

Resposta diferencial a diferentes classes de herbicidas: *Tradescantia pallida* (Rose) D. R. Hunt var. purpurea Boom como planta modelo

Differential response to different classes of herbicides: *Tradescantia pallida* (Rose) D. R. Hunt var. purpurea Boom as a model plant

Respuesta diferencial a diferentes clases de herbicidas: *Tradescantia pallida* (Rose) D. R. Hunt var. purpurea Boom como planta modelo

Recebido: 23/12/2020 | Revisado: 29/12/2020 | Aceito: 29/12/2020 | Publicado: 03/01/2021

RenatoFernandoMenegazzo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1597-4580>
Universidade Paranaense, Brasil
E-mail: renato.menegazzo@edu.unipar.br

MaxEmerson Rickli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4944-2980>
Universidade Paranaense, Brasil
E-mail: max.rickli@edu.unipar.br

Juliana Scanavacca

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2007-968X>
Universidade Paranaense, Brasil
E-mail: j.scanavacca@edu.unipar.br

JullianeDestrode Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5732-8005>
Universidade Paranaense, Brasil
E-mail: julliane.l@edu.unipar.br

AnaCristina da Silveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7974-4429>
Universidade Paranaense, Brasil
Email: anac.silveira@hotmail.com

AndréWerlang Menegazzo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0380-1017>
Universidade Federal de Campina Grande
E-mail: werlangandre30@gmail.com

Silvia Graciele Hülse de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1994-6229>
Universidade Paranaense, Brasil
E-mail: silviahulse@prof.unipar.br

AnaDaniela Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2027-5741>
Universidade Paranaense, Brasil
E-mail: anadanielalopes@prof.unipar.br

Resumo

Tradescantia pallida é uma planta ornamental amplamente encontrada em canteiros e jardins urbanos. No entanto, informações sobre as respostas fisiológicas e bioquímicas dessa planta ornamental a herbicidas são escassas. Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade, capacidade de rebrota, crescimento, fisiologia, e alterações no metabolismo de *T. pallida* após aplicação de diferentes classes de herbicidas. Os tratamentos consistiram na pulverização dos herbicidas: atrazina (1.500 g ha⁻¹), diquat (300 g ha⁻¹), carfentrazone (10 g ha⁻¹), glifosato (1.500 g ha⁻¹) e 2,4-D (1.050 g ha⁻¹) sobre *T. pallida*. Plantas pulverizadas somente com água representaram o grupo controle. As avaliações foram realizadas 5 dias após a aplicação dos herbicidas. Foi avaliado a toxicidade visual e índice de rebrota, fluorescência da clorofila *a*, conteúdo de clorofilas (*a*, *b* e *a+b*), carotenoides e prolina. O herbicida 2,4-D não atuou sobre a planta, mas pode ter produzido efeito genotóxico. Glifosato aumentou significativamente o teor de prolina e gerou índice zero de rebrota, evidenciando sensibilidade da planta ao herbicida. Carfentrazone não foi totalmente eficiente sobre o controle de *T. pallida*, que também não demonstrou sensibilidade a atrazina, mas alta sensibilidade a diquat, apesar do baixo teor de prolina verificado. As diferentes classes de herbicidas atuam de maneira diferente quanto à toxidez, rebrota, fisiologia e metabolismo de *T. pallida*, sendo estas, variáveis úteis para investigar a possível tolerância de plantas às diferentes classes de herbicidas.

Palavras-chave: Controle químico; Toxicidade; Fisiologia; Metabolismo; Commelinaceae.

Abstract

Tradescantia pallida is an ornamental plant widely found in flowerbeds and urban gardens. However, information about the physiological and biochemical responses of this ornamental plant to herbicides is scarce. Therefore, this work aimed to evaluate the toxicity, regrowth capacity, growth, physiology, and alterations in the metabolism of *T. pallida* after the application of different herbicide classes. The treatments consisted of spraying the herbicides: atrazine (1,500 g ha⁻¹), diquat (300 g ha⁻¹), carfentrazone (10 g ha⁻¹), glyphosate (1,500 g ha⁻¹), and 2,4-D (1,050 g ha⁻¹) on *T. pallida*. Plants sprayed only with water represented the control group. The evaluations were carried out five days after the application of the herbicides. The evaluated variables were visual toxicity and regrowth index, chlorophyll a fluorescence, chlorophyll content (a, b and a + b), carotenoids and proline content. The herbicide 2,4-D did not act on the plant, but it may have produced a genotoxic effect. Glyphosate significantly increased the proline content and generated zero regrowth index, showing the plant's sensitivity to the herbicide. Carfentrazone was not fully effective in controlling *T. pallida*, which also did not show sensitivity to atrazine, but high sensitivity to diquat, despite the low proline content found. The different classes of herbicides act differently in terms of toxicity, regrowth, physiology and metabolism of *T. pallida*, these being useful variables to investigate the possible tolerance of plants to the different classes of herbicides.

Keywords: Chemical control; Toxicity; Physiology; Metabolism; Commelinaceae.

Resumen

Tradescantia pallida es una planta ornamental que se encuentra ampliamente en parterres y jardines urbanos. Sin embargo, la información sobre las respuestas fisiológicas y bioquímicas de esta planta ornamental a los herbicidas son escasas. Por lo tanto, este trabajo tuvo como objetivo evaluar la toxicidad, capacidad de rebrote, crecimiento, fisiología y alteraciones en el metabolismo de *T. pallida* luego de la aplicación de diferentes clases de herbicidas. Los tratamientos consistieron en la aspersión de los herbicidas: atrazina (1,500 g ha⁻¹), diquat (300 g ha⁻¹), carfentrazona (10 g ha⁻¹), glifosato (1,500 g ha⁻¹) y 2,4-D (1.050 g ha⁻¹) sobre *T. pallida*. Las plantas rociadas solo con agua representaron el grupo de control. Las evaluaciones se realizaron 5 días después de la aplicación de los herbicidas. Se evaluó toxicidad visual e índice de rebrote, fluorescencia de clorofila a, contenido de clorofila (a, b y a + b), carotenoides y prolina. El herbicida 2,4-D no actuó sobre la planta, pero pudo haber producido un efecto genotóxico. El glifosato aumentó significativamente el contenido de prolina y generó un índice de crecimiento cero, lo que muestra la sensibilidad de la planta al herbicida. La carfentrazona no fue completamente efectiva en el control de *T. pallida*, que tampoco mostró sensibilidad a la atrazina, pero sí una alta sensibilidad al diquat, a pesar del bajo contenido de prolina encontrado. Las diferentes clases de herbicidas actúan de manera diferente en términos de toxicidad, rebrote, fisiología y metabolismo de *T. pallida*, variables útiles para investigar la posible tolerancia de las plantas a las diferentes clases de herbicidas.

