

JANIA CLAUDIA CAMILO DOS SANTOS

**HORMESIS DE GLYPHOSATE EM PLANTAS DE *Carthamus tinctorius* L. EM
FUNÇÃO DO REGIME HÍDRICO**

Botucatu

2021

JANIA CLAUDIA CAMILO DOS SANTOS

**HORMESIS DE GLYPHOSATE EM PLANTAS DE *Carthamus tinctorius* L. EM
FUNÇÃO DO REGIME HÍDRICO**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Agronomia (Agricultura).

Orientador: Prof. Dr. Marcelo de Almeida
Silva

Botucatu

2021

S237h

Santos, Jania Claudia Camilo dos

Hormesis de glyphosate em plantas de *Carthamus tinctorius* L. em função do regime hídrico / Jania Claudia Camilo dos Santos. -- Botucatu, 2021

115 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientador: Marcelo de Almeida Silva

1. N-(fosfonometil)glicina. 2. Curvas de dose-resposta. 3. Estresse abiótico. 4. Trocas gasosas. 5. Estresse oxidativo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: HORMESIS DE GLYPHOSATE EM PLANTAS DE *Carthamus tinctorius* L. EM FUNÇÃO DO REGIME HÍDRICO

AUTORA: JANIA CLAUDIA CAMILO DOS SANTOS

ORIENTADOR: MARCELO DE ALMEIDA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARCELO DE ALMEIDA SILVA (Participação Virtual)
Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. FERNANDO BROETTO (Participação Virtual)
Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Prof.^a Dr.^a ELZA ALVES CORREA (Participação Virtual)
Coordenadoria Executiva / Unidade de Registro / UNESP

Prof. Dr. REGINALDO FERREIRA SANTOS (Participação Virtual)
Núcleo de Inovação do Oeste do Paraná / Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Botucatu, 09 de fevereiro de 2021

Aos meus amados pais,
Maria José Camilo e José
Domingos dos Santos, e
meu noivo Deoclecio Jardim
Amorim por todo amor e
apoio durante esta
caminhada.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, todo poderoso pelo cuidado e sabedoria proporcionada para vencer os obstáculos durante esta jornada.

Aos meus pais José Domingos dos Santos e Maria José Camilo, e ao meu irmão Janderson Santos pela base familiar, amor, carinho, suporte e apoio incondicional.

Ao meu noivo, Deoclecio Jardim Amorim, por todo amor, carinho, atenção, cuidado, companheirismo, ensinamentos, ajuda e motivação tornando esta caminhada mais leve e agradável.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo de Almeida Silva, pela orientação, ensinamentos, amizade, confiança e incentivo durante esta jornada.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Agricultura, da Faculdade de Ciências Agrônomicas, Departamento de Produção Vegetal, pela oportunidade de realização do Doutorado e pela infraestrutura disponibilizada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM) pela parceria nas análises fornecidas, em especial aos professores Caio Antônio Carbonari e Edivaldo Domingues Velini, pelos conhecimentos compartilhados e ao técnico José Roberto Marques Silva e Pós-doutorando Renato Nunes Costa pelo auxílio na condução das análises.

Ao Prof. Dr. Rogério Peres Soratto pela casa de vegetação concedida para condução dos experimentos e ao técnico Gilberto Winckler, pela concessão dos tensiômetros utilizados na pesquisa.

À banca examinadora pela disponibilidade de participação e pelas sugestões na melhoria deste trabalho.

Aos amigos e companheiros do Laboratório de Ecofisiologia Aplicada à Agricultura (LECA), que tive a oportunidade de conviver durante os últimos anos, Dayane Ribeiro, Vanessa Rosa, Anna Luiza dos Santos, Mariana Sab, Vinícius Ribeiro, Vicente Silva, Karolyne Santos, Melina Carnietto, Gabriel Germino, Carolina Ruv, Mara Rúbia Melo, e aos estagiários, de que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho. Em especial à Dayane Ribeiro, pela amizade, parceria e ajuda na condução dos experimentos tornando o trabalho mais leve. À Vanessa Rosa e Anna Luiza dos Santos pelo auxílio nas análises bioquímicas nos dando o suporte necessário. À Thayse Valéria Silva pela amizade, companheirismo, parceria e cuidado durante esta jornada. A vocês minha gratidão!

Aos amigos e companheiros da Pós-graduação Laís Pereira, Fernanda Bortolheiro, Marcela Brunelli-Nascentes, Breno Bezerra, Élvis Alves e Isabelly Marques que forneceram algum suporte durante a condução do trabalho.

A todos meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

Diante do atual cenário de mudanças climáticas, grandes prejuízos são causados no setor agrícola pela ausência de chuvas. O plantio de cártamo, indicado para regiões semiáridas, vem crescendo no mundo, devido à capacidade das plantas de suportar condições de déficit hídrico e pelo potencial na produção de biocombustível. Estudos sobre o potencial estimulatório de baixas doses de glyphosate estão sendo realizados, para entender os mecanismos de hormesis capazes de estimular o crescimento das plantas. Nesta pesquisa, objetivou-se determinar o efeito atenuador de baixas doses de glyphosate sob condições de déficit hídrico em cártamo. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com duas tensões de água no solo (-10 e -70 kPa), e 10 doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), com quatro repetições em dois ciclos. As plantas foram avaliadas no decorrer de 28 dias após aplicação dos tratamentos, analisando os parâmetros de crescimento, fisiológicos e bioquímicos. Foram constatadas melhorias nas plantas sob condições de déficit hídrico quando tratadas com baixas doses de glyphosate, com incremento em crescimento, evidenciado pela altura da planta e área foliar, equivalendo-se às plantas em capacidade de campo, com manutenção de taxas fotossintéticas, ativação de mecanismos eficientes de proteção contra danos fotooxidativos, além de aumento em atividade de enzimas antioxidantes. Baixas doses de glyphosate melhoraram a eficiência metabólica do cártamo submetido ao déficit hídrico.

Palavras-chave: *N*-(fosfonometil)glicina. Curvas de dose-resposta. Estímulo de crescimento. Estresse abiótico. Trocas gasosas. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

In view of the current climate change scenario, large losses are caused in the agricultural sector by the absence of rain. The safflower crop, indicated for semi-arid regions, has been growing worldwide, due to the capacity of plants to withstand water deficit conditions and the potential for biofuel production. Studies on the stimulatory potential of low doses of glyphosate are being carried out to understand the mechanisms of hormesis capable of stimulating plant growth. This research aimed to determine the attenuation effect of low doses of glyphosate under conditions of water deficit in safflower. The experiment was conducted in a greenhouse, with two water tensions in the soil (-10 and -70 kPa), and 10 doses of glyphosate (0, 1.8, 3.6, 7.2, 18, 36, 72, 180, 360 and 720 g a.e. ha⁻¹), with four repetitions in two cycles. The plants were evaluated during 28 days after application of the treatments, analysing the growth, physiological and biochemical parameters. Improvements were found in plants under water deficit conditions when treated with low doses of glyphosate, with an increase in growth, evidenced by plant height and leaf area, equivalent to hydrated plant, with maintenance of photosynthetic rates, activation of efficient protection mechanisms against photooxidative damage, in addition to increased activity of antioxidant enzymes. Low doses of glyphosate improved the metabolic efficiency of safflower submitted to water deficit.

Keywords: *N*-(phosphonomethyl)glycine. Dose-response curves. Growth stimulus. Abiotic stress. Gas exchange. Oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 1

- Figura 1** - Curva de retenção de água no solo de um solo argiloso para profundidades de 0 a 20 cm gerada pelos parâmetros de van Genuchten³⁵. R^2 = coeficiente de determinação.....31
- Figura 2** - Efeitos da dose-resposta do glyphosate aos 7, 14, 21 e 28 dias após tratamento, para número de folhas (A, B) e altura de planta (C, D) em plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$). Dados são referentes às médias de oito repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão).....39
- Figura 3** - Efeitos da dose-resposta do glyphosate aos 28 dias após tratamento, para massa de matéria seca (A, B) e área foliar (C, D) em plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$). Dados são referentes às médias de oito repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão).....40
- Figura 4** - Dose-resposta de plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos, sem estresse hídrico (-10 kPa) (A) e com déficit hídrico (-70 kPa) (B), e número de dias para floração (C) aos 28 dias após o tratamentos. Plantas de *Carthamus tinctorius* submetidas a regimes hídricos em diferentes doses de glyphosate apresentaram efeito hormético entre as características de crescimento até esta fase de desenvolvimento, com início do florescimento em plantas sob déficit hídrico.41
- Figura 5** - Efeitos da dose-resposta do glyphosate aos 3 e 7 dias após tratamento, taxa de assimilação de CO₂ (A) (A, B, C, D), condutância estomática (g_s) (E, F, G, H), taxa transpiratória (E) (I, J, K, L) e concentração interna de carbono (C_i) (M, N, O, P) em plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados são referentes a média de dois experimentos independentes (exp.1 e exp.2) de quatro repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão).....50
- Figura 6** - Efeitos da dose-resposta do glyphosate aos 3 e 7 dias após tratamento, eficiência de carboxilação (EC) (A, B, C, D) e eficiência do uso da água (EUA) (E, F, G, H) em plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados são referentes à média de dois

experimentos independentes (exp.1 e exp.2) de quatro repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão). 53

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 2

Figura 1 - Curva de retenção de água no solo de um solo argiloso para profundidades de 0 a 20 cm gerada pelos parâmetros de van Genuchten (1980). R^2 = coeficiente de determinação. 71

Figura 2 - Efeitos da dose-resposta do glyphosate pela modelagem monofásica (Eq (2))^{Streibig (1988)} ou bifásica (Eq (3))^{Cedergreen et al. (2005)} para eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) (A, B, C, D), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Φ_{PSII}) (E, F, G, H) e taxa de transporte de elétrons (ETR) (I, J, K, L) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 7 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados referentes à média de dois experimentos independentes (Experimento 1 e Experimento 2) de quatro repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão). 79

Figura 3 - Efeitos da dose-resposta do glyphosate pela modelagem monofásica (Eq (2))^{Streibig (1988)} e exponencial (Eq (4))^{Mollae et al. (2020a)} para coeficiente de extinção fotoquímico (qP) (A, B, C, D) e coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ) (E, F, G, H) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 7 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados referentes à média de dois experimentos independentes (Experimento 1 e Experimento 2) de quatro repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão). 80

Figura 4 - Análise de cluster (mapa de calor) de vários compostos bioquímicos (peróxido de hidrogênio (H₂O₂), peroxidação lipídica (LPO), prolina, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 (A) e 28 (B) dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa (SE) e -70 kPa (CE)). Os padrões mostrados no mapa de calor referem-se à média de quatro repetições por tratamento para cada metabólito. Os gradientes de cores vermelha e azul indicam maior e menor atividade, respectivamente. 82

Figura 5 - Concentração de ácido chiquímico predita (ln(x)) utilizando a equação de Gompertz (Eq (5))^{Gompertz (1825)}, e concentrações de glyphosate e ácido aminometilfosfônico (AMPA) (ln(x+1)) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados referentes à média de dois experimentos independentes (Experimento 1 (A, B) e Experimento 2 (C, D)) com quatro repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão). 83

Figura 6 - Concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (A, B), peroxidação lipídica (concentração MDA) (LPO) (C, D) e prolina (E, F) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 28 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). O Fator A representa as doses de glyphosate (barra cinza claro) e o Fator B representa dois regimes hídricos (barra cinza escuro tracejado). Letras minúsculas nas barras comparam as doses de glyphosate e maiúsculas nas barras comparam os regimes hídricos pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Dados das barras são médias ± desvio padrão de quatro repetições por tratamento.84

Figura 7 - Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A, B), catalase (CAT) (C, D), peroxidase (POD) (E, F) e ascorbato peroxidase (APX) (G, H) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 28 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Efeito para doses de glyphosate (barra cinza tracejada) e dados não significativos, ns, (barra branca). Os dois regimes hídricos são representados em tensão hídrica de -10 kPa (barra preta) e tensão hídrica de -70 kPa (barra cinza). Letras minúsculas nas barras comparam as doses de glyphosate e maiúsculas nas barras comparam os regimes hídricos pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Dados das barras são médias ± desvio padrão de quatro repetições por tratamento.86

LISTA DE TABELAS DO CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Parâmetros dos modelos de dose-resposta $\pm$ erro padrão da modelagem monofásica (Eq (2))³⁵ ou bifásica (Eq (3) ou (4))^{36,37} para número de folhas e altura de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 7, 14, 21 e 28 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$).35

Tabela 2 - Parâmetros do modelo de dose-resposta $\pm$ erro padrão da modelagem bifásica (Eq (3))³⁶ para massa de matéria seca e área foliar de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 28 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$).37

Tabela 3 - Número de ramos (A, B) e número de capítulos (C, D) de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 28 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$).42

Tabela 4 - Parâmetros dos modelos de dose-resposta $\pm$ erro padrão da modelagem monofásica (Eq (2))³⁵ ou bifásica (Eq (3) ou (4))^{36,37} taxa de assimilação de CO₂ (A), condutância estomática (gs), taxa transpiratória (E) e concentração interna de carbono (C_i) de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 3 e 7 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos independentes (exp.1 e exp.2).46

Tabela 5 - Parâmetros dos modelos de dose-resposta $\pm$ erro padrão da modelagem monofásica (Eq (2))³⁵ ou modelo exponencial (Eq (5))²⁷ eficiência de carboxilação (EC) e eficiência do uso da água (EUA) de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 3 e 7 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos independentes (exp.1 e exp.2).52

LISTA DE TABELA DO CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Análise química e física do solo (0-20 cm) utilizado no experimento.....70

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	21
CAPÍTULO 1 - HORMESIS DE GLYPHOSATE MITIGA O EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO EM CÁRTAMO (<i>Carthamus tinctorius</i> L.).....	24
1.1 INTRODUÇÃO.....	26
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
1.3 RESULTADOS.....	34
1.4 DISCUSSÃO.....	55
1.5 CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS.....	59
CAPÍTULO 2 - HORMESIS DE GLYPHOSATE ATENUA O ESTRESSE POR DÉFICIT HÍDRICO EM CÁRTAMO (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) POR MEIO DA MODULAÇÃO DA FISIOLOGIA E DA BIOQUÍMICA.....	64
2.1 INTRODUÇÃO.....	67
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	69
2.3 RESULTADOS.....	78
2.4 DISCUSSÃO.....	87
2.5 CONCLUSÕES.....	91
REFERÊNCIAS.....	92
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96
REFERÊNCIAS.....	97
APÊNDICE A – TABELAS SUPLEMENTARES DO CAPÍTULO 1.....	100
APÊNDICE B – TABELAS SUPLEMENTARES DO CAPÍTULO 2.....	108

INTRODUÇÃO GERAL

O cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) é uma planta oleaginosa, pertencente à família Asteraceae, sendo considerada uma das culturas mais antigas do mundo, com três indicações de centros de origem propostos por Índia, Afeganistão e Etiópia (FLEMMER et al., 2015; BORTOLHEIRO et al., 2017).

A importância mundial da cultura tem aumentado e isso desperta o interesse na comunidade científica, o cultivo no mundo cresceu devido suas características oleaginosas, com sementes que contêm de 35 a 45% de teor de óleo, como benefício econômico para o setor de biocombustível, possui elevado valor nutricional, que abrange cerca de 75% de ácido linoleico, tocoferóis e vitamina E (BEYYAVAS et al., 2011; CANAVAR et al., 2014; QUEIROGA et al., 2021), sua utilidade envolve ainda diversos fins culinários e têxteis (DELSHAD et al., 2018).

No campo medicinal, pesquisas farmacológicas modernas sugerem potencial comprovado no tratamento de várias doenças, em que atua na redução do colesterol sanguíneo, auxilia na dilatação de artérias, no alívio da dor, doenças cardiovasculares, ginecológicas, regulação do sistema imunológico, além de propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (DELSHAD et al., 2018; BAE et al., 2002; LIAO et al., 2019; ZONG-JIN et al., 2019; BACCHETTI et al., 2020).

A cultura apresenta características agrônômicas importantes, como maior tolerância ao déficit hídrico, podendo ser cultivada em regiões com precipitações de 300 a 600 mm anuais, possui capacidade de suportar grande amplitude de temperatura, que pode variar de -7 a 40 °C, suporta ainda ventos fortes e quentes, além de baixa umidade relativa (EMONGOR, 2010; QUEIROGA et al., 2021).

A maior tolerância ao déficit hídrico deve-se ao profundo sistema radicular pivotante, que abrange cerca de 2-3 m de profundidade, permitindo a planta buscar água em níveis não disponível para a maioria das culturas, sendo assim, indicada ao cultivo em regiões semiáridas, com atenção para a fase vegetativa por ser considerada a mais crítica ao déficit hídrico (ISTANBULLOUGLU et al., 2009; BORTOLHEIRO e SILVA, 2017).

O déficit hídrico interfere em características importantes às plantas, que influenciam no crescimento e desenvolvimento da cultura, modulados por processos fisiológicos e bioquímicos. Maior tolerância às plantas sob condições de déficit

hídrico são evidenciadas por baixas doses de glyphosate (SILVA et al., 2016; MOLLAEI et al., 2020).

Sob condições de déficit hídrico a fotossíntese é primeiramente afetada pelo fechamento estomático que causa desequilíbrio entre as fases fotoquímicas e redução do carbono, diminuindo a atividade fotossintética pela ocorrência da inibição ou redução na transferência de elétrons (MAXWELL e JOHNSON, 2000).

Alterações metabólicas ativam os mecanismos de defesa evitando o acúmulo de danos induzidos pelo estresse gerado pelas espécies reativas de oxigênio (ERO), que ativam a proteção celular através do sistema de enzimas antioxidantes que atuam desintoxicando as células e por mecanismos fotoprotetores que dissipam o excesso de energia, ou ainda por alterações morfofisiológicas que atuam minimizando os danos gerados pelo déficit hídrico (FOYER e NOCTOR, 2011; GOMES et al., 2017). Plantas mais tolerantes ao déficit hídrico podem ser obtidas através da utilização de algumas práticas agrícolas, como a aplicação de baixas doses de glyphosate, que atua melhorando as defesas da planta conferindo adaptabilidade.

O glyphosate (*N*-(fosfonometil)glicina)) é um herbicida de ação lenta, sistêmico, não seletivo e pós-emergente, que atua inibindo a ação da enzima EPSPS (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase) da via do ácido chiquímico impedindo a biossíntese dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) (DUKE e POWLES, 2008; VELINI et al., 2008; DUKE, 2019). O efeito estimulatório no crescimento de várias espécies de plantas tratadas com baixas doses de glyphosate tem sido revelado em pesquisas desenvolvidas na Faculdade de Ciências Agrônômicas/UNESP (VELINI et al., 2008; SILVA et al., 2009; SILVA et al., 2013, BRITO et al., 2018; CARVALHO et al., 2018; NASCENTES et al., 2018; MORAES et al., 2019; CERVEIRA JUNIOR et al., 2020; PINCELLI-SOUZA et al., 2020).

A exposição da planta a baixas doses pode causar diferentes dose-respostas, subdivididas em duas partes, sendo a primeira parte da resposta monofásica é caracterizada pela falta de mudanças significativas das respostas, compreendendo apenas a inibição em altas doses, seguida por uma segunda parte da resposta de baixa dose, que pode ser caracterizada por mudanças nas respostas médias antes da inibição por altas doses (BELZ et al., 2018).

O pico estimulatório é atingido no padrão bifásico de dose-resposta, com inibição em doses altas, conhecido como hormesis, que é definida como uma resposta de dose bifásica adaptativa/protetora causada por estressores químicos que quando utilizados em baixas doses em plantas resultam em melhor desempenho com aumento nas defesas celulares, visando a restauração da homeostase celular (BERRY III e LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2020).

Os principais modelos utilizados para modelar o padrão bifásico de dose resposta, são os modelos desenvolvidos por Brain e Cousens (1989) e Cedergreen et al. (2005), e por meio de reparametrização desses modelos podemos obter características quantitativas como ED_{50} que é a dose que causa 50% de inibição, ED_{110} que é a dose que provoca estimulação de 110% do controle, M que é a dose que causa estimulação máxima, LDS que é a dose limite para estimulação e o y_{max} que é a resposta estimulatória máxima, potência tóxica, zona de dose hormética e $dist2$ que é a distância entre a dose M e LDS (SCHABENBERGER et al., 1999; BELZ e PIEPHO, 2012; BELZ e PIEPHO, 2015).

A cultura do cártamo, apesar da tolerância às condições de déficit hídrico, pouco se conhece sobre o comportamento das plantas quando submetidas a baixas doses de glyphosate, principalmente sobre as características que conferem melhorias no desenvolvimento de plantas tratadas com glyphosate sob condições de déficit hídrico. Diante do exposto, a hipótese geral desta pesquisa é que baixas doses de glyphosate são capazes de promover melhorias nas características fisiológicas, bioquímicas e de crescimento das plantas de cártamo sob déficit hídrico.

Para testar esta hipótese, a pesquisa foi dividida em dois trabalhos, sendo o Capítulo 1, destinado a investigar o comportamento da cultura do cártamo durante o estágio vegetativo, após tratamentos com baixas doses de glyphosate em condições de déficit hídrico nas características de crescimento, trocas gasosas e reprodutivas. E o Capítulo 2, designado a pesquisar os mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na mitigação do estresse hídrico ocasionado pelos tratamentos com baixas doses de glyphosate na cultura do cártamo.

CAPÍTULO 1

HORMESIS DE GLYPHOSATE MITIGA O EFEITO DO DÉFICIT HÍDRICO EM CÂRTAMO (*Carthamus tinctorius* L.)¹

Jania Claudia Camilo dos Santos,^a Dayane Mércia Ribeiro Silva,^a Deoclecio Jardim Amorim,^b Mariana Peduti Vicentini Sab^a e Marcelo de Almeida Silva^{a*}

^aUniversidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Laboratório de Ecofisiologia Aplicada à Agricultura, Departamento de Produção Vegetal, Av. Universitária, 3780, 18610-034, Botucatu, SP, Brasil.

^bUniversidade de São Paulo (USP), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Departamento de Ciências Exatas, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil

*Autor correspondente: Marcelo de Almeida Silva, e-mail: marcelo.a.silva@unesp.br

Resumo

INTRODUÇÃO: O atual cenário de mudanças climáticas pode afetar a disponibilidade hídrica do solo, impactando o setor agrícola. O plantio do cârtamo (*Carthamus tinctorius* L.) tem aumentado devido ao seu potencial para cultivo em condições de seca durante a entressafra no Brasil e seu alto potencial para uso na produção de biocombustíveis. Existem vários relatos sobre o potencial de baixas doses de glyphosate para promover o crescimento e desenvolvimento das plantas (hormesis). Apesar do conceito de hormesis de glyphosate estar bem estabelecido, pouco se sabe sobre qualquer efeito mitigador nas plantas em condições de déficit hídrico. A hipótese levantada é que baixas doses de glyphosate promovem tolerância ao estresse hídrico durante as fases de crescimento e reprodução de *C. tinctorius* expostos a diferentes regimes hídricos.

RESULTADOS: Em regimes com e sem deficiência hídrica, o crescimento das plantas tratadas com baixas doses de glyphosate aumentou, atingindo uma amplitude máxima de estímulo de ~ 131% do controle. No entanto, as plantas com

¹ Capítulo 1 submetido, aceito e publicado na Pest Management Science, <http://dx.doi.org/10.1002/ps.6231>.

déficit hídrico requeriam doses menores para atingir o máximo crescimento e desenvolvimento. Estas mantiveram as taxas fotossintéticas no nível de plantas bem irrigadas porque reduziram a condutância estomática e a transpiração. Os ganhos na altura da planta e área foliar foram os mesmos que para os controles.

CONCLUSÕES: Baixas doses de glyphosate podem atuar como mitigadoras do déficit hídrico em *C. tinctorius*, permitindo que as plantas mantenham seu metabolismo, atingindo níveis próximos aos de plantas sem estresse hídrico, conforme observado para altura das plantas e área foliar. Nossas descobertas indicam que há implicações ainda maiores para a compreensão da hormesis do glyphosate em plantas sob condições de seca, dado o cenário atual de mudanças climáticas.

Palavras-chave: *Carthamus tinctorius* L.; N-(fosfonometil)glicina; dose baixa; estresse por seca; efeito estimulatório.

CHAPTER 1 GLYPHOSATE HORMESIS MITIGATES THE EFFECT OF WATER DEFICIT IN SAFFLOWER (*Carthamus tinctorius* L.)

Abstract

BACKGROUND: The current climate change scenario may affect water availability in the soil, impacting the agricultural sector. Planting of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) has increased because of its potential for cultivation under drought conditions during the off-season in Brazil and its high potential for use in biofuel production. There are several reports about the potential of low doses of glyphosate to promote plant growth and development (hormesis). Despite the concept of glyphosate hormesis being well established, little is known about any mitigating effect on plants under water deficit conditions. The hypothesis raised is that low doses of glyphosate promote water stress tolerance during the growth and reproductive phases of *C. tinctorius* exposed to different water regimes.

RESULTS: In regimes with and without water deficiency, growth of plants treated with low doses of glyphosate increased, reaching a maximum stimulus amplitude of ~131% of control. However, plants under water deficit required lower doses to

achieve maximum growth and development. They maintained photosynthetic rates at the level of well-watered plants because they had reduced stomatal conductance and transpiration. Gains in plant height and leaf area were the same as for controls.

CONCLUSIONS: Low doses of glyphosate can act as mitigators of water deficit in *C. tinctorius*, allowing plants to maintain their metabolism, reaching levels close to those of plants without water stress, as observed for plant height and leaf area. Our findings indicate that there are even greater implications for understanding glyphosate hormesis in plants under drought conditions, given the current climate change scenario.

Keywords: *Carthamus tinctorius* L.; N-(phosphonomethyl)glycine; low dose; drought stress; stimulatory effect.

