presente estudo estão de acordo com as relatadas por Palhares (2003), França (2011) e Cunha (2019) para a espécie *E. dysenterica*.

O glifosato causou danos as estruturas anatômicas das folhas de *E. dysenterica*. Foram observadas alterações em todas as doses testadas. Nas células do parênquima paliçádico, houve retração de membranas (Fig. 8D). Foram identificados grandes espaços intercelulares no parênquima lacunoso e alterações no formato do cloroplasto (Figs. 8E-G).

O interior das fibras que contornam os feixes vasculares apresentou pigmentação, diferindo assim, da testemunha (Fig. 8F). Nos canais secretores, observou-se que a secreção apresentou coloração, diferindo da testemunha, cuja secreção presente era translúcida (Fig. 8H).

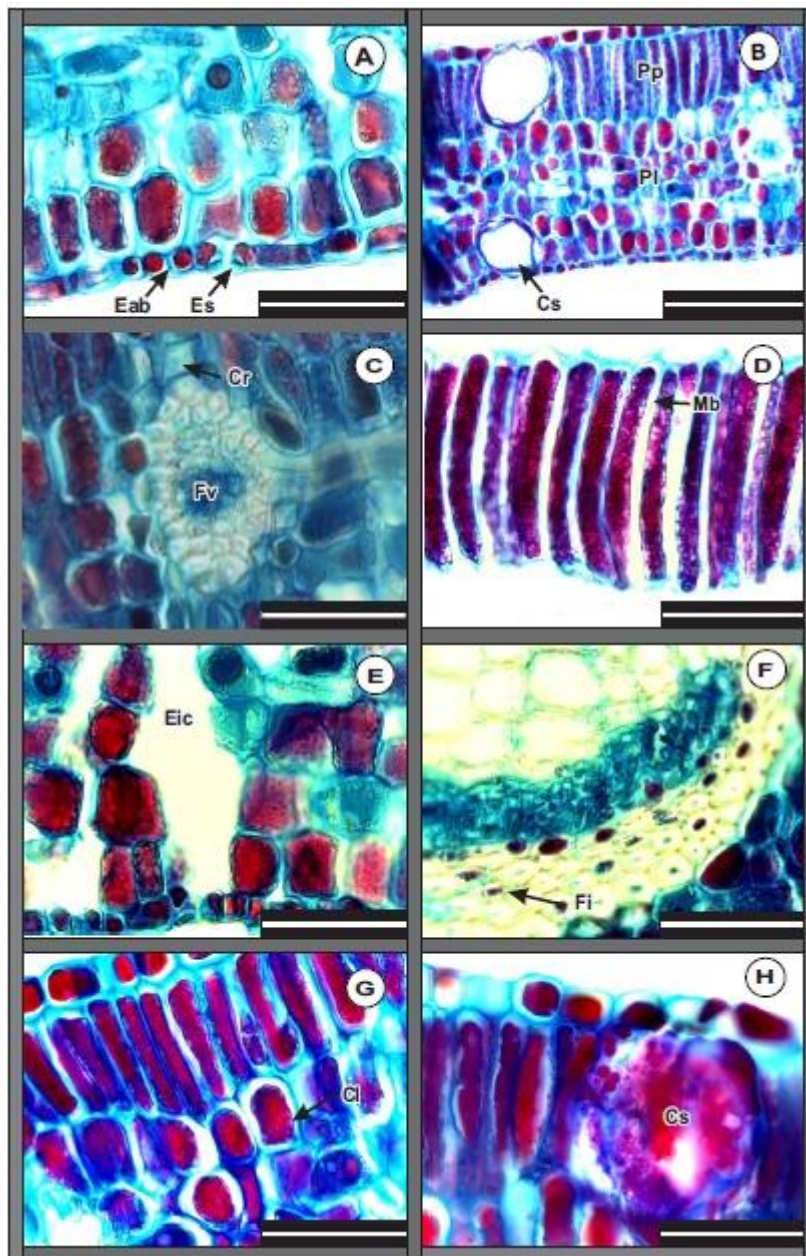


Figura 8: Cortes anatômicos de folhas de *E. dysenterica* aos 60 DAA do glifosato. Testemunha (A, B e C), quando submetidas a dose de 555 g.e.a.ha⁻¹ (D), 1110 g.e.a.ha⁻¹ (E, F) e 2220 g.e.a.ha⁻¹ (G e H). Epiderme abaxial (Eab); Estômatos (Es); Parênquima paliçádico (Pp); Parênquima lacunoso (Pl); Canais secretores (Cs); Feixe vascular (Fv); Cristais prismáticos (Cr); Retração de membranas das células (Mb) do parênquima paliçádico; Espaços intercelulares (Eic); Fibras pigmentadas (Fi); Alteração no formato do cloroplasto (Cl). Barra = 50 μm.

Avaliações anatômicas das folhas são ferramentas importantes na identificação de perturbações ambientais, pois permitem identificar a sensibilidade de uma determinada espécie ao agente estressor antes mesmo de surgirem sintomas visíveis (SILVA et. al., 2006; FREITAS-SILVA et. al., 2016).

Na espécie estudada foram observadas modificações nas estruturas foliares, mudanças no volume e formato das células do mesofilo e dos cloroplastos comprometem a funcionalidade do parênquima clorofiliano, interferindo diretamente na eficiência da fotossíntese, pois promovem alterações na difusão de gases dentro das folhas (HEATH 1994; FLEXAS et. al., 2008; FREITAS SILVA et. al., 2020), ratificando assim, os resultados encontrados em trocas gasosas.

Também foram identificadas mudanças na coloração de compostos químicos presentes nos canais secretores de *E. dysenterica*. A ação do glifosato sobre a rota do chiquimato tem consequências direta na produção de aminoácidos essenciais (triptofano, fenilalanina e tirosina). Estes aminoácidos são indispensáveis para a síntese protéica, além de servir como substrato para a produção de diversos compostos secundários. Interferências do glifosato na síntese do ácido chiquímico pode provocar desequilíbrio metabólicos (GRUYS e SIKORSKI, 1999; YAMADA e CASTRO, 2007). Sendo assim, é provável que mudanças na síntese dessas substâncias orgânicas tenham provocado modificações na composição química da secreção presente nas folhas de *E. dysenterica*. Corroborando com os resultados encontrados na literatura por Tuffi Santos et. al. (2005) e De Sousa Santos et. al. (2020). Todavia, estudos histoquímicos devem ser realizados com a finalidade de identificar a natureza desses compostos.

