

Efeito do inseticida fipronil sobre os parâmetros fisiológicos e morfoanatômicos em espécie do Cerrado

¹Lícia Priscila Nogueira Azevedo ^{1*}, Tiago Borges Rocha ²,
Flávia Barreira Gonçalves ³, Ana Beatriz Nunes Ribeiro ¹,
Victorina Bispo Aires ⁴, Eduardo Andrea Lemus Erasmu ⁵
& Kellen Lagares Ferreira Silva ⁶

¹Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente, Palmas, TO, Brasil.

²Banco da Amazônia, Palmas, TO, Brasil.

³Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Gurupi, TO, Brasil.

⁴Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Viçosa, MG, Brasil.

⁵Universidade Federal do Tocantins, Palmas, TO, Brasil.

⁶Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, TO, Brasil.

*Autor para correspondência: licia@priscila.floresta@gmail.com

Recebido 25.IV.2021

Aceito 23.V.2024

RESUMO

O aumento no uso de agrotóxicos na região do Cerrado tem sido influenciado pela expansão da produção agrícola, impulsionado pelo agronegócio. Esses produtos podem atingir áreas não alvo, através de deriva, tornando-se uma grande ameaça às inúmeras espécies nativas com elevado potencial econômico, ecológico e social. No Brasil, o fipronil está entre os inseticidas mais comercializados para o controle de pragas resistentes a outros pesticidas. Sendo assim, objetivou-se identificar as respostas fisiológicas e morfoanatômicas de *Eugenia dysenterica*, quando exposta ao fipronil com a finalidade de avaliar seu potencial como espécie de áreas atingidas por esse inseticida. Foram analisadas a fitotoxicidade, as características fisiológicas e morfoanatômicas de *E. dysenterica* submetidas as seguintes concentrações do fipronil: 260, 520 e 1040 g.i.a.ha⁻¹, respectivamente. Os indivíduos apresentaram sensibilidade ao inseticida com sintomas de fitotoxicidade, reduções nas taxas fotossintética, condutância estomática e transpiração, além de modificações anatômicas nos tecidos (mudanças no formato das células e na coloração do conteúdo no canal secretor, diminuição na espessura dos tecidos epidérmicos e do parênquima paliádico). Essas alterações podem servir como indicador da presença do fipronil nessas plantas e abre a perspectiva para o uso de *E. dysenterica* como biomonitora de ambientes contaminados por esse inseticida.

Palavras-chave: agrotóxico, cagaita, fitotoxicidade.

ABSTRACT – Effect of the fipronil insecticide on physiological and morphoanatomical parameters in Cerrado species – The increase in the use of pesticides in the Cerrado region has been influenced by the expansion of agricultural production, driven by agribusiness. These products can reach non-target areas through drift, becoming a significant threat to numerous native species with high economic, ecological, and social potential. In Brazil, fipronil is among the most commercialized insecticides for controlling pests resistant to other pesticides. Therefore, the objective was to identify the physiological and morpho-anatomical responses of *Eugenia dysenterica* when exposed to fipronil to assess its potential as a bioindicator species for areas affected by this insecticide. Phytotoxicity, physiological, and morpho-anatomical characteristics of *E. dysenterica* were analyzed at the following concentrations of fipronil: 260, 520, and 1040 g.a.i./ha, respectively. The individuals showed sensitivity to the insecticide with phytotoxicity symptoms, reductions in photosynthetic rates, stomatal conductance, and transpiration, as well as anatomical modifications in tissues (changes in cell shape and coloration of contents in the secretory canal, a decrease in the thickness of epidermal tissues, and palisade parenchyma). These changes can serve as an indicator of fipronil presence in these plants and open the perspective for the use of *E. dysenterica* as a biomonitor of environments contaminated by this insecticide.

Keywords: agrototoxic, cagaita, phytotoxicity.

INTRODUÇÃO

O avanço do agronegócio na região do Cerrado, tem impulsionado a expansão da produção agrícola e a substituição da vegetação nativa por extensas áreas de monocultivo. A uniformização das culturas, torna o

plantio mais vulnerável ao aparecimento de pragas e, por conseguinte, maior necessidade de agrotóxicos, o que tem afetado a sustentabilidade ambiental, tornando-se uma grande ameaça às inúmeras espécies nativas, que possuem elevado potencial econômico, ecológico e social (Scariot & Ribeiro 2015).

Em virtude da grande diversidade, os agrotóxicos são classificados de acordo seu alvo de atuação. Dentre eles, os inseticidas destacam-se como uma das classes mais aplicadas no campo, visando controlar diversos insetos considerados pragas e aumentar a produtividade das culturas (Andrei 2005, Ahemad & Khan 2011).