1.1 INTRODUÇÃO

O glyphosate (N-(fosfonometil)glicina)) é um herbicida pós-emergente de ação lenta, sistêmico, não seletivo.^{1,2} Ele atua inibindo a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) da via do chiquimato,^{1,3} impedindo a biossíntese dos aminoácidos aromáticos essenciais necessários para síntese de proteínas, ácido indolacético (AIA), plastoquinona e compostos secundários necessários para defesa contra patógenos.⁴⁻⁶

O efeito estimulador do tratamento com baixas doses de produtos químicos no crescimento de várias espécies de plantas tem sido foco de vários estudos.⁵⁻¹⁴ Nesse contexto, o termo hormesis se refere a uma resposta adaptativa/protetora causada por estressores químicos quando utilizado em baixas doses em plantas.¹⁵ O herbicida mais amplamente utilizado mundo, o glyphosate, causa hormesis,^{1,3,9,16,17} e estudos estão em andamento para elucidar a capacidade de baixas doses de glyphosate utilizado para estimular o crescimento das plantas¹³ e melhorar a sustentabilidade agrícola reduzindo os impactos ambientais.¹⁸

Pesquisas de doses que causam um efeito estimulador nos permite compreender os mecanismos da hormesis por glyphosate em plantas e o comportamento da cultura no campo.¹¹ Embora pouco compreendido, acredita-se que a causa primária do efeito hormético esteja associado ao local de ação do glyphosate.¹⁹ Uma vez absorvido, o glyphosate é translocado para órgãos de maior

atividade metabólica,¹⁹ seguindo o fluxo dos fotoassimilados.^{20,21} Quando aplicado durante a fase inicial de desenvolvimento da planta, o glyphosate em baixas doses levam a um aumento na biomassa, atividade fotossintética, conteúdo de proteínas, aminoácidos e, conseqüentemente, maior resistência a pragas.^{6,9,11,22}

A dose de estímulo varia para cada espécie de acordo com a sensibilidade da planta ao glyphosate, exigindo estudos individuais para determinação da dose. Além de seu valor comercial, o cártamo (*Carthamus tinctorius* L.), pode ser cultivado em regiões com pouca disponibilidade hídrica e baixos custos de produção, sendo, portanto, uma cultura alternativa para cultivo durante a estação seca no Brasil.²³ A seca é um dos fatores mais limitantes das lavouras agrícolas em termos de crescimento e produtividade;²⁴ promove mudanças de expressão gênica para morfologia, incluindo ajustes metabólicos e alterações fotossintéticas.²⁵

A deficiência hídrica afeta todas as atividades da planta, especialmente os processos metabólicos dos quais dependem a divisão e alongamento celular, bem como as taxas fotossintéticas e de transpiração, que regulam todos os processos de metabolismo da planta. O cártamo é tolerante ao estresse hídrico,²³ uma vantagem para o cultivo, pois sua eficiência no uso da água (EUA) é alta. As plantas de cártamo são capazes de manter suas taxas de assimilação de CO₂ (A) e de transpiração (E) sob estresse hídrico, levando a um acúmulo mais eficiente de biomassa vegetal.²⁶

É cada vez mais evidente que há uma necessidade de abordagens práticas para melhorar a produção agrícola envolvendo mecanismos que variam por espécie e estágio de crescimento, além de fatores ambientais relacionados a lavouras e agroecossistemas.^{11,27,28} Diversos fatores ambientais, como disponibilidade hídrica, nutrição mineral, temperatura, intensidade de luz e concentração de CO₂ podem influenciar os estímulos horméticos.^{27,29} O conhecimento dessas interações é necessário para que a hormesis de glyphosate melhore a produção agrícola.

Embora uma série de pesquisas tenha fornecido informações sobre o efeito estimulante de baixas doses de glyphosate, como em *Commelia benghalensis*, *Eucalyptus grandis*, *Zea mays*, *Pinus caribea*, *Glycine max*,⁵ *Saccharum* sp.,⁶⁻⁸ *Urochloa decumbens*,^{9,13} *Saccharum* sp., *Eucalyptus*,¹¹ e *Phaseolus vulgaris*,¹⁴ conhecimentos mais profundos sobre a causa da hormesis de glyphosate em *C. tinctorius* em condições de deficiência hídrica são necessários, porque o déficit

hídrico é o estresse abiótico mais imprevisível em termos de ocorrência, severidade, distribuição e duração.³⁰ Estudos da interação entre déficit hídrico e hormesis de glyphosate em plantas, são raros; no entanto, estudos anteriores com *Phaseolus vulgaris* mostraram uma maior tolerância ao estresse hídrico na presença de baixas doses de glyphosate.³¹ A pesquisa mostrou que a eficácia do glyphosate depende das condições climáticas, da suscetibilidade da cultura ao glyphosate e do estágio de desenvolvimento da planta, no entanto, este trabalho foi realizado principalmente com plantas daninhas.^{28,32}

Por exemplo, efeitos negativos de baixas doses de glyphosate sob condições de déficit hídrico foram encontrados em dois biótipos de *Echinochloa colona* (resistente e suscetível ao glyphosate). Todos os parâmetros de crescimento tenderam a diminuir sob déficit hídrico, e mesmo as baixas doses de glyphosate não foram capazes de compensar a redução significativa da biomassa vegetal em plantas sensíveis.²⁸ Em outro estudo usando os mesmos biótipos, plantas resistentes ao glyphosate tratada com 1140 g e.a. ha⁻¹ teve um aumento da taxa de sobrevivência de 62% sob estresse hídrico, enquanto que o biótipo sensível apresentou reduções na biomassa de 62 e 92% nas doses de 720 e 1440 g e.a. ha⁻¹, respectivamente. Com as mesmas doses de glyphosate, nenhuma planta sobreviveu na condição bem irrigada.³²

Diante do exposto, duas hipóteses foram formuladas: (1) Baixas doses de glyphosate podem promover melhorias nas características fisiológicas, de crescimento e reprodutivas de plantas de *C. tinctorius*. (2) Baixas doses de glyphosate promovem efeitos horméticos semelhantes com e sem déficit hídrico severo. Para testar essas hipóteses, foram determinados os efeitos horméticos do glyphosate nas características fisiológicas, de crescimento e reprodutivas de plantas de *C. tinctorius* sob déficit hídrico. Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação com plantas tratadas com baixas doses de glyphosate com e sem déficit hídrico severo.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Material vegetal e condições experimentais

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil (22°51'S, 48°26'O). A casa de vegetação possui sistema de controle e monitoramento da temperatura e umidade relativa, o qual registrou no experimento 1 temperatura e umidade relativa médias dia/noite de $31,3 \pm 2,9^{\circ}\text{C}/22,8 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$ e $58,2 \pm 10,1\%/79,6 \pm 6,2\%$, e no experimento 2 de $27,0 \pm 2,3^{\circ}\text{C}/22,1 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ e $67,6 \pm 5,0\%/79,5 \pm 5,1\%$, respectivamente, durante o período de fevereiro a abril de 2019 (experimento 1), e de abril a junho de 2019 (experimento 2), com semeadura realizada em 16 de fevereiro e 11 de abril de 2019, respectivamente. Sementes de *Carthamus tinctorius* da linhagem IMA14, do Instituto Mato Grosso do Algodão (IMAmt, MT, Brasil), foram selecionadas e utilizadas com base em um estudo anterior em que essa linhagem se destacou por ser tolerante às restrições hídricas.²³

A aplicação de calcário e fertilizantes no solo estava de acordo com a análise química para a camada de 0 a 20 cm, seguindo a recomendação para a cultura do cártamo.³³ Para corrigir o pH do solo e fornecer nutrientes pela adubação, a calagem foi aplicada aos 60 dias antes do início do experimento, utilizando calcário dolomítico com poder relativo de neutralização total (PRNT 100%). Durante a semeadura, o solo foi fertilizado com ureia (46% N), superfosfato simples (19% P_2O_5) e cloreto de potássio (58% K_2O). A ureia também foi aplicada aos 40 dias após a semeadura (DAS). Antes de iniciar a pesquisa, um experimento constituído por 10 doses de glyphosate foram realizados, para estabelecer o limite de dose que causa redução de crescimento, necrose e morte da planta.

O experimento foi conduzido duas vezes para confirmação dos resultados. Inicialmente, foram semeadas cinco sementes por vaso de 8,7 L, e o desbaste foi realizado aos oito DAS, deixando uma planta por vaso, com semelhança em uniformidade e vigor, totalizando 40 plantas selecionadas em cada experimento. Durante o período inicial de desenvolvimento (que compreende a germinação, roseta e início da fase vegetativa), as plantas foram irrigadas regularmente, para manter a capacidade de campo. Aos 28 DAS, período inicial da fase vegetativa, considerada a mais sensível ao déficit hídrico,^{23,34} as plantas com 5-6 folhas

definitivas foram submetidas aos tratamentos de baixas doses de glyphosate e regimes hídricos.

No mesmo dia em que as plantas foram divididas em dois grupos de irrigação, as baixas doses de glyphosate (Roundup Original® CS, 360 g e.a. L⁻¹, Monsanto do Brasil Ltda, São José dos Campos, SP, Brasil) foram aplicadas em cada grupo. Os tratamentos consistiram em 10 doses (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g equivalente ácido (e.a.) ha⁻¹), com quatro repetições. As aplicações foram realizadas utilizando um pulverizador costal pressurizado (CO₂) equipado com uma barra de pulverização com duas pontas espaçadas em 0,5 m, com volume de calda de 200 L ha⁻¹, pressão constante de 1,5 bar.

Para os tratamentos de regimes hídricos, a capacidade de água disponível (CAD; mm) foi estimada através da lâmina de irrigação aplicada, de acordo com a Equação (1):

$$CAD = (CC - PMP) * Z \quad (1)$$

onde CC é o teor de volume de água na capacidade de campo (cm³ cm⁻³), e PMP é o ponto de murcha permanente descrito em teor de água volumétrico (cm³ cm⁻³), e Z é a profundidade efetiva do sistema radicular considerado 200 mm, sendo realizado o ajuste dos dados através do modelo descrito por van Genuchten³⁵ para obtenção da curva de retenção de água no solo (Figura 1).

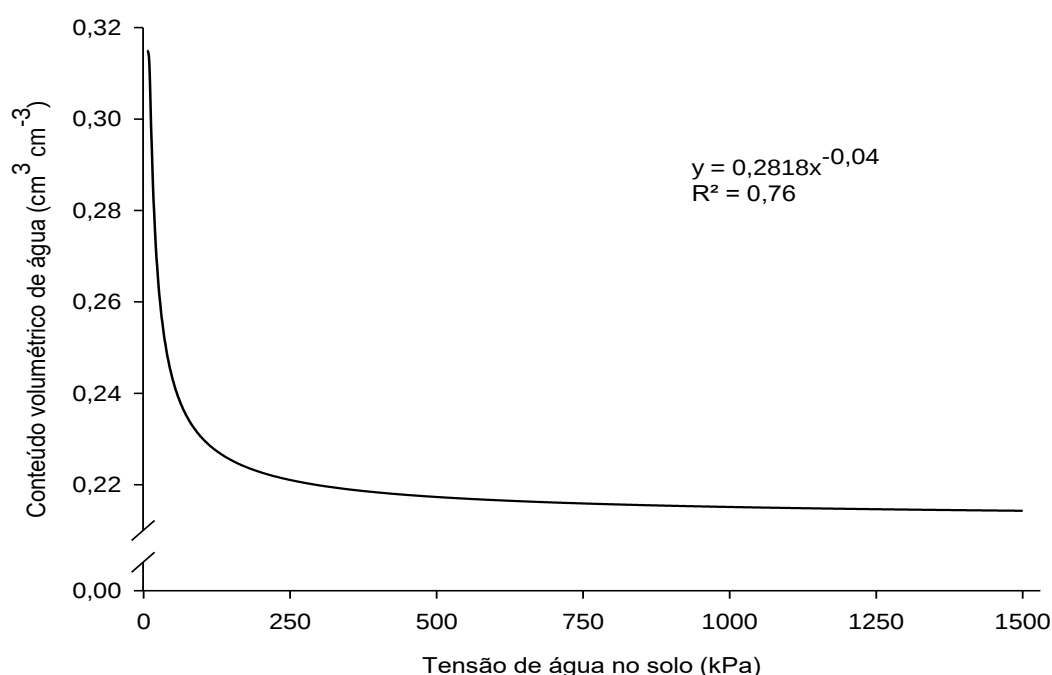


Figura 1. Curva de retenção de água no solo de um solo argiloso para profundidades de 0 a 20 cm gerada usando os parâmetros de van Genuchten³⁵. R^2 = coeficiente de determinação.

Após a aplicação de baixas doses de glyphosate, as plantas foram divididas em dois grupos com base no regime hídrico (tensão de água de -10 kPa) e déficit hídrico severo (-70 kPa). As leituras realizadas em tensímetro digital entre 08:00 e 09:00 h. Para aferição das leituras, foram instalados tensiômetros de punção em todos os vasos ao lado da planta a 10 cm de profundidade no solo, e a tensão da água foi medida diariamente por meio de um tensímetro (Sondaterra, Piracicaba, SP, Brasil). O primeiro grupo de plantas permaneceu em capacidade de campo, conforme descrito acima; enquanto no segundo grupo (plantas estressadas pela seca), a irrigação foi interrompida até a tensão de água alcançasse -70 kPa (o que levou ~ 3 dias), e as plantas foram mantidas nessa condição por 28 dias.

1.2.2 Variáveis de crescimento e desenvolvimento

Número de folhas (NF) e altura de plantas (AP) foram medidos aos 7, 14, 21 e 28 dias após o tratamento (DAT) (desde o início da fase vegetativa até o início da floração). Massa de matéria seca (MMS), área foliar (AF), floração, número de ramos (NR) e número de capítulos (NC) foram medidos apenas aos 28 DAT.

NF foi obtido contando o número de folhas por planta e AP foi medida com uma fita métrica da base até o ápice das plantas. AF foi determinada utilizando o medidor de área foliar (Li-COR Biosciences Inc.), e a MMS foi obtida ao final das avaliações com a coleta das plantas e secagem em estufa de circulação forçada de ar (330/5, Fanem) a 65 °C por 72 h, sendo então pesadas em balança com precisão de 0,001 g (AY220, Shimadzu). A floração foi medida por contagem dos dias até o aparecimento de flores (iniciando aos 20 DAT), enquanto que NR e NC foram contados durante a avaliação aos 28 DAT.

1.2.3 Variáveis fisiológicas

Os parâmetros de trocas gasosas tais como taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E) e concentração interna de CO₂ (C_i), eficiência do uso da água (EUA) e eficiência de carboxilação (EC) foram medidos aos 3, 7, 14, 21 e 28 DAT, utilizando um analisador de gás infravermelho portátil (Li-6400XT, Li-COR Biosciences Inc.). As medições ocorreram entre 09:00 e 11:30 h, utilizando a concentração atmosférica de CO₂, com temperatura e umidade ambiente e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) constante (1500 μmol fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). EUA foi calculado usando a razão A/E e EC usando a razão A/C_i .

1.2.4 Análises estatísticas

Os dados dos parâmetros de crescimento e desenvolvimento foram combinados em um único experimento, enquanto que os parâmetros fisiológicos foram avaliados separadamente, porque as variâncias foram diferentes estatisticamente ($p < 0,05$). As variáveis que não se ajustaram aos modelos de regressão foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) e comparadas pelo teste Scott-Knott ($\alpha = 0,05$). As curvas de dose-resposta foram modeladas usando o melhor ajuste de quatro equações com parâmetros biologicamente significativos buscando alta flexibilidade na modelagem. O procedimento NLMIXED do SAS foi usado para ajustar os valores Y_i ($i = NF, \dots, EUA$) como uma função não linear da dose (x) para a função monofásica de Streibig³⁶ (Equação 2), a função bifásica de Brain e Cousens³⁷ (Equação 3), a função de dose-resposta de Cedergreen et al.³⁸

(Equação 4), ou para o modelo exponencial utilizado por Mollaei et al.²⁸ (Equação 5) quando as primeiras não foram adequadas para descrever o comportamento:

$$E[Y|x] = c + ((d - c)/(1 + \exp(b * \ln(x/ED_{50})))) \quad (2)$$

$$E[Y|x] = c + (((d - c) + f * x)/(1 + \exp(b * \ln(x/e)))) \quad (3)$$

$$E[Y|x] = c + (((d - c) + (f * \exp(-1 / x^\alpha)))/(1 + \exp(b * \ln(x/e)))) \quad (4)$$

$$E[Y|x] = \theta * \exp(\beta * x) \quad (5)$$

onde $E[Y|x]$ representa a resposta média na dosagem x do herbicida glyphosate; c denota a resposta em doses infinitas; d é a resposta média do controle não tratado; f é o grau de aumento hormético; a e b determinam o tamanho da inclinação da curva antes e depois do efeito máximo de hormesis, respectivamente, e ED_{50} é a dose que causa 50% de inibição, enquanto o parâmetro e não possui significado biológico evidente.³⁸ Na Equação (5) θ é o intercepto e β é a inclinação.

Os modelos de hormesis foram ajustados para todos os conjuntos de dados que exibiram uma estimativa de f com intervalo de confiança de 95% (IC_{95}) que não contenha o zero ($f > 0$).^{39,40} O parâmetro α (Equação 4) foi predefinido para 0,25, 0,5 ou 1 e os ajustes do modelo com diferentes valores de α foram comparados e aquele com a menor soma residual foi escolhido, a fim de alcançar significância no parâmetro f .^{16,41}

Quando ambos os modelos (Equações 3 e 4) apresentaram $f > 0$ para o mesmo conjunto de dados, utilizou-se os critérios de seleção CIA (Critério de Informação Akaike), CIB (Critério de Informação Bayesiana) e QME (Quadrado Médio do Erro), e o modelo com valores mais baixo destes foi escolhido. A significância da hormesis foi validada pelo teste da razão de verossimilhanças aplicando o teste F ($\alpha = 0,05$), testando a diferença na soma de quadrados residual dos modelos ($RS_{Eq(2)} - RS_{Eq(3) \text{ ou } Eq(4)}$), esta diferença está associada a inclusão do parâmetro f . Isso equivale a testar as hipóteses:

H_0 : não existe efeito hormético ($f = 0$) *versus* H_a : existe efeito hormético ($f \neq 0$), ou seja, quando a hipótese H_0 não é aceita ($p < 0,05$) a Equação (3) ou Equação (4) foram usadas.

Embora o modelo original forneça parâmetros estimados diretamente, outras características quantitativas foram obtidas utilizando reparameterizações,^{39,40,42} ou seja, a resposta de estimulação máxima $y_{\max}$ na dose em que a hormesis é máxima (M), a dose que causa 10% de estimulação (ED_{110}), e a dose limitante para a estimulação (LDS), potência tóxica (ED_{50}/LDS), zona de dose hormética (LDS/ED_{110}) e $dist2$ (LDS/M), que é a distância entre a dose M e LDS. Os erros padrão para essas quantidades foram estimados pelo método delta.

Os valores iniciais para os parâmetros foram selecionados por inspeção gráfica dos dados para as variáveis resposta Y_i *versus* dose x . A variância da resposta foi estabilizada em cada dose usando a variância inversa das repetições como peso. Diferenças significativas entre os parâmetros e características quantitativas foram avaliadas por comparações dos valores estimados usando a declaração CONTRAST dentro procedimento NLMIXED do SAS, sempre que a mesma equação foi utilizada para comparar os diferentes níveis de regimes hídricos ao mesmo tempo de avaliação.

1.3 RESULTADOS

1.3.1 Características de crescimento e desenvolvimento de cártamo sob baixas doses de glyphosate em função do regime hídrico

As plantas controle sem estresse hídrico (-10 kPa) apresentaram maiores valores de NF, AP, MMS e AF em relação às plantas controle sob déficit hídrico (-70 kPa), que podem ser confirmados pelos valores d -estimados nos parâmetros de crescimento, ou seja, há evidências claras do efeito do estresse hídrico aplicado às plantas de cártamo, aos 28 DAT (Tabela 1 e 2). Hormesis significativa ($p < 0,05$) foi encontrada em 90% das 20 curvas de dose-resposta avaliadas para os parâmetros de crescimento. Após 14 dias, hormesis significativa foi observada para todas as variáveis-resposta de crescimento, independentemente do estresse hídrico.

Tabela 1. Parâmetros dos modelos de dose-resposta $\pm$ erro padrão da modelagem monofásica (Equação 2)³⁵ ou bifásica (Equação 3) ou (Equação 4)^{36,37} para número de folhas e altura de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 7, 14, 21 e 28 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$).

Variável		Número de folhas				Número de folhas			
Tensão hídrica		-10 kPa				-70 kPa			
Dias após tratamento	7	14	21	28	7	14	21	28	
Modelo	Equação (4)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	
Parâmetros									
c	4,1754 ± 0,6848	0,00 [#]	0,00 [#]	0,00 [#]	5,6423 ± 0,9525	0,00 [#]	0,00 [#]	0,00 [#]	
d	11,0960 ± 0,4984	16,8865 ± 0,5226	25,3340 ± 1,2038	33,9462 ± 0,9059	10,4952 ± 0,4903	12,6582 ± 0,4020	15,0367 ± 0,6280	16,8941 ± 0,8449	
f	1,9442 ± 0,9453	0,2273 ± 0,06007	0,5090 ± 0,1565	0,3666 ± 0,1134	0,3508 ± 0,1640	0,5238 ± 0,1137	0,7987 ± 0,2535	0,8446 ± 0,3528	
e	102,45 ± 21,0487	67,8376 ± 7,5334	61,8075 ± 9,6503	97,5792 ± 15,6477	34,2361 ± 10,3905	39,1407 ± 6,5608	26,8870 ± 6,4302	28,3469 ± 9,1464	
b	1,9494 ± 0,5977	2,7419 ± 0,2896	2,4914 ± 0,3244	2,4013 ± 0,2986	2,1846 ± 0,5269	1,6415 ± 0,0820	1,5088 ± 0,0765	1,4979 ± 0,0890	
ED ₅₀	126,7500 ± 30,4894	112,8691 ± 7,9994	128,1300 ± 14,7530	193,5800 ± 15,5230	137,6580 ± 49,2697	262,3300 ± 40,3638	228,9601 ± 45,3787	248,6700 ± 54,2187	
a	0,5 [#]	-	-	-	-	-	-	-	

Continua na próxima página...

Continuação...

Variável	Altura de planta [cm]				Altura de planta [cm]			
Tensão hídrica	-10 kPa				-70 kPa			
Dias após tratamento	7	14	21	28	7	14	21	28
Modelo	Equação (2)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)
Parâmetros								
c	8,7851 ± 0,9544	8,5765 ± 0,8762	0,00 [#]	0,00 [#]	10,1959 ± 1,4495	5,8547 ± 1,0723	0,00 [#]	0,00 [#]
d	26,5427 ± 0,5397	36,8377 ± 0,8916	46,6506 ± 1,7665	53,9265 ± 1,5916	25,4243 ± 0,6128	34,8947 ± 1,0224	38,2807 ± 1,0340	44,6168 ± 1,0214
f	-	0,7088 ± 0,1421	1,9481 ± 0,4043	1,8164 ± 0,4148	-	0,6549 ± 0,1840	1,0489 ± 0,1855	0,9483 ± 0,1870
e	-	53,1966 ± 4,9309	38,1928 ± 4,9051	40,4685 ± 6,0624	-	50,2511 ± 6,5524	47,0396 ± 4,4612	49,3491 ± 4,9290
b	2,1177 ± 0,3947	2,8650 ± 0,2937	2,0547 ± 0,1496	1,8759 ± 0,1249	2,6188 ± 0,7644	2,2465 ± 0,2753	2,3026 ± 0,1395	2,1291 ± 0,0901
ED ₅₀	108,3880 ± 13,9388	99,3198 ± 6,5136	125,1100 ± 14,8460	142,4100 ± 15,6878	108,5300 ± 25,8840	102,3200 ± 9,478	109,5300 ± 6,6549	112,5300 ± 5,5411
a	-	-	-	-	-	-	-	-

[#]Parâmetro fixado; ED₅₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa 50% de inibição calculada diretamente do modelo monofásico ou por reparametrização do modelo bifásico.

Tabela 2. Parâmetros do modelo de dose-resposta $\pm$ erro padrão da modelagem bifásica (Equação 3)³⁶ para massa de matéria seca e área foliar de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 28 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$).

Variável	Massa de matéria seca [g]		Área foliar [cm ²]	
Tensão hídrica	-10 kpa	-70 kpa	-10 kpa	-70 kpa
Modelo	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)
Parâmetros				
c	3,0729 $\pm$ 0,2300	0,6136 $\pm$ 0,1576	0,00 [#]	0,00 [#]
d	6,6983 $\pm$ 0,1433	3,4523 $\pm$ 0,100	397,5200 $\pm$ 9,7068	298,0800 $\pm$ 6,9087
f	0,08331 $\pm$ 0,02003	0,0906 $\pm$ 0,0284	10,7200 $\pm$ 1,8111	5,4300 $\pm$ 0,7353
e	56,8155 $\pm$ 5,2624	39,5855 $\pm$ 6,4742	49,7977 $\pm$ 4,8391	60,3915 $\pm$ 3,4555
b	3,3052 $\pm$ 0,6989	2,2379 $\pm$ 0,3281	2,1820 $\pm$ 0,1284	3,0410 $\pm$ 0,1699
ED ₅₀	94,2790 $\pm$ 9,9714	94,7400 $\pm$ 12,5964	128,7200 $\pm$ 9,4196	100,0800 $\pm$ 3,4450

[#]Parâmetro fixado; ED₅₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa 50% de inibição calculada por reparametrização do modelo bifásico.