Em relação à morfometria dos tecidos foliares, indivíduos expostos ao glifosato apresentaram redução significativa da espessura da epiderme abaxial, nas doses de 1110 g.e.a.ha⁻¹ (T2) e 2220 g.e.a.ha⁻¹ (T3), nos valores de 22,48% e 19,79%, respectivamente, diferindo estatisticamente da testemunha. Os demais tecidos não apresentaram diferença significativa, quando comparados ao controle (Tab. 5).

Tabela 5: Morfometria dos tecidos foliares de plantas de *E. dysenterica* submetidas à aplicação do glifosato com doses de 0 (T0), 555 g.e.e.h⁻¹ (T1), 1110 g.e.a.ha⁻¹ (T2) e 2220 g.e.a.ha⁻¹ (T3).

Tecidos Foliares	Tratamento				CV
	T0	T1	T2	T3	
Epiderme Adaxial (µm)	16,89a	15,30a	14,38a	15,13a	12,36%
Parênquima Paliçádico (µm)	112,27a	102,79a	111,53a	115,29a	8,40%
Parênquima Lacunoso (µm)	61,58a	68,73a	65,10a	64,30a	14,18%
Epiderme Abaxial (µm)	9,65a	8,86a	7,48b	7,74b	11,84%

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. (n = 4)

Na morfometria, observou-se redução da epiderme abaxial, região da folha onde está presente os estômatos. O herbicida interfere no crescimento das plantas, promovendo redução dos tecidos foliares (MACHADO et. al., 2013). Como a folha da *E. dysenterica* é hipoestomática, os efeitos do herbicida foram mais pronunciados sobre os estômatos, corroborando com os resultados encontrados em relação a interferência do glifosato na fotossíntese, condutância estomática e transpiração. De Sousa Santos et. al. (2020) observaram resposta semelhante quanto à redução da epiderme abaxial em *Cenostigma macrophyllum* submetida a diferentes concentrações do herbicida.

As folhas expostas ao fipronil apresentaram alterações anatômicas em todas as doses. As fibras apresentaram pigmentação (Fig. 9D), diferentemente da testemunha, cujas células apresentaram coloração translúcida. Reforça-se a necessidade realizar testes histoquímicos com vistas a identificar a natureza desses compostos químicos que apresentaram alteração em sua coloração.

No mesofilo, houve o aparecimento de espaços intercelular em toda sua extensão, porém de forma mais acentuada no parênquima lacunoso (Fig. 9E). Modificações no formato das células do parênquima paliádico também foram visíveis em folhas de *E. dysenterica* como resultado da ação do fipronil (Fig. 9F).

Os dados apresentados sobre os efeitos anatômicos em folhas de plantas causados pela ação do fipronil são inéditos, não havendo descrição destas respostas em outra espécie.

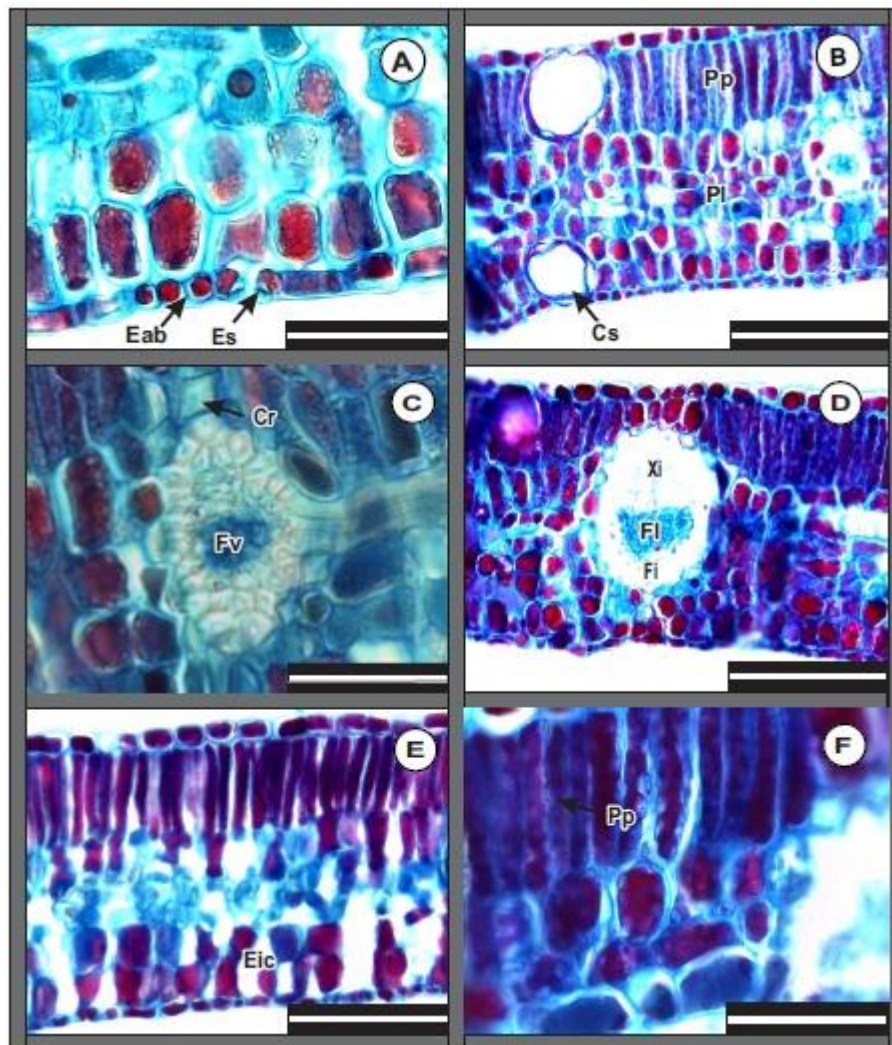


Figura 9: Cortes anatômicos de folhas de *E. dysenterica* aos 60 DAA do fipronil. Testemunha (A, B e C), quando submetidas a dose 260 g.i.a.h⁻¹ (D), 520 g.i.a.ha⁻¹ (E) e 1040 g.i.a.ha⁻¹ (F). Epiderme abaxial (Eab); Estômatos (Es); Parênquima paliçádico (Pp); Parênquima lacunoso (Pl); Canais secretores (Cs); Feixe vascular (Fv); Cristais prismáticos (Cr); Xilema (Xi); Floema (Fl); Fibras pigmentadas (Fi); Espaço intercelular (Eic). Barra = 50 µm.