Palabras clave: Control químico; Toxicidad; Fisiología; Metabolismo; Commelinaceae.

1. Introdução

Dentre as estratégias de controle de plantas daninhas diversos manejos fitossanitários são utilizados sendo o controle químico, dentro do programa de manejo integrado, a principal ferramenta de controle. Contudo, no controle químico, mesmo que um determinado ingrediente ativo (i.a.) seja seletivo para cultura e não cause danos graves às plantas, podem ocorrer alterações bioquímicas e fisiológicas nas culturas de interesse (Song et al., 2007), especialmente se não forem utilizados conforme recomendação.

Além disso, o uso indiscriminado e intensivo dos herbicidas tende a favorecer o surgimento de plantas resistentes às moléculas, tornando o controle um processo mais oneroso, aumentando a fitotoxidez em plantas cultivadas e diminuindo o rendimento e vigor (Christoffoleti et al., 1994; Serciloto et al., 2014). A fitotoxidez é mensurada visualmente, em uma escala de 0 a 100, onde zero é a ausência de sintomas e 100 é a morte da planta. Porém, o critério utilizado por cada avaliador pode gerar resultados diferentes. Assim, avaliações em relação ao metabolismo vegetal podem auxiliar na verificação da seletividade dos herbicidas (Langaro et al., 2017).

A ação fitotóxica de um herbicida pode ser separada em duas fases: o mecanismo de ação e o modo de ação. Entende-se por mecanismo de ação o primeiro processo bioquímico ou biofísico no interior celular a ser inibido pela atividade herbicida. Este processo inicial pode ser suficiente para matar as plantas sensíveis. No entanto, normalmente, diversas outras

reações químicas ou processos são necessários para fazê-lo. O somatório total destes processos é denominado modo de ação (Machado et al., 2006).

Diante disso, relata-se o uso de produtos com variados modos de ação dentre eles a atrazina, pertencente ao grupo químico triazina, inibidor do fotossistema II; o 9,10-dihydro-8a, conhecido como diquat, que atua como inibidor do fotossistema I ou formadores de radicais livres; carfentrazone-ethyl, do grupo químico das aril triazolinonas que inibe a atuação da enzima protoporfirinogênio oxidase (PPO ou PROTOX); glifosato (N-(fosfonometil)glicina), que bloqueia a enzima EPSPs (5 enolpiruvilchiquimato-3-fostato sintase); e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D, auxínico), que atua como mimetizador de auxina e sua ação envolve o metabolismo de ácidos nucleicos e a plasticidade da parede celular (Oliveira Junior et al., 2011).

Mudanças nos parâmetros fisiológicos de plantas expostas a estresses, como o causado pela aplicação de herbicidas podem ser detectadas por medições da fluorescência e trocas gasosas (Sousa et al., 2014; Kalaji et al., 2016). O conteúdo de clorofila nas folhas é importante para estimar o potencial fotossintético, uma vez que é responsável pela absorção e transferência de energia luminosa. A energia da luz absorvida pela clorofila é utilizada de duas maneiras: energia fotoquímica, ou seja, a fotossíntese; e energia não fotoquímica, no qual o excesso de energia é liberado como calor e fluorescência clorofila a (Dayan & Zaccaro, 2012). A quantidade de fluorescência da clorofila *a* (1-2% da total absorção de luz) fornece informações sobre a integridade das membranas da tilacóide, complexos de pigmentos e eficiência do transporte de elétrons do fotossistema II (PSII) (Jervekani et al., 2020). Assim, danos ao aparato fotossintético podem ser detectados, mesmo quando o sintoma ainda não é visível (Maxwell & Johnson, 2000; Dayan & Zaccaro, 2012; Ali & Honermeier, 2016).

O tratamento com herbicidas em plantas alvo pode induzir a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) que são moléculas tóxicas que podem levar ao estresse oxidativo das células (Caverzan et al., 2019). A excessiva produção de EROs nas células das plantas é prejudicial aos ácidos nucleicos, proteínas e lipídios. Além de alterar o estado redox, pode causar danos ao aparelho fotossintético através da fotoinibição, resultando em lesão celular e clorose (Gill & Tuteja, 2010). Entretanto, as plantas possuem um maquinário antioxidante celular, incluindo antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos que controlam os níveis de EROs e mantêm a homeostase.

O sistema antioxidante enzimático, envolve uma operação sequencial e ações simultâneas de diferentes enzimas, incluindo superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT). A SOD está presentes em vários compartimentos celulares e catalisa a dismutação do superóxido ânion em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e oxigênio molecular (O₂) (Gill & Tuteja, 2010). O H₂O₂, por sua vez, é removido por várias outras enzimas antioxidantes, como CAT e APX (Foyer & Noctor, 2005). No sistema antioxidante não enzimático pode-se encontrar os compostos fenólicos, ácido ascórbico, clorofilas, carotenóides, proteínas e aminoácidos. Os carotenóides são pigmentos responsáveis pela fotoproteção das membranas fotossintéticas, atuando como pigmentos auxiliares (Langaro et al., 2016). Eles também atuam na dissipação do estado excitado da clorofila e neutralização de EROs, uma vez que são antioxidantes com baixo peso molecular (Kreslavski et al., 2013). Entre os aminoácidos, a prolina tem um papel fundamental na resposta das plantas ao estresse oxidativo. Um aumento de prolina foi observado com a aplicação de herbicida (Langaro et al., 2017). Desta maneira, acredita-se que esse aumento se deva ao papel desempenhado pela prolina contra o dano oxidativo devido à capacidade de eliminar EROs da célula (Molinari et al., 2007).