No Brasil, o fipronil está entre os inseticidas mais comercializados. Sua ampla disseminação deve-se a sua eficácia no controle pragas resistentes a outros pesticidas (Bobe *et al.* 1997). Essa substância química pode ser aplicada no solo, na água, nas folhas e sementes. É comumente empregado para uso doméstico, veterinário, em culturas agrônomicas, no paisagismo urbano e até na saúde pública, para controle de vetores de doenças transmissíveis. Após aplicado, parte dessas substâncias se dispersa no ambiente através da deriva, contaminando os recursos naturais, fragmentos florestais e, potencialmente os animais e os seres humanos (Pereira *et al.* 2015, Lucadamo *et al.* 2018).

Com elevada persistência no ambiente, o fipronil pode se degradar em diferentes metabólitos mais tóxicos que o inseticida inicial. Os subprodutos, resultantes da sua transformação, causam impactos ao meio ambiente, os quais se acumulam nos diversos compartimentos ambientais e provocam sua contaminação (Andrei 2005, Ignácio *et al.* 2014). Tais perturbações, exercem grande influência sobre plantas e animais, que respondem por meio de modificações de suas funções vitais e/ou sua composição química (Rai 2016).

As consequências na biota tendem a ocorrer primeiramente nos níveis subcelulares e celulares (processos bioquímicos, morfológicos, anatômicos e fisiológicos), e posteriormente, em níveis mais elevados (estrutura da comunidade). Apesar de não morrerem por conta das mudanças do ambiente, os seres bióticos, respondem por meio de reações comportamentais ou metabólicas mensuráveis (Prestes & Vincenci 2019). 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).

A *Eugenia dysenterica* é uma espécie nativa do Cerrado. Pertence à família Myrtaceae, de uso múltiplo e muito consumida pelas populações presente nesse domínio fitogeográfico (Martinotto *et al.* 2008). Além de produzir frutos que são bastantes utilizados na culinária das comunidades locais, 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 (Jorge *et al.* 2010, Oliveira *et al.* 2011, Vieira *et al.* 2012). É considerada uma das espécies mais importantes no processo de regeneração natural do Cerrado *stricto sensu* (Sartorelli & Campos Filho 2017).

Em função da importância socioambiental da *E. dysenterica* para o Cerrado, atrelado a carência de pesquisas em relação aos efeitos do fipronil, em espécies nativas e suas

implicações na manutenção da biodiversidade, estudos que têm como finalidade rastrear e monitorar as consequências desse inseticida em organismos não alvo, como plantas, são relevantes. Pois, poderão contribuir para diagnosticar a presença dessa substância sobre a espécie estudada, a qual é comumente encontrada em áreas de vegetação nativa, e os riscos decorrentes de sua exposição à população. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo identificar possíveis respostas fisiológicas e morfoanatômicas de *E. dysenterica*, visando avaliar seu uso em potencial como espécie bioindicadora de ambientes atingidos por deriva de fipronil.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O experimento foi conduzido 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. As mudas foram adquiridas de um viveiro, localizado em Palmas, com idade de dez meses. A composição do substrato incluía 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 recebiam aplicação do adubo foliar orgânico na proporção de 50 ml do adubo diluído para 500 ml de água composto por torta de mamona, algodão, esterco de aves e bovino.

Os indivíduos saudáveis foram selecionados visando padronizar a altura e posteriormente, transportados à casa de vegetação onde ficaram aclimatando por 115 dias.

Tratamento e delineamento experimental

O fipronil foi aplicado na área externa a casa de vegetação, no período da manhã. As condições atmosféricas registradas 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 do inseticida utilizou-se um pulverizador manual de compressão prévia 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.

O agrotóxico utilizado foi 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: 260 (T1), 520 (T2), 1040 (T3) g.i.a.ha⁻¹. Não há registro do fipronil para uso em plantios de espécies nativas.

O experimento foi conduzido pelo delineamento inteiramente casualizado (DIC), composto por 4 tratamentos com 4 repetições, sendo cada indivíduo considerado uma parcela experimental.

Análise fitotoxicológica

Os sintomas visíveis foram registados através de fotografias obtidas com uma câmara digital de 12 megapixel. A caracterização da avaliação visual levou em consideração os sintomas apresentados pelos indivíduos aos 60 dias após a aplicação do fipronil (DAA) e seguiu a escala de EWRC (Frans 1972), modificada. As notas foram atribuídas de 1 a 7, de acordo com as seguintes descrições: 1 – Ausência de sintoma de fitotoxicidade; 2 – sintomas muito leves; 3 – sintomas leves; 4 – sintomas médios; 5 – sintomas fortes; 6 – sintomas muito fortes; 7 – sintomas severos.