No tocante à morfometria dos tecidos foliares, as plantas de todos os tratamentos apresentaram efeitos significativos (Tab. 6). Houve redução de 37,77% e 24,57% da epiderme adaxial foliar nas doses de 260 g.i.a.h⁻¹ (T1), 520 g.i.a.ha⁻¹ (T2), respectivamente.

Tabela 6: Morfometria dos tecidos foliares de plantas de *E. dysenterica* submetidas à aplicação do fipronil com doses de 0 (T0), 260 g.i.a.h⁻¹ (T1), 520 g.i.a.ha⁻¹ (T2) e 1040 g.i.a.ha⁻¹ (T3).

Tecidos Foliares	Tratamento				CV
	T0	T1	T2	T3	
Epiderme Adaxial (µm)	16,89a	10,51b	12,74b	14,47a	13,90%
Parênquima Paliçádico (µm)	112,27a	64,48c	106,33b	122,37a	6,31%
Parênquima Lacunoso (µm)	61,58a	66,37a	63,37a	67,78a	15,18%
Epiderme Abaxial (µm)	9,65a	8,86a	7,48b	7,74b	11,84%

Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. (n = 4)

Quanto ao parênquima paliçádico, houve decréscimo na espessura de 42,56% e 5,30%, nas plantas expostas a doses de 260 g.i.a.h⁻¹ (T1) e 520 g.i.a.ha⁻¹ (T2), respectivamente, quando comparados a testemunha. No parênquima lacunoso, não foi observado diferença significativa na espessura deste tecido em relação aos tratamentos analisados.

No que tange a epiderme abaxial, houve efeito negativo do fipronil, na espessura deste tecido, com decréscimo de 22,48% e 19,8%, nas plantas expostas as maiores doses (520 g.i.a.ha⁻¹ e 1040 g.i.a.ha⁻¹), respectivamente, quando comparadas com a testemunha. Resultados contrários foram relatados por Azevedo et. al. (2014) onde foram identificadas influências positivas do inseticida nas faces abaxial e adaxial da folha de erva doce (*Foeniculum vulgare* Mill.) (33,2 e 40,3/10µm²), quando comparadas ao controle. Ressalta-se que as plantas aqui comparadas apresentam portes e habitats distintos.

A folha da *E. dysenterica* apresenta seus estômatos localizados na epiderme abaxial, por conseguinte, é provável que o inseticida tenha provocado danos nessa camada. Ademais, também foram observados efeitos negativos do fipronil na condutância estomática e na transpiração, o que demonstra o impacto desse inseticida sobre as células-guarda.

7. CONCLUSÃO

Diante dos dados analisados, pode-se afirmar que as plantas de *E. dysenterica* são sensíveis a ação do glifosato e fipronil. Foram identificados efeitos negativos desses agrotóxicos nos parâmetros morfológicos, fisiológicos e anatômicos que foram potencializados em função do tempo de exposição.

Em relação ao glifosato, observou-se que em todos os tratamentos houve sintomas visíveis de toxicidade. Na fisiologia, os danos foram mais expressivos nas maiores doses com redução da taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração. Modificações nas estruturas anatômicas, como modificações das células do parênquima paliçádico, mudanças na composição do preenchimento das fibras e nos canais secretores foram observadas em folhas de *E. dysenterica* submetidas ação do glifosato.

As plantas expostas ao fipronil apresentaram sensibilidade ao inseticida com sintomas visíveis de toxicidade na maior dose. Reduções nos parâmetros fisiológicos como fotossíntese, condutância estomática e transpiração também foram observados nas doses de 520 g.i.a.ha⁻¹ e 1040 g.i.a.ha⁻¹. Anatomicamente, as folhas de *E. dysenterica* apresentaram modificações, tais como: alteração da composição das células do floema e das fibras e formato alterado das células do parênquima paliçádico. Essas alterações podem ser consideradas bons biomarcadores da presença do fipronil em plantas.

É possível inferir que *E. dysenterica* é uma espécie em potencial para ser utilizada em programas de biomonitoramento de ambientes expostos a glifosato e fipronil. Ressalta-se a necessidade de pesquisas mais detalhadas, buscando ratificar em campo a eficácia dos parâmetros bioindicadores identificados nessa pesquisa.

8. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – **ANVISA**. Consulta Pública nº 11, de 11 de março de 2005. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B9774-1-0%5D.PDF>. Acessado em 05 maio de 2020.

_____. Consulta Pública nº 201, de 07 de junho de 2016. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/eba05f80474594f39c9fdc3fbc4c6735/f43.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 10 out. 2020.

AGUIAR, T. V. et al. ANATI QUANTI: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 649-659, 2007.

AHEMAD, Munees; KHAN, Mohammad Saghir. Comparative study of the growth parameters of legumes grown in fipronil-stressed soils. **EurAsian Journal of BioSciences**, v. 5, 2011.

ALMEIDA, M. D. Relatório: vigilância em saúde de populações expostas a agrotóxicos no estado do Tocantins. **Brasília, DF: Ministério da Saúde**, 2015.

ALVES FILHO, José Prado. **Receituário agrônomo: a construção de um instrumento de apoio à Gestão dos agrotóxicos e sua controvérsia**. 2000. 235 f. Tese (Doutorado). São Paulo: Universidade de São Paulo. 2020.

_____. **Uso de agrotóxicos no Brasil: controle social e interesses corporativos**. Annablume, 2002.

ALVES, E. O. et al. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados-MS. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 651-658, 2008.

AMARANTE JUNIOR, Ozelito Possidônio de et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química nova**, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.

ANDRÉA, M.M. de **Bioindicadores ecotoxicológicos de agrotóxicos**. 2008. Artigo em HiperTexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/Bioindicadores/index.htm. Acesso em 23 de abril de 2020.

ANDREI, E. (Coord.). **Compêndio de defensivos agrícolas**. 7.ed. São Paulo: Andrei, 2005.

ARAÚJO, A. J. et al. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, p. 115-130, 2007.

ARRUDA, H. S.; CRUZ, R. G.; ALMEIDA, M. E. F. Caracterização química, funcionalidade e toxicidade do pequi. **Nutrição Brasil**, São Paulo, v. 11, n. 5, p. 315-319, 2012.