O $y_{\max}$ médio nas plantas sem déficit hídrico foi de $131,44 \pm 9,36\%$ (média $\pm$ desvio padrão), em relação as plantas sem glyphosate (controle), com dose M = $27,40 \pm 9,54$ g e.a. ha^{-1} e LDS = $65,97 \pm 14,50$ g e.a. ha^{-1} , resultando em $\text{dist}2 = 2,4$ vezes, ou seja, a distância entre a dose M e LDS, com $\text{ED}_{50} = 127,91 \pm 28,96$ g e.a. ha^{-1} , com potência tóxica de 1,94 vezes. Nas plantas sob déficit hídrico (-70 kPa), o $y_{\max}$ médio foi de $131,81 \pm 6,32\%$ do controle, com dose M = $21,91 \pm 4,84$ g e.a. ha^{-1} e LDS = $60,27 \pm 11,30$ g e.a. ha^{-1} , com $\text{dist}2 = 2,75$ vezes, com $\text{ED}_{50} = 158,33 \pm 68,00$ g e.a. ha^{-1} , com potência tóxica de 2,63 vezes. Tais características quantitativas foram baseadas em todas as curvas que apresentaram hormesis.

A dose que proporcionou o máximo rendimento ($y_{\max}$) em plantas sem estresse hídrico variou de ~ 11 a 45 g e.a. ha^{-1} , enquanto que nas plantas sob déficit hídrico, o $y_{\max}$ variou de 15 a 24 g e.a. ha^{-1} . Outras características como, ED_{110} e zona de dose hormética não foram possíveis serem calculadas para os parâmetros de crescimento.

Quando observamos o comportamento das variáveis sob déficit hídrico, aos 28 DAT, a hormesis foi mais pronunciada para as variáveis AP e AF, as quais apresentaram $y_{\max}$ ($55,54 \pm 1,05$ cm; $412,18 \pm 8,78$ cm^2), similares às plantas do nível do controle sem estresse hídrico (-10 kPa), uma vez que as estimativas do parâmetro d ($53,93 \pm 1,59$ cm; $397,52 \pm 9,71$ cm^2) e $y_{\max}$ não apresentaram diferenças significativas e estavam dentro do IC_{95} (50,76 - 57,09; 378,20 - 416,84) (Tabelas S1 – S3).

Para características reprodutivas, as plantas sob déficit hídrico (-70 kPa) iniciou o florescimento, independente do tratamento com baixas doses de glyphosate, porém os valores médios foram menores que para as plantas em condições bem irrigadas de acordo com o teste Scott-Knott ($\alpha = 0,05$). Nas plantas que formaram capítulos, o NR médio foi de $3,13 \pm 0,83$ na baixa dose de 36 g e.a. ha^{-1} nas plantas sob déficit hídrico, que estava dentro da faixa de plantas controle sem déficit hídrico (IC_{95} 2,11 – 4,14). O maior valor médio de NC foi de $3,4 \pm 0,52$ na baixa dose de 36 g e.a. ha^{-1} das plantas com déficit hídrico, que estava abaixo do valor para plantas controle em boas condições hídricas (IC_{95} 3,705 – 4,795).

1.3.1.1 Plantas sem déficit hídrico (-10 kPa)

Para NF, o efeito hormético foi menos pronunciado aos 7 DAT, com $y_{\max}$ de $112 \pm 0,35\%$ do controle, enquanto que aos 14, 21 e 28 DAT a média do $y_{\max}$ foi de $131 \pm 6\%$ do controle. A maior dose de hormesis ocorreu aos 28 DAT com $M = 45,31 \pm 6,5$ g e.a. ha^{-1} e $\text{LDS} = 101,29 \pm 8,2$ g e.a. ha^{-1} , obtendo uma $\text{dist}2 = 2,2$ vezes, com $\text{ED}_{50} = 193,58 \pm 15,52$ g e.a. ha^{-1} (Tabela 1 e Figura 2A; Tabela S2).

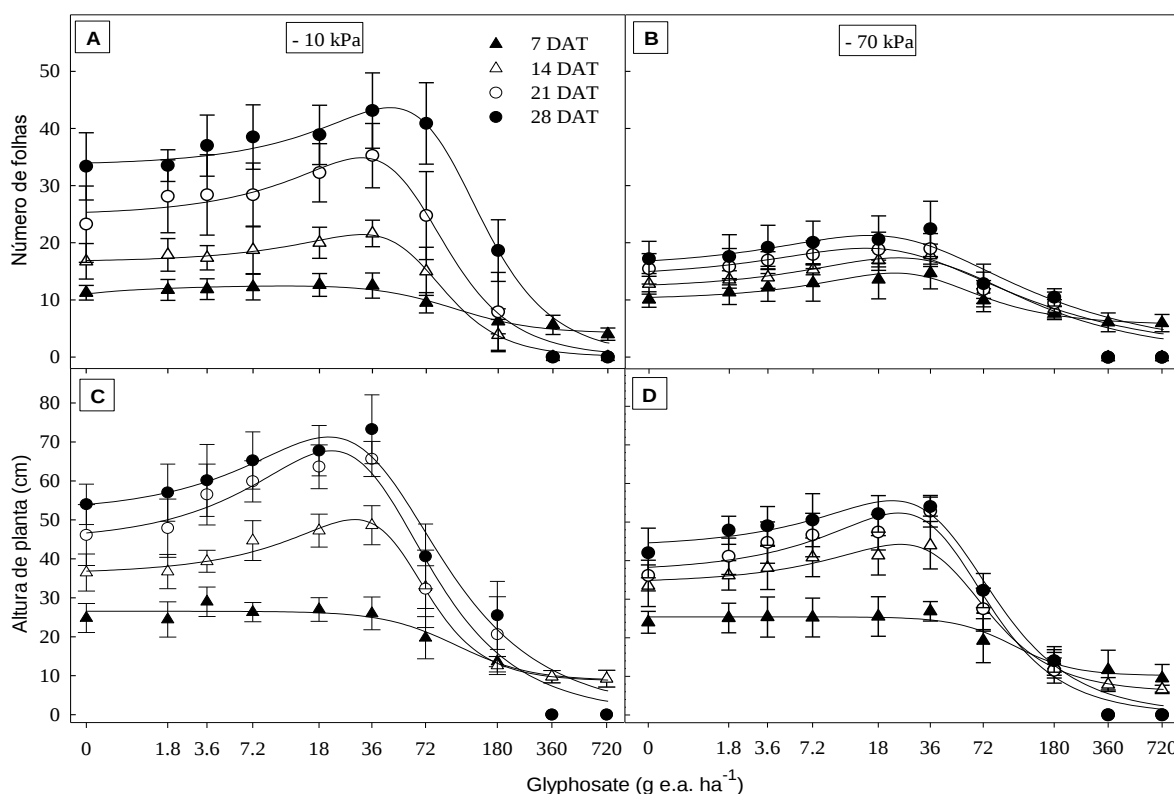


Figura 2. Efeitos da dose-resposta do glyphosate aos 7, 14, 21 e 28 dias após tratamento, para número de folhas (A, B) e altura de planta (C, D) em plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha^{-1}), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$). Dados são referentes às médias de oito repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão).

Não houve efeito hormético significativo para AP aos 7 DAT, e o maior $y_{\max}$ $145,21 \pm 7\%$ do controle foi obtido aos 28 DAT, em $M = 21,09 \pm 1,8$ g e.a. ha^{-1} e $\text{LDS} = 59,46 \pm 4$ g e.a. ha^{-1} , com $\text{dist}2 = 2,8$ vezes. Esta foi a maior distância alcançada entre os parâmetros de crescimento. O valor de ED_{50} de $125,11 \pm 14,8$ g e.a. ha^{-1} , enquanto que para as demais doses foi constatado em média, um $y_{\max}$ de $134 \pm 2,7\%$ do controle, aos 14 e 28 DAT (Tabela 1 e Figura 2C; Tabela S2).

MMS e AF foram significativas ao modelo de hormesis aos 28 DAT, aceitando a hipótese $f \neq 0$, indicando a ocorrência do efeito hormético em baixas doses de glyphosate. A MMS apresentou $y_{\max}$ de $127,55 \pm 4,5\%$ do controle, proporcionado pela dose $M = 31,76 \pm 3,8$ g e.a. ha^{-1} e $\text{LDS} = 63,78 \pm 3$ g e.a. ha^{-1} , com $\text{dist2} = 2$ vezes, e com valor de $\text{ED}_{50} = 94,3 \pm 10$ g e.a. ha^{-1} (Tabela 2 e Figura 3A; Tabela S3). Houve aumento para AF com $y_{\max}$ de $136,97 \pm 5,3\%$ do controle em $M = 25,31 \pm 1,9$ g e.a. ha^{-1} e $\text{LDS} = 63,90 \pm 3,7$ g e.a. ha^{-1} , com $\text{dist2} = 2,5$ vezes, com valor de ED_{50} de $128,72 \pm 9,4$ g e.a. ha^{-1} (Tabela 2 e Figura 3C; Tabela S3).

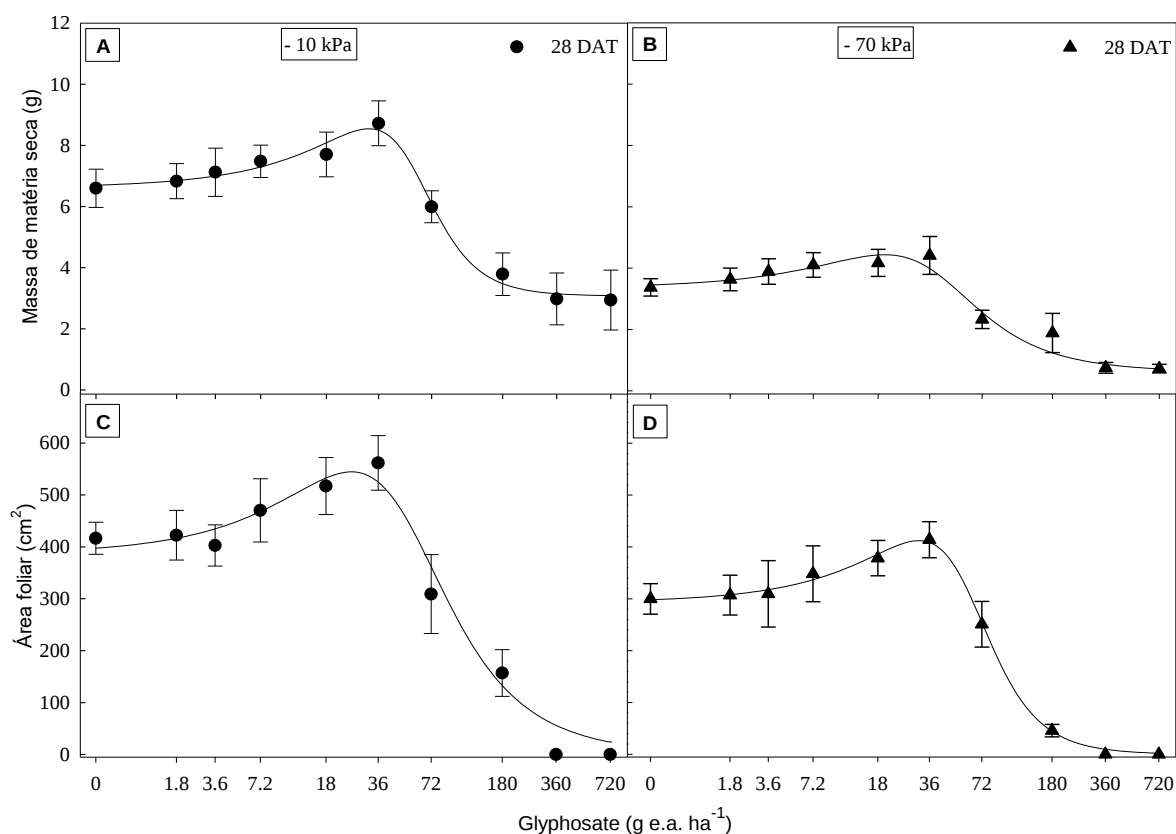


Figura 3. Efeitos da dose-resposta do glyphosate aos 28 dias após tratamento, para massa de matéria seca (A, B) e área foliar (C, D) em plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha^{-1}), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$). Dados são referentes às médias de oito repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão).

Durante a condução do experimento, a floração não foi observada nas plantas em regime hídrico adequado e que receberam baixas doses de glyphosate (Figura 4A).

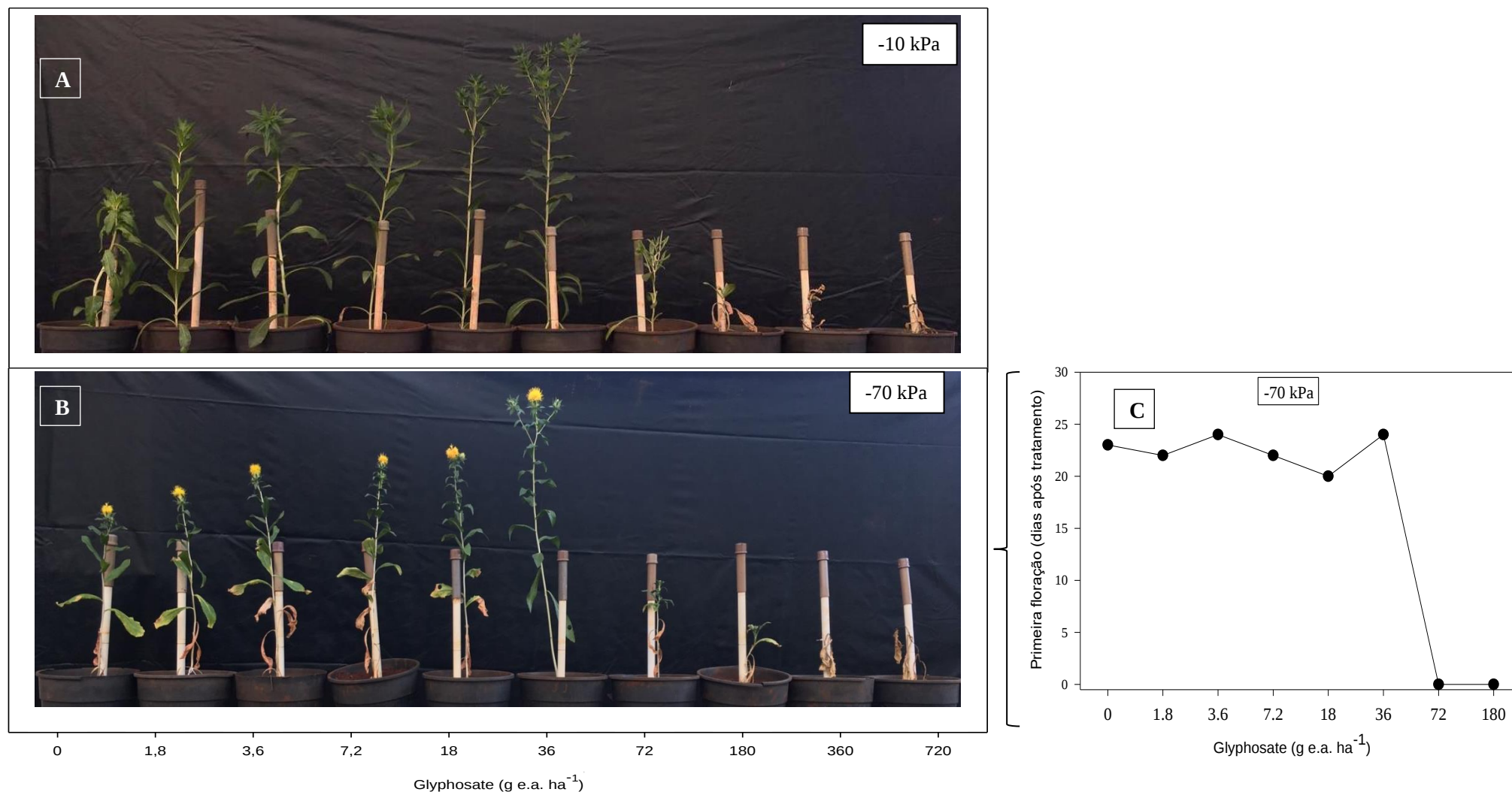


Figura 4. Dose-resposta de plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos, sem estresse hídrico (-10 kPa) (A) e com déficit hídrico (-70 kPa) (B), e número de dias para floração (C) aos 28 dias após os tratamentos. Plantas de *Carthamus tinctorius* submetidas a regimes hídricos em diferentes doses de glyphosate apresentaram efeito hormético entre as características de crescimento até esta fase de desenvolvimento, com início do florescimento em plantas sob déficit hídrico.

Não houve ajuste aos modelos de regressão (Equações 2 – 5) para os dados referentes ao NR e NC. Aos 28 DAT, sob tensão de -10 kPa as plantas apresentaram valores semelhantes de NR, na faixa de baixas doses de 0 a 18 g e.a. ha⁻¹. Houve aumentos de 1,8, 4,4 e 1,6 vezes nas plantas expostas às baixas doses de 36 a 180 g e.a. ha⁻¹, respectivamente, em relação ao controle (Tabela 3).

Tabela 3. Número de ramos e número de capítulos de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 28 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$).

Tensão hídrica	Número de ramos		Número de capítulos	
	-10 kpa	-70 kpa	-10 kpa	-70 kpa
Doses de glyphosate [g e.a. ha ⁻¹]				
0	3,13 cA	1,25 cB	4,25 bA	2,13 bB
1,8	3,25 cA	2,13 cB	4,63 bA	2,88 aB
3,6	4,00 cA	2,00 cB	4,75 bA	2,88 aB
7,2	3,75 cA	2,00 cB	4,75 bA	3,00 aB
18	3,75 cA	2,00 cB	4,88 bA	3,25 aB
36	5,50 bA	3,13 bB	6,63 aA	3,38 aB
72	13,75 aA	7,88 aB	0 cA	0 cA
180	5,00 bA	3,25 bB	0 cA	0 cA
360	-	-	-	-
720	-	-	-	-

-, não sobreviveu; Letras minúsculas nas colunas e letras maiúsculas nas linhas não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A mesma tendência do NR foi observada para NC, pois na faixa de doses de 0 a 18 g e.a. ha⁻¹, as plantas apresentaram médias semelhantes, enquanto nas baixas doses de 36 g e.a. ha⁻¹ houve aumento 1,6 vezes em relação ao controle. Plantas submetidas às baixas doses de 72 e 180 g e.a. ha⁻¹ não formaram capítulos, e aquelas sob as doses de 360 e 720 g e.a. ha⁻¹ morreram (Tabela 3).

1.3.1.2 Plantas sob déficit hídrico (-70 kPa)

Nas plantas sob déficit hídrico, aos 7 DAT, o maior $y_{\max}$ para NF foi de $140,53 \pm 9,8\%$ do controle, com reduções consecutivas aos 14, 21 e 28 DAT com média para o $y_{\max}$ de $130 \pm 6\%$ do controle. O menor NF foi constatado aos 28 DAT, com $\text{dist2} = 2,2$ vezes, provenientes do valor de $M = 15,86 \pm 3 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ e $\text{LDS} = 57,10 \pm 10 \text{ g e.a. ha}^{-1}$, com $\text{ED}_{50} = 248,67 \pm 54 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ (Tabela 1 e Figura 2B; Tabela S2).

Para AP, uma resposta similar das plantas sem déficit hídrico. Aos 7 DAT não houve efeito hormético significativo ($p > 0,05$), com aumento máximo constatado aos 21 DAT, sendo $y_{\max}$ $136,73 \pm 5\%$ do controle, com dose $M = 23,7 \pm 1,8 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ e $\text{LDS} = 57,16 \pm 3 \text{ g e.a. ha}^{-1}$, com $\text{dist2} = 2,4$ vezes, e com ED_{50} de $109,53 \pm 6,6 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ (Tabela 1 e Figura 2D; Tabela S2).

A MMS apresentou $y_{\max}$ de $128,50 \pm 6\%$ do controle, com dose $M = 19,62 \pm 3 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ e $\text{LDS} = 47,83 \pm 3 \text{ g e.a. ha}^{-1}$, e $\text{dist2} = 2,4$ vezes, com valor de $\text{ED}_{50} = 94,74 \pm 12,6 \text{ g e.a. ha}^{-1}$, sendo esta similar às plantas sem déficit hídrico (Tabela 2 e Figura 3B; Tabelas S1 e S2). Para AF, o aumento constatado com $y_{\max}$ foi de $138,28 \pm 4,8\%$ do controle com $M = 31,31 \pm 1,76 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ e $\text{LDS} = 63,28 \pm 2,51 \text{ g e.a. ha}^{-1}$, com $\text{dist2} = 2$ vezes, com valor de $\text{ED}_{50} = 100,08 \pm 3,4 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ (Tabela 2 e Figura 3D; Tabela S2).

O início do florescimento foi observado entre 20 a 25 DAT, sob tensão hídrica de -70 kPa, independente do tratamento com baixas doses de glyphosate (Figuras 4B, C).

NR em plantas sob tensão hídrica de -70 kPa e com as baixas doses de 0 a $18 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ foram iguais que as plantas controle, de acordo com o teste Scott-Knott, enquanto que sob as baixas doses de 36, 72 e $180 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ NR foi 2,5, 6,3 e 2,6 vezes maior do que o controle, respectivamente (Tabela 3).

Baixas doses de glyphosate de 1,8 a $36 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ apresentaram valores semelhantes, para o NC, sendo que o aumento máximo encontrado nessa faixa foi de 1,6 vezes maior que o controle. Para as baixas doses de 72 e $180 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ as plantas não apresentaram formação de capítulos, e nas doses subsequentes (a partir de $360 \text{ g e.a. ha}^{-1}$) foi observada morte das plantas (Tabela 3).

1.3.2 Características fisiológicas de cártamo sob baixas doses de glyphosate em função do regime hídrico

De acordo com a análise de variância, apenas as avaliações aos 3 e 7 DAT apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), para os parâmetros de trocas gasosas (A , g_s , E e C_i), EC e EUA, analisadas separadamente para cada experimento. Analisamos 40 das 48 avaliações fisiológicas utilizando os modelos descritos nas Equações (2) – (4), através das quais se constatou que 28% das curvas apresentaram hormesis significativa.

Considerando todas as curvas com hormesis para os experimentos sem déficit hídrico (-10 kPa), o $y_{\max}$ médio (média $\pm$ desvio padrão) foi $112,14 \pm 8,27\%$, com dose $M = 20,74 \pm 11,07$ g e.a. ha^{-1} e $LDS = 76,61 \pm 19,11$ g e.a. ha^{-1} , resultando em $dist2 = 3,7$ vezes, com $ED_{50} = 285,69 \pm 166,45$ g e.a. ha^{-1} , com potência tóxica de 3,7 vezes. Nas plantas sob déficit hídrico (-70 kPa), o $y_{\max}$ médio foi de $143,10 \pm 31,24\%$ do controle, com dose $M = 36,86 \pm 18,43$ g e.a. ha^{-1} e $LDS = 73,61 \pm 8,82$ g e.a. ha^{-1} , com $dist2 = 2$ vezes, com $ED_{50} = 105,81 \pm 27,40$ g e.a. ha^{-1} , com potência tóxica de 1,4 vezes, em que todas as curvas com hormesis dos experimentos foram consideradas.

Nas plantas sem estresse hídrico, a dose que proporcionou o máximo rendimento ($y_{\max}$) variou de um mínimo de 7 para ~ 41 g e.a. ha^{-1} , enquanto que nas plantas sob déficit hídrico os valores de mínimo e máximo foram 11 e 51 g e.a. ha^{-1} , respectivamente. Outras características como, ED_{110} e zona de dose hormética só foram significativas nos parâmetros fisiológicos dos experimentos com estresse hídrico.

A maioria das curvas de dose-resposta que apresentaram hormesis significativas foi proveniente das variáveis fisiológicas A e C_i que juntas representaram $\sim 73\%$ das curvas. Em plantas com déficit hídrico, a EC foi maior na maioria das curvas de dose-resposta, conforme evidenciado pela diferença significativa entre d -estimados dos diferentes regimes hídricos (Tabela S1).

Das curvas de dose-resposta que não apresentaram hormesis significativa nas plantas sem estresse hídrico, tiveram valor médio para $ED_{50} = 208,00 \pm 133,81$ g e.a. ha^{-1} , sendo esta a dose que causa 50% de inibição, já nas plantas sob

condições de déficit hídrico, foi constatada redução de 30% para ED_{50} ($ED_{50} = 146,90 \pm 93,88$ g e.a. ha^{-1}).

1.3.2.1 Plantas sem déficit hídrico (-10 kPa)

Um aumento nas taxas de A foi observado aos 3 DAT, com um y_{max} médio de $107,7 \pm 3,30\%$ em relação ao controle, com dose média de $M = 29,6 \pm 16,7$ g e.a. ha^{-1} e $LDS = 90,38 \pm 10,2$ g e.a. ha^{-1} , constatando $dist2 = 3$ vezes, com média de $ED_{50} = 213,8 \pm 104$ g e.a. ha^{-1} , e uma potência tóxica de 2,4 vezes (Tabela 4 e Figura 5A; Tabela S4).

Tabela 4. Parâmetros dos modelos de dose-resposta $\pm$ erro padrão da modelagem monofásica (Equação 2)³⁵ ou bifásica (Equação 3) ou (Equação 4)^{36,37} taxa de assimilação de CO₂ (*A*), condutância estomática (*gs*), taxa transpiratória (*E*) e concentração interna de carbono (*C_i*) de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 3 e 7 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa).