Tradescantia pallida (Rose) D. R. Hunt (1975) var. *purpurea* Boom. é uma planta nativa originária do continente americano, onde distribui-se do sul do Canadá ao norte da Argentina (Meireles & Cerqueira, 2011). Essa espécie tem sido amplamente utilizada como planta ornamental e é facilmente encontrada em canteiros e jardins urbanos. Essa planta apresenta coloração roxa, flores trímeras e atinge 25 cm de altura (Kirsten et al., 2020). Além disso, essa planta é um excelente organismo

de teste uma vez que possui alta sensibilidade a variações do meio ambiente, tornando-se uma ferramenta essencial no biomonitoramento de ambientes degradados (Sposito et al. 2017; Menegazzo et al., 2020). No entanto, respostas fisiológicas e mudanças bioquímicas dessa planta ornamental a herbicidas permanece amplamente desconhecido. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade, capacidade de rebrota, crescimento, fisiologia, e alterações no metabolismo de *T. pallida* após aplicação de diferentes classes de herbicidas.

2. Metodologia

2.1 Material Vegetal

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do campus III, Universidade Paranaense - UNIPAR (23°45'51,6'' S e 53°17'35,1'' W), altitude de 474m no município de Umuarama, Paraná, Brasil, e trata-se de uma pesquisa experimental e laboratorial (Pereira et al., 2018). Duas plantas de *T. pallida* com um par de folhas foram transplantadas para vasos de polietileno com capacidade de 3 L, contendo 2,7 kg de solo e substrato comercial, na proporção de 3:1 previamente autoclavados a 120 °C por 2 horas. O solo utilizado é classificado como Latossolo amarelo distroférico e foi coletado na camada de 0-20 cm de profundidade. As plantas foram irrigadas diariamente mantendo o teor de umidade próximo à capacidade de campo. Foi realizada a análise química e granulométrica da mistura, que apresentou as características apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características química e granulométrica do solo. Valores de pH do solo em CaCl₂ (pH), fósforo (P), cálcio (Ca), sódio (Na⁺), matéria orgânica (MO), potássio (K⁺), capacidade de troca catiônica (CTC) e saturação por bases (V). ns: não significativo.

pH	P	Na ⁺	MO	Ca	K ⁺	CTC	V	Areia	Silte	Argila
CaCl ₂	mgdm ⁻³	mgdm ⁻³	gdm ⁻³	cmol _c dm ⁻³			-----%	-----	-----	-----
4,7	273,48	ns	55,77	28,64	3,60	15,99	79,41	84	2	14

Fonte: Autores.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 7 repetições, totalizando 42 unidades experimentais. Os tratamentos consistiram na pulverização dos herbicidas: atrazina (1.500 g ha⁻¹), diquat (300 g ha⁻¹), carfentrazone (10 g ha⁻¹), glifosato (1.500 g ha⁻¹) e 2,4-D (1.050 g ha⁻¹) (Roman et al., 2005; Dan et al., 2011) sobre *T. pallida*. Plantas pulverizadas somente com água representaram o grupo controle.

A pulverização dos herbicidas foi realizada em pós-emergência, em dose única, quando as plantas apresentavam as hastes ramificadas (duas por planta), comprimento entre 15 e 27 cm e mais de quatro folhas por haste. Para isso utilizou-se um pulverizador manual de compressão prévia com capacidade de tanque de 2 L e pressão de tanque de 4,0 a 5,0 kg.cm⁻². Durante a aplicação não havia vento, o dia estava ensolarado e a temperatura ambiente era de 28 °C. As avaliações foram realizadas 5 dias após a aplicação dos herbicidas.

2.2 Avaliação de toxicidade

A avaliação da toxicidade dos herbicidas sobre *T. pallida* foi visual e baseou-se na observação dos seguintes sintomas: quantidade de folhas mortas, quantidade e uniformidade das injúrias, além da capacidade de rebrota. Foi utilizada uma escala percentual de controle, comparando a testemunha com as plantas tratadas, na qual 0% corresponde a nenhum

sintoma observado e 100% indica morte das plantas (Velini et al., 1995). O índice de rebrota foi obtido por meio da contagem de plantas com brotações e número de brotações de caule e de folha por planta 14 dias após a coleta (Pavan, 2018).

2.3 Fluorescência da clorofila

A fluorescência da clorofila foi medida no terço médio das folhas de cada planta usando o fluorômetro da clorofila OS-30P (Opti-Science, Inc., Hudson, NY, EUA). Todas as medições foram realizadas entre 8:00 e 10:00 da manhã. Antes de iniciar as medições, as folhas foram colocadas em um estado adaptado ao escuro por 30 min, usando cliques de exclusão de luz. As leituras foram realizadas por meio de uma fonte de luz de pulso de saturação pré-ajustada com duração de 0,8 s e intensidade de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os seguintes rendimentos de fluorescência de clorofila foram mensurados: fluorescência inicial, (Fo), fluorescência máxima (Fm) e eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II ($F_v / F_m = (F_m - F_o) / F_m$).

2.4 Clorofila a, b, totais e carotenóides

A determinação de clorofilas a, b, totais e carotenóides das folhas frescas foi realizada conforme metodologia proposta por Lichtenthaler (1987). A leitura das amostras foi obtida no espectrofotômetro 700 Plus (FEMTO®, São Paulo, Brasil) a uma absorvância de 663, 645 e 470 nm. A análise foi realizada com três repetições biológicas em triplicata. Os teores foram determinados a partir das equações: Chl a = $11,24 [\text{Abs } 662] - 2,04 [\text{Abs } 645]$; Chl b = $20,13 [\text{Abs } 645] - 4,19 [\text{Abs } 662]$; Chl a + Chl b = $7,05 [\text{Abs } 662] + 18,09 [\text{Abs } 645]$; e Chl + X = $(1000 [\text{Abs } 470] - 1,90 \text{ Chl a} - 63,14 \text{ Chl b}) / 214$. O resultado foi expresso em μg clorofila. g^{-1} MF.

2.5 Prolina

A concentração de prolina foi determinada conforme a metodologia de Bates et al. (1973) com base em uma curva padrão de L-prolina (Synth). A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro 700 Plus (FEMTO®), no comprimento de onda de 520 nm. O resultado foi expresso em μg prolina. g^{-1} MF. A análise foi realizada com três repetições biológicas em triplicata.

2.6 Análise estatística

A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett. Após a confirmação da parametricidade, foram submetidos à Análise de Variância (Anova) ($p \leq 0,05$). Quando significativas pelo teste F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises foram realizadas no programa estatístico Sisvar v. 5.6 (Ferreira, 2011).