AZEVEDO, C. F.; BRUNO, R. L. A; QUIRINO, Z. G. M. Anatomia de plântulas de erva doce (*Foeniculum vulgare* Mill.) sob o efeito de inseticida. **Revista Biociências**, v. 20, n. 1, p. 63-71, 2014.

BALSAN, Rosane. Impactos decorrentes da modernização da agricultura brasileira 1. **CAMPO-TERRITÓRIO: revista de geografia agrária**, v. 1, n. 2, 2006.

BHATT, M. H.; ELIAS, M. A.; MANKODI, A. K. Acute and reversible parkinsonism due to organophosphate pesticide intoxication: five cases. **Neurology**, v. 52, n. 7, p. 1467-1467, 1999.

BATISTA, P. F. et al. *Pouteria torta*: a native species of the Brazilian Cerrado as a bioindicator of glyphosate action. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 2, p. 296-305, 2018.

BELAYNEH, O. Y. T. Amendment III to the USAID/Madagascar supplemental environmental assessment for locust control program: Options for including fipronil as an anti-locust insecticide. **Unpublished report. USAID, Washington DC September**, v. 36, 1998.

BOLDT, T. S.; JACOBSEN, C. S. Different toxic effects of the sulfonylurea herbicides metsulfuron methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron methyl on fluorescent pseudomonads isolated from an agricultural soil. **FEMS Microbiology Letters**, v. 161, n. 1, p. 29-35, 1998.

BOMBARDI, L.M. Agrotóxicos e agronegócio: arcaico e moderno se fundem no campo brasileiro. In: MERLINO, T.; MENDONÇA, M.L. (Org.). **Direitos humanos no Brasil 2012: relatório da Rede Social de Justiça e Direitos Humanos**. São Paulo: Rede Social de Justiça e Direitos Humanos; p. 75-86, 2012.

_____. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. FFLCH-USP, 2017.

BONMATIN, J. M. et al. Destino e exposição ambiental; neonicotinóides e fipronil. **Pesquisa em ciências ambientais e poluição**, v. 22, n. 1, p. 35-67, 2015.

BRASIL. Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.). Lavras: **Boletim Técnico Nº. 78**, 2008. 21 p.

_____. **Lei Federal Nº 7.802 de 11 de junho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm. Acessado em 11 de setembro de 2019.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. **Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos**. Volume 1. Ministério da Saúde, Brasília, 2018. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio_nacional_vigilancia_populacoes_expostas_agrotoxicos.pdf. Acessado em 15 de julho de 2019.

BRÉGA, S. M. et al. Clinical, cytogenetic and toxicological studies in rural workers exposed to pesticides in Botucatu, São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 14, p. 109-115, 1998.

CAIRNS, J.; MCCORMICK, P. V.; NIEDERLEHNER, B. R. A proposed framework for developing indicators of ecosystem health. **Hydrobiologia**, v. 263, n. 1, p. 1-44, 1993.

CAMPANHOLA, Clayton; BETTIOL, Wagner. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2003.

CARLOS, L. **Requerimentos nutricionais de mudas de favela, pequi, marolo e barbatimão**. 2009. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2009.

CARNEIRO, R.M.A. **Bioindicadores vegetais de poluição atmosférica: uma contribuição para a saúde da comunidade**. 2004. 144 f. Dissertação (Mestrado) -

Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto/SP, 2004.

CARNEIRO, F. F. et al. **Dossiê ABRASCO – Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Parte 1 - Agrotóxicos, Segurança Alimentar e Nutricional e Saúde. Rio de Janeiro: ABRASCO, 2012.

_____. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. EPSJV/Expressão Popular, 2015.

CARSON, Rachel. **Primavera silenciosa**. São Paulo: Melhoramentos. 1964.

CASSAL, Vivian Brusius et al. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 437-445, 2014.

CARVALHO, I. S. H. Desenvolvimento e gestão ambiental para assentamentos rurais no Cerrado. In: ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA EM AMBIENTE E SOCIEDADE, 3., 2006, Brasília. Anais... Brasília: ANPPAS, 2006. 1 CD-ROM.

CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. Efeitos do glifosato no crescimento do cafeeiro. In: Simpósio Internacional sobre Glifosato, 3. 2011, Botucatu, SP. Anais...Botucatu: FEPAF, 2011. p.86-89.

CHAGURI, Joao Leandro et al. Exposure to fipronil elevates systolic blood pressure and disturbs related biomarkers in plasma of rats. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 42, p. 63-68, 2016.

COLE, DAVID J. et al. Some biochemical effects of glifosato on plant meristems. **Journal of Experimental Botany**, v. 31, n. 6, p. 1665-1674, 1980.

COLE, D.J.; CASELEY, J.C.; DODGE, A.D. Influence of glifosato on selected plant process. **Weed Research, Oxford**, v.23, p.173-183, 1983.

COLE, D. J. Mode of action of glifosato - a literatura analysis. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Ed.). The herbicide glifosato. London: Butterworths, 1985. p. 48-74.

COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, n. 1, p. 47-54, 1993.

COLIN, M.E. Un medio ambiente que mata las abejas. Estudios de imidacloprid y fipronil en Europa. **Vida Apícola**. Barcelona. n.128, 2004.

CORTES, J.M. **Desenvolvimento de espécies nativas do Cerrado a partir do plantio de mudas e da regeneração natural em uma área em processo de recuperação, Planaltina-DF**. 2012. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências Florestais, Universidade de Brasília, Brasília/DF, 2012.

COUTO, R.et al. Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae). **Rev Eletron Farm**, v. 6, n. 3, p. 59 – 69, 2009.

CRUZ, C. E. S. et al. Physiological and morphoanatomical effects of glifosato in *Eugenia uniflora*, a Brazilian plant species native to the Atlantic Forest biome. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-13, 2021.

CUNHA, Nina Rosa da Silveira et al. A intensidade da exploração agropecuária como indicador da degradação ambiental na região dos Cerrados, Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 46, n. 2, p. 291-323, 2008.

CUNHA, Gustavo Odeone da Silva. **Estudos químico, histoquímico e anatômico das folhas de *Eugenia pitanga* (O. BERG) NIED e *Eugenia dysenterica* DC**. 2019. 201 f. Dissertação (Mestrado) – Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019.