Avaliações fisiológicas

As avaliações das trocas gasosas ocorreram no período da manhã e foram realizadas no 1º, 9º, 20º, 33º e 47º DAA, com três repetições por indivíduo, usando 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. Foram medidas as taxas fotossintéticas (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), 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 , $\mu\text{mol } \mu\text{mol}^{-1}$).

Concentrações de pigmentos cloroplastídicos

A concentração de pigmentos cloroplastídicos foi mensurado no 60º DAA do fipronil e seguiu a metodologia descrita por Ronen & Galun (1984), ajustada, com três repetições para cada indivíduo. Para a extração de pigmentos utilizou-se o solvente dimetilsulfóxido (DMSO) previamente saturado com carbonato de cálcio (CaCO_3). As leituras foram realizadas 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 ($IF = A435/A415$).

Análises anatômicas

No 60º dia após a aplicação do fipronil, de cada indivíduo, foi coletado uma folha completamente expandida para as análises anatômicas. As amostras foram retiradas da região mediana, mais próximo da borda direita, evitando a nervura, com três repetições para cada indivíduo. As mesmas foram fixadas em solução de FAA e estocadas em álcool etílico a 70%. Na sequência, desidratação em série etílica, seguida pela inclusão em parafina + cera de abelha a 8%.

Cortes transversais foram obtidos utilizando um micrótomo rotativo semi-motorizado (RM2245-Leica, Germany), a 12 μm de espessura, que foram aderidos à lâmina com adesivo de Haupt (Haupt 1930) e,

posteriormente, corados em safranina 1% e azul de astra, por 20 min (Gerlach 1984).

As lâminas passaram pelo processo de lavagem em água destilada, desidratadas em série etílica, submetidas a série xilólica e montadas entre lâminas e lamínulas com bálsamo do Canadá.

Para análises morfométricas, 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 dos tecidos epidérmicos e parenquimáticos na folha foi realizado com auxílio do software de análise de imagens ANATI QUANTI, versão 2.0 para Windows® (Aguiar *et al.* 2007).

Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. E as análises estatísticas realizadas no *software* SISVAR versão 5.7 (Ferreira 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Indivíduos expostos ao fipronil, apresentaram sintomas visíveis de intoxicação na dose de 1040 g.i.a.ha⁻¹ (Fig. 1). Os primeiros indícios surgiram aos 2 DAA, com manchas arroxeadas nas folhas, atingido 50% dos indivíduos (Fig. 1E). 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 (Fig. 1C e 1D). As manchas arroxeadas que surgiram nas folhas de *E. dysenterica*, evoluíram para clorose, causando o amarelecimento das partes afetadas (Fig. 1F).

Em relação ao nível de fitointoxicação, constatou-se que, quanto maior a dose do fipronil, mais significativa foi a injúria. As plantas submetidas a dose de 1040 g.i.a.ha⁻¹ apresentaram índice de fitotoxicidade (nota 4). Enquanto que os demais tratamentos (260 g.i.a.ha⁻¹ e 520 g.i.a.ha⁻¹) obtiveram nota 0.

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 & Jacobsen 1998, Ahemad & 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 fitotoxicidade, ressalta ainda que, apesar de doses superiores apresentarem maior toxicidade, o uso sucessivo pode afetar tanto as culturas, quanto espécies não-alvos à aplicação.

Quanto às trocas gasosas, houve queda nas taxas fotossintéticas, condutância estomática, transpiração e na relação C_i/C_a , em função do aumento das doses e do tempo