Os dados que não apresentaram distribuição normal dos erros e/ou variâncias não homogêneas, tiveram a distribuição das variâncias avaliadas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, por meio do programa *Action for Excel* (Equipe Estatcamp, 2014).

3. Resultados e Discussão

3.1 Avaliação de toxicidade

Os tratamentos com diquat, carfentrazone, 2,4-D e glifosato apresentaram diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) em relação ao controle, evidenciando maior fitotoxicidade. A exceção foi o tratamento com atrazina ($p \geq 0,05$), conforme observado na Tabela 2. Não houve rebrota nos tratamentos com glifosato e diquat (Tabela 2).

Tabela 2. Comparação de médias de controle visual de *T. pallida* aos 5 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA) e índice de rebrota (IR).

Tratamentos	Controle Visual (%)	IR		
		Nº plantas	Nº folhas	Total
Controle	0,0 e	14	42	56
Atrazina	0,0 e	12	31	43
Carfentrazone	51,43 b	5	16	21
Diquat	97,86 a	0	0	0
2,4-D	12,86 c	4	10	14
Glifosato	6,43 d	0	0	0

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.
Fonte: Autores.

As plantas de *T. pallida* pulverizadas com carfentrazone e 2,4 apresentaram índice de rebrota de 21 e 14, respectivamente. Os maiores índices de rebrota foram observados nos tratamentos com atrazina e controle. Entretanto, *T. pallida* que em condições normais apresenta coloração roxa com tons esverdeados, apresentou brotação sem a coloração roxa característica, quando pulverizada com a atrazina (Paiva et al., 2003) (Figura 1).

Figura 1. *Tradescantia pallida* aos 14 dias da rebrota. Controle (A), atrazina (B), carfentrazone (C) e 2,4-D (D).



Fonte: Autores.

Herbicidas geralmente bloqueiam a atividade de uma enzima/proteína na célula, desencadeando eventos que inibem o desenvolvimento da planta levando-a à morte (Machado et al., 2006). Embora os herbicidas auxínicos, como o 2,4-D, não atuem sobre monocotiledôneas (Taiz et al., 2017), como é o caso de *T. pallida*, observou-se toxidez (12,86%), desta classe de herbicidas. Efeito tóxico desta classe de herbicidas também foi observado por Souza (2015), para as espécies *Allium cepa* e *T. pallida*, que apresentaram efeito genotóxico comprovado pela formação de micronúcleos, os quais explicariam os sintomas de fitotoxicidade e, sobretudo, o baixo índice de rebrota, que reflete na ocorrência de danos estruturais na planta (Andrade Júnior et al., 2008).

O tratamento controle apresentou toxicidade zero, conforme esperado, uma vez que as plantas foram pulverizadas apenas com água. De maneira similar, o tratamento com atrazina, também não apresentou toxicidade, com índice de rebrota e número de folhas semelhantes aos observados para o tratamento controle. O uso da atrazina é difundido no manejo de plantas daninhas em pós-emergência de milho, por controlar a soja voluntária e auxiliar no controle de outras plantas daninhas, como corda-de-violão (*Commelina* spp.), que embora pertencente à mesma família que *T. pallida*, não apresenta a mesma resposta fisiológica quanto à toxidez e índice de rebrota (Duarte et al., 2007), sugerindo tolerância de *T. pallida*.

Os herbicidas com maior efeito fitotóxico, por sua vez, foram carfentrazone e diquat, com consequente menor índice de rebrota. Carfentrazone pertence ao grupo das aril triazolinonas e é classificado como pós-emergente (Karam et al., 2003). Embora carfentrazone não tenha se mostrado eficiente no controle de espécies da família Commelinaceae, conforme descrito por Ronchi et al. (2002) em trabalho com as espécies *Commelina diffusa* e *C. benghalensis*, especialmente a primeira, os resultados para *T. pallida* sugerem controle desta espécie especialmente por meio de toxidez e baixo índice de rebrota. Volf et al. (2017) trabalhando com *Murdannia nudiflor* relataram eficácia sobre esta Commelinaceae combinando os herbicidas carfentrazone e atrazina. Isoladamente, carfentrazone foi insuficiente.

Diquat é um herbicida pertencente ao grupo dos bipyridílios, inibidor do fotossistema I. Na presença de luz, interfere no processo de captação de energia luminosa no processo fotossintético atraindo elétrons provenientes da redução da ferredoxina, e reduzindo o íon bipyridílio ao radical bipyridílio que por sua vez, na presença de oxigênio e água, libera elétrons para formar uma molécula de água oxigenada. Esta, em altas concentrações, promove a morte da planta (Rodrigues & Almeida, 2005).

A ação de diquat sobre a planta é rápida, tanto devido à concentração do mesmo como ao período em que é aplicado. Alta quantidade ou aplicação no período noturno produzem o mesmo efeito, conforme evidenciado por Neves et al. (2002). Nas plantas tratadas no fim da tarde, ou durante a noite, não há produção de água oxigenada e os tecidos responsáveis pela translocação não são afetados, permitindo que o produto seja translocado e atinja a parte mais interna da planta antes de receberem luz e iniciarem o processo oxidativo intenso (Pitelli et al., 2011). No caso de *T. pallida*, o surgimento rápido dos sintomas foi evidenciado, provavelmente, porque a espécie apresenta alta sensibilidade ao herbicida, além do fato do herbicida ter sido aplicado no período da tarde sob insolação.

3.2 Fluorescência da clorofila *a* e pigmentos fotossintéticos

A fluorescência da clorofila *a* analisa os mecanismos fotossintéticos e as alterações na capacidade fotossintética de plantas submetidas a diferentes estresses bióticos ou abióticos. Os impactos fisiológicos por herbicidas nas plantas dependem dos diferentes mecanismos de ação, o que leva a uma série de alterações fisiológicas (Hassannejad et al., 2020). Neste trabalho, foi observado que a aplicação de diferentes herbicidas levou a respostas diferentes em *T. pallida*.

Todos os tratamentos, incluindo o controle, responderam do mesmo modo em *T. pallida*, uma vez que não houve diferença significativa entre os diferentes herbicidas testados ($p \geq 0,05$) para a fluorescência mínima (F0) (Tabela 3). O aumento no valor de F0 indica danos ao aparato fotossintético. Entretanto, os valores semelhantes de F0 observados com a aplicação dos diferentes herbicidas testados nesse trabalho pode ser devido à tolerância dessa planta a esses produtos. Os efeitos fitotóxicos nas plantas variam e a fitotoxicidade depende da dose de herbicida aplicada, época de aplicação e do nível de tolerância da planta às diferentes moléculas (Paporisch & Rubin, 2017). Espécies tolerantes a herbicidas podem desativar seus princípios ativos e remover o componente tóxico do citoplasma, acumulando no vacúolo e excretando no ambiente extracelular (Sun et al., 2019).