DE ALMEIDA, Lécio Leone et al. Effects of melatonin in rats in the initial third stage of pregnancy exposed to sub-lethal doses of herbicides. **Acta histochemica**, v. 119, n. 3, p. 220-227, 2017.

DE AMARANTE JUNIOR, Ozelito Possidônio et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química nova**, p. 589-593, 2002.

DE FIGUEIREDO AQUINO, Sandra Maria et al. Bioindicadores vegetais: uma alternativa para monitorar a poluição atmosférica. **Revista Internacional de Ciências**, v. 1, n. 1, p. 77-94, 2011.

DE MEDEIROS, Karl Marx. O planejamento ambiental e exploratório no Bioma Cerrado. **E-Revista Facitec**, v.1 n.1, Art.3, 2007. Disponível em:

http://www.facitec.br/erevista/index.php?option=com_content&task=view&id=9&Itemid=2. Acessado em 30 junho 2019.

DE MOREIRA, J. P.L. et al. A saúde dos trabalhadores da atividade rural no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 31, p. 1698-1708, 2015.

DE SIQUEIRA, Danielle Ferreira et al. Análise da exposição de trabalhadores rurais a agrotóxicos. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 26, n. 2, p. 182-191, 2013.

DE SOUSA SANTOS, V. R. et al. Análises fisiológicas e morfoanatômicas de *Cenostigma macrophyllum* tul.(fabaceae) submetida a diferentes concentrações de glyphosate. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 5, p. 159-173, 2020.

DEM, R.; KA F. Photosynthesis, antioxidant status and gas-exchange are altered by glyphosate application in peanut leaves. **Photosynthetica, Prague**, v. 54, n. 10, p. 307-316, 2016.

DING, W. et al. Physiological responses of glyphosate-resistant and glyphosate-sensitive soybean to aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate. **Chemosphere**, v. 83, n. 4, p. 593-598, 2011.

DOS SANTOS, Flávio Augusto Monteiro et al. Controle químico de plantas daninhas em povoamentos de restauração florestal. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 38, 2018.

DUBOC, Eny; GUERRINI, Iraê Amaral. Desenvolvimento inicial e nutrição da cagaita em áreas de Cerrado degradado. **Embrapa Cerrados-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2007.

DUTRA, Rodrigo Marciel Soares; DE SOUZA, Murilo Mendonça Oliveira. Cerrado, Revolução Verde e Evolução do Consumo de Agrotóxicos. **Sociedade & Natureza**, v. 29, n. 3, p. 473-488, 2017.

DUKE, S.O.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 319-325, 2008.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - **USEPA**. New Pesticide Fact Sheet. U.S.EPA. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. 1996. p. 1-10

FARIA, N. M. X. et al. Estudo transversal sobre saúde mental de agricultores da Serra Gaúcha (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, v. 33, p. 391-400, 1999.

_____. Pesticides and respiratory symptoms among farmers. **Revista de saúde pública**, v. 39, p. 973-981, 2005.

_____. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, p. 25-38, 2007.

FARIAS, Carla Caroline Magalhães et al. Efeitos de subdoses de glifosato em plantas jovens de seringueira (*Hevea brasiliensis* Aubl.). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, n. 1, p. 119-125, 2012.

FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Condutância estomática e fotossíntese. **Revisão anual da fisiologia vegetal**, v. 33, n. 1, pág. 317-345, 1982.

FERREIRA, Robério Anastácio et al. Efeito de herbicidas de pré-emergência sobre o desenvolvimento inicial de espécies arbóreas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 4, n. 1, p. 133-145, 2005.

FERREIRA, D. F. SisVar® (Software estatístico): Sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.7, Lavras: DEX/UFLA, 2018.

FLEXAS, J. et al. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. **Plant Cell Environ**, v. 31, p. 602–621, 2008.

FLORENCIA, Ferreira María et al. Effects of the herbicide glifosato on non-target plant native species from Chaco forest (Argentina). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 144, p. 360-368, 2017.

FRANÇA, A. C. M. **Levantamento florístico e características anatômicas de espécies nativas do cerrado em solos contaminados por metais pesados**. 2011. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, 2011.

FRANS, R. E. Measuring plant responses. In: Wilkinson R. E, editor. Research methods in weed science. Australian: Southern Weed Science Society, p. 28-41, 1972.

FREITAS-SILVA, L. et al. Arsenic accumulation in Brassicaceae seedlings and its effects on growth and plant anatomy. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 124, p. 1-9, 2016.

FREITAS-SILVA L. et al. Evaluation of morphological and metabolic responses to glyphosate exposure in two neotropical plant species. **Ecol Indic**, v.113, p. 106246, 2020

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. Glifosato: Alguns aspectos da utilização do Herbicida Glifosato na Agricultura. **ACADCOM**. 12-49. 2005.

GAVRILESCU, M. Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. **Engineering in Life Sciences**, v.5, n.6, p.497-526, 2005.

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

GODOY, J. **Alarme por inseticidas assassinos de abelhas**. Tierramérica, 2006. Disponível em: <http://www.ipsnoticias.net/portuguese/2004/03/ambiente/alar-me-por-inseticidas-assassinos-de-abelhas/>. Acesso em: 10 de junho de 2020.

GOMES, Horieste. Cerrado: extinção ou patrimônio nacional. **Universo do Cerrado–Goiânia: Ed. da UCG**, p. 7-13, 2008.

GONÇALVES, K. G.; DUARTE, G. S. D.; TSUKAMOTO FILHO, A. A. de. Espécies Frutíferas do Cerrado e seu Potencial para os SAFs. **FLOVET-Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, v. 1, n. 7, 2015.

GUELFÍ, M. **MECANISMOS DE TOXICIDADE DO FIPRONIL EM HEPATÓCITOS ISOLADOS DE RATO**. 2015. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências e Tecnologia Animal. Universidade Estadual Paulista – UNESP, Dracena/SP, 2015.

GUNASEKARA, A. S. et al. Environmental fate and toxicology of fipronil. **Journal of Pesticide Science**, p. 0706180001-0706180001, 2007.

GUSMÃO, G. A.; NETO, R. M. R.; YAMASHITA, O. M. Deriva simulada de glifosato em plantas jovens de jenipapo (*Genipa americana* L.). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 1, p. 13-19, 2011.

GUYTON, K. Z. et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glifosato. **The Lancet Oncology**, v. 16, n. 5, p. 490-491, 2015.