Dias após tratamento	3 DAT				7 DAT			
	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 1		Experimento 2	
	A				A			
Variável								
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (4)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (4)	Equação (2)
Parâmetros								
c	33,7749 ±	10,4222 ±	18,3338 ±	14,8468 ±	5,2264 ±	6,1059 ±	15,6465 ±	23,6693 ±
	2,5369	2,1829	0,9959	2,9478	0,5459	0,6492	3,9236	2,5546
d	49,0114 ±	20,9354 ±	28,1534 ±	32,6302 ±	22,6348 ±	21,4958 ±	38,8811 ±	38,2098 ±
	1,0342	0,5168	0,5260	0,8179	0,4613	0,5361	0,8289	0,7192
f	4,6098 ±		0,1048 ±				5,9714 ±	
	2,2225	-	0,0421	-	-	-	1,7109	-
e	230,26 ±		86,6953 ±				194,32 ±	
	49,7298	-	12,8890	-	-	-	55,0161	-
b	1,7632 ±	1,9119 ±	2,8776 ±	2,1349ns	2,7804 ±	2,3996 ±	1,1621 ±	1,3646 ±
	0,4167	0,8490	0,5890		0,5941	0,4718	0,2294	0,5140
ED ₅₀	287,0200 ±	245,4700 ±	140,2700 ±	250,1300 ±	108,9100 ±	108,8900 ±	272,8900 ±	200,1400 ±
	69,1447	72,9915	22,6403	51,6631	9,9002	13,7615	87,7919	62,4088
a	0,25#	-	-	-	-	-	0,5#	-

Continua na próxima página...

Continuação...

Variável	E				E			
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (2)	Equação (4)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (2)
Parâmetros								
c	1,4799ns	3,0897 ± 0,3795	2,7082 ± 0,3108	2,3199 ± 0,8942	1,5328 ± 0,1800	0,9923 ± 0,772	1,2267 ± 0,3128	1,1294ns
d	8,4904 ± 0,1619	7,1180 ± 0,2080	7,0624 ± 0,1023	7,0060 ± 0,3067	8,9738 ± 0,1595	5,5780 ± 0,0775	6,8533 ± 0,2374	4,8691 ± 0,2201
f	-	2,6810 ± 0,6537	-	-	-	-	0,1312 ± 0,0494	-
e	-	88,0426 ± 12,9617	-	-	-	-	45,3235 ± 7,9231	-
b	2,3787 ± 0,9652	1,6936 ± 0,3246	1,8330 ± 0,3385	2,0651ns	3,6304 ± 0,7477	1,8768 ± 0,2288	2,3154 ± 0,2910	0,8106 ± 0,2433
ED ₅₀	413,1900 ± 143,02	141,1300 ± 18,0497	189,1500 ± 26,1044	163,4800 ± 21,6817	89,9011 ± 5,7018	74,6185 ± 4,9981	93,6463 ± 10,7045	106,54ns
a	-	0,5 [#]	-	-	-	-	-	-

Continua na próxima página...

Continuação...

Variável	<i>gs</i>				<i>gs</i>			
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (2)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)
Parâmetros								
c	0,00 [#]	0,1447 ± 0,0128	0,00 [#]	0,04852 ± 0,0054	0,0403 ± 0,0073	0,04209 ± 0,0065	0,04101 ± 0,00566	0,03808 ± 0,0065
d	0,4277 ± 0,0070	0,4130 ± 0,005	0,3776 ± 0,0115	0,2911 ± 0,0077	0,4842 ± 0,0095	0,2461 ± 0,0037	0,1997 ± 0,003016	0,1092 ± 0,0032
f	-	-	0,0122 ± 0,0038	-	-	-	-	-
e	-	-	43,0548 ± 9,4750	-	-	-	-	-
b	2,0463 ± 0,2894	12,6837ns	1,4904 ± 0,0268	5,2126 ± 1,4580	6,7107ns	24,0011ns	5,6323 ± 1,5071	4,6753ns
ED ₅₀	434,9100 ± 31,7136	81,8460 ± 38,9293	376,4300 ± 32,0271	59,9750 ± 3,3966	80,4293 ± 9,0451	72,7965 ± 14,5512	123,1200 ± 13,7659	85,1708 ± 24,0257
a	-	-	-	-	-	-	-	-

Continua na próxima página...

Continuação...

Variável	C_i				C_i			
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (2)	Equação (4)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (4)	Equação (2)	Equação (4)	Equação (4)
Parâmetros								
c	-65,5901 ± 3,3665	-95,8308 ± 4,0541	-93,9657 ± 4,5836	-73,7973 ± 2,3588	118,31 ± 9,3603	87,9795 ± 4,2000	39,3619ns	91,2090 ± 2,1514
d	87,8290 ± 1,3850	142,09 ± 9,9690	137,24 ± 2,6049	84,1217 ± 2,5280	223,39 ± 2,7429	197,94 ± 3,7819	221,76 ± 1,7128	170,51 ± 3,4947
f	-	85,8041 ± 17,7335	-	1,6447 ± 0,2150	20,2096 ± 6,2997	-	28,3217 ± 5,1476	26,4130 ± 8,4288
e	-	100,80 ± 7,1866	-	79,6859 ± 2,4277	208,83 ± 15,7625	-	4,9360 ± 2,1927	74,6010 ± 35,6877
b	9,4676 ± 3,3552	5,9474 ± 1,0555	6,0622 ± 0,5935	5,8796 ± 1,3076	2,4284 ± 0,4848	3,4291 ± 1,2610	1,1876 ± 0,2097	18,0364ns
ED ₅₀	283,0500 ± 25,2288	110,2100 ± 8,2470	258,0700 ± 9,1593	96,0634 ± 6,6089	232,4800 ± 22,1461	72,7971 ± 6,1148	597,1100 ± 262,2300	75,9804 ± 16,3544
a	-	0,7481 ± 0,3367	-	-	0,25 [#]	-	0,25 [#]	0,25 [#]

Dados dos dois experimentos independentes (exp.1 e exp.2); ns: não significativo; #parâmetro fixado; ED₅₀ [g e.a. ha⁻¹]= dose que causa 50% de inibição calculada diretamente do modelo monofásico ou por reparametrização dos modelos bifásicos.

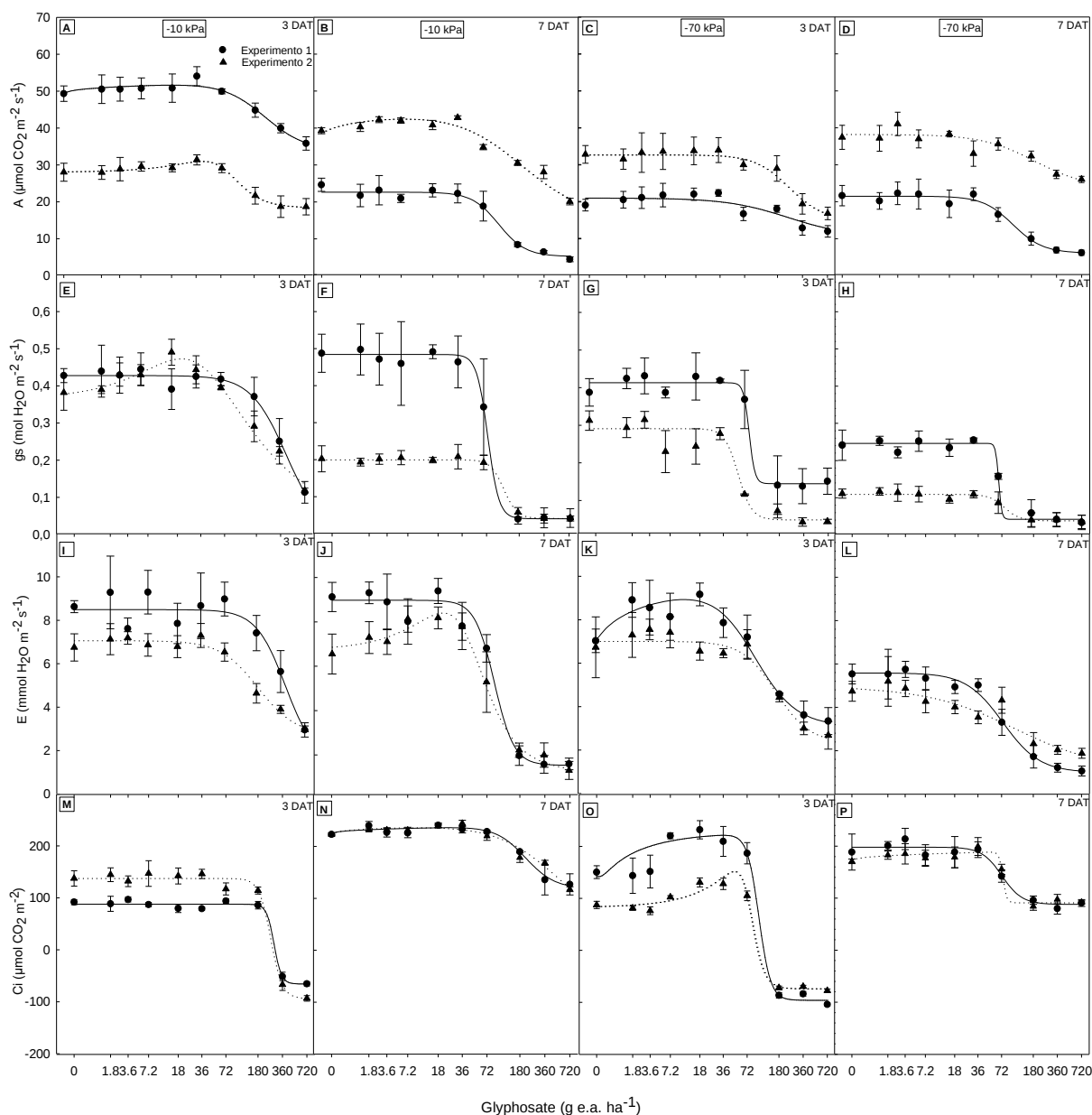


Figura 5. Efeitos da dose-resposta do glyphosate aos 3 e 7 dias após tratamento, taxa de assimilação de CO_2 (A) (A–D), condutância estomática (g_s) (E–H), taxa transpiratória (E) (I–L) e concentração interna de carbono (C_i) (M – P) em plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha^{-1}), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados são referentes a média de dois experimentos independentes (exp.1 e exp.2) de quatro repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão).

Aos 7 DAT, as respostas da taxa de A para diferentes doses de glyphosate variaram entre os experimentos, sem efeito hormético no experimento 1, com $\text{ED}_{50} = 108,9 \pm 9,9$ g e.a. ha^{-1} , enquanto que no experimento 2, o efeito hormético foi pronunciado, sendo constatado y_{max} de $109,9 \pm 2,7\%$ em relação ao controle, $M = 7,84 \pm 1,7$ g e.a. ha^{-1} e $\text{LDS} = 53,7 \pm 11$ g e.a. ha^{-1} , com $\text{dist2} = 7$ vezes da maior

dose, com $ED_{50} = 272,9 \pm 87,8$ g e.a. ha^{-1} de glyphosate, e uma potência tóxica de 5 vezes, de modo que as plantas requeriam uma dose maior de glyphosate para inibir 50% nas taxas de *A* (Tabela 4 e Figura 5B; Tabela S.4).

Não houve efeito hormético em *gs* aos 3 DAT, no experimento 1, com $ED_{50} = 434,91 \pm 31,72$ g e.a. ha^{-1} de glyphosate. Efeito hormético foi observado no experimento 2, com aumento em relação ao controle de y_{max} de $125,16 \pm 6,5\%$, com dose $M = 23,6 \pm 2,2$ g e.a. ha^{-1} e $LDS = 84,4 \pm 7,1$ g e.a. ha^{-1} , apresentando $dist2$ 3,6 vezes. Aos 7 DAT, sob mesma tensão hídrica, não houve efeito hormético em ambos os experimentos, os quais apresentaram ED_{50} de $101,77 \pm 30,2$ g e.a. ha^{-1} de glyphosate, sendo a dose que causa 50% de inibição superior nas plantas hidratadas em relação aos dados das plantas sob estresse hídrico (Tabela 4 e Figura 5E,F; Tabela S4).

Aos 3 DAT, a dose que causou redução de 50% para *E* foi, em média, $301,2 \pm 158,4$ g e.a. ha^{-1} , para os experimentos 1 e 2. Aos 7 DAT, as plantas apresentaram menor tolerância ao glyphosate, com $ED_{50} = 91,75 \pm 2,62$ g e.a. ha^{-1} , entre os experimentos. O efeito hormético foi pronunciado no experimento 2, com $y_{max} = 122,6 \pm 6\%$ em relação ao controle, $M = 20,7 \pm 3$ g e.a. ha^{-1} e $LDS = 47 \pm 4$ g e.a. ha^{-1} , com $dist2 = 2,2$ vezes, com potência tóxica de 2 vezes (Tabela 4 e Figura 5I,J; Tabela S4).

Com relação a *C_i* avaliado aos 3 DAT, não foi constatado efeito hormético, para ambos experimentos, os quais juntos obtiveram $ED_{50} = 270 \pm 18$ g e.a. ha^{-1} . Aos 7 DAT, foi observado ajuste ao modelo de hormesis, nos experimentos 1 e 2, obtendo-se a média do y_{max} de $106 \pm 0,7\%$ de controle, com valor de $M = 17 \pm 10$ g e.a. ha^{-1} e $LDS = 85 \pm 11$ g e.a. ha^{-1} , obtendo uma $dist2 = 5$ vezes, com valor para $ED_{50} = 415 \pm 258$ g e.a. ha^{-1} , e potência tóxica de 5 vezes (Tabela 4 e Figura 5M,N; Tabela S4).

Não houve efeito hormético significativo para *EC*, em ambos os experimentos, aos 3 e 7 DAT. Observamos graficamente que a curva se manteve constante até a dose de 180 g e.a. ha^{-1} , notamos ainda que embora o modelo simples tenha apresentado convergência, as informações como ED_{50} não foram significativas para a maioria dos dados, sendo significava apenas aos 7 DAT, no experimento 1 (Tabela 5 e Figura 6A,B).

Tabela 5. Parâmetros dos modelos de dose-resposta $\pm$ erro padrão da modelagem monofásica (Equação 2)³⁵ ou modelo exponencial (Equação 5)²⁷ eficiência de carboxilação (EC) e eficiência do uso da água (EUA) de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 3 e 7 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa).

Dias após tratamento	3 DAT				7 DAT			
	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 1		Experimento 2	
Variável	EC				EC			
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)
Parâmetros								
c	-0,5832 ± 0,02306	-0,1820 ± 0,0095	-0,2331 ± 0,01422	-0,2783 ± 0,02172	0,03835 ± 0,0033	0,0657 ± 0,0131	0,1589 ± 0,0013	0,1696 ± 0,0042
d	0,5742 ± 0,1385	0,1126 ± 0,0046	0,2151 ± 0,0064	0,3188 ± 0,01308	0,00964 ± 0,0019	0,1107 ± 0,0029	0,1734 ± 0,0010	0,2152 ± 0,0029
b	26,7498ns	15,0474ns	22,0042ns	20,5617ns	3,4939 ± 1,1169	3,4509ns	51,5509ns	18,3784 ± 2,6287
ED ₅₀	202,1900ns	85,0630ns	205,2200ns	82,8076ns	99,2505 ± 14,5902	347,4300 ± 85,5053	53,4988ns	162,8400ns
EUA								
EUA								
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (5)	Equação (5)	Equação (5)	Equação (5)	Equação (5)	Equação (5)	Equação (5)	Equação (5)
Parâmetros								
θ	5,9502 ± 0,1343	2,6439 ± 0,0735	4,2060 ± 0,0760	4,9807 ± 0,1713	2,6508 ± 0,0815	4,2070 ± 0,1247	5,5628 ± 0,2468	8,9747 ± 0,2947
β	0,000896 ± 0,000094	0,00043 ± 0,00009	0,000533 ± 0,000062	0,0001547 ± 0,000102	0,000725 ± 0,000088	0,00054 ± 0,000083	0,001636 ± 0,000107	0,000801 ± 0,000106

Dados dos dois experimentos independentes (exp.1 e exp.2); ns: não significativo; ED₅₀ [g e.a. ha⁻¹]= dose que causa 50% de inibição calculada diretamente do modelo monofásico.

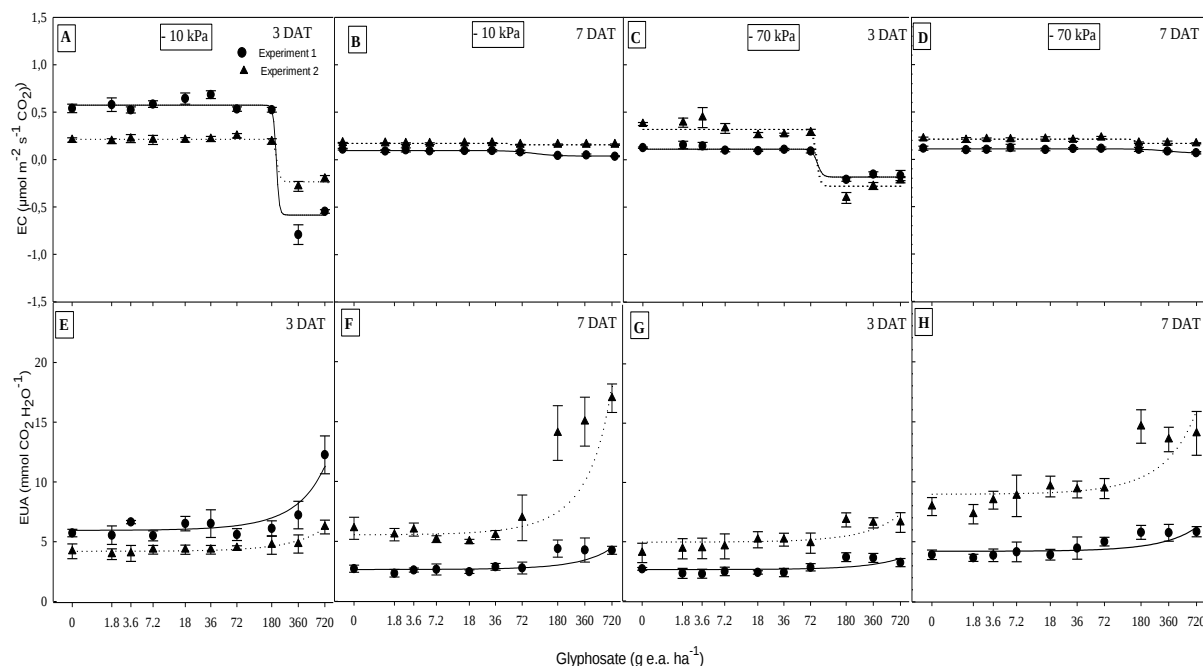


Figura 6. Efeitos da dose-resposta do glyphosate aos 3 e 7 dias após tratamento, eficiência de carboxilação (EC) (A–D) e eficiência do uso da água (EUA) (E–H) em plantas de *Carthamus tinctorius* tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados são referentes à média de dois experimentos independentes (exp.1 e exp.2) de quatro repetições por tratamento (média ± desvio padrão).

Ajuste do modelo exponencial foi verificado para EUA, aos 3 e 7 DAT, seguindo a mesma tendência apresentando grandes aumentos nas maiores doses de glyphosate. Aos 3 DAT, aumentos foram verificados para a maior dose de glyphosate (720 g e.a. ha⁻¹) de aproximadamente 111 e 48,2% em relação ao controle, nos experimentos 1 e 2, respectivamente. Na avaliação realizada aos 7 DAT, aumentos foram observados de 93,4 e 280,5% entre a maior dose e o controle nos experimentos 1 e 2, respectivamente (Tabela 5; Figura 6E,F).

1.3.2.2 Plantas sob déficit hídrico (-70 kPa)

Sob estresse hídrico severo, as taxas de *A* não apresentaram efeito hormético. Aos 3 DAT o valor médio da ED₅₀ = 247,8 ± 3,3% do controle; enquanto que aos 7 DAT a média da ED₅₀ = 154,5 ± 64,5 g ha⁻¹ (Tabela 4 e Figura 5C,D; Tabela S4).

Sob estresse hídrico, os valores de gs foram inferiores às plantas hidratadas, nos experimentos 1 e 2, sendo a dose média $ED_{50} = 70,9 \pm 15,5$ e $78,9 \pm 8,75$ g e.a. ha^{-1} , aos 3 e 7 DAT, respectivamente (Tabela 4 e Figura 5G,H; Tabela S4).

Para as taxas de E , os valores de ED_{50} das plantas com estresse hídrico foram menores quando comparado às plantas bem irrigadas. Houve efeito hormético nas taxas de E aos 3 DAT, com incremento de y_{max} $125,4 \pm 6,5\%$ do controle, com $M = 11 \pm 2,9$ g e.a. ha^{-1} e $LDS = 64,3 \pm 10$ g e.a. ha^{-1} , e distância de 5,8 vezes, com $ED_{50} = 141 \pm 18$ g e.a. ha^{-1} , apresentando potência tóxica de 2 vezes, com ED_{110} de $0,278 \pm 0,09$ g e.a. ha^{-1} , e zona de dose hormética de $230,90 \pm 93,74$ vezes, constatado no experimento 1. Já no experimento 2, a $ED_{50} = 163,5 \pm 21,7$ g e.a. ha^{-1} . Aos 7 DAT, a dose $ED_{50} = 74,6 \pm 5$ g e.a. ha^{-1} obtida no experimento 1, enquanto no experimento 2 não foi significativa (Tabela 4 e Figura 5K,L; Tabela S4).

Efeito hormético foi observado para C_i , aos 3 DAT, em ambos os experimentos, que produziu, em média, y_{max} $168 \pm 17\%$ do controle, com dose $M = 43 \pm 10$ g e.a. ha^{-1} e $LDS = 80,5 \pm 50$ g e.a. ha^{-1} , e $dist2 = 2$ vezes, com valor para $ED_{50} = 103 \pm 10$ g e.a. ha^{-1} , com potência tóxica de 1,3 vezes, a dose que causou 10% de estímulo foi de $0,72 \pm 0,25$ g e.a. ha^{-1} , com zona de dose hormética de $117,73 \pm 42,15$ g e.a. ha^{-1} . Aos 7 DAT, a dose de ED_{50} para C_i apresentou valor médio entre os experimentos de $74,4 \pm 2,25$ g e.a. ha^{-1} , enquanto que no experimento 2, houve ajuste ao modelo hormético, com incremento em y_{max} $110,6 \pm 3,6\%$ em relação ao controle, com dose $M = 50,8 \pm 16,8$ g e.a. ha^{-1} e $LDS = 69 \pm 11,7$ g e.a. ha^{-1} , com $dist2 = 1,3$ vezes e potência tóxica de 1,1 vezes (Tabela 4 e Figura 5O,P; Tabela S4).

EC nas plantas estressadas manteve a mesma tendência entre os experimentos aos 3 e 7 DAT, com taxas de EC mais baixas sendo evidenciada apenas aos 3 DAT no experimento 1 em relação as plantas sem estresse hídrico, conforme verificado pelos valores d -estimados (Tabela 5 e Figura 6C,D).

Para EUA, houve aumento de até 55% e 72% verificados para a maior dose (720 g e.a. ha^{-1}) aos 3 DAT, nos experimentos 1 e 2, respectivamente, em relação ao controle. Já nas plantas avaliadas aos 7 DAT, aumentos de 69,7% e 101% foram constatados na dose de 720 g e.a. ha^{-1} nos experimentos 1 e 2, respectivamente, quando comparado ao controle (Tabela 5 e Figura 6G, H).

1.4 DISCUSSÃO

A hormesis de glyphosate foi mais pronunciada e consistente nos parâmetros de crescimento, mas não consistente nos parâmetros fisiológicos. Observamos que o déficit hídrico resultou em redução nos parâmetros de crescimento e desenvolvimento, principalmente, em plantas não tratadas com baixas doses de glyphosate. Mollaei et al.³² afirmaram que o efeito do déficit hídrico no crescimento e desenvolvimento das plantas é uma das principais preocupações relacionadas às mudanças climáticas.

Há evidências de melhorias no crescimento e desenvolvimento de plantas sob déficit hídrico após condicionamento por tratamento com baixas doses de glyphosate.^{14,27,31,32,43} Esses autores propuseram que a inibição da EPSPS por baixas doses de glyphosate pode conferir maior elasticidade às paredes celulares, diminuindo preferencialmente a biossíntese de lignina, permitindo um aumento no alongamento celular. Nossos resultados comprovam que a hormesis de glyphosate em plantas condicionadas ao déficit hídrico pode ser um importante fator agrônomo. As melhorias em plantas tratadas com baixas doses de glyphosate devem-se aos aumentos em AP e AF, que atingiram níveis próximos às plantas controle sem déficit hídrico.

É provável que o estresse hídrico aplicado tenha sido severo o suficiente para não permitir o aumento da MMS ao nível do controle das plantas sem estresse hídrico. Este fato pode ser explicado pelo maior desenvolvimento do sistema radicular das plantas controle em condições bem irrigadas, visto que em relação a parte aérea, as plantas atingiram valores semelhantes da altura das plantas controle. Sob estresse severo e/ou condições de crescimento desfavoráveis, às plantas podem não ser capazes de compensar totalmente o estresse no mesmo nível que o controle não tratado.⁴⁴

Em nossa pesquisa, relatamos que o $y_{\max}$ médio para os parâmetros de crescimento, independente das condições hídricas das plantas, atingiu ~ 131% do controle. No entanto, as plantas com déficit hídrico requerem uma menor dose de glyphosate para atingir o crescimento e desenvolvimento máximo ($M = 21,91 \pm 4,84$ g e.a. ha⁻¹). O estímulo máximo encontrado por Belz¹⁶ em plantas de *Chenopodium album* tratadas com baixas doses de metamitron foi de 120% até 149% do controle, com aumento gradual com o aumento da dose hormética, incrementando o

crescimento vegetativo. Em outro estudo, Silva et al.⁷ relataram estímulos de até 85% para MMS de cana-de-açúcar com aplicação de baixas doses de 1,8 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate. Da mesma maneira, Moraes et al.¹³ relataram aumentos de 30 e 24% em MMS da parte aérea quando comparados ao controle, em dois experimentos, sendo o estímulo promovido pelas baixas doses de 11,25 g e.a. ha⁻¹. Bortolheiro et al.¹⁴ encontraram estímulos de 24% na MMS quando as plantas foram submetidas a baixa dose de 36 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate.