Tabela 3. Médias da fluorescência da clorofila *a* e dos teores de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *a + b*, de carotenóides em folhas de *T. pallida* após aplicação de diferentes herbicidas.

Fonte de variação	Tratamentos					
	Controle	Atrazina	Carfentrazone	Diquat	2,4-D	Glifosato
F0	0,117 a	0,137 a	0,121 a	0,101 a	0,115 a	0,145 a
CV (%) =	20,04					
Fm	0,474 a	0,216 b	0,352 ab	0,376 ab	0,548 a	0,538 a
CV (%) =	21,53					
Fv/Fm	0,751 ab	0,431 c	0,646 b	0,719 ab	0,789 a	0,729 ab
CV (%) =	9,13					
Clorofila <i>a</i>	0,948 bc	0,838 c	1,217 b	1,582 a	0,774 c	0,863 c
CV (%) =	18,26					
Clorofila <i>b</i>	3,3924 a	3,559 a	3,048 a	3,415 a	3,716 a	3,798 a
CV (%) =	15,61					
Clorofila <i>a + b</i>	4,340 a	4,397 a	4,266 a	4,997 a	4,490 a	4,661 a
CV (%) =	11,12					
Carotenóides	0,987 bc	0,899 c	1,279 b	1,660 a	0,810 c	0,918 bc
CV (%) =	19,8					

Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5%. CV: Coeficiente de variação. Fonte: Autores.

Diferença significativa ($p \leq 0,05$) foi obtida na fluorescência máxima (Fm). Entre os herbicidas estudados, atrazina, carfentrazone e diquat mostraram impactos significativos na Fm da clorofila. Os tratamentos com 2,4-D, glifosato e o controle não diferiram entre si ($p \geq 0,05$) em comparação com a atrazina. A aplicação dos herbicidas atrazina e carfentrazone levou à redução dos valores de Fm. Valores baixos de Fm sugerem deficiências de fotorredução da quinona A (QA). A fluorescência máxima indica redução completa da QA de um pulso de luz saturante que reduz o rendimento quântico induzindo o fechamento dos centros de reação do sistema fotossintético e a emissão de fluorescência atinge seu valor máximo (Fm) (Maxwell & Johnson 2000; Baker, 2008). A redução da Fm caracterizada por deficiências de fotorreatividade da QA, o principal acceptor de elétrons do fotossistema II, estão associadas à inativação de PSII nas membranas dos tilacóides afetando o fluxo de elétrons entre os fotossistemas (Zabelin et al., 2016). O menor Fm observado neste trabalho ocorreu com a aplicação de atrazina (0,216). Isso pode estar associado a possível ação desse herbicida, que atua como inibidor da fotossíntese e liga-se à proteína D1, impedindo a transferência de elétrons entre a QA e a QB no fotossistema II, causando, assim, redução na taxa fotossintética (Gao et al., 2017; Durigon et al., 2018).

A aplicação dos herbicidas atrazina e carfentrazone causaram m estresse em *T. pallida* devido ao aumento na fluorescência mínima (F0) e um declínio da fluorescência máxima (Fm), o que refletiu na diminuição no rendimento quântico do PSII (Fv/Fm) (Tabela 3). O rendimento quântico do PSII (Fv/Fm) das plantas submetidas aos tratamentos com atrazina e carfentrazone apresentaram as menores médias (0,431 e 0,646) indicando danos ao aparato fotossintético. Para os tratamentos 2,4-D, controle, glifosato e diquat não foi observada diferença significativa ($p \geq 0,05$), entretanto, 2,4D diferiu estatisticamente ($p \leq 0,05$) de carfentrazone. A atrazina apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação aos demais.

Os valores de Fv/Fm de *T. pallida* pulverizada com os herbicidas diquat, 2,4D e glifosato estão dentro da faixa ideal (0,72 a 0,85) e indicam bom estado fisiológico e ausência de estresse biótico ou abiótico no processo fotossintético (Shih et al.,

2018). A redução desse parâmetro nos tratamentos com atrazina e carfentrazone se deve provavelmente ao mecanismo de ação desses herbicidas. A atrazina inibe a fotossíntese, deslocando o aceptor secundário de quinona da cadeia de transporte de elétrons de seu local de ligação (Gao et al., 2019). Já carfentrazone inibe a enzima protoporfirinogênio oxidase (Protox), responsável por uma das etapas de síntese da clorofila (Werlang & Silva, 2002). A inibição dessa enzima resulta na formação de um oxigênio *singlet*, que promove a peroxidação lipídica e ruptura das membranas celulares, causando a morte da célula (Christoffoleti et al., 2006). Desta forma, Fv/Fm abaixo dos valores ideais encontrados para esses dois herbicidas nesse trabalho indicam estresse fisiológico causado pela ação desses herbicidas.