GRUYS, K. J.; SIKORSKI, J. A. Inhibitors of tryptophan, phenylalanine and tyrosine biosynthesis as herbicides. In: SINGH, B. K. **Plant amino acids: biochemistry and biotechnology**. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 357-384.

HAUPT, Arthur W. A gelatin fixative for paraffin sections. **Stain Technology**, v. 5, n. 3, p. 97-98, 1930.

HEATH, R.L. Possible mechanisms for the inhibition of photosynthesis by ozone. **Photosynthesis Research**, v. 39, p. 439-51, 1994.

IGNÁCIO, Naiara Fernanda et al. Classificação ecotoxicológica do inseticida Fipronil para o peixe de espécie pacu. In: Congresso Nacional de Meio Ambiente de Poços de Caldas, v. 6, 2014.

IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lucia et al. Polinizadores e polinização—um tema global. **Polinizadores no Brasil**. Edusp, São Paulo, p. 25-45, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS –IBAMA. Brasília. 2019. **Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil**, 2019. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>. Acessado em 13 de junho de 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER - **INCA**. Posicionamento público acerca do uso de agrotóxicos. INCA, 2015. Disponível em <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/agencianoticias/site/home/noticias/2015/inca_lanca_documento_e_promove_debate_sobre_maleficios_dos_agrotoxicos>. Acesso em: 21 de abril de 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE COLONIZAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA – **INCRA**. Sistema de Informações de Projetos de Reforma Agrária – SIPRA, 2020. Disponível em: <https://antigo.incra.gov.br/media/docs/reforma-agraria/assentamentos-geral.pdf>. Acessado em 18 de março de 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS - **INPE**. COORDENAÇÃO GERAL DE OBSERVAÇÃO DA TERRA. PRODES – Incremento anual de área desmatada no Cerrado Brasileiro, 2019. Disponível em: <http://www.obt.inpe.br/cerrado>. Acessado em 11 julho de 2020.

INUI, Rosangela Naomi. **Isolamento e identificação de bactérias solubilizadoras de fósforo e produtoras de auxinas em solo com cana-de-açúcar**. 2009. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal/SP - Universidade Estadual Paulista, 2009.

ISLAM, F. et al. Combined herbicide and saline stress differentially modulates hormonal regulation and antioxidant defense system in *Oryza sativa* cultivars. **Plant Physiol. Biochem**, v. 107, n. 10, p. 82–95, 2016.

JACKSON, D. et al. **Fipronil Technical Fact Sheet: National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services**. 2009. Disponível em: <http://npic.orst.edu/factsheets/fiptech.pdf>. Acessado em 22 de abril de 2020.

JENNINGS, K. A. et al. Exposição humana ao fipronil de cães tratados com Frontline. **Toxicologia veterinária e humana**, v. 44, n. 5, p. 301-303, 2002.

JORGE, N.; MORENO, D. M.; BERTANHA, B. J. Eugenia dysenterica DC: actividad antioxidante, perfil de ácidos grasos y determinación de tocoferoles. **Revista chilena de nutrición**, v. 37, n. 2, p. 208-214, 2010.

KAPUSTA, S. C. **Bioindicação ambiental**. Porto Alegre: Escola Técnica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. ISBN: 978-85-6267-06-4

KIM, Y. A. et al. Distribution of fipronil in humans, and adverse health outcomes of in utero fipronil sulfone exposure in newborns. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 222, n. 3, p. 524–532, 2019.

KASPARY T. E. et al. Pigmentos fotossintéticos em azevém suscetível e resistente ao herbicida glyphosate. **Ciência Rural**, v. 44, n. 11, p. 1901-1907, 2014.

KLEIN, A. M. et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the royal society B: biological sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

KITCHEN, L. M.; WITT, W. W.; RIECK, C. E. Inhibition of chlorophyll accumulation by glyphosate. **Weed Science**, v. 29, n. 4, p. 513-516, 1981. Acessado: 22 agost. 2020. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/4043341>

KOSLOWSKI, S. et al. Long-Term Fipronil Treatment Induces Hyperactivity in Female Mice. **IJERPH**. V. 17, 2020.

LE FAOUDER, J. et al. Transferência de avaliação de resíduos de fipronil da ração para o leite de vaca. **Talanta**, v. 73, n. 4, p. 710-717, 2007.

LIMA, Josanidia Santana. Bioindicação, biomonitoramento: aspectos bioquímicos e morfológicos. Techoje. Instituto de Educação Tecnológica-IETEC, Belo Horizonte/MG, 2000.

LIMA, Josanidia Santana. Processos biológicos e o biomonitoramento: aspectos bioquímicos e morfológicos. In: Maia, N. B.; Martos, H. L.; Barrella, W. (Org.). **Indicadores ambientais: conceitos e aplicações**. São Paulo: EDUC, 2001. p. 95-115.

LIMA, T. B. et al. Identification of E. dysenterica laxative peptide: A novel strategy in the treatment of chronic constipation and irritable bowel syndrome. **Peptides**, v. 31, n. 8, p. 1426-1433, 2010.

LONDRES, Flavia. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. – Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. 190 p.

_____. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. Rede Brasileira de Justiça Ambiental, 2012.

LORENZATTI, Eduardo et al. Pesticide residues in immature soybeans of Argentina croplands. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 13, n. 7, p. 675-678, 2004.

LUCADAMO, L., CORAPI, A., GALLO, L. Evaluation of glifosato drift and anthropogenic atmospheric trace elements contamination by means of lichen transplants in a southern Italian agricultural district. **Air Qual. Atmos. Health**, v. 11, p. 325–339, 2018.

LUNDBERG, Ingvar et al. Evaluation of the Q16 questionnaire on neurotoxic symptoms and a review of its use. **Occupational and environmental medicine**, v. 54, n. 5, p. 343-350, 1997.

MACHADO, A. F. L. et al. Eficiência fotossintética e uso da água em plantas de eucalipto pulverizadas com glifosato. **Planta Daninha**, v.28, n.2, p.319-327, 2010.

MACHADO, V. M. et al. Sensitivity of native forest species seedlings to glyphosate. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 6, p. 1941-1951, 2013.

MAGALHAES, P. C.; DURAES, FOM; DA SILVA, J. B. Efeitos da deriva de herbicidas no desenvolvimento da planta de sorgo e na produção de grãos. In: **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22, 1998, Recife. Globalização e segurança alimentar: anais. Recife: ABMS, 1998.