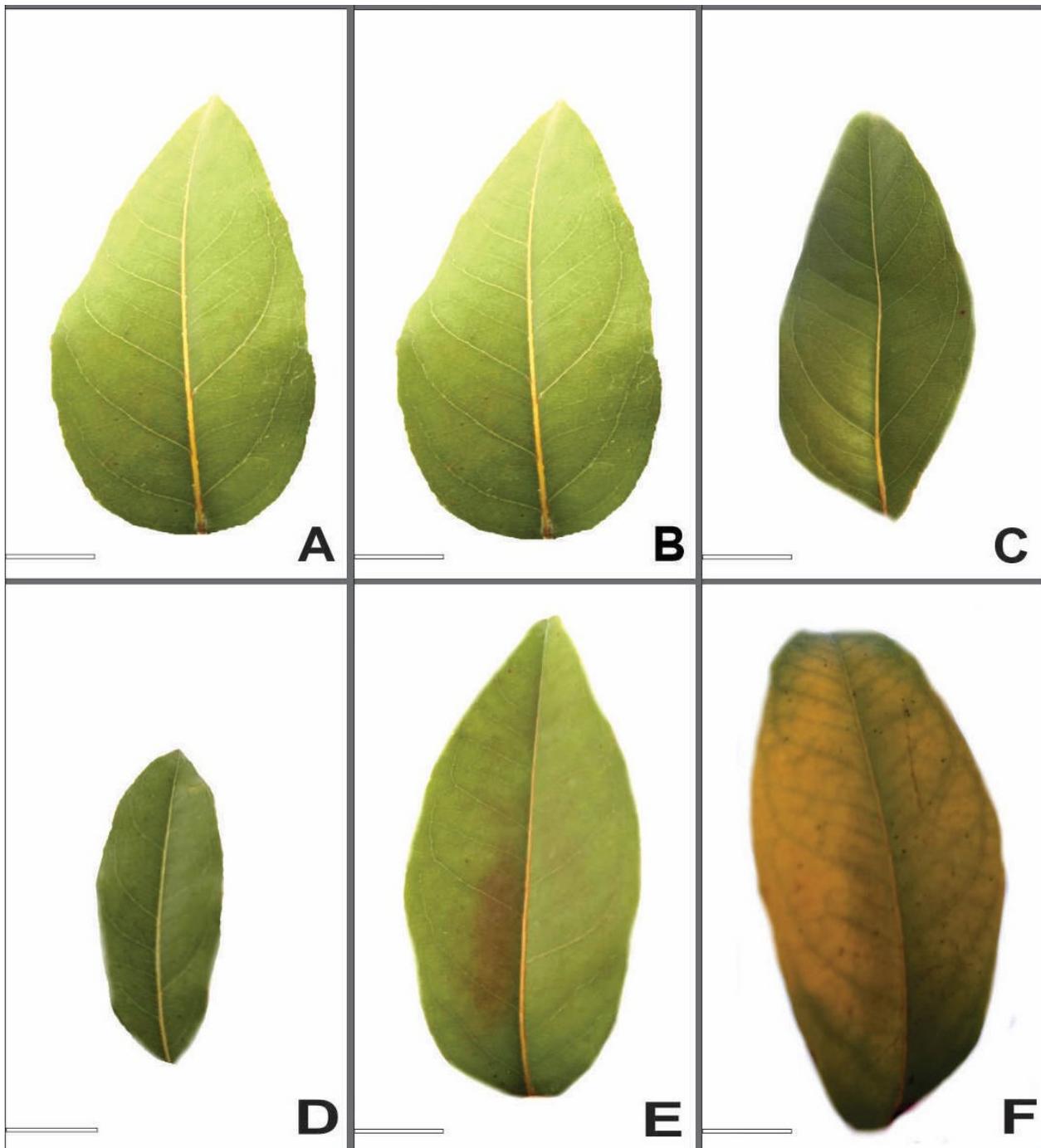


Figura 1. Sintomas visíveis de fitotoxicidade em plantas de *E. dysenterica* submetidas a diferentes doses de fipronil. **A - B.** 0 g.e.a.ha⁻¹ (T0); **C.** 260 g.i.a.ha⁻¹ (T1); **D.** 520 g.i.a.ha⁻¹ (T2); **E - F.** 1040 g.i.a.ha⁻¹ (T3). A e, E aos 2 DAA; B, C, D, F aos 60 DAA. Barra = 2 cm.

de exposição, com os resultados ajustados pelo modelo de regressão quadrático (Fig. 2).

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% e 60% (Fig. 2A), condutância estomática nos valores de 75% e 54% (Fig. 2B) e para transpiração de 68% e 41% (Fig. 2C), respectivamente, aos 47 DAA, diferindo estatisticamente da dose de 260 g.i.a.ha⁻¹ (T1) e da testemunha.

Segundo Ahemad & Khan (2011), inseticidas em geral prejudicam as atividades metabólicas das plantas e seus efeitos são mais notórios em doses elevadas, o que corrobora com os resultados encontrados. Wani *et al.* (2005) e Ahemad & Khan (2011) observaram que plantas submetidas a estresse com inseticidas apresentaram redução do ácido indolacético (AIA), em função do aumento das doses. Esse hormônio atua em conjunto com outras substâncias produzidas pela planta na regulação (abertura