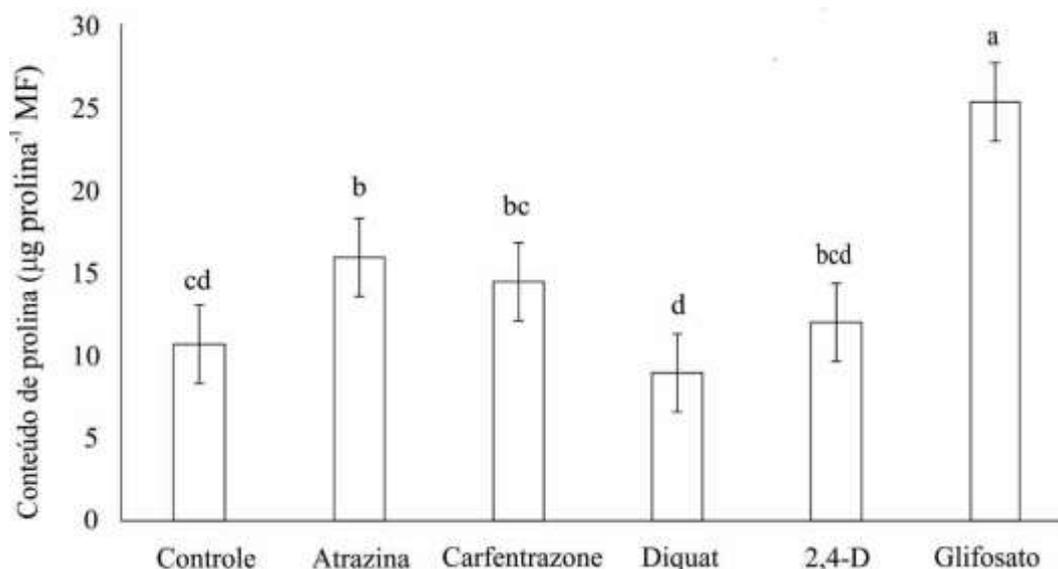
O conteúdo de clorofila é uma variável relacionada à inibição do fotossistemas I e II por ação de herbicida (Streit et al., 2005). Em resposta à pulverização das diferentes classes de herbicidas em *T. pallida*, foi observado uma redução no teor de clorofila *a* nos tratamentos com atrazina, 2,4 D e glifosato (Tabela 3). Conteúdos de clorofila *b* e total (*a + b*) não apresentaram diferenças significativas ($p \geq 0,05$). De modo geral, os herbicidas afetam a biossíntese de clorofila, desenvolvimento de cloroplasto e a estrutura do cloroplasto maduro conduzindo à perda deste pigmento (Wolf, 1977). Yannicari et al. (2012) observaram que a aplicação de glifosato reduziu o teor de clorofila de biótipos de *Lolium perenne* L. suscetíveis. Reduções significativas da clorofila *a* também foram observadas com a aplicação de 2,4 D em *Oryza sativa* (Linu & Girija, 2020). Além disso, há relatos que atrazina apresenta efeitos prejudiciais na formação de pigmentos das plantas (Wang et., 2015). Isso fez com que a concentração de clorofila fosse considerada um indicador fisiológico sensível para a resistência da planta ao estresse por atrazina (Lytle & Lytle, 1998). Para o teor de carotenoides foi observado o maior acúmulo com a aplicação do herbicida diquat, indicando assim que o papel fotoprotetor dos carotenóides foi mantido na presença desse herbicida.

3.3 Conteúdo de Prolina

A pulverização de plantas *T. pallida* com herbicidas afetou significativamente ($p \leq 0,05$) o conteúdo de prolina, sendo que o maior acúmulo deste osmorregulador foi observado no tratamento com aplicação de glifosato, que apresentou diferença em relação aos demais tratamentos (Figura 2). O glifosato é absorvido pela planta por meio das folhas e dos caulículos novos, de onde é transportado para todo o vegetal. Agindo em vários sistemas enzimáticos, inibe a enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) e, por consequência, a síntese de aminoácidos aromáticos essenciais, levando a planta à morte em poucos dias ou semanas (Amarante Junior & Santos, 2002).

A prolina atua como um marcador de estresse e pode ser parte do mecanismo de defesa da planta, uma vez que possui capacidade de eliminar radicais livres e estabelecer as estruturas subcelulares (Verbruggen & Hermans, 2008). O acúmulo de prolina é relatado em tecidos foliares como uma resposta adaptativa das plantas a estresses abióticos, o que pode ter sido promovido, neste caso, pelo ingrediente ativo do produto. Em plantas sob estresse, o conteúdo de prolina pode aumentar até 100 vezes em comparação ao observado nas cultivadas sob condições normais (Verbruggen & Hermans, 2008), devido à tolerância à estresses abióticos (Cvikrová et al., 2013; Filippou et al., 2014). O menor conteúdo de prolina foi observado no tratamento com diquat o qual não diferiu significativamente ($p \geq 0,05$) do controle e 2,4-D (Figura 2). A exemplo do que foi observado para a toxicidade visual e o índice de rebrota, os tratamentos controle e com diquat apresentaram os menores teores de prolina, evidenciando manutenção na osmorregulação celular.

Figura 2. Conteúdo de prolina em folhas de *T. pallida* após aplicação de diferentes herbicidas. Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5%.



Fonte: Autores.

Langaro et al. (2017) observaram, em plantas de arroz tratadas com diferentes herbicidas, que, de maneira geral, o teor de prolina aumentou nas plantas submetidas à aplicação de oxifluorfena, um inibidor da protoporfirrogênio oxidase (Protox). Este aumento pode estar associado à capacidade da prolina em eliminar espécies reativas de oxigênio (EROs) da célula ou ativar um mecanismo de defesa antioxidante (Molinari et al., 2007). Sob estresse, a síntese proteica é inibida e a degradação proteica é acelerada, o que leva ao acúmulo de aminoácidos e aminas livres. Este acúmulo ocorre pelo aumento da hidrólise de proteínas sob estresse ou pela conversão de açúcares na via do glutamato, uma vez que a prolina atua como mediadora do ajuste osmótico e na integridade e proteção da membrana plasmática como fonte de carbono e nitrogênio (Hemaprabha et al., 2013).

4. Conclusão

T. pallida apresentou alta sensibilidade aos herbicidas glifosato e diquat. Em contrapartida, essa planta mostrou ser tolerante ao herbicida atrazina. As diferentes classes de herbicidas atuaram de forma distinta quanto à toxidez, rebrota, fisiologia e metabolismo de *T. pallida*, sendo estas, variáveis úteis para investigar a possível tolerância de plantas às diferentes classes de herbicidas. Nesse sentido, novos estudos são necessários para esclarecer quais os mecanismos estão envolvidos nessa tolerância, como a realização de trabalhos futuros que investiguem o papel de enzimas protetivas como a ascorbato peroxidase, superóxido dismutase e catalase.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Paranaense, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES – código financeiro 001).