A absorção de baixas doses de glyphosate pode variar de acordo com as condições hídricas da planta. As plantas podem exigir maiores doses de glyphosate quando está sob condições de déficit hídrico, sendo este efeito devido à capacidade de translocação do herbicida na planta.^{28,32} A dose hormética para a estimulação nas plantas sob déficit hídrico foi em média menor ($60,27 \pm 11,30$ g e.a. ha⁻¹), e desapareceu em doses superiores a $83,01 \pm 7,14$ g e.a. ha⁻¹, no entanto, dist2, ED₅₀ e potência tóxica foram maiores que as plantas sem déficit hídrico. Na literatura a potência tóxica é uma resposta intimamente relacionada ao rendimento máximo, a dist2 indica uma maior magnitude de hormesis e também uma faixa hormética mais ampla para as respostas estimulatórias.⁴²

A hormesis observada pelas baixas doses de glyphosate administradas em plantas sem déficit hídrico foram suficientes para aumentar a biomassa, mas não para influenciar a reprodução (Figura 4). Isso indicou que o florescimento das plantas foi influenciado pelo déficit hídrico durante o estágio vegetativo e não, necessariamente, por baixas doses de glyphosate.

O início do florescimento ocorreu em plantas sob condições de déficit hídrico severo, conforme evidenciado pela floração em doses de até 36 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate (Figura 4B). O estresse causado pela seca induz ao acúmulo de carboidratos,⁴⁵ que pode estar relacionada ao início do florescimento.⁴⁶ Alguns pesquisadores relatam o início da floração em plantas tratadas com glyphosate,^{47,48} porém nossos resultados evidenciam que início da floração está mais relacionado à deficiência hídrica.

Quando observamos os parâmetros fisiológicos, constatamos que a ocorrência de hormesis nas taxas de A ocorreu apenas nas plantas sem déficit hídrico, com relações dose-reposta variáveis entre os períodos das avaliações e dos experimentos. O $y_{\max}$ atingiu valores de até $110,05 \pm 3,42\%$ do controle. Tais taxas

de aumento foram capazes de aumentar a biomassa em torno de 30%, com uma dose limite de estimulação de até $97,59 \pm 24,68$ g e.a. ha⁻¹. Embora o glyphosate não atue diretamente sobre *A*, baixas doses de glyphosate podem causar estímulo de *A*, mesmo que os mecanismos por trás desse aumento não sejam bem compreendidos.¹⁹

Como g_s e *E* foram reduzidos em plantas de *C. tinctorius*, taxas de *A* foram mantidas sob condições de déficit hídrico, conforme demonstrado pelo acúmulo de *C_i* nas folhas, atingindo y_{max} de até $180,5 \pm 11,72\%$ do controle, apresentando ganho de biomassa. Por exemplo, AP e AF, apresentaram valores de y_{max} semelhantes às plantas sem estresse hídrico. Maior concentração de *C_i* na planta permite o normal funcionamento do ciclo de Calvin e reduz a fotorrespiração.⁸

O regime hídrico severo aplicado nas plantas de *C. tinctorius* durante a fase de crescimento vegetativo diminuiu a g_s aos 7 DAT com relação aos 3 DAT (Figuras 5H,L), com uma resposta eficiente para evitar a perda de água por *E*.⁴⁹ Alterações metabólicas e morfológicas relacionadas à aclimação à seca ajudam as plantas na prevenção de danos permanentes.²⁴ Esses mecanismos podem ser estimulados nas plantas através de tratamentos com baixas doses de glyphosate, que aumentam a tolerância a estresses abióticos.³¹ Tal capacidade de regulação pode ter permitido que a planta mantivesse ou aumentasse seu metabolismo em condições de estresse hídrico, resultando em aumento de biomassa.

A caracterização do fenômeno de hormesis envolve várias características importantes, além das mencionadas anteriormente, tais como ED₁₁₀ e zona de dose hormética. Em nossa pesquisa, tivemos problemas com a estimativa da ED₁₁₀, pois estava menor ou muito próximo da estimativa de y_{max} , apresentando intervalos de confiança muito amplos, o que indica baixa precisão.⁴² As poucas vezes que conseguimos calcular o intervalo da zona de dose hormética, constatamos que ultrapassou 100 vezes, como em *E* ($230,90 \pm 93,74$ vezes) e *C_i* ($117,73 \pm 42,15$ vezes), que ficaram acima dos resultados encontrados por Calabrese e Blain⁵⁰.

As baixas doses de glyphosate alteram as reações bioquímicas. A eficiência de *A* aumenta,^{12,19} gerada pela concentração de *C_i* que atinge o estroma do cloroplasto. Isso resulta em maior EC pela ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (RuBisCo), mantendo níveis de *A*, e consequentemente, maior eficiência em taxas de EUA, devido à redução em *E*.

Baixas doses de glyphosate permitiram que as plantas superassem o estresse severo, e evitassem a perda excessiva de água.^{31,32} Plantas tratadas com doses elevadas de glyphosate (>72 g e.a. ha^{-1}), apresentaram redução da E tanto aos 3 quanto aos 7 DAT, e os estômatos tendiam fechar durante o déficit hídrico (-70 kPa), para manter a hidratação. Contudo, apesar desse mecanismo de tolerância, as plantas não foram capazes continuar a sobreviver, devido à combinação de estresses causados por doses tóxicas de glyphosate e por falta de água. Isso indica um falso EUA dos tratamentos no ajuste ideal para um mecanismo de economia de água sob condições estressantes.

Altos valores na EUA indicam uma relação eficiente entre A e E em plantas que são capazes de manter uma relação equilibrada entre economizar água e manter o metabolismo,⁵¹ representado pela razão de MMS produzida por grama de água transpirada.²⁴ Na verdade, a EUA foi maior em plantas tratadas com baixas doses, indicando um gs eficaz na manutenção do teor de água adequado, mesmo em plantas com estresse hídrico.

Portanto, o ajuste encontrado entre os tratamentos que receberam as baixas doses de glyphosate revelou valores adequados de EUA, permitindo a planta manter seu metabolismo a ponto de aumentar o crescimento. Neste estudo, os dados para EUA apresentaram ajuste exponencial como modelo, embora este não seja um desempenho comum, pois em baixas doses >72 g e.a. ha^{-1} as plantas apresentaram valores elevados para a EUA, que não necessariamente mostraram eficiência devido à morte das plantas. Relatos semelhantes foram publicados por Silva et al.⁸, Santaniello et al.²⁴ e Picoli-Junior et al.⁵¹, mas todos os resultados foram obtidos em condições hídricas ideais.

Em termos práticos, nossos resultados indicam que baixas doses de glyphosate podem, de alguma forma, atenuar alguns efeitos adversos causados pelo déficit hídrico nas plantas, atuando como um estímulo compensatório durante o crescimento e desenvolvimento das plantas. Esse efeito provoca aumentos na biomassa e na produtividade, chegando a valores próximos ou iguais aos das plantas sem estresse hídrico.

1.5 CONCLUSÕES

Nossos resultados sugerem que baixas doses de glyphosate podem reduzir os efeitos do estresse hídrico em plantas de *C. tinctorius*, permitindo que as plantas preservem o metabolismo normal em condições de déficit hídrico, em alguns casos atingindo níveis próximos ou iguais ao das plantas sem estresse hídrico. Plantas de *C. tinctorius*, sem e com déficit hídrico, alcançaram, em média, crescimento máximo nas doses de 21 e 37 g e.a. ha⁻¹, e esse estímulo hormético desapareceu em doses superiores a 76 e 73 g e.a. ha⁻¹, respectivamente. Além do efeito estimulante do uso de baixas doses de glyphosate em regime hídrico adequado, produzimos novos conhecimentos sobre a função mitigadora dessas baixas doses em condições de déficit hídrico no cártamo, sendo essas informações relevantes para o manejo sustentável dessa cultura para os atuais e futuros cenários de mudanças climáticas.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil) pela concessão da bolsa “Produtividade em Pesquisa” para MAS (Proc. 305952/2018-8).

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. Duke SO, Enhanced metabolic degradation: The last evolved glyphosate resistance mechanism of weeds? *Plant Physiol* **181**: 1401-1403 (2019). <https://doi.org/10.1104/pp.19.01245>
2. Freitas-Silva L, Araújo TO, Nunes-Nesi A, Ribeiro C, Costa AC and Silva LC, Evaluation of morphological and metabolic responses to glyphosate exposure in two neotropical plant species. *Ecol Indic* **113**: (2020). <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106246>.
3. Duke SO, Powles SB, Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Manag Sci* **64**: 319–25 (2008). <https://doi.org/10.1002/ps.1518>.
4. Franz JE, Mao MK and Sikorski JA, Uptake, transport and metabolism of glyphosate in plants. In: Franz, F.E., Mao, M.K., Sikorski, J.A. (Eds.), Glyphosate: a unique global herbicide. *J Am Chem Soc*, Washington DC, pp. 143–181 (1997).

5. Velini ED, Alves E, Godoy MC, Meschede DK, Souza RT and Duke SO, Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. *Pest Manag Sci* **64**: 489–496 (2008).
6. Pincelli-Souza RP, Bortolheiro FPAP, Carbonari CA, Velini ED, and Silva MA, Hormetic effect of glyphosate persists during the entire growth period and increases sugarcane yield. *Pest Manag Sci* (2020). <https://doi.org/10.1002/ps.5775>.
7. Silva MA, Aragão NC, Barbosa MA, Jeronimo EM, and Carlin SD, Efeito hormético de glyphosate no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar. *Bragantia* **68**: 973-978 (2009).
8. Silva MA, Jifon JL, Santos CM, Jadoski CJ, and Silva JAG, Photosynthetic capacity and water use efficiency in sugarcane genotypes subject to water deficit during early growth phase. *Braz Arch Biol Technol* **56**: 735-748 (2013).
9. Brito IP, Tropaldi L, Carbonari CA, and Velini ED, Hormetic effects of glyphosate on plants. *Pest Manag Sci* **74**: 1064-1070 (2018).
10. Carvalho LB, Duke SO, and Alves PLCA, Physiological responses of Eucalyptus x urograndis to glyphosate are dependent on the genotype. *Sci For* **46**: 177-187 (2018).
11. Nascentes RF, Carbonari CA, Simões PS, Brunelli MC, Velini ED, and Duke SO, Low doses of glyphosate enhance growth, CO₂ assimilation, stomatal conductance and transpiration in sugarcane and eucalyptus. *Pest Manag Sci* **74**:1197–1205 (2018).
12. Cerveira Junior WR, Costa YKS, Carbonari CA, Duke SO, Alves PLCA, and Carvalho LB, Growth, morphological, metabolic and photosynthetic responses of clones of eucalyptus to glyphosate. *Forest Ecol Manag* 470-471 (2020).
13. Moraes CP, Brito IPFS, Tropaldi L, Carbonari CA, and Velini ED, Hormetic effect of glyphosate on *Urochloa decumbens* plants. *J Environ Sci Heal B* **55**: 376-381 (2019).
14. Bortolheiro FPAP, Brunelli-Nascentes MC, Boaro CSF, Silva MA, Can low doses of glyphosate stimulate common bean growth? *J Environ Sci Heal B*. (2020). <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1853456>.
15. Berry III R and López-Martínez G, A dose of experimental hormesis: When mild stress protects and improves animal performance. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* **242** (2020). <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.110658>.
16. Belz RG. Low herbicide doses can change the responses of weeds to subsequent treatments in the next generation: metamitron exposed PSII-target-site resistant *Chenopodium album* as a case study. *Pest Manag Sci* (2020). <https://doi.org/10.1002/ps.5856>.
17. Soares C, Pereira R, Martins M, Tamagnini P, Serôdio J, Moutinho-Pereira J, Cunha A and Fidalgo F, Glyphosate-dependent effects on photosynthesis of *Solanum lycopersicum* L. – an ecophysiological, ultrastructural and molecular

- approach. *J Hazard Mater* (2020).
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122871>.
18. Agathokleous E, and Calabrese EJ, Hormesis can enhance agricultural sustainability in a changing world. *Glob Food Sec* **20**: 150-155 (2019).
 19. Cedergreen N, and Olesen CF, Can glyphosate stimulate photosynthesis? *Pestic Biochem Physiol* **96**: 140-148 (2010).
 20. Galon L, Ferreira EA, Aspiazú I, Concenço G, Silva AF, Silva AA, and Vargas L, Glyphosate translocation in herbicide tolerant plants. *Planta Daninha* **31**: 193–201 (2013).
 21. Rezende-Silva SL, Costa AC, Dyszy FH, Batista PF, Crispim-Filho AJ, Nascimento KJT, and Silva AA, Pouteria torta is a remarkable native plant for biomonitoring the glyphosate effects on Cerrado vegetation. *Ecol Ind* **102**: 497–506 (2019).
 22. Duke SO, Cedergreen N, Velini ED and Belz RG, Hormesis: is it an important factor in herbicide use and allelopathy? *Outlooks Pest Manag* **17**:29-33 (2006). <https://doi.org/10.1564/16feb10>.
 23. Bortolheiro FPAP, and Silva MA, Physiological response and productivity of safflower lines under water deficit and rehydration. *An Acad Bras Ciênc* **89**: 3051–3066 (2017).
 24. Santaniello A, Scartazza A, Gresta F, Loreti E, Biasone A, Di Tommaso D, Piaggese A, and Perata P, *Ascophyllum nodosum* seaweed extract alleviates drought stress in Arabidopsis by affecting photosynthetic performance and related gene expression. *Front Plant Sci* **8**: 1362 (2017).
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01362>.
 25. Chaves MM, Flexas J, Pinheiro C, Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann Bot* **103**:551–60 (2009). <https://doi.org/10.1093/aob/mcn125>.
 26. El-Sharkawy MA, Stress-tolerant cassava: the role of integrative ecophysiology-breeding research in crop improvement. *Open J. Soil Sci.* **2**: 162–186 (2012).
 27. Belz R.G. and Duke S.O. Herbicides and plant hormesis. *Pest Manag Sci* **70**: 698-707 (2014). <https://doi.org/10.1002/ps.3726>.
 28. Mollae M, Matloob A, Mobli A, Thompson M, Chauhan BS, Response of glyphosate-resistant and susceptible biotypes of *Echinochloa colona* to low doses of glyphosate in different soil moisture conditions. *PLoS ONE*, **15**:e0233428 (2020a). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233428>.
 29. Belz RG, Farooq MB and Wagner J, Does selective hormesis impact herbicide resistance evolution in weeds? ACCase-resistant populations of *Alopecurus myosuroides* Huds. as a case study. *Pest Manag Sci* **74**:1880-1891 (2018).
<https://doi.org/10.1002/ps.4890>.
 30. Santos RF, Bassegio D, and Silva MA, Productivity and production components of safflower genotypes affected by irrigation at phenological

- stages, *Agric Water Manag* **186**:66-74 (2017).
<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.02.013>.
31. Silva JC, Gerlach GAX, Rodrigues RAF and Arf O, The impact of water regimes on hormesis by glyphosate on common bean. *Aust J Crop Sci* **10**: 237-243 (2016).
 32. Mollae M, Mobli A, Chauhan BS. The response of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible biotypes of *Echinochloa colona* to carbon dioxide, soil moisture and glyphosate. *Sci Rep* **10**:329–42 (2020b).
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-57307-9>.
 33. Queiroga VP, Girão EG, Albuquerque EMV. Cártamo (*Carthamus tinctorius* L.): Tecnologia de plantio e utilização. Boletim Técnico, Embrapa, p 84-86 (2021).
 34. Istanbuluoglu A, Effects of irrigation regimes on yield and water productivity of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under Mediterranean climatic conditions. *Agric Water Manag* **96**: 1792-1798 (2009).
 35. van Genuchten MTH, A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of insaturated. *Soil Sci Soc Am J* **41**:892–898 (1980).
 36. Streibig JC, Herbicide bioassay. *Weed Res.* **28**:479–484 (1988).
 37. Brain P and Cousens R, An equation to describe dose–responses where there is stimulation of growth at low doses. *Weed Res* **29**: 93–96 (1989).
 38. Cedergreen N, Ritz C and Streibig JC, Improved empirical models describing hormesis. *Environ Toxicol Chem* **24**:3166–3172 (2005).
 39. Schabenberger O, Tharp BE, Kells JJ and Penner D, Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. *Agron J* **91**:713–721 (1999).
 40. Belz RG and Piepho HP, Modeling effective dosages in hormetic doseresponse studies. *PLoS One* **7**:e33432 (2012).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033432>.
 41. Cedergreen N, Streibig JC, Kudsk P, Mathiassen SK, and Duke SO. The occurrence of hormesis in plants and algae. *Dose-Response* **5**: 150–162 (2007).
 42. Belz RB and Piepho HP, Statistical modeling of the hormetic dose zone and the toxic potency completes the quantitative description of hormetic dose responses. *Environ Toxicol Chem* **34**:1169–1177 (2014).
<https://doi.org/10.1002/etc.2857>.
 43. Arf O, Rodrigues RAF, Sá ME, Buzetti S, and Nascimento V, Manejo do solo, água e nitrogênio no cultivo de feijão. *Pesq Agropec Bras* **39**: 131-138 (2004).
 44. Belz RG and Cedergreen N, Parthenin hormesis in plants depends on growth conditions. *Environ Exp Bot* **69**:293-301 (2010).
 45. Holland V, Koller S, Lukas S, and Bruggemann W, Drought-and frost-induced accumulation of soluble carbohydrates during accelerated senescence in *Quercus pubescens*. *Trees* **30**: 215-226 (2016).

46. Wu P, Wu C, and Zhou B, Drought stress induces flowering and enhances carbohydrate accumulation in *Averrhoa carambola*. *Hortic Plant J* **3**: 60-66 (2017).
47. Londo JP, McKinney J, Schwartz M, Bollman M, Sagers C, and Watrud L, Sub-lethal glyphosate exposure alters flowering phenology and causes transient male-sterility in *Brassica* spp. *BMC Plant Biol* **14**:70 (2014).
48. Kaspary TE, Lamego FP, Cutti L, Aguiar ACM, Rigon CAG, and Basso CJ, Growth, phenology, and seed viability between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible hairy fleabane. *Bragantia* **76**: 92-101 (2017).
49. Guo XY, Zhangl XS, and Huang ZY, Drought tolerance in three hybrid poplar clones submitted to different watering regimes. *J Plant Ecology* **3**: 79–87 (2010).
50. Calabrese EJ, and Blain R, The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. *Toxicol Appl Pharmacol* **202**:289-301. (2005). [https://doi: 10.1016/j.taap.2004.06.023](https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.06.023). PMID: 15667834.
51. Picoli-Junior GJ, Carbonari CA, Matos AKA, Rodrigues LFOS, and Velini ED, Influence of glyphosate on susceptible and resistant ryegrass populations to herbicide. *Planta Daninha* **35**: 5:e017163391 (2017).

CAPÍTULO 2

HORMESIS DE GLYPHOSATE ATENUA O ESTRESSE POR DÉFICIT HÍDRICO EM CÂRTAMO (*Carthamus tinctorius* L.) POR MEIO DA MODULAÇÃO DE MEDIADORES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS²

Jania Claudia Camilo dos Santos, Dayane Mércia Ribeiro Silva, Deoclecio Jardim Amorim, Vanessa do Rosário Rosa, Edivaldo Domingues Velini, Caio Antonio Carbonari e Marcelo de Almeida Silva

Destaques

- Foram investigadas alterações metabólicas de baixas doses de glyphosate em plantas de cârtamo sob déficit hídrico.
- Houve melhoria na eficiência da fluorescência da clorofila *a* e da atividade antioxidante nas plantas sob déficit hídrico tratadas com baixas doses de glyphosate.
- Novas informações relatam o efeito atenuador causado por baixas doses de glyphosate em plantas de cârtamo sob déficit hídrico por meio de modulação fisiológica e bioquímica.

RESUMO

Alterações no maquinário fotossintético podem conferir danos aos níveis fisiológico e bioquímico nas plantas. Existem evidências do efeito positivo de baixas doses de glyphosate por serem capazes de atenuar o efeito do déficit hídrico em plantas. Nós estudamos os mecanismos fisiológicos e bioquímicos em plantas de cârtamo (*Carthamus tinctorius* L.) sob condições de déficit hídrico severo mediados pelo efeito atenuador de baixas doses de glyphosate. As plantas foram divididas em dois grupos de regimes hídricos no solo, sem déficit hídrico (-10 kPa) e déficit hídrico severo (-70 kPa), e expostas a diferentes concentrações de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹). Respostas evidentes de proteção aos níveis fisiológico e bioquímico foram obtidas após aplicação de baixas doses de

² Capítulo 2 está nas normas da Science of the Total Environment

glyphosate em plantas submetidas ao déficit hídrico, com dose limitante para ocorrência da hormesis (LDS) = 72 g e.a. ha⁻¹. O déficit hídrico nas plantas resultou em acúmulo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e consequentemente, peroxidação lipídica (LPO), associada ao acúmulo de ácido chiquímico e glyphosate nas plantas, desencadeando aumento em atividade das enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX), que atuaram dismutando os níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) mantendo e/ou aumentando a eficiência quântica máxima do fotossistema II (*Fv/Fm*), o rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Φ PSII), a taxa de transporte de elétrons (ETR), o coeficiente de extinção fotoquímico (qP) e o coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ). A APX parece ser a principal enzima envolvida na eliminação do H₂O₂. Baixas doses de glyphosate atuam como amenizadores de déficit hídrico, permitindo a planta manter/aumentar o metabolismo aos níveis fisiológico e bioquímico pela ativação de enzimas antioxidantes na dismutação de ERO nas plantas de cártamo.

Palavras-chave: oleaginosa; *N*-(fosfonometil)glicina; baixa dose; fotossíntese; estresse oxidativo; chiquimato.

CHAPTER 2

GLYPHOSATE HORMESIS ATTENUATES WATER DEFICIT STRESS IN SAFFLOWER (*Carthamus tinctorius* L.) VIA MODULATING PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL MEDIATORS

Highlights

- Metabolic changes of low doses of glyphosate in safflower plants under water deficit were investigated.
- There were improvements in the efficiency of chlorophyll a fluorescence and in the antioxidant activity of plants under water deficit treated with low doses of glyphosate.

- New information reports the attenuating effect caused by low doses of glyphosate in safflower plants under water deficit through physiological and biochemical modulation.

ABSTRACT

Changes in the photosynthetic machinery can confer damage to physiological and biochemical levels in plants. There is evidence of the positive effect of low doses of glyphosate as they are able to mitigate the effect of water deficit in plants. We studied the physiological and biochemical mechanisms of safflower plants (*Carthamus tinctorius* L.) under conditions of severe water deficit mediated by the attenuating effect of low doses of glyphosate. The plants were divided into two groups of water regimes in the soil, without water deficit (-10 kPa) and with severe water deficit (-70 kPa), and exposed to different concentrations of glyphosate (0, 1.8, 3.6, 7.2, 18, 36, 72, 180, 360 and 720 g a.e. ha⁻¹). Evident protective responses at physiological and biochemical levels were obtained after application of low doses of glyphosate to plants subjected to water deficit, with a limiting dose for the occurrence of hormesis (LDS) = 72 g a.e. ha⁻¹. The water deficit in plants resulted in the accumulation of hydrogen peroxide (H₂O₂) and, consequently, in lipid peroxidation (LPO), associated with the accumulation of shikimic acid and glyphosate in plants, triggering an increase in the activity of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX), which acted by dismuting the levels of reactive oxygen species (ROS), maintaining and/or increasing the maximum quantum efficiency of photosystem II (*F_v/F_m*), the effective quantum yield of photosystem II (Φ PSII), the electron transport rate (ETR), the photochemical extinction coefficient (qP) and the non-photochemical extinction coefficient (NPQ). APX appears to be the main enzyme involved in the elimination of H₂O₂. Low doses of glyphosate act as water deficit ameliorators, allowing the plant to maintain/increase metabolism at physiological and biochemical levels by activating antioxidant enzymes in the dismutation of ROS in safflower plants.

Keywords: oilseed; *N*-(phosphonomethyl)glycine; low dose; photosynthesis; oxidative stress; shikimate.

2.1 INTRODUÇÃO

O efeito metabólico do glyphosate (*N*-(fosfonometil)glicina)) consiste na inibição da enzima EPSPS (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase), inibindo a biossíntese de aminoácidos aromáticos essenciais na síntese de proteínas, ácido indolacético (AIA), plastoquinona e compostos secundários necessários para maior resistência a pragas (Duke e Powles, 2008; Velini et al., 2008; Duke, 2019; Pincelli-Souza et al., 2020), ocasionada pela concentração de ácido chiquímico (Duke e Powles, 2008), melhorando funções de plantas tratadas com baixas doses de glyphosate (Velini et al., 2008).

Glyphosate, o herbicida mais utilizado no mundo, causa hormesis quando aplicado em baixas doses, que remete em uma resposta adaptativa ao estresse aumentando as defesas celulares restaurando a homeostase celular (Duke e Powles, 2008; Duke, 2019; Agathokleous et al., 2020a; Belz, 2020; Berry III e López-Martínez, 2020; Bortolheiro et al., 2020; Santos et al., 2020), com uma máxima reposta de estimulação entre 30-60% maior que o controle (Agathokleous e Calabrese, 2019; Agathokleous et al., 2019; 2020b; Calabrese e Agathokleous, 2020).

A interrupção dessa via pode levar ao acúmulo de açúcares e outros compostos gerando efeitos benéficos (Cedergreen e Olsen, 2010). Baixas doses de glyphosate causam alteração em nível fisiológico e bioquímico, como na atividade fotossintética, conteúdo de proteínas e aminoácidos (Duke e Powles, 2008; Velini et al., 2008; Nascentes et al., 2018; Bortolheiro et al., 2020; Santos et al., 2020; Pincelli-Souza et al., 2020).