MANSFIELD, T. A.; MCAINSH, M. R. Hormones as regulators of water balance. In: **Hormônios vegetais**. Springer, Dordrecht, 1995. p. 598-616.

MATSUDA, K. et al. Neonicotinóides: inseticidas que atuam nos receptores nicotínicos de acetilcolina de insetos. **Tendências em ciências farmacológicas**, v. 22, n. 11, p. 573-580, 2001.

MARTINOTTO, C. et al. Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.). **Boletim Técnico**, n. 78, p. 1-21, 2008.

MESCHEDE, D. K. et al. Determinação do teor de lignina e celulose em amostras de *Brachiaria decumbens* submetidas à subdoses de glifosato. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GLIFOSATO, 1., 2007, Botucatu. **Anais...** Botucatu: FCA-UNESP, 2007. p. 82-84.1 CD-ROM.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - **MAPA**. Brasília, 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/anvisa-autoriza-uso-do-paraquat-por-mais-tres-anos>. Acessado em: 19/06/2019.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, BRASÍLIA – MMA. 2019. **O Bioma Cerrado**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>. Acessado em 13 de junho de 2019.

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

MORAES, P. V. D.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. **Revista Scientia Agraria Paranaensis**, v. 9, n. 3, p. 22-35, 2010.

MORAIS, C. R. de. **Fipronil: avaliação da mutagenicidade e carcinogenicidade em *Drosophila melanogaster* (Diptera, Drosophilidae) e do efeito no comportamento de *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae).** 2015. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências Biológicas). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG, 2015.

NAVES, R. V.; BORGES, J. D.; CHAVES, L. J. A CAGAITEIRA. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 289-596, 2002.

OHI, M. et al. Efeitos adversos reprodutivos do fipronil em ratos Wistar. **Cartas de toxicologia**, v. 146, n. 2, p. 121-127, 2004.

OLIVEIRA, M. E. S. et al. Fruit wine produced from cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) by both free and immobilised yeast cell fermentation. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2391-2400, 2011.

ORCARAY, L. et al. Impairment of carbon metabolism induced by the herbicide Glifosato. **Journal of Plant Physiology**, v. 33, n. 1, p. 27-33, 2012.

OVERBECK, G. E. et al. Conservation in Brazil needs to include non-forest ecosystems. **Diversity and Distributions**, v. 21, n. 12, p. 1455–1460, 2015.

PALHARES, Dario. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae Jussieu). **Lecta-USF**, v. 21, n. 1/2, p. 29-36, 2003.

PEDLOWSKI, M. A. et al. Um estudo sobre a utilização de agrotóxicos e os riscos de contaminação num assentamento de reforma agrária no Norte Fluminense. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 2, p. 185-190, 2006.

PELAEZ, V.; TERRA, F. H. B.; DA 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, 2010.

PEREIRA, Maria Renata Rocha et al. Subdoses de glifosato no desenvolvimento de espécies arbóreas nativas. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 2, p. 326-332, 2015.

PERES, Frederico; MOREIRA, Josino Costa. É veneno ou é remédio. **Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, v. 384, 2003.

PIGNATI, W. A.; MACHADO, J. M. H.; CABRAL, J. F. Acidente rural ampliado: o caso das "chuvas" de agrotóxicos sobre a cidade de Lucas do Rio Verde-MT. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, p. 105-114, 2007.

_____. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 3281-3293, 2017.

PISA, L. W. et al. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 68-102, 2015.

RAI, Prabhat Kumar. Impacts of particulate matter pollution on plants: Implications for environmental biomonitoring. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 129, p. 120-136, 2016.

REZENDE-SILVA, S. L. et al. Pouteria torta é uma planta nativa notável por biomonitorar os efeitos do glifosato na vegetação do Cerrado. **Ecological Indicators**, v. 102, p. 497-506, 2019.

RICHARD, Sophie et al. Differential effects of glifosato and roundup on human placental cells and aromatase. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 6, p. 716-720, 2005.

RONEN, R.; GALUN, M. Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. **Environ Exp Bot**, v. 24, n. 3, p. 239-245, 1984.

SALAMANDANE, Acácio Rosse. Toxicidade de dimetoato e mancozeb a Brassica rapa L. Toxicity of dimethoate and mancozeb to Brassica rapa L. **Ambiência**, v. 11, n. 3, p. 603-610, 2015.

SAVÓIA, Eriane Justo Luiz et al. Biomonitoring genotoxic risks under the urban weather conditions and polluted atmosphere in Santo André, SP, Brazil, through Trad-MCN bioassay. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 1, p. 255-260, 2009.

SAWYER, D. PEC do Cerrado e Caatinga: prós e contras. **Discurso apresentado em Audiência Pública em Brasília, na Câmara dos Deputados, promovida pela Comissão de Direitos Humanos e Minorias, em dia**, v. 5, 2008.

SCARIOT, A.; RIBEIRO, J. F. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da Cagaita**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2015.

STRASSBURG, B. B. N. et al. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology & Evolution**, v. 1, n. 4, p. 1-3, 2017.

SECRETARIA DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E AQUICULTURA - **SEAGRO**. 2019. Disponível em: <https://seagro.to.gov.br/noticia/2018/12/19/tocantins-fecha-2018-com-previsao-de-47-milhoes-de-toneladas-de-graos-para-safra-20182019/>. Acesso em 15 de julho de 2019.

SILVA, Lilian Leandra et al. O papel do estado no processo de ocupação das áreas de cerrado entre as décadas de 60 e 80. **Caminhos de Geografia**, v. 1, n. 2, p. 24-36, 2000.

SILVA, M.F.P.T.B. et al. Mutagenic Effect of Fresh Water (well, rivers Fichta and Minas Gerais, close to the town of Ubiratã PR Brazil) in the Animal Test System. **Acta Scientiarum**, Brasil, v. 25, n. 2, 2003.

SILVA, J. Maciel da et al. Agrotóxico e trabalho: uma combinação perigosa para a saúde do trabalhador rural. **Ciência & saúde coletiva**, v. 10, p. 891-903, 2005.

SILVA, L. C. et al. Responses of Restinga plant species to pollution from an iron pelletization factory. **Water Air Soil Pollut**, v. 175, p. 241–256, 2006.