Referências

- Ali S. & Honermeier B. (2016). Post emergence herbicides influence the leaf yield, chlorophyll fluorescence and phenolic compounds of artichoke (*Cynara cardunculus* L.). *Scientia Horticulturae*, 203, 216-223.
- Amarante Junior, O. P. & Santos, T. C. R. (2002). Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química Nova*, 25 (4), 589-593.
- Andrade Júnior, S. J., Santos Júnior, J. C. S., Oliveira, J. L., Cerqueira, E. M. M. & Meireles, J. R. C. (2008). Micronúcleos em tetrades de *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. purpurea Boom: alterações genéticas decorrentes de poluição aérea urbana. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 30 (3), 295-301.
- Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89-113.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and soil*, 39 (1), 205-207.
- Caverzan, A., Piasecki, C., Chavarria, G., Stewart, C. N., Jr. & Vargas, L. (2019). Defenses Against ROS in Crops and Weeds: The Effects of Interference and Herbicides. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1086.
- Christoffoleti, P. J., Borges, A., Nicolai, M., Carvalho, S. J. P., López-Ovejero, R. F. & Monquero, P. A. (2006). Carfentrazone-ethyl aplicado em pós-emergência para o controle de Ipomea spp. e Commelina benghalensis na cultura da cana-de-açúcar. *Planta Daninha*, 24 (1), 83-90.
- Christoffoleti, P. J., Victoria Filho, R. & Silva, C. D. (1994). Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. *Planta Daninha*, 12, 13-20.
- Cvikrová, M., Gemperlová, L., Martincová, O. & Vanková, R. (2013). Effect of drought and combined drought and heat stress on polyamine metabolism in proline-over-producing tobacco plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73, 7-15.
- Dan, H. A., Procópio, S. O., Barroso, A. L., Dan, L. G. M., Oliveira Neto, A. M. & Guerra, N. (2011). Controle de plantas voluntárias de soja com herbicidas utilizados em milho. *Agrária*, 6 (2), 253- 257.
- Dayan, F. E. & Zaccaro, M. L. D. M. (2012). Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102, 189-97.
- Duarte, A. P., Silva, A. C. & Deuber, R. (2007). Plantas infestantes em lavouras de milho safrinha, sob diferentes manejos, no médio Paranapanema. *Planta Daninha*, 25 (2), 285-291.
- Durigon, M. R., Camera, A. S., Cechin, J., Vargas, L. & Chavarria, G. (2019). Does spraying of atrazine on triazine-resistant canola hybrid impair photosynthetic processes? *Planta Daninha*, 37, e019190367.
- Equipe Estatcamp. (2014). Estatcamp - Consultoria em estatística e qualidade. *Software Action*. São Carlos - SP, <<http://www.portalaction.com.br/>>.
- Ferreira, D. F. (2011). Sisvar: a computer statistic analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35 (6), 1039-1042.
- Filippou, P., Bouchagier, P., Skotti, E. & Fotopoulos, V. (2014). Proline and reactive oxygen/nitrogen species metabolism is involved in the tolerant response of the invasive plant species *Ailanthus altissima* to drought and salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 97, 1-10.
- Foyer, C. H. & Noctor, G. (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell* 17, 1866–1875.
- Gao, Y., Fang, J., Du, M., Fang, J., Jiang, W. & Jiang, Z. (2017). Response of the eelgrass (*Zostera marina* L.) to the combined effects of high temperatures and the herbicide, atrazine. *Aquatic Botany*, 142, 41–47.

- Gao, Y., Fang, J., Li, W., Wang, X., Li, F., Du, M., Fang, J., Lin, F., Jiang, W. & Jiang, Z. (2019). Effects of atrazine on the physiology, sexual reproduction, and metabolism of eelgrass (*Zostera marina* L.). *Aquatic Botany*, 153, 8–14.
- Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stresses tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909–930.
- Hassannejad, S., Lotfi, R., Ghafarbi, S.P., Oukarroum, A., Abbasi, A., Kalaji, H. M. & Rastogi, A. (2020). Early Identification of Herbicide Modes of Action by the Use of Chlorophyll Fluorescence Measurements. *Plants*, 9, 529.
- Hemaprabha, G., Simon S., Lavanya, D.L., Sajitha, B. & Venkataramana, S. (2013). Evaluation of drought tolerance potential of elite genotypes and progenies of sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids). *Sugar Technology*, 15 (1), 9-16.
- Hunt, D. R. (1975). The Reunion of *Setcreasea* and *Separotheca* with *Tradescantia* American *Commelinaceae*: I. *Kew Bulletin*, 30 (3), 443-58.
- Jervekani, M.T., Karimmojeni, H. & Razmjoo, J. (2020). Effects of light-dependent herbicides on growth and physiology of *Salvia officinalis*, *Planta Daninha*, 38:e020223839.
- Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Łukasik, I., Goltsev, V. & Ladle, R. J. (2016). Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(4), 102.
- Karam, D. & Oliveira, M. F. (2007). *Seletividade de herbicidas na cultura do milho*. Sete Lagoas - MG: Embrapa Milho e Sorgo, (Circular Técnica, 98).
- Kirsten, H. L., Cruz, K. L., Alvim, S. & Souza, L. A. (2020). Aspectos da biologia floral de *Tradescantia pallida* (Comelinaceae). *Unisantia BioScience*, 9(5), 119-131.
- Kreslavski V. D., Zorina A. A., Los D. A., Fomina I. R., Allakhverdiev S. I. (2013) Molecular Mechanisms of Stress Resistance of Photosynthetic Machinery. In: Rout G., Das A. (eds) *Molecular Stress Physiology of Plants*. Springer, India.
- Langaro, A. C., Agostinetto, D., Oliveira, C., Silva, J. D. G. & Bruno, M. S. (2016). Biochemical and physiological changes in rice plants due to application of herbicides. *Planta Daninha* 34 (2), 277-289.
- Langaro, A. C., Agostinetto, D., Ruchel, Q., Garcia, J. R. & Perboni, L. T. (2017). Oxidative stress caused by the use of preemergent herbicides in rice crops. *Revista Ciência Agronômica*, 48 (2), 358-364.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- Linu, C. & Girija, T. (2020). Physiological response of rice to herbicide application, *Indian Journal of Weed Science*, 52(3):270–275.
- Lytte, J. S. & Lytte, T. F. (1998). Atrazine effects on estuarine macrophytes *Spartina alterniflora* and *Juncus roemerianus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17, 1972–1978.
- Machado, R. F., Barros, A. C. S. A., Zimmer, P. D. & Amaral, A. S. (2006). Reflexos do mecanismo de ação de herbicidas na qualidade fisiológica de sementes e na atividade enzimática em plântulas de arroz. *Revista Brasileira de Sementes*, 28 (3), 151-160.
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence: a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 1(345), 659–668.
- Meireles, J. R. C. & Cerqueira, E. M. M. (2011). Use of the Micronucleus Test on *Tradescantia* (Trad-MCN) to Evaluate the Genotoxic Effects of Air Pollution. In: Moldoveanu, A. M. (Ed.). *Air pollution: new developments*. Rijeka - HR: InTechOpen.