A cultura do cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias comprovadas (Delshad et al., 2018; Bacchetti et al., 2020), adaptada a regiões com pouca disponibilidade hídrica, o que pode causar alterações aos níveis morfológico e genético, condicionado a ajustes metabólicos e bioquímicos (Chaves et al., 2009; Bortolheiro e Silva, 2017; Santos et al., 2020). No entanto, depende da intensidade do estresse hídrico, essas alterações metabólicas podem limitar o crescimento das plantas (Velini et al., 2008; Santaniello et al., 2017).

Em condições de déficit hídrico, a eficiência do aparato fotossintético é o primeiro fator a ser prejudicado, o qual desempenha papel fundamental nas

regulações fisiológicas (Gomes et al., 2014, 2016, 2017; Wang et al., 2019) e bioquímicas (Velini et al., 2008) durante o crescimento das plantas.

Alterações no maquinário fotossintético podem ser desencadeados por fatores abióticos, como déficit hídrico ou elevadas concentrações de glyphosate, que atuam desregulando a etapa fotoquímica da fotossíntese, reduzindo a regeneração da enzima Rubisco (ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase), pela consequente diminuição da atividade do ciclo de Calvin, evidenciado pela redução nas variáveis referentes à clorofila *a*, como eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m), o rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Φ_{PSII}), a taxa de transporte de elétrons (ETR) e coeficiente de extinção fotoquímico (qP), em consequência da menor geração de ATP e NADPH, ativando mecanismos, como o coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ), capaz de dissipar energia em forma de calor (Velini et al., 2008; Cedergreen e Olesen, 2010; Gomes et al., 2016, 2017; Freitas-Silva et al., 2017; Santos et al., 2020).

A redução da atividade da Rubisco gera acúmulo de energia no Φ_{PSII} , gerando as espécies reativas de oxigênio (ERO), resultando na peroxidação de lipídeos das membranas (Velini et al., 2008; Cedergreen e Olesen, 2010). As ERO são essenciais na sinalização bioquímica das plantas em decorrência das perturbações que podem ocorrer ao sistema (Gomes et al., 2017), sendo capazes de ativar mecanismos contra danos oxidativos, pelo eficiente sistema enzimático das plantas composto por enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX) (Foyer e Noctor, 2011).

Os efeitos secundários promovidos pelo glyphosate podem ser constatados pelos processos fotossintéticos das plantas (Velini et al., 2008; Silva et al., 2009; Cedergreen e Olesen, 2010; Gomes et al., 2017; Nascentes et al., 2018; Bortolheiro et al., 2020; Santos et al., 2020), que atuam evitando prejuízos nos centros de reações do PSII, ativando mecanismos protetores contra danos oxidativos (Gomes et al., 2014; Santaniello et al., 2017), mas pouco se conhece sobre os processos bioquímicos gerados por baixas doses de glyphosate, principalmente em condições de déficit hídrico severo.

Estudos interligando os efeitos de baixas doses de glyphosate na via do ácido chiquímico, processos fotossintéticos e eventos oxidativos foram descritos (Gomes

et al., 2016, 2017); no entanto, estudos que relacionem a interação entre déficit hídrico e hormesis de glyphosate em plantas, a nível fisiológico e bioquímico, são necessários. Diante do exposto, a hipótese levantada foi que baixas doses de glyphosate em plantas sob déficit hídrico podem promover melhorias nas características fisiológicas e bioquímicas de plantas de *C. tinctorius*.

Para testar essa hipótese, esta pesquisa teve por objetivo estudar o efeito atenuador de baixas doses de glyphosate nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos de plantas de *C. tinctorius* sob deficiência hídrica. Portanto, neste estudo, investigamos o comportamento do cártamo em condições hídricas diferentes, ou seja, plantas com e sem déficit hídrico, tratadas com baixas doses de glyphosate, durante o estágio vegetativo, sendo este considerado o período mais crítico ao déficit hídrico na cultura, e relacionamos os efeitos do glyphosate e seus compostos ao processo de fluorescência e às atividades dos sistemas antioxidantes enzimáticos.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Material vegetal e condições experimentais

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação na Faculdade de Ciências Agronômicas da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil (22°51'S, 48°26'O). As sementes de *Carthamus tinctorius* L. da linhagem IMA14 do Instituto Mato Grosso do Algodão (IMAmt, MT, Brasil), foram selecionadas e utilizadas com base em estudo anterior em que essa linhagem se destacou pela tolerância às condições de restrições hídricas (Bortolheiro e Silva, 2017). Foram realizados dois experimentos durante o período de fevereiro a abril de 2019 (experimento 1), e de abril a junho de 2019 (experimento 2). A casa de vegetação possui sistema de controle e monitoramento da temperatura e umidade relativa, o qual registrou no experimento 1, temperatura e umidade relativa médias dia/noite de $31,3 \pm 2,9^{\circ}\text{C}/22,8 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$ e $58,2 \pm 10,1\%/79,6 \pm 6,2\%$, e no experimento 2, de $27,0 \pm 2,3^{\circ}\text{C}/22,1 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ e $67,6 \pm 5,0\%/79,5 \pm 5,1\%$, respectivamente.

A aplicação de calcário e fertilizantes no solo estava de acordo com a análise de solo e recomendação para a cultura do cártamo (Queiroga et al., 2021) (Tabela 1). Foram semeadas cinco sementes por vaso com capacidade de 8,7 L, e realizado

o desbaste aos oito dias após tratamento (DAT), deixando uma planta por vaso, com semelhança em uniformidade e vigor, totalizando 40 plantas selecionadas em cada experimento. Durante o período inicial de desenvolvimento (que compreende as fases de germinação, roseta e início da fase vegetativa), as plantas foram irrigadas regularmente, mantendo a capacidade de campo. Aos 28 DAS, período inicial da fase vegetativa, considerada a mais sensível ao déficit hídrico (Istanbullouglu et al., 2009; Bortolheiro e Silva, 2017), as plantas com 5-6 folhas definitivas foram submetidas aos tratamentos de baixas doses de glyphosate e regimes hídricos.

Tabela 1. Análise química e física do solo (0-20 cm) utilizado no experimento.

pH	M.O.	P _{resina}	K	Ca	Mg	H+Al	SB	CTC	V	Argila	Silte	Areia
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³							%			
5,4	24	15	6,7	36	14	32	57	89	64	614	196	190

MO: Matéria orgânica, SB: somas das bases, CTC: capacidade de troca catiônica, V: saturação de base

No mesmo dia em que as plantas foram divididas em dois grupos de irrigação, as doses de glyphosate (Roundup Original® CS, 360 g e.a. L⁻¹, Monsanto do Brasil Ltda, São José dos Campos, SP, Brasil) foram aplicadas em cada grupo. Os tratamentos consistiram em 10 doses (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g equivalente ácido (e.a.) ha⁻¹), com quatro repetições. As aplicações foram realizadas utilizando um pulverizador costal pressurizado (CO₂) equipado com uma barra de pulverização com duas pontas espaçadas em 0,5 m, com volume de calda de 200 L ha⁻¹, pressão constante de 1,5 bar.

Para os tratamentos de regimes hídricos, a capacidade de água disponível (CAD; mm) foi estimada através da lâmina de irrigação aplicada, de acordo com a Equação (1).

$$CAD = (CC - PMP) \times Z \quad (1)$$

onde CC é o teor de volume de água na capacidade de campo (cm³ cm⁻³), PMP é o ponto de murcha permanente, descrito em teor de água volumétrico (cm³ cm⁻³), e Z é a profundidade efetiva do sistema radicular considerado 200 mm, sendo realizado o ajuste dos dados através do modelo descrito por van Genuchten (1980) para obtenção da curva de retenção de água no solo (Figura 1).

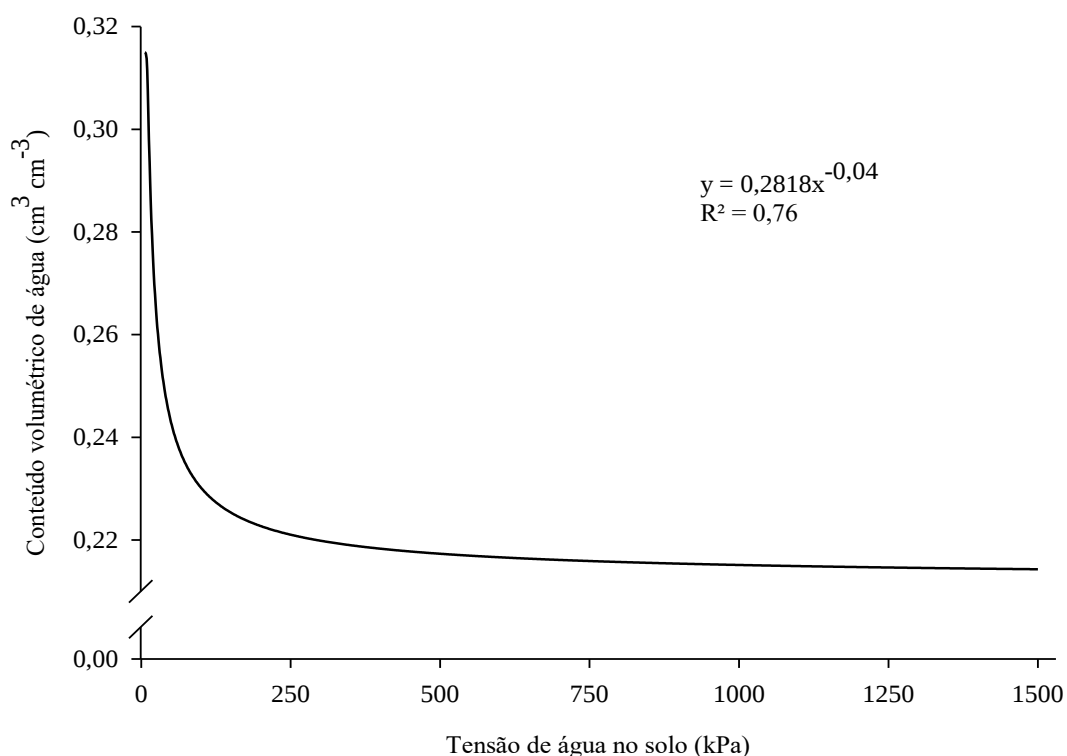


Figura 1. Curva de retenção de água no solo de um solo argiloso para profundidades de 0 a 20 cm gerada usando os parâmetros de van Genuchten (1980). R^2 = coeficiente de determinação.

Após a aplicação de baixas doses de glyphosate, as plantas foram divididas em dois grupos com base no regime hídrico (tensão de água de -10 kPa) e déficit hídrico severo (-70 kPa). As leituras realizadas em tensímetro digital (Sondaterra, Piracicaba, SP, Brasil), entre 08:00 e 09:00 h. Para aferição das leituras, foram instalados tensiômetros de punção em todos os vasos ao lado da planta a 10 cm de profundidade no solo, e a tensão da água foi medida diariamente por meio de um tensímetro. O primeiro grupo de plantas permaneceu na capacidade de campo, conforme descrito acima; enquanto no segundo grupo (plantas estressadas pela seca), a irrigação foi interrompida até que a tensão de água alcançasse -70 kPa (o que levou ~ 3 dias), e as plantas foram mantidas nessa condição por 28 dias.

2.2.2 Variáveis fisiológicas

2.2.2.1 Componentes da fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m , $\Phi PSII$, ETR, qP e NPQ)

Os componentes da fluorescência da clorofila *a* foram obtidos aos 3, 7, 14, 21 e 28 dias após tratamento de glyphosate (DAT), utilizando um fluorômetro acoplado a um analisador de gás infravermelho portátil (modelo Li-6400XT, Li-COR Biosciences Inc., Lincoln, NE, EUA), cujas medições ocorreram entre 09:00 e 11:30 h, utilizando concentração atmosférica de CO₂, com temperatura e umidade ambiente e radiação fotossinteticamente ativa (PAR) constante (1500 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Os componentes obtidos foram referentes à fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), fluorescência variável (F_v) através da diferença entre F_0F_m , resultando na variável de eficiência fotoquímica máxima do PSII (F_v/F_m) (Genty et al., 1989), sendo o F_v/F_m foi obtido no período noturno. Já os componentes referentes à taxa de rendimento quântico efetivo do PSII ($\Phi PSII$), o coeficiente de extinção fotoquímico (qP) e o coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ), assim como a taxa de transporte de elétrons do PSII (ETR), foram calculados de acordo com o método descrito por Genty et al. (1989).

2.2.3 Componentes bioquímicos

2.2.3.1 Glyphosate, ácido aminometilfosfônico (AMPA) e ácido chiquímico

As amostras para essas análises foram coletadas aos 3 DAT, sendo os tecidos foliares coletados em toda a planta, acondicionados em nitrogênio líquido e mantidos em ultrafreezer a -80 °C até a liofilização. Para extração e determinação dos compostos metabólicos, amostras de 50 mg da matéria seca triturada foram colocadas em tubos de centrifugação com 5 mL de água acidificada (pH 2,5). Os tubos foram submetidos ao banho ultrassônico em frequência de 42 kHz durante 30 min, e posteriormente, centrifugados a 4.000 rpm por 10 min a 20 °C, sendo o sobrenadante filtrado por meio de filtro Millex HV 0,45 μm , com membrana Durapore de 13 mm, sendo mantido em frasco de vidro âmbar uma alíquota de 20 μL para quantificação adicional dos compostos pelo sistema LC-MS/MS usando

cromatógrafo líquido de alto desempenho (HPLC) (Shimadzu, Prominence UFLC; Chiyoda-Ku, Tokio, Japão) acoplado ao espectrômetro de massa 3200Q TRAP (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), conforme a descrito por Gomes et al. (2015).

2.2.3.2 Peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (LPO), prolina, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX)

As amostras foram obtidas aos 3 e 28 DAT, sendo acondicionadas em nitrogênio líquido e mantidas em ultrafreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises bioquímicas. Para determinação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), da peroxidação de lipídeos (LPO), expresso em equivalente ácido de malondialdeído (MDA-TBA), prolina e atividade de enzimas antioxidantes, incluindo superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidases (POD) e ascorbato peroxidase (APX), foram analisadas por espectrofotômetro (Shimadzu, UV-2700, Kyoto, Japão).

Para determinação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi pesado 0,1 g de amostra fresca, segundo a metodologia descrita por Alexieva et al. (2001), sendo adicionado 1 mL de TCA 0,1%, agitadas em vórtex por 10 s, em seguida centrifugadas a 12.000 rpm por 15 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. A reação iniciou-se ao adicionar 0,5 mL do extrato, 0,5 mL da solução tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0) e 2 mL da solução deiodeto de potássio 1 M. Para reação, as amostras foram incubadas no escuro durante 1 h, e após foi realizada a leitura em espectrofotômetro com absorbância de 390 nm. Calculou-se a concentração de H_2O_2 através da curva padrão a $1.000\text{ }\mu\text{mol mL}^{-1}$.

A estimativa da peroxidação lipídica (LPO) foi baseada de acordo com o conteúdo de ácido malondialdeído (MDA), estimado pela substância reativa ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), de acordo com a técnica descrita por Heath e Packer (1968). Amostras contendo 0,250 g de tecido foliar fresco foram maceradas em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA 0,1%), e centrifugado 10.000 rpm por 20 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em seguida, adicionou-se 0,5 mL do sobrenadante a 1,5 mL de 0,5% de TBA e 20% de TCA, sendo a solução incubada em banho-maria a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 min, por conseguinte resfriadas em banho com gelo. Após resfriamento, as amostras foram

centrifugadas a 10.000 rpm por 5 min a 4 °C, seguindo-se de leitura em espectrofotômetro a 532 e 660 nm, sendo a concentração de MDA calculada utilizando o coeficiente de extinção molar $\varepsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e expressa em nmol g MF⁻¹ (Cakmak e Horst, 1991).

Para determinação da atividade da prolina foi necessária uma amostra fresca de 0,1 g de tecido foliar fresco, o qual foi adicionado ácido sulfossalicílico 3%, agitado a cada 15 min durante 1 h, seguindo a metodologia descrita por Bates et al. (1973). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 min 25 °C. A solução de trabalho foi preparada com ninhidrina ácida (1,25 g de ninhidrina em 30 mL de ácido acético glacial, e 20 mL de ácido fosfórico 6 M), a mistura permaneceu em banho-maria a 100 °C por 1 h. Após esse tempo, a reação foi interrompida por banho com gelo durante 10 min. Por conseguinte, foram adicionados 2 mL de tolueno para extração do cromóforo sendo agitados por 20 s. Logo após o repouso houve formação de mistura bifásica e quantificação dos níveis de prolina em espectrofotômetro com absorvância de 520 nm. As absorvâncias foram comparadas à curva-padrão de prolina na concentração de 0 a 100 µg mL⁻¹.

Para determinação da atividade das enzimas antioxidantes, 0,3 g de tecidos foliares frescos foram pesados, sendo macerado em 2 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,8), ácido etilenodiamino tetra-cético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v). Após homogeneização, as amostras passaram por centrífuga refrigerada (Hettich, Universal 320R, Tuttlingen, Alemanha) a 10.000 rpm durante 15 min a 4 °C, sendo coletado o sobrenadante. O conteúdo de proteína das amostras foi determinado pelo método de Bradford.

A determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi realizada utilizando o método descrito por Giannopolitis e Ries (1977), que se baseia na capacidade da enzima inibir a fotorredução do azul de cloreto de nitrotetrazólio (NBT). Para reação foram adicionados 50 µL do extrato bruto a 2.950 µL do meio de reação composto por tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,8), metionina (13,0 mM), EDTA (0,1 µM), NBT (75,0 µM) e riboflavina (2,0 µM). A reação iniciou com o auxílio de câmara de luz fluorescente de 15 W a 25 °C, finalizando a catálise pela interrupção da luz aos 10 min, e a absorvância da formazan azul, resultante da fotorredução do NBT, foi determinada pelo auxílio de espectrofotômetro a 560 nm. A

mistura para leitura do branco da reação consistiu na junção do extrato bruto e meio de reação mantida no escuro, sendo definida como uma unidade de SOD a atividade da enzima necessária para inibir 50% da fotorredução do NBT.

Para determinação da atividade da enzima catalase (CAT) foi realizada metodologia segundo Peixoto et al. (1999), que consistiu em adicionar 50 μL do extrato bruto a 950 μL do meio de reação composto por tampão fosfato de potássio 50 (mM pH 7,0) suplementado com H_2O_2 (12,5 mM), sendo a leitura realizada em espectrofotômetro com absorvância de 240 nm após 60 s, calculada a atividade enzimática utilizando o coeficiente de extinção molar $\varepsilon = 39,4 \text{ mM cm}^{-1}$.

A atividade da enzima peroxidase (POD) foi determinada seguindo a metodologia de Peixoto et al. (1999), na qual consistiu em utilizar 100 μL do extrato bruto a 4,900 μL do tampão com meio de reação constituído por fosfato de potássio (25 mM pH 6,8), H_2O_2 (12,5 mM) e Pirogalol (20 mM). A reação foi paralisada com 500 μL de ácido sulfúrico (5%), sendo a leitura realizada em espectrofotômetro com absorvância de 420 nm, calculada a atividade enzimática utilizando o coeficiente de extinção molar $\varepsilon = 2,47 \text{ mM cm}^{-1}$.

A atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) foi determinada seguindo a metodologia descrita por Nakano e Asada (1981), na qual foi utilizada uma alíquota de 100 μL do extrato bruto adicionada a 900 μL do tampão com meio de reação constituído por fosfato de potássio (0,05 mM pH 7,0), H_2O_2 (1,0 mM) e ácido ascórbico (0,8 mM). A atividade foi determinada pela leitura realizada em espectrofotômetro com absorvância de 290 nm após 60 s, sendo calculada a atividade enzimática utilizando o coeficiente de extinção molar $\varepsilon = 2,8 \text{ mM cm}^{-1}$.

2.2.4 Análises estatísticas

As execuções experimentais para os dados fisiológicos e compostos metabólicos foram agrupadas para análise de variância (ANOVA) sempre que nenhuma interação significativa foi observada entre as execuções experimentais e tratamentos. Os resultados foram relatados separadamente quando a interação da execução experimental $\times$ tratamento foi significativa. Um valor $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

As curvas de dose-resposta foram modeladas usando o melhor ajuste de quatro equações com parâmetros biologicamente significativos buscando alta flexibilidade na modelagem. O procedimento NLMIXED do SAS foi usado para ajustar os valores $Y_i = Fv/Fm, \dots$, ácido chiquímico como uma função não linear da dose (x) para a função monofásica de Streibig (1988) (Equação 2), a função bifásica de Cedergreen et al. (2005) (Equação 3), ou para o modelo exponencial utilizado por Mollae et al. (2020a) (Equação 4) e Gompertz (1825) (Equação 5) quando as Equações (2) e (3) não foram adequadas para descrever o comportamento:

$$E[Y|x] = c + ((d - c)/(1 + \exp(b * \ln(x/ED_{50})))) \quad (2)$$

$$E[Y|x] = c + (((d - c) + (f * \exp(-1 / x^a))/(1 + \exp(b * \ln(x/e)))) \quad (3)$$

$$E[Y|x] = \theta * \exp(\beta * x) \quad (4)$$

$$E[Y|x] = \exp(\phi - \exp(-\psi - (\tau * x))) \quad (5)$$

onde $E[Y|x]$ representa a resposta média na dosagem x do herbicida glyphosate; c denota a resposta em doses infinitas; d é a resposta média do controle não tratado; f é o grau de aumento hormético; a e b determinam o tamanho da inclinação da curva antes e depois do efeito máximo de hormesis, respectivamente, e ED_{50} é a dose que causa 50% de inibição, enquanto o parâmetro e não possui significado biológico evidente (Cedergreen et al., 2005). Na Equação (4) θ é o intercepto e β é a inclinação. Já na Equação (5), ϕ , ψ e τ são os parâmetros, a resposta máxima assintótica para esse modelo é representado por $\exp(\phi)$, ψ representa o deslocamento da curva ao longo do eixo x , e τ é a inclinação ou concavidade da curva em relação à distribuição acumulada.

O modelo de hormesis foi ajustado para todos os conjuntos de dados que exibiram uma estimativa de f com intervalo de confiança de 95% (IC₉₅) que não contenha o zero ($f > 0$) (Schabenberger et al., 1999; Belz e Piepho, 2012). O parâmetro α (Equação 3) foi predefinido para 0,25; 0,5 ou 1 e os ajustes do modelo com diferentes valores de α foram comparados e aquele com a menor soma residual foi escolhido, a fim de alcançar significância no parâmetro f (Cedergreen et al., 2007; Belz, 2020). Ainda, a significância da hormesis foi validada pelo teste da

razão de verossimilhanças aplicando o teste F ($\alpha=0,05$), testando a diferença na soma de quadrados residual dos modelos ($RS_{Eq(2)} - RS_{Eq(3)}$), diferença essa associada a inclusão do parâmetro f . Isso equivale a testar as seguintes hipóteses:

H_0 : não existe efeito hormético ($f = 0$) *versus* H_a : existe efeito hormético ($f \neq 0$), ou seja, quando a hipótese H_0 não é aceita ($p < 0,05$) emprega-se a Equação (3).

Em caso de hormesis, a resposta de estimulação máxima y_{max} na dose M (dose em que a hormesis é máxima), bem como ED_{110} (dose que causa 10% de estimulação), LDS (dose limitante para a estimulação), potência tóxica (ED_{50}/LDS), zona de dose hormética (LDS/ED_{110}) e $dist2$ (LDS/M), ou seja, a distância entre a dose M e LDS foram obtidas utilizando reparameterizações do modelo original (Schabenberger et al., 1999; Belz e Piepho, 2012; Belz e Piepho, 2014). Os respectivos erros padrões para essas quantidades foram estimados pelo método delta.

Os valores iniciais para os parâmetros foram selecionados por inspeção gráfica dos dados para as variáveis resposta Y_i *versus* dose x . A variância da resposta foi estabilizada em cada dose usando a variância inversa das repetições como peso. Diferenças significativas entre os parâmetros e características quantitativas foram avaliadas por comparações dos valores estimados usando a declaração CONTRAST dentro procedimento NLMIXED do SAS, sempre que a mesma equação foi utilizada para comparar os diferentes níveis de regimes hídricos na mesma época de avaliação.

Com os dados das análises bioquímicas elaborou-se uma matriz de dados autoescalada e normalizada (centrados na média e divididos pelo desvio padrão de cada variável), e posteriormente, elaborou-se um mapa de calor, agregando uma análise de agrupamento hierárquico de aglomeração da ligação completa nas linhas (combinação baixas doses/regimes hídricos) e colunas (compostos bioquímicos), com base na distância Euclidiana. Para um maior detalhamento procedeu-se ainda análises de variâncias univariadas considerando a estrutura fatorial, baixas doses do herbicida glyphosate *versus* regimes hídricos. As comparações post-hoc foram testadas usando o teste *post-hoc* de Scott-Knott em um nível de significância $p < 0,05$.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Componentes da fluorescência da clorofila *a* em cártamo sob baixas doses de glyphosate em função do regime hídrico

A análise de variância apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) apenas nas avaliações aos 3 e 7 DAT para os componentes da fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m , $\Phi PSII$, ETR, qP , NPQ), analisados separadamente para cada experimento. Constatamos que 25% das curvas apresentaram hormesis significativas ($f > 0$), entre as 32 avaliações fisiológicas analisadas pelos modelos descritos nas Equações (2) e (3).

Em geral, efeito hormético foi verificado aos 3 e 7 DAT, em plantas que estavam sob déficit hídrico (-70 kPa), nas variáveis $\Phi PSII$, ETR e qP , em que as principais diferenças constatadas aos 3 DAT em todas as curvas que apresentaram hormesis, em termos de doses M e LDS, nas plantas com baixa disponibilidade hídrica, precisaram de 27,72 vezes mais glyphosate para atingir o rendimento máximo, em comparação com as avaliações aos 7 DAT, enquanto que a dose limitante para a ocorrência de hormesis foi 4,3 vezes maior aos 3 DAT, e por fim, apresentou uma zona de dose hormética de $124,64 \pm 41,42$ vezes (Tabelas S1 e S2).