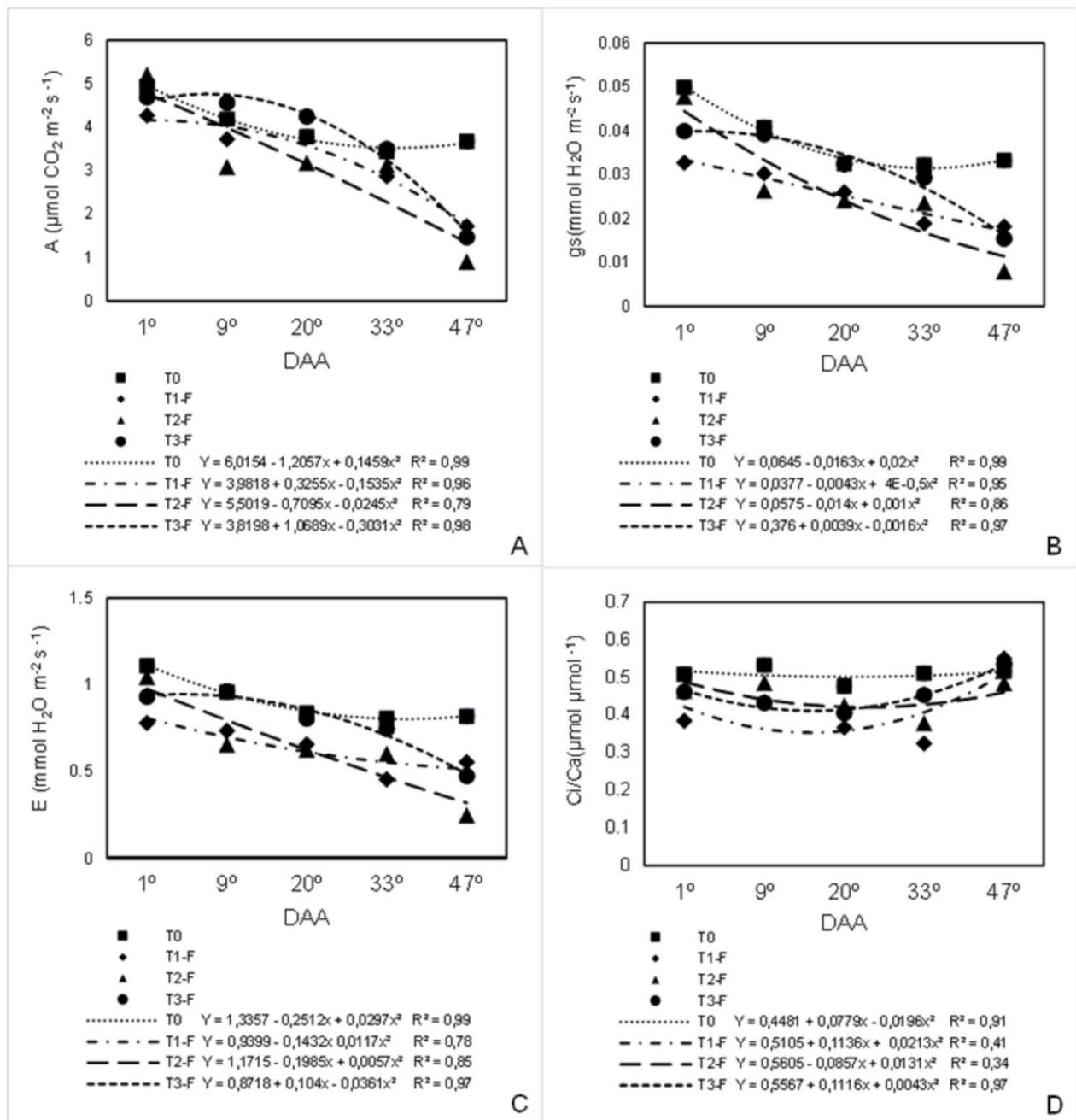


Figura 2. Parâmetros fisiológicos em plantas de *E. dysenterica* submetidas à aplicação de fipronil nas doses de 0 (T0), 260 g.i.a.h⁻¹ (T1), 520 g.i.a.h⁻¹ (T2) e 1040 g.i.a.h⁻¹ (T3). **A.** Taxa fotossintética (A); **B.** condutância estomática (g); **C.** transpiração (E); **D.** Relação do Carbono interno com carbono externo (Ci/Ca). (n = 4).

e fechamento) dos estômatos e na absorção da luz, com reflexos diretos na eficiência do aparato fotossintético (Mansfield & Mcainsh 1995). Portanto, é possível inferir que o fipronil tenha causado redução na biossíntese do AIA em *E. dysenterica* com efeitos adversos sobre a 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 nenhuma outra espécie.

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.h⁻¹ apresentaram

aumento da relação Ci/Ca, com efeito mais expressivo no 47º DAA, diferindo dos demais tratamentos e da testemunha (Fig. 2D). 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 & 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 está diretamente associado a ação do fipronil nas plantas de *E. dysenterica*, ratificando os resultados encontrados.

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. 1). No entanto, não houve diferença significativa para o teor de carotenoides e índice de feofitinação (IF).

De acordo com Boldt & 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 & 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.