SILVA, L. A. G. C. Biomas presentes no estado do Tocantins. **Consultoria Legislativa Nota Técnica Câmara dos Deputados, Brasília, DF, Brasil**, p. 2-9, 2007.

SILVA, Thamar Holanda. Utilização de Fungos Endofíticos Associados a *Eugenia dysenterica* DC (cagaita) como Antagonistas dos Fungos Fitopatogênicos: *Aspergillus parasiticus*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Monilinia fructicola*. In: 9º Seminário de Iniciação Científica da UFT, v. 5, 2013.

SILVA, Sandra Márcia Mazuti et al. *Eugenia dysenterica* Mart. Ex DC. (cagaita): planta brasileira com potencial terapêutico. **Revista Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 27, n. 1, p. 49-95, 2015.

SILVA, Larisse de Freitas. **Alterações morfofisiológicas e metabólicas causadas pelo glifosato em duas espécies neotropicais e na espécie modelo Arabidopsis**

thaliana. 2016. 77 f. Tese (Doutorado) - Botânica. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, 2016.

SILVA, L. Q. et al. Alterações morfo-anatômicas de folhas de pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.) submetidas à deriva simulada de glifosato. **Revista Árvore**, v. 40, n. 4, p. 669-677, 2016.

SILVA, Claiton Márcio da. Entre Fênix e Ceres: A grande aceleração e a fronteira agrícola no Cerrado. **Varia Historia**, v. 34, n. 65, p. 409-444, 2018.

SIMON-DELSO, Noa et al. Inseticidas sistêmicos (neonicotinóides e fipronil): tendências, usos, modo de ação e metabolitos. **Pesquisa em ciências ambientais e poluição**, v. 22, n. 1, p. 5-34, 2015.

SINGH, Bijay K.; SHANER, Dale L. Rapid determination of glifosato injury to plants and identification of glifosato-resistant plants. **Weed Technology**, v. 12, n. 3, p. 527-530, 1998.

SOARES, Wagner Lopes; PORTO, Marcelo Firpo. Atividade agrícola e externalidade ambiental: uma análise a partir do uso de agrotóxicos no cerrado brasileiro. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, p. 131-143, 2007.

SOUZA, T. F. de. **Efeitos das doses subletais de fipronil para Abelhas Africanizadas (*Apis mellifera* L.), por meio de análises morfológicas e comportamentais**. 2009. 38 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências Biológicas. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro/SP, 2009.

SPRANKLE, P.; MEGGITT, W. F.; PENNER, D. Adsorption, mobility, and microbial degradation of glyphosate in the soil. **Weed Science**, v. 23, n. 3, p. 229-234, 1975; Acessado: 30 de jul. 2020. Disponível em: www.jstor.org/stable/4042279.

STEPHENSON, G. R. et al. Glossary of terms relating to pesticides (IUPAC Recommendations 2006). **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 11, p. 2075-2154, 2006.

SZALAI, G. et al. Role of light in the development of post-chilling symptoms in maize. **Journal of plant physiology**, v. 148, n. 3-4, p. 378-383, 1996.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TANG, Jun et al. In vitro metabolism of fipronil by human and rat cytochrome P450 and its interactions with testosterone and diazepam. **Chemico-biological interactions**, v. 147, n. 3, p. 319-329, 2004.

TINGLE, C. C. et al. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. In: **Reviews of environmental contamination and toxicology**. Springer, New York, NY, p. 1-66, 2003.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sob efeito de deriva do glifosato. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 133-142, 2005.

_____. Intoxicação de eucalipto submetido à deriva simulada de diferentes herbicidas. **Planta Daninha**, v.24, n.3, p.521-526, 2006.

TOCANTINS. Secretaria de Estadual da Saúde. Diretoria em Vigilância em Saúde do Trabalhador e Vigilância em Saúde do Trabalhador. Boletim Informativo, 2020. /. Acessado em 10/05/2021. Disponível em: eletrônico<http://saude.to.gov.br/vigilancia-em-saude/ambiental-e-saude-do-trabalhador>

VEIGA, Marcelo Motta. Agrotóxicos: eficiência econômica e injustiça socioambiental. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, p. 145-152, 2007.

VIEIRA, R. F.; MARTINS, M. V. M. Genetic resources of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.3, n.1, p. 13-36, 2000.

VIEIRA, Pabline Marinho et al. Detection of genotoxic, cytotoxic, and protective activities of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) in mice. **Journal of medicinal food**, v. 15, n. 6, p. 563-567, 2012.

VIDAU, C. et al. A exposição a doses subletais de fipronil e tiaclopride aumenta muito a mortalidade de abelhas previamente infectadas por *Nosema ceranae*. **PloS um**, v. 6, n. 6, 2011.

WAICHMAN, Andrea Viviana. A problemática do uso de agrotóxicos no Brasil: a necessidade de construção de uma visão compartilhada por todos os atores sociais. **Revista brasileira de saúde ocupacional**, v. 37, n. 125, p. 42-47, 2012.

WAGNER, J. F.; MEROTTO JUNIOR, A. Parâmetros fisiológicos e nutricionais de cultivares de soja resistentes ao glyphosate em comparação com cultivares isogênicas próximas. **Ciência Rural**, v. 44, n. 3, p. 393-399, 2014.

WANI, P. A., et al. Effect of phorate on phosphate solubilization and indole acetic acid releasing potentials of rhizospheric microorganisms. **Ann. Pl. Protec. Sci**, v. 13, p. 139–144, 2005.

WELLBURN, Alan 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.

WHEELER, H. Disease alterations in permeability and membranes. In: HORSFALL, J. G.; COWLING, E. B. (Ed.). **Plant disease** - an advanced treatise. v. 2. How plants suffer from disease. London: Academic Press, Inc., 1978. p. 327-347.

YAMADA, T.; CASTRO, P. R de C. Efeitos do glyphosate nas plantas: implicações fisiológicas e agrônômicas. **Informações Agrônômicas**, v. 11, n. 9, p. 1–32, 2007.

YAMASHITA, O. M. et al. Interferência de subdoses de glifosato no desenvolvimento de plantas jovens de nim. **Nativa**, v. 5, n. 3, p. 163-268, 2017.

YILDIRIM, Nalan; AGAR, Guleray. Determination of genotoxic effects of fipronil in *Vicia faba* using random amplified polymorphic DNA analysis. **Toxicology and industrial health**, v. 32, n. 8, p. 1450-1455, 2016.