Nas plantas sem déficit hídrico, independente do período de avaliação, as curvas de dose-resposta que não apresentaram hormesis significativas, tiveram valor médio para $ED_{50} = 172,75 \pm 61,22$ g e.a. ha^{-1} , enquanto que nas plantas sob déficit hídrico, a $ED_{50} = 173,91 \pm 59,7$ g e.a. ha^{-1} , ou seja, se comportaram de maneira semelhante entre as tensões hídricas (Tabelas S1 e S2).

2.3.1.1 Componentes da fluorescência da clorofila *a* (F_v/F_m , $\Phi PSII$, ETR, qP e NPQ) (3 e 7 DAT)

Efeito hormético foi observado aos 3 DAT apenas nas plantas submetidas ao déficit hídrico, enquanto que, foi constatada hormesis em ambas as condições hídricas aos 7 DAT. Os valores de F_v/F_m não mostraram efeito hormético, mas em geral, as respostas fisiológicas foram semelhantes entre os regimes hídricos, com diferença significativa apenas para ED_{50} , aos 3 DAT, no experimento 1 (Figura 2, Tabela S1).

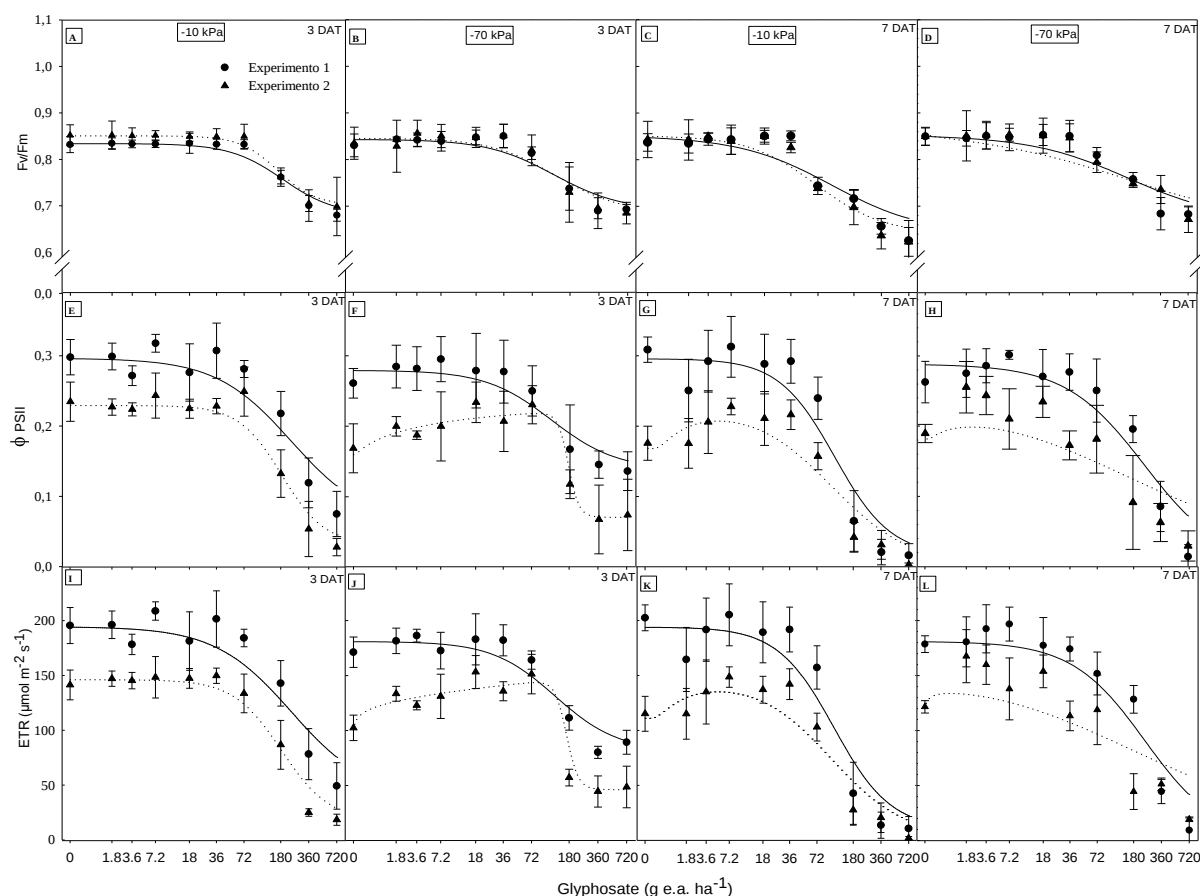


Figura 2. Efeitos da dose-resposta do glyphosate pela modelagem monofásica (Equação 2) Streibig (1988) ou bifásica (Equação 3) Cedergreen et al. (2005) para eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m) (A, B, C, D), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Φ_{PSII}) (E, F, G, H) e taxa de transporte de elétrons (ETR) (I, J, K, L) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 7 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha^{-1}), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados referentes à média de dois experimentos independentes (Experimento 1 e Experimento 2) de quatro repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão).

Para as variáveis Φ_{PSII} e ETR foi constatada diferença significativa aos 3 DAT no experimento 1, entre os contrastes pareados dos parâmetros (Equação 2) na dose que reduz em 50% o rendimento. Já aos 7 DAT para as mesmas variáveis, no experimento 2, as curvas dos dois regimes hídricos diferiram em relação ao parâmetro b (Equação 3), sendo este decisivo para indicar diferenças na LDS, ED_{50} e potência tóxica entre os regimes hídricos (Figura 2, Tabelas S1 e S3).

As plantas que estavam sob condições de déficit hídrico responderam mais rapidamente aos estímulos de baixas doses de glyphosate evidenciado pelo efeito hormético no parâmetro qP, aos 3 DAT. Enquanto que aos 7 DAT, o estímulo hormético foi constatado apenas nas plantas sob condições hídricas normais apresentando y_{max} de até $126,76 \pm 10,04\%$ do controle na variável qP (Tabela S2).

Diferenças entre as curvas dos regimes hídricos nos parâmetros d e c foram constatadas para qP, aos 3 DAT, no experimento 1, evidenciando que as plantas sem déficit hídrico apresentaram maior valor das plantas controle, assim como tiveram maior redução do parâmetro em doses mais elevadas de glyphosate (720 g e.a. ha⁻¹), respectivamente, em relação às plantas sob condições de déficit hídrico. Já aos 7 DAT, no experimento 1, foi constatada diferença entre as curvas dos regimes hídricos nos parâmetros b e ED₅₀, relatando uma queda mais acentuada na curva das plantas sem déficit hídrico, comprovado pelos menores valores desses parâmetros (Figura 3, Tabela S3).

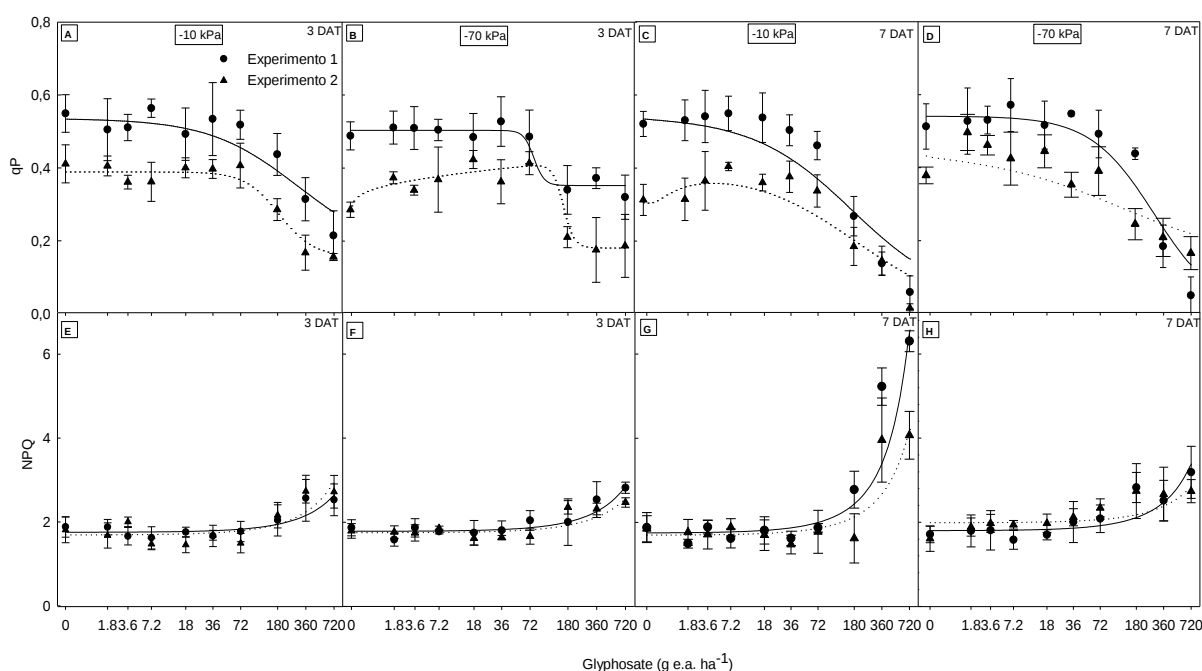


Figura 3. Efeitos da dose-resposta do glyphosate pela modelagem monofásica (Equação 2) Streibig (1988) e exponencial (Equação 4) Mollae et al. (2020a) para coeficiente de extinção fotoquímico (qP) (A, B, C, D) e coeficiente de extinção não fotoquímico (NPQ) (E, F, G, H) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 7 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados referentes à média de dois experimentos independentes (Experimento 1 e Experimento 2) de quatro repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão).

Para NPQ foi verificado ajuste do modelo exponencial (Equação 5), com diferença significativa entre os contrastes pareados aos 7 DAT no experimento 1, sendo obtido maior valor do parâmetro β , nas plantas sob condição hídrica ideal, indicando que nesta condição houve crescimento rápido da curva, com maior dissipação de energia regulada quando comparado as plantas sob déficit hídrico (Figura 3, Tabela S3).

2.3.2 Características dos componentes bioquímicos de cártamo sob baixas doses de glyphosate em função do regime hídrico

Aos 3 e 28 DAT, de acordo com a análise multivariada de agrupamento utilizando a distância euclidiana e método da ligação completa, obtivemos coeficientes cofenéticos acima de 0,70 nos agrupamentos entre linhas (baixas doses de glyphosate/regimes hídricos) e colunas (compostos bioquímicos). Quando consideramos as linhas da matriz de dados aos 3 DAT, verificamos claramente a formação de três clusters, sendo o primeiro cluster na cor azul que evidenciou o aumento em atividade da POD, o segundo cluster na cor verde evidenciou aumento em atividade de LPO, POD, H₂O₂ e prolina, em doses > 180 g e.a. ha⁻¹, e o terceiro cluster na cor vermelha evidenciou o aumento em atividade dos compostos enzimáticos da SOD, CAT e APX (Figura 4).

Diferentemente, os compostos bioquímicos formaram três clusters aos 28 DAT, sendo que a enzima POD formou um cluster individual que pode ser explicado pela falta de significância na análise univariada, embora tenha apresentado aumento em atividade em plantas com déficit hídrico. Considerando as linhas da matriz de dados, constatamos a formação de dois clusters, sendo o primeiro na cor verde evidenciado pelo aumento em atividade da CAT e APX, e o segundo cluster na cor vermelha indicando aumento da concentração de POD, LPO, SOD, H₂O₂ e prolina (Figura 4).

As análises de variâncias univariadas apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) aos 3 DAT, apenas para LPO no fator tensão hídrica, enquanto que para o fator doses de glyphosate as diferenças foram verificadas para prolina, LPO, H₂O₂ e POD. Houve interação significativa entre os fatores para SOD, CAT e APX. Na avaliação aos 28 DAT, a diferença significativa constatada entre os fatores isolados (tensão hídrica e doses de glyphosate) diferiram para prolina, H₂O₂ e LPO, enquanto que o efeito de interação foi verificado para SOD, CAT e APX.

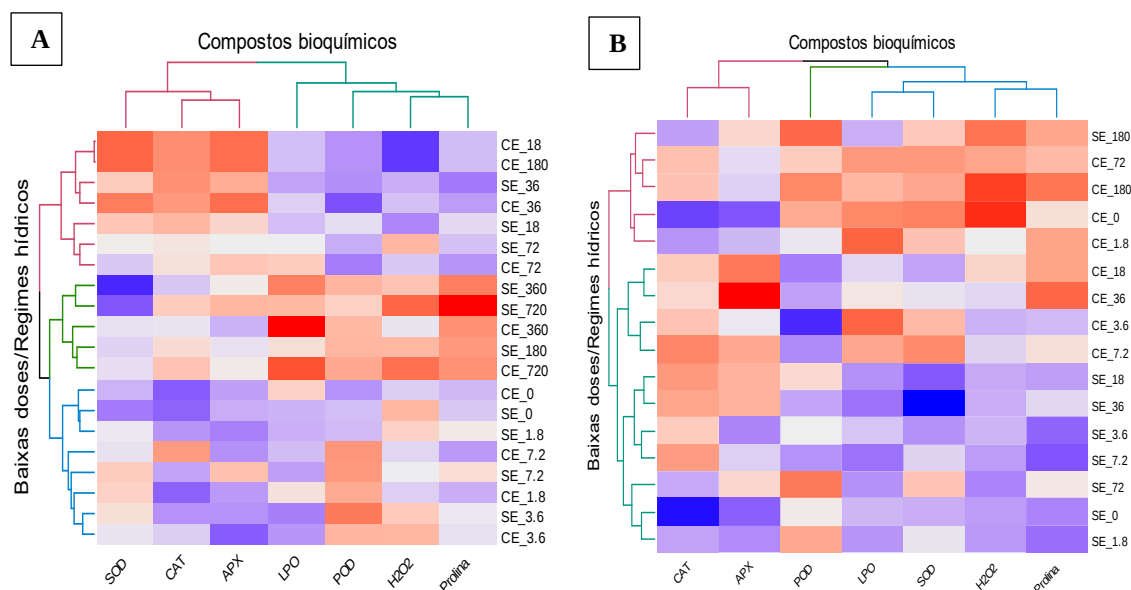


Figura 4. Análise de cluster (mapa de calor) de vários compostos bioquímicos (peróxido de hidrogênio (H₂O₂), peroxidação lipídica (LPO), prolina, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 (A) e 28 (B) dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa (SE) e -70 kPa (CE)). Os padrões mostrados no mapa de calor referem-se à média de quatro repetições por tratamento para cada metabólito. Os gradientes de cores vermelha e azul indicam maior e menor atividade, respectivamente.

2.3.2.1 Concentração de glyphosate, ácido chiquímico e AMPA (3 DAT), peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica e prolina (3 e 28 DAT)

Houve detecção de glyphosate a partir das baixas doses de 36 e 180 g e.a. ha⁻¹, e de AMPA a partir das doses de 360 e 720 g e.a. ha⁻¹, nas plantas submetidas às tensões de -10 e -70 kPa, independente dos experimentos, respectivamente, resultando em maior concentração de ácido chiquímico. Quando comparamos o acúmulo de ácido chiquímico, para as diferentes tensões hídricas observamos diferença significativa, para o experimento 2, com acúmulo máximo de 1,2 vezes nas plantas sob déficit hídrico (Figura 5, Tabela S4).

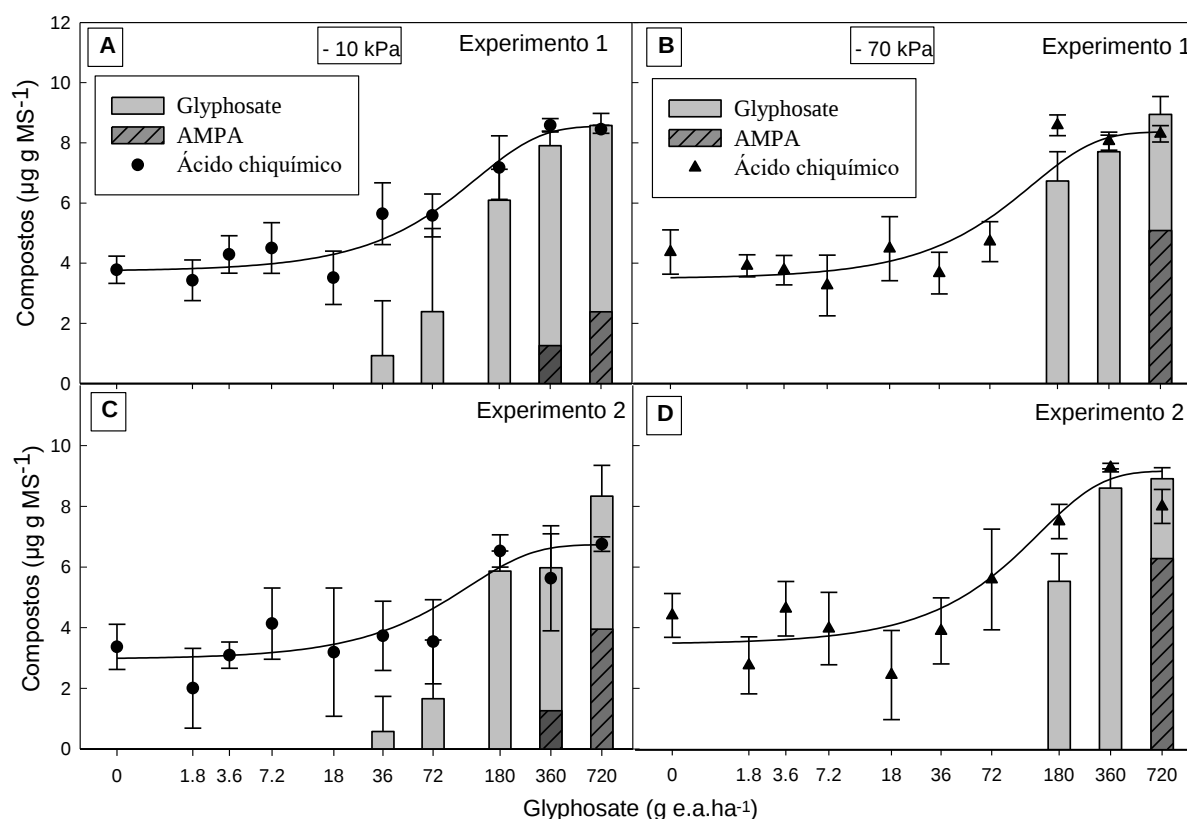


Figura 5. Concentração de ácido chiquímico predita ($\ln(x)$) utilizando a equação de Gompertz (Eq (5))^{Gompertz (1825)}, e concentrações de glyphosate e ácido aminometilfosfônico (AMPA) ($\ln(x+1)$) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados referentes à média de dois experimentos independentes (Experimento 1 (A, B) e Experimento 2 (C, D)) com quatro repetições por tratamento (média $\pm$ desvio padrão).

Aos 3 DAT, as baixas doses de 18 e 36 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate houve detecção nos níveis de H₂O₂ com redução em até 0,9 vezes em relação ao controle, independente da tensão hídrica. Aos 28 DAT, as plantas estavam mais sensíveis às baixas doses de glyphosate, sendo a redução constatada entre as doses de 1,8 a 72 g e.a. ha⁻¹, com maior acúmulo nas plantas sob déficit hídrico (Figura 6).

A peroxidação lipídica (concentração de ácido malondialdeído - MDA) apresentou concentração cerca de 1,45 vezes menor em relação ao controle, aos 3 DAT, nas doses de 3,6 a 36 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, em plantas sob condições de déficit hídrico. Aos 28 DAT, as plantas controle mantiveram valores superiores em concentração de LPO com cerca de 1,2 vezes maior que em baixas doses de 7,2 a 36 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, com maior acúmulo nas plantas sob déficit hídrico (Figura 6).

Aumentos nos teores de prolina nas plantas foram obtidos aos 3 DAT a partir da dose de 180 g e.a. ha⁻¹, independente da tensão hídrica, com acréscimo de 1,2 vezes em relação ao controle. Enquanto que, aos 28 DAT, o aumento de 1,2 vezes foi constatado a partir da dose de 36 g e.a. ha⁻¹, indicando maior sensibilidade às plantas tratadas com glyphosate, com maior acúmulo de compostos nas plantas sob déficit hídrico (Figura 6).

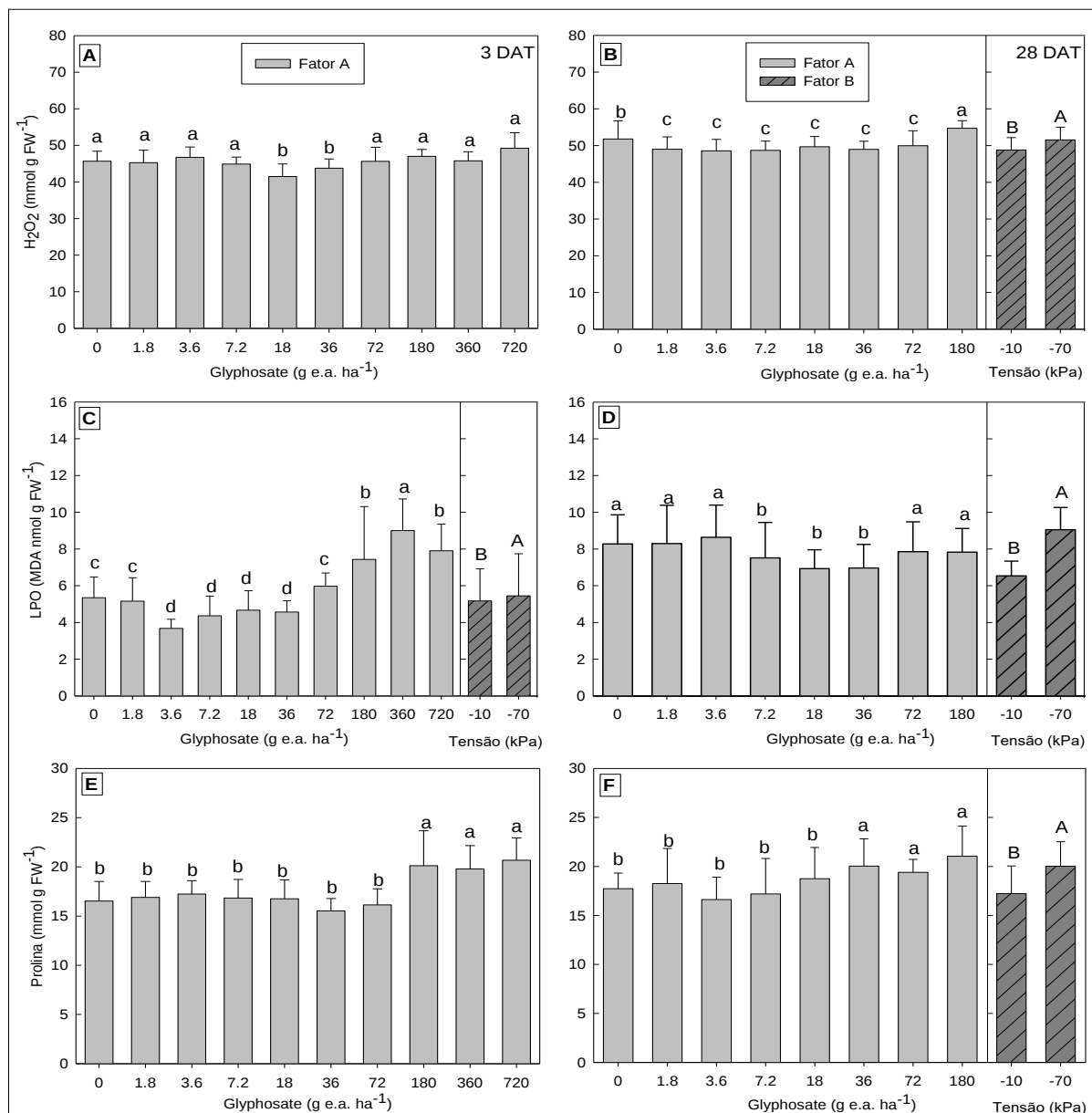


Figura 6. Concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (A, B), peroxidação lipídica (concentração MDA) (LPO) (C, D) e prolina (E, F) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 28 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). O Fator A representa as doses de glyphosate (barra cinza claro) e o Fator B representa dois regimes hídricos (barra cinza escuro tracejado). Letras minúsculas nas barras comparam as doses de glyphosate e maiúsculas nas barras comparam os regimes hídricos pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Dados das barras são médias $\pm$ desvio padrão de quatro repetições por tratamento.

2.3.2.2 Respostas antioxidantes (SOD, CAT, POD e APX) (3 e 28 DAT)

A atividade da SOD diferiu entre os regimes hídricos aplicados aos 3 DAT, em que as plantas sob déficit hídrico sobressaíram nas baixas doses de 18 e 36 g e.a. ha⁻¹. As plantas sem déficit hídrico apresentaram aumento em concentração nas doses de 1,8 a 180 g e.a. ha⁻¹, resultando em aumento de atividade 1,6 vezes. Aos 28 DAT, menor atividade foi obtida nas baixas doses de 18 e 36 g e.a. ha⁻¹, quando as plantas estavam sob déficit hídrico, porém em condições hídricas ideais sob doses mais elevadas (72 e 180 g e.a. ha⁻¹), houve aumento de 1,2 vezes, e, em geral, houve maior atividade da enzima nas plantas sob déficit hídrico, fato evidenciado pelas maiores médias em termos absolutos (Figura 7).