Em relação as características anatômicas das folhas de *E. dysenterica*, foram observadas que a epiderme foliar é formada por uma única camada de células (uniestratificada), revestidas por cutícula, em ambas as faces (adaxial e abaxial). As folhas são hipoestomáticas, com estômatos localizados na face abaxial da epiderme (Fig. 3A). O mesofilo possui uma camada de parênquima paliçádico e várias camadas de parênquima lacunoso, com poucos espaços intercelulares. Presença de cavidades secretoras são visíveis em toda a extensão do mesofilo foliar (Fig. 3B). A região da nervura central é composta por tecidos parenquimáticos e um feixe vascular em forma de arco, contornado por fibras pericíclicas. Há presença de cristais prismáticos em células ao longo do mesofilo, associados aos feixes vasculares (Fig. 3C). Essas características estão de acordo com as descritas por Palhares (2003) para a espécie *Eugenia dysenterica*.

As folhas expostas ao fipronil apresentaram alterações anatômicas em todas as doses. No canal secretor, observou-se que, o conteúdo secretado apresentou alteração na

coloração (Fig. 3D), 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 meatos em toda sua extensão, porém de forma mais acentuada no parênquima lacunoso (Fig. 3E). Modificações no formato das células do parênquima paliçádico também foram visíveis em folhas de *E. dysenterica* como resultado da ação do fipronil (Fig. 3F).

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

No tocante à morfometria dos tecidos foliares, as plantas de todos os tratamentos apresentaram efeitos significativos (Tab. 2). Houve redução de 38% e 25% da epiderme adaxial foliar nas doses de 260 g.i.a.h⁻¹ (T1), 520 g.i.a.h⁻¹ (T2), respectivamente. A epiderme das folhas, expostas a dose de 1040 g.i.a.h⁻¹ (T3), apresentou redução de 14% apesar de não diferir estatisticamente da testemunha.

Quanto ao parênquima paliçádico, houve decréscimo na espessura de 43% e 5%, nas plantas expostas a doses de 260 g.i.a.h⁻¹ (T1) e 520 g.i.a.h⁻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% e 20%, nas plantas expostas as maiores doses (520 g.i.a.h⁻¹ e 1040 g.i.a.h⁻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.

Tabela 1. 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.h⁻¹ (T2) e 1040 g.i.a.h⁻¹ (T3).

Pigmentos Cloroplastídicos	Tratamento				CV
	T0	T1	T2	T3	
Chl a (mg g ⁻¹ MF)	0,86a	0,69ab	0,78ab	0,49b	22,54%
Chl b (mg g ⁻¹ MF)	0,52a	0,48ab	0,48ab	0,4b	11,84%
Chl a+b	1,38a	1,17ab	1,26ab	0,89b	17,77%
CaT	4,57a	3,95a	3,96a	4,27a	17,33%
IF	0,90a	0,90a	0,88a	0,86a	3,40%