- Menegazzo, R. F., Bortolucci, W. C., Oliveira, H. L. M., Menegazzo, A. W., Gonçalves, J. E., Fernandez, C. M. M., Gazim, Z. C. & Lopes, A. D. (2020) Chemical composition of *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* Boom (Commelinaceae) essential oil, *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2020.1765341.
- Molinari, H. B. C., Marur, C. J., Daros, E., de Campos, M. K. F., de Carvalho, J. F. R. P., Filho, J. C. B., Pereira, L. F. P. & Viera, L. G. E. (2007). Evaluation of the stress-induced production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Physiologia Plantarum*, 130 (2), 218-229.
- Neves, T., Foloni, L. L. & Pitelli, R. A. (2002). Controle químico do aguapé (*Eichhornia crassipes*). *Planta Daninha*, 20, 89-97.
- Paiva, E. A. S., Isaias, R. M. S., Vale, F. H. A. & Queiroz, C. G. S. (2003). The influence of light intensity on anatomical structure and pigment contents of *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. *purpurea* Boom (Comelinaceae) leaves. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46 (4), 617-624.
- Paporisch, A. & Rubin, B. (2017). Isoxadifen safening mechanism in sweet corn genotypes with differential response to P450-metabolized herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 138, 22–28.
- Pavan, G. B. (2018). *Manejo de capim-amargoso perenizado e tolerante a glyphosate com herbicidas associados ou não a 2,4-D sal de dimetilamina e 2,4-D choline*. Dissertação (Mestrado em Ciências – Fitotecnia) – Universidade de São Paulo / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba – SP.
- Pitelli, R. A., Bisigatto, A. T., Kawaguchi, I. & Pitelli, R. L. C. M. (2011). Doses e horário de aplicação do Diquat no controle de *Eichhornia crassipes*. *Planta Daninha*, 29 (2), 269-277.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia de Pesquisa Científica. In *Metodologia da Pesquisa Científica*. UFSM, NTE.
- Rodrigues, B. N. & Almeida, F. S. (2005). *Guia de herbicidas*. (5a ed.), Londrina - PR: Grafmarke,
- Roman, E. S., Vargas, L. & Ribeiro, M. C. F. (2005). Efeito do teor de umidade do solo na seletividade e na Eficiência de carfentrazone-ethyl no controle de plantas daninhas na cultura de soja. *Revista Brasileira de Herbicidas*, 4 (2), 114-122.
- Ronchi, C. P., Silva, A. A., Ferreira, L. R., Miranda, G. V. & Terra, A. A. (2002). Carfentrazone-ethyl, isolado e associado a duas formulações de glyphosate no controle de duas espécies de trapoeraba. *Planta Daninha*, 20 (1), 103-113.
- Serciloto, C. M., Carvalho, M. E. A. & Castro, P. R. C. (2014). Mitigation of glyphosate side effects on non-target plants: use of different agrochemicals as protectants in common bean plants. *Ambiência*, 10, 615–623.
- Shih, N., Lin, D., Wang, C. & Wang, C. (2018). A Paraquat Tolerance Mutant in Rice (*Oryza sativa* L.) Is Controlled by Maternal Inheritance. *American Journal of Plant Sciences*, 9, 2086-2099.
- Song, N. H., Yin, X. L., Chen, G. F. & Yang, H. (2007). Biological responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide chlorotoluron in soils. *Chemosphere*, 68 (9), 1779-1787.
- Sousa, C.P., Farias, M.E., Schock, A.A. & Bacarin, M.A. (2014). Photosynthesis of soybean under the action of a photosystem II-inhibiting herbicide. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36 (11), 3051-62.
- Souza, C. P. (2015). *Investigação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade de uma formulação comercial de 2,4-D (diclorofenoxiacético) utilizando os organismos testes Allium cepa e Tradescantia pallida*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro – SP.

- Sposito, J. C. V., Francisco, L. F. V. & Grisolia A. B. (2017). Effectiveness of the Trad-MCN assay for the evaluation of atmospheric contaminants in Brazilian regions. *Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 12(3):500–511.
- Streit, N. M., Canterle, L. P., Canto, M. W. & Hecktheuer, L. H. H. (2005). As clorofilas. *Ciência Rural*, 35, 748–755.
- Sun, L., Xu, H., Hao, H., An, S., Lu, C., Wu, R. & Su, W. (2019). Effects of bensulfuron-methyl residue on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in leaves of cucumber seedlings. *PLoS ONE*, 14, e0215486.
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. & Murphy, A. (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. (6a ed.), Porto Alegre: Artmed.
- Velini, E. D., Osipe, R. & Gazziero, D. L. P. (1995). *Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas*. Londrina: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD).
- Verbruggen, N. & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35 (4), 753-759.
- Volf, M. R., Machado, F. G., Locatelli, R., Lima, V. M. M., Gheno, E. A., Mendes, R. R. & Procópio, S. O. (2017). Controle de *Murdannia nudiflora* em pós colheita da soja. *Revista Brasileira de Herbicidas*, 16 (1), 11-19.
- Wang, Q., Que, X., Zheng, R., Pang, Z., Li & Xiao, B. (2015). Phytotoxicity assessment of atrazine on growth and physiology of three emergent plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 9646–9657.
- Werlang, R. C. & Silva, A. A. (2002). Interação de glyphosate com carfentrazone-ethyl. *Planta Daninha*, 20 (1), 93-102.
- Wolf, F. T. (1977). Effects of chemical agents in inhibition of chlorophyll synthesis and chloroplast development in higher plants. *The Botanical Review*, 43, 395–425.
- Yannicari, M., Istilart, C., Giménez, D. O. & Castro, A. M. (2012). Effects of glyphosate on the movement of assimilates of two *Lolium perenne L.* populations with differential herbicide sensitivity. *Environmental and Experimental Botany*, 82, 14–19.
- Zabelin, A. A., Neverov, K. V., Krasnovsky, A. A. Jr., Shkuropatova, V. A., Shuvalov, V. A., & Shkuropatov, A. Y. (2016). Characterization of the low-temperature triplet state of chlorophyll in photosystem II core complexes: Application of phosphorescence measurements and Fourier transform infrared spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 1857 (6), 782–788.