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

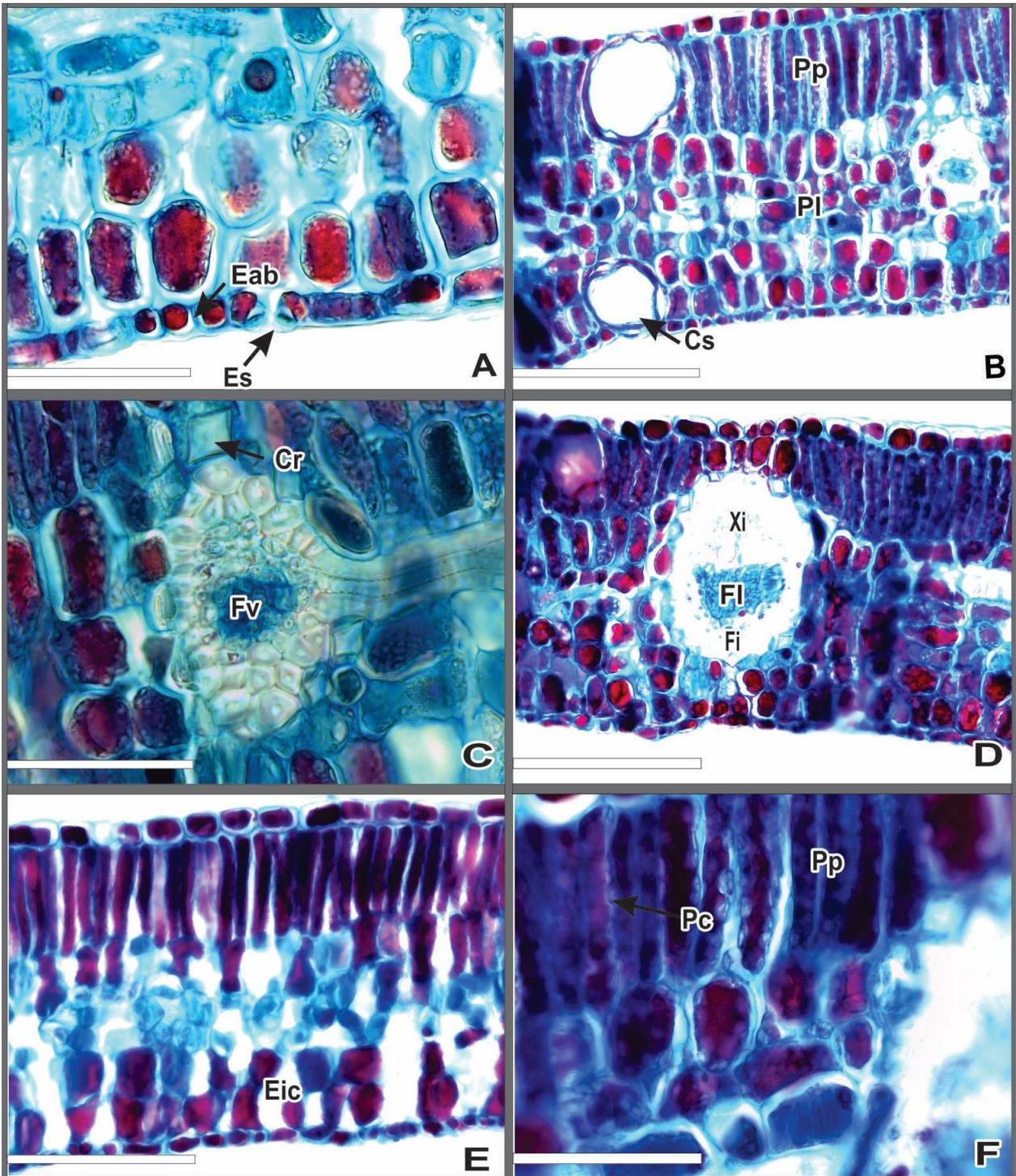


Figura 3. Cortes anatômicas de folhas de *E. dysenterica* (cagaita) aos 60 DAA do fipronil. **A.** 0 g.e.a.ha⁻¹; **B.** 0 g.e.a.ha⁻¹; **C.** 0 g.e.a.ha⁻¹; **D.** 260 g.i.a.ha⁻¹; **E.** 520 g.i.a.ha⁻¹; **F.** 1040 g.i.a.ha⁻¹. Epiderme abaxial (Eab); Estômatos (Es); Parênquima paliçádico (Pp); Parênquima lacunoso (Pl); Canais secretores (Cs); Feixe vascular (Fv); Cristais prismáticos (Cr); Xilema (Xi); Floema (Fl); Fibras pigmentadas (Fi); Espaço intercelular (Eic); Parênquima paliçádico (Pp). Barra = 50 µm.

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.

Assim, plantas expostas ao fipronil apresentaram sensibilidade ao inseticida com sintomas visíveis de fitotoxicidade na dose de 1040 g.i.a.ha⁻¹. Reduções nos

parâmetros fisiológicos também foram observados nas doses de 520 g.i.a.ha⁻¹ e 1040 g.i.a.ha⁻¹. Anatômicamente, as folhas de *E. dysenterica* apresentaram modificações. Essas alterações podem ser consideradas biomarcadores da presença do fipronil no ambiente, entretanto são necessários trabalhos em campo para confirmar as respostas aqui apresentadas.

Tabela 2. 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.h⁻¹ (T2) e 1040 g.i.a.h⁻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 não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. (n = 4).

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, pelo auxílio concedido para as atividades de campo.

REFERÊNCIAS

- Adalberto, P. R., Massabni, A. C., Goulart, A. J., Monti, R. & Lacava, P. M. 2004. Efeito do fósforo na captação de minerais e pigmentação de *Azolla caroliniana* Willd. (Azollaceae). *Brazilian Journal of Botany* 27(3): 581-585.
- Aguiar, T. V., Sant'anna-Santos, B. F., Azevedo, A. A. & Ferreira, R. S. 2007. Anati Quanti: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. *Planta daninha* 25(4): 649-659.
- Ahemad, M. & Khan, M. S. 2011. Comparative study of the growth parameters of legumes grown in fipronil-stressed soils. *Eur Asian Journal of Bio Sciences* 5:29-36
- Andrei, E. (Coord.). 2005. *Compêndio de defensivos agrícolas*. Andrei, São Paulo. 7. ed. 1141p.
- Azevedo, C. F., Bruno, R. L. A. & Quirino, Z. G. M. 2014. Anatomia de plântulas de erva doce (*Foeniculum vulgare* Mill.) sob o efeito de inseticida. *Revista Biociências* 20(1): 63-71.
- Belayneh, Y. T. 1998. 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.
- Bobé, A., Cooper, J. F. & Coste, C. M. 1997. Factors Influencing the adsorption of fipronil on soils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45: 4861- 4865.
- Boldt, T. S. & Jacobsen, C. S. 1998. Different toxic effects of the sulfonylurea herbicides metsulfuron methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron methyl on fluorescent pseudomonads isolated from an agricultural soil. *FEMS Microbiology Letters* 161(1): 29-35.
- De Figueiredo Aquino, S. M., de Almeida, J. R., Cunha, R. R. S. B. & Lins, G. A. 2011. Bioindicadores vegetais: uma alternativa para monitorar a poluição atmosférica. *Revista Internacional de Ciências* 1(1): 77-94.
- Frans, R. E. 1972. Measuring plant responses. In: Wilkinson RE, editor. *Research methods in weed science*. Australian, Southern Weed Science Society, p. 28-41.
- Ferreira, D. F. 2018. SisVar® (Software estatístico): Sistema de análise de variância para dados balanceados. Versão 5.7. Lavras, DEX/UFLA.
- Gerlach, D. 1984. *Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung*. Georg Thieme, Stuttgart. 3. ed. p. 311.
- Haupt, A. W. 1930. A gelatin fixative for paraffin sections. *Stain Technology* 5(3): 97-98.
- Ignácio, N. F., Américo, J. H. P., Silva, M. A., Carraschi, S. P., Ikefuti, C. V., Cruz, C. & Machado-Neto, J. G. 2014. Classificação ecotoxicológica do inseticida Fipronil para o peixe de espécie pacu. *In: 6º Congresso Nacional de Meio Ambiente de Poços de Caldas*. p. 1-7.
- Jorge, N., Moreno, D. M. & Bertanha, B. J. 2010. *Eugenia dysenterica* DC: actividad antioxidante, perfil de ácidos grasos y determinación de tocoferoles. *Revista Chilena de Nutrición* 37(2): 208-214.
- Lucadamo, L., Corapi, A. & Gallo, L. 2018. Evaluation of glyphosate drift and anthropogenic atmospheric trace elements contamination by means of lichen transplants in a southern Italian agricultural district. *Air Quality, Atmosphere & Health* 11(3): 325-339.
- Mansfield, Terry A., and Martin R. McAinsh. 1995. Hormones as regulators of water balance. *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Dordrecht, Springer Netherlands, 1995. p. 598-616.
- Martinotto, C., Paiva, R., Soares, F. P., Santos, B. R. & Nogueira, R. C. 2008. Cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.). *Boletim Técnico* 78: 1-21
- Oliveira, M. E. S., Pantoja, L., Duarte, W. F., Collela, C. F., Valarelli, L. T., Schwan, R. F. & Dias, D. R. 2011. Fruit wine produced from cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC) by both free and immobilised yeast cell fermentation. *Food Research International* 44(7): 2391-2400.
- Palhares, D. 2003. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae Jussieu). *Lecta-USF* 21(1/2): 29-36.
- Pereira, M. R. R., de Souza, G. S. F., Fonseca, E. D. & Martins, D. 2015. Subdoses de glyphosate no desenvolvimento de espécies arbóreas nativas. *Bioscience Journal* 31(2): 326-332.
- Prestes, R. M. & Vincenci, K. L. 2019. Bioindicadores como avaliação de impacto ambiental. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research* 2(4): 1473-1493.
- Salamandane, A. R. 2015. Toxicidade de dimetoato e mancozeb a *Brassica rapa* L. *Ambiência* 11(3): 603-610.
- Sartorelli, P. A. R. & Campos Filho, E. M. 2017. Guia de plantas da regeneração natural do Cerrado e da Mata Atlântica. Agroicone, São Paulo. 140p.
- Scariot, A. & Ribeiro, J. F. 2015. Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da Cagaiteira. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*, Brasília. 72p.
- Rai, P. K. 2016. Impacts of particulate matter pollution on plants: Implications for environmental biomonitoring. *Ecotoxicology and environmental safety* 129: 120-136.
- Ronen, R. & Galun, M. 1984. Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. *Environmental and Experimental Botany* 24(3): 239-245.
- Vieira, P. M., Veronezi, E., Silva, C. R. & Chen-Chen, L. 2012. Detection of genotoxic, cytotoxic, and protective activities of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae) in mice. *Journal of Medicinal Food* 15(6): 563-567.
- Wani, P. A., Zaidi, A., Khan, A. A. & Khan, M. S. 2005. Effect of phorate on phosphate solubilization and indole acetic acid releasing potentials of rhizospheric microorganisms. *Annals of Plant Protection Sciences*, 13: 139-144.
- Wellburn, A. R. 1994. 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* 144: 307-313.