A atividade da CAT foi geralmente maior nas plantas sob déficit hídrico aos 3 DAT, com aumento em atividade de até 2,0 vezes em relação ao controle, entre as baixas doses de 7,2 a 36 g e.a. ha⁻¹. Já em plantas sem déficit hídrico foi obtido maior aumento entre as baixas doses 18 e 36 g e.a. ha⁻¹. Aos 28 dias, em plantas sob déficit hídrico, houve redução na atividade da CAT para as baixas doses de 18 e 36 g e.a. ha⁻¹, e aumento em atividade nas plantas sem déficit hídrico para as baixas doses de 7,2 a 36 g e.a. ha⁻¹, ou seja, as plantas tiveram maior expressão da enzima quando não estressadas pela falta de água (Figura 7).

A atividade da POD foi reduzida em baixas doses de 18 a 72 g e.a. ha⁻¹ aos 3 DAT, independente da tensão hídrica. Aos 28 DAT, não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Figura 7).

Plantas sob déficit hídrico tiveram aumento em atividade da APX, aos 3 DAT, nas baixas doses de 18 e 36 g e.a. ha⁻¹, enquanto que nas plantas sem déficit hídrico houve aumento máximo entre as baixas doses de 7,2 até em doses mais elevadas, como 720 g e.a. ha⁻¹, em relação ao controle, constatando-se um aumento máximo de 1,8 vezes em relação ao controle. Maior atividade foi constatada nas plantas sob déficit hídrico na dose de 36 g e.a. ha⁻¹ aos 28 DAT, e nas plantas sem déficit hídrico foi verificado aumento da atividade dessa enzima nas baixas doses de 18 e 36 g e.a. ha⁻¹ (Figura 7).

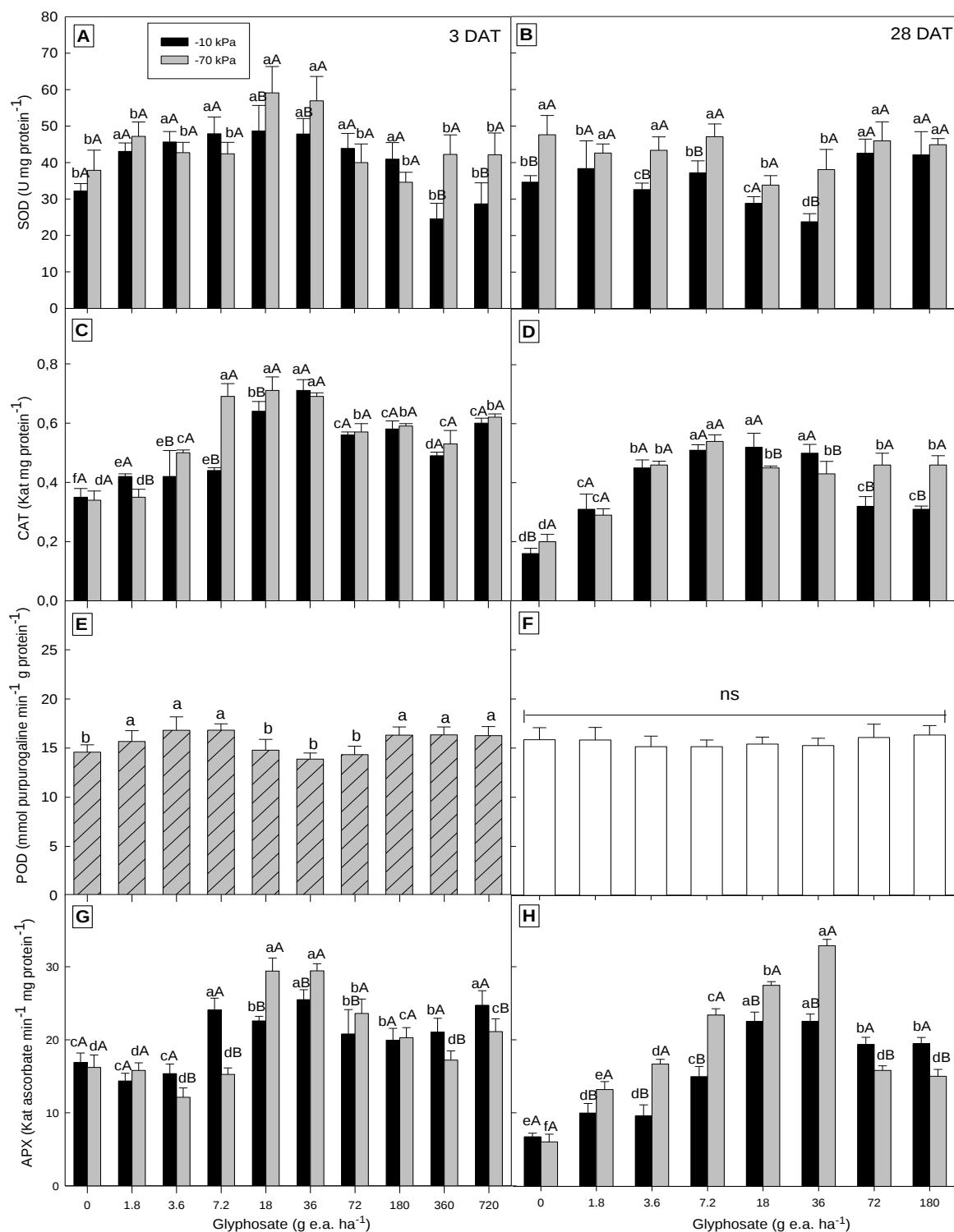


Figura 7. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A, B), catalase (CAT) (C, D), peroxidase (POD) (E, F) e ascorbato peroxidase (APX) (G, H) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 28 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Efeito para doses de glyphosate (barra cinza tracejada) e dados não significativos, ns, (barra branca). Os dois regimes hídricos são representados em tensão hídrica de -10 kPa (barra preta) e tensão hídrica de -70 kPa (barra cinza). Letras minúsculas nas barras comparam as doses de glyphosate e maiúsculas nas barras comparam os regimes hídricos pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Dados das barras são médias $\pm$ desvio padrão de quatro repetições por tratamento.

2.4 DISCUSSÃO

Este estudo demonstra que a aplicação de baixas doses de glyphosate promove respostas distintas nas plantas de cártamo sob diferentes regimes hídricos. A aplicação de glyphosate causou perturbações no aparato fotossintético com reduções nos níveis dos componentes da fluorescência da clorofila *a*, principalmente em altas doses (a partir de 180 g e.a. ha⁻¹). Esse processo desencadeia a produção de ERO e ativação dos processos enzimáticos (Gomes et al., 2016; 2017).

As taxas de *Fv/Fm* foram semelhantes nas plantas em ambas as condições hídricas e períodos de avaliações, diminuindo em doses > 72 g e.a. ha⁻¹, foram encontradas em nossa pesquisa. Respostas semelhantes foram observadas nos trabalhos de Choi et al. (2012), Smedbol et al. (2017) e Gomes et al. (2017), em que aplicação do herbicida glyphosate causou redução do parâmetro. Por outro lado, a manutenção da relação *Fv/Fm* em baixas doses < 36 g e.a. ha⁻¹ fornece um indicativo de eficiência no uso da radiação, e possivelmente, em reações de assimilação de carbono, tornando explícito o efeito atenuador das baixas doses de glyphosate em plantas de cártamo sob condições de déficit hídrico (Figura 2).

Já para as variáveis Φ PSII, ETR e qP, aos 3 e 7 DAT, sob déficit hídrico, a diferença inicial na dose M, que proporciona o máximo rendimento dessas variáveis, e LDS, dose limitante para o estímulo hormético, pode estar relacionado à menor capacidade de translocação de solutos em condições de déficit hídrico, encontrada aos 3 DAT nas plantas de cártamo (Mollaei et al., 2020b). Assim, a resposta ao estímulo de baixas doses do herbicida glyphosate para a variável Φ PSII em plantas sob baixa umidade do solo aos 3 DAT, e aos 7 DAT para as plantas em condições hídricas normais, indicam que os centros de reações estavam mais ativos do que nas plantas controle. Esse fenômeno pode estar relacionado ao estado de transição de energia fotoquímica, modulando os efeitos do glyphosate nos centros de reação do PSII, uma vez que a energia pode ser distribuída entre os fotossistemas (Smedbol et al., 2017).

O parâmetro qP é indicativo de proporção dos centros de reações abertos, e a ETR atua em conjunto com o Φ PSII (Maxwell e Johnson, 2000), mantendo o equilíbrio entre a taxa de excitação e a transferência de elétrons no fotossistema (Zhang et al., 2016). Desta forma, a ocorrência simultânea de hormesis para esses parâmetros evidencia que as plantas sob déficit hídrico aos 7 DAT transformaram o

estímulo de baixas doses de glyphosate, podendo resultar em ganho de rendimento, com aplicação de baixas doses de glyphosate de até $\text{LDS} = 37 \text{ g e.a. ha}^{-1}$, com $y_{\text{max}} = 129\%$, na dose $M = 4 \text{ g e.a. ha}^{-1}$. A eficiência fotossintética representada pelos parâmetros do ΦPSII e qP em plantas sob condições de déficit hídrico, representa a capacidade fotoprotetora do mecanismo de NPQ, como resposta adaptativa da planta ao estresse hídrico usando as baixas doses de glyphosate para aumentar as defesas celulares, visando a restauração da homeostase celular (Chaves et al., 2009; Gomes et al., 2017; Berry III e López-Martínez, 2020).

Verificamos ainda nas plantas sob déficit hídrico aos 3 DAT, que houve maior impacto em qP , ocasionado pelas baixas doses de glyphosate, com desaparecimento do comportamento bifásico aos 7 DAT. A duração do efeito hormético é um evento de grande interesse para o pesquisador, pois ele tende a diminuir com o tempo, dependendo das condições ambientais, da espécie e do estágio de desenvolvimento da planta, que pode resultar em um efeito duradouro, e consequentemente, em aumento de rendimento (Nascentes et al., 2018; Agathokleous e Calabrese, 2019; Agathokleous et al., 2019; 2020a; 2020b; Bortolheiro et al., 2020; Calabrese e Agathokleous, 2020; Santos et al., 2020). Como relatado por Pincelli-Souza et al. (2020), que obtiveram aumento em produtividade refletido até a colheita em cana-de-açúcar utilizando baixas doses de glyphosate.

Não foi verificada a influência do estresse hídrico nas curvas de NPQ aos 3 DAT, enquanto aos 7 DAT, nas plantas sem déficit hídrico, os coeficientes de inclinação foram maiores, indicando maior dissipação de energia quando comparadas as plantas aos 3 DAT. Em ambos os regimes hídricos, independente do período de avaliação, houve aumento de energia dissipada, em doses $> 72 \text{ g e.a. ha}^{-1}$, indicando a formação de ERO, estando em concordância com a dose limite média obtida aos 7 DAT em plantas sob condições hídricas normais para os parâmetros ΦPSII , ETR e qP , que apresentaram $\text{LDS} = 75 \text{ g e.a. ha}^{-1}$. O aumento do NPQ protege o aparelho fotossintético com a fotoinibição gerada por alterações na ETR entre PSII e PSI (Gomes et al., 2016).

A integridade da membrana dos tilacoides pode ser afetada pelo aumento dos níveis de ERO resultante da LPO, o qual contribui para redução na ETR limitando a fase fotoquímica devido a alteração da integridade do PSII, obtida por menor F_v/F_m (Gomes et al., 2016; 2017). O glyphosate em quantidade elevada causa redução na

sintetização de proteínas fotossintéticas (Duke e Powles, 2008; Velini et al., 2008), e alguns estudos relacionam o aumento da peroxidação lipídica ao aumento no conteúdo de H_2O_2 em plantas expostas ao glyphosate (Miteva et al., 2010; Gomes et al., 2016; 2017). Em nossos estudos, efeitos positivos foram encontrados após as plantas serem tratadas com baixas doses de glyphosate em condições de déficit hídrico, as quais mantiveram baixos níveis de H_2O_2 e LPO, como resultado do efeito atenuador do glyphosate nessas condições (Fig. 6).

A redução dos parâmetros F_v/F_m , $\Phi PSII$, ETR e qP nas maiores doses de glyphosate (> 72 g e.a. ha^{-1}), independente das tensões hídricas, pode ser refletido pela detecção de glyphosate e AMPA, induzindo aumento nos níveis de H_2O_2 e LPO, por perturbações associadas ao aparato fotossintético, também observado em outras espécies (Heath e Packer, 1968; Cakmak e Horst, 1991; Miteva et al., 2010; Maroli et al., 2015), pelos efeitos indiretos do glyphosate na eficiência fotoquímica das plantas (Gomes et al., 2016).

As concentrações de glyphosate foram indetectáveis em baixas doses de glyphosate < 36 g e.a. ha^{-1} , em plantas sob condições hídricas adequadas, e em baixas doses < 180 g e.a. ha^{-1} , nas plantas sob déficit hídrico, resultando em leve concentração acumulada de ácido chiquímico em doses de glyphosate (< 72 g e.a. ha^{-1}). A concentração de ácido chiquímico em baixas doses indica que houve leve inibição no consumo de carbono, induzindo ao acúmulo de açúcares, ocasionando efeito estimulante na atividade fotossintética, e maior atividade da enzima Rubisco, embora esses mecanismos ainda não estejam totalmente esclarecidos (Cedergreen e Olsen, 2010; Gomes et al., 2016).

Na via do ácido chiquímico, a enzima EPSPS (enolpiruvilchiquimato-3-fosfato-sintase) que é codificada no núcleo e desempenha sua função no cloroplasto, tendo o citoplasma como precursor, catalisa a conversão do ácido chiquímico em corismato, que é o produto final da rota e o precursor da biossíntese dos aminoácidos aromáticos triptofano, fenilalanina e tirosina, entre outros compostos fenólicos em plantas, que funcionam como precursores de um grande número de metabólitos secundários (lignina, antocianinas, flavonoides, auxinas, fitoalexinas e taninos). Essa via é responsável por aproximadamente 35% da matéria seca de uma planta e 20% do carbono fixado pela fotossíntese é derivado dessa rota metabólica (Nascentes et al., 2018; Pincelli-Souza et al., 2020).

Os baixos níveis de H_2O_2 e LPO em baixas doses de 7,2 a 36 g aos 28 DAT potencializam a integridade da membrana celular regulado por baixas doses de glyphosate, principalmente em plantas sob condições de déficit hídrico (Foyer e Noctor, 2011; Gomes et al., 2014). Um leve aumento na concentração de ácido chiquímico pode desencadear a função de proteção celular, indicado pelo aumento no nível de prolina, constatado aos 28 DAT, em baixas doses $> 36 \text{ g e.a. ha}^{-1}$, maior concentrado em plantas sob déficit hídrico, atestando a função de osmoproteção celular e prevenindo contra danos às estruturas celulares (Ashraf e Foolad, 2007).

Por outro lado, danos oxidativos podem ser induzidos em condições de déficit hídrico, ativando o sistema antioxidante em plantas, e como resposta protetora comum das plantas em condições de estresse pode ser causada por aumentos em níveis de prolina (Ashraf e Foolad, 2007; Gomes et al., 2017), atuando ainda como molécula sinalizadora em condições de estresse (Ashraf e Foolad, 2007), que previne contra danos oxidativos, aumentando a tolerância ao estresse abiótico em plantas (Foyer e Noctor, 2011; Gomes et al., 2014).

A atuação das enzimas antioxidantes em plantas tratadas com baixas doses de glyphosate em condições de déficit hídrico é confirmada pela atividade aumentada das enzimas após 3 dias de exposição aos tratamentos, prevenindo o acúmulo de H_2O_2 e LPO em plantas, indicando evidente efeito atenuador do glyphosate por meio de processos bioquímicos em plantas de cártamo. Além disso, a forte atuação das atividades da SOD, CAT e APX, em plantas tratadas aos 3 DAT, com baixas doses de glyphosate, em condições de déficit hídrico, pode estar relacionado ao estresse oxidativo gerado nas plantas (Figura 7).

O aumento expressivo em atividade da SOD nas plantas tratadas com baixas doses de glyphosate foi evidente em plantas de cártamo, aos 3 DAT, principalmente nas doses de 18 e 36 g e.a. ha^{-1} , em condições de déficit hídrico, evidenciando o mecanismo de defesa celular ativado para proteção contra danos celulares. A SOD é a primeira enzima atuante na linha de defesa contra agentes oxidantes, estando intimamente relacionada ao nível de tolerância das plantas em condições de estresse, a qual atua dismutando o radical superóxido em H_2O_2 , conferindo proteção ao PSII (Giannopolitis e Ries, 1977; Foyer e Noctor, 2011).

A atividade da CAT manteve-se elevada aos 3 DAT em plantas tratadas com baixas doses de glyphosate em condições de déficit hídrico, a qual atuou

desintoxicando as células convertendo o H_2O_2 em H_2O e O_2 , podendo estar associada à fotorrespiração nos peroxissomos, atuando como um dreno de elétrons prevenindo os danos fotooxidativos pelas ERO (Cakmak e Horst, 1991; Peixoto et al., 1999; Foyer e Noctor, 2011).

A baixa atividade da POD está relacionada à atuação efetiva e eficiente da CAT e APX na eliminação do H_2O_2 . Atividade aumentada da APX, em plantas tratadas com baixas doses de glyphosate e sob condições de déficit hídrico foi verificada aos 3 DAT, desempenhando papel fundamental na catalisação do H_2O_2 em H_2O por meio do ciclo da ascorbato-glutationa (AsA-GSH), que atua como doador de elétrons (Foyer e Noctor, 2011), mantendo a atividade até aos 28 DAT nas plantas tratadas com baixas doses de glyphosate sob condições de déficit hídrico, podendo estar relacionada a transferência de elétrons nos fotossistemas ligado a concentração de ascorbato (Smedbol et al., 2017).

Notamos, que plantas tratadas com baixas doses de glyphosate tiveram atenuação do estresse gerado por déficit hídrico, as quais tiveram redução do acúmulo de H_2O_2 e, conseqüentemente, de LPO, devido ao aumento em atividade dos sistemas antioxidantes enzimáticos, ou seja, SOD, CAT e APX, atuando de forma compensatória de estímulos contra as ERO, mantendo o aparelho fotossintético em atividade.

2.5 CONCLUSÕES

Nossos resultados evidenciam o efeito atenuador de baixas doses de glyphosate em plantas de *C. tinctorius* sob déficit hídrico, permitindo funcionamento de sua fisiologia e bioquímica em condições de déficit hídrico severo, atingindo níveis próximos ou iguais ao nível das plantas controle sem estresse hídrico. Sugerimos ainda que as plantas sob condições de déficit hídrico não devem ser expostas a doses de glyphosate $> 37 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ (LDS), devido ao comprometimento na atividade de enzimas antioxidantes e do desempenho fotossintético. Esta pesquisa destaca o importante papel desta molécula para um futuro manejo sustentável da cultura inerente aos cenários de mudanças climáticas.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil) pela concessão da bolsa “Produtividade em Pesquisa” para MAS (Proc. 305952/2018-8).

REFERÊNCIAS

- Agathokleous, E., Calabrese, E.J. 2019. Hormesis can enhance agricultural sustainability in a changing world. *Glob. Food Sec.* 20, 150-155.
- Agathokleous, E., Feng, Z.Z., Peñuelas, J. 2020a. Chlorophyll hormesis: Are chlorophylls major components of stress biology in higher plants? *Sci. Total Environ.* 726, 138637.
- Agathokleous, E., Kitao, M., Calabrese, E.J. 2019. Hormesis: A compelling platform for sophisticated plant science. *Trends Plant Sci.* 24, 28-37.
- Agathokleous, E., Kitao, M., Calabrese, E.J. 2020b. Hormesis: highly generalizable and beyond laboratory. *Trends Plant Sci.* In Press. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.05.006>.
- Alexiava, V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ.*, 24, 1337–1344.
- Ashraf, M., Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59, 206-216.
- Bacchetti, T., Morresi, C., Bellachioma, L., Ferretti, G., 2020. Antioxidant and pro-oxidant properties of *Carthamus tinctorius*, hydroxy safflor yellow a, and safflor yellow a. *Antioxidants (Basel)*, 9, 119. <https://doi.org/10.3390/antiox9020119>.
- Bates, L.S., Winklren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline water stress studies. *Plant Soil.* 39, 205-207.
- Belz, R.B., Piepho, H.P., 2014. Statistical modeling of the hormetic dose zone and the toxic potency completes the quantitative description of hormetic dose responses. *Environ. Toxicol. Chem.* 34, 1169–1177.
- Belz, R.G. 2020. Low herbicide doses can change the responses of weeds to subsequent treatments in the next generation: metamitron exposed PSII-target-site resistant *Chenopodium album* as a case study. *Pest Manag. Sci.* 2020. <https://doi.org/10.1002/ps.5856>.
- Belz, R.G., Piepho, H.P., 2012. Modeling effective dosages in hormetic dose-response studies. *PLoS One*, 7:e33432. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033432>.
- Berry III, R., López-Martínez, G., 2020. A dose of experimental hormesis: when mild stress protects and improves animal performance. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 242, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.110658>.

- Bortolheiro, F.P.A.P., Brunelli-Nascentes, M.C., Boaro, C.S.F., Silva, M.A. 2020. Can low doses of glyphosate stimulate common bean growth? J. Environ. Sci. Heal B. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1853456>.
- Bortolheiro, F.P.A.P., Silva, M.A., 2017. Physiological response and productivity of safflower lines under water deficit and rehydration. An. Acad. Bras. Ciênc., 89, 3051–3066.
- Cakmak, I., Horst, J.H., 1991. Effects of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). Physiol. Plant., 83, 463-468.
- Calabrese, E.J., Agathokleous, E. 2020. Smoke-water commonly induces hormetic dose responses in plants. Sci. Total Environ. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142776>.
- Cedergreen, N., Olesen, C.F., 2010. Can glyphosate stimulate photosynthesis? Pestic. Biochem. Physiol. 96, 140-148.
- Cedergreen, N., Ritz, C., Streibig, J.C., 2005. Improved empirical models describing hormesis. Environ. Toxicol. Chem. 24, 3166–3172.
- Cedergreen, N., Streibig, J.C., Kudsk, P., Mathiassen, S.K., Duke, S.O., 2007. The occurrence of hormesis in plants and algae. Dose-Response, 5, 150–162.
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C., 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Ann. Bot. 103, 551–560.
- Choi, C.J., Berges, J.A., Young, E.B., 2012. Rapid effects of diverse toxic water pollutants on chlorophyll a fluorescence: variable response among freshwater microalgae. Water Res. 46, 2615–2626.
- Delshad, E., Yousefi, M., Sasannezhad, P., Rakhshandeh, H., Ayati Z. 2018. Medical uses of *Carthamus tinctorius* L. (Safflower): A comprehensive review from Traditional Medicine to Modern Medicine. Electron. Physician., 10:6672–6681. <https://doi.org/10.19082/6672>.
- Duke, S.O., 2019. Enhanced metabolic degradation of glyphosate: The last evolved resistance mechanism? Plant Physiol. 181, 1401-1403.
- Duke, S.O., Powles, S.B. 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. Pest Manag. Sci. 64, 319–325.
- Foyer, C.H., Noctor, G., 2011. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. Plant Physiol. 155, 2–18.
- Freitas-Silva, L., Rodríguez-Ruiz, M., Houmani, H., Silva, L.C., Palma, J.M., Corpas, J.F., 2017. Glyphosate-induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* triggers the activity of the oxidative phase of the pentose phosphate pathway involved in the NADPH generation. J. Plant Physiol. 218, 196.
- Genty, B., Briantais, J.M., Baker, N.R., 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochim. Biophys. Acta. 990, 87-92.
- Giannopolitis, C.N., Reis, S.K., 1997. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. Plant Physiol., 59: 309–314.

Gomes, G.L.G.C., Carbonari, C.A., Velini, E.D., Trindade, M.L.B., Silva, J.R.M., 2015. Extraction and simultaneous determination of glyphosate, AMPA and compounds of the shikimic acid pathway in plants. *Planta Daninha*, 33, 295-304.

Gomes, M.P., Manac'h, S.G.L., Maccario, S., Labrecque, M., Lucotte, M., Juneau, P., 2016. Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plants. *Pestic Biochem Physiol*. 130, 65-70.

Gomes, M.P., Manac'h, L., Sarah, G., Hénault-Ethier, L., Labrecque, M., Lucotte, M., Juneau, P., 2017. Glyphosate-dependent inhibition of photosynthesis in willow. *Front. Plant Sci.* 8, 207.

Gomes, M.P., Smedbol, E., Carneiro, M.M.L.C., Garcia, Q.S., Juneau, P. 2014. "Reactive oxygen species and plant hormones," in *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling* ed. Ahmad P. (New York, NY: Academic Press), 65–81.

Gompertz, B. 1825. On the nature of the function expressive of the law of human mortality and on a new mode of determining the value of life contingencies. *Phil. Trans. R. Soc.* 115, 513–583.

Heath, R.L., Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 125, 189-198.

Istanbulluoglu, A., 2009. Effects of irrigation regimes on yield and water productivity of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under Mediterranean climatic conditions. *Agric. Water Manag.*, 96, 1792-1798.

Maroli, A.S., Nandula, V.K., Dayan, F.E., Duke, Gerard, P., Tharayil, N., 2015. Metabolic profiling and enzyme analyses indicate a potential role of antioxidant systems in complementing glyphosate resistance in an *Amaranthus palmeri* biotype, *J. Agric. Food Chem.* 63, 9199–9209.

Maxwell, K., Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.*, 51: 659–668. 1.

Miteva, L.E., Ivanov, S.V., Alexieva, V.S., 2010. Alterations in glutathione pool and some related enzymes in leaves and roots of pea plants treated with the herbicide glyphosate, *Russ. J. Plant Physiol.* 57, 131–136.

Mollaee, M., Matloob, A., Mobli, A., Thompson, M., Chauhan, B.S., 2020a. Response of glyphosate-resistant and susceptible biotypes of *Echinochloa colona* to low doses of glyphosate in different soil moisture conditions. *PLoS ONE*, 15:e0233428. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233428>.

Mollaee, M., Mobli, A., Chauhan, B.S., 2020b. The response of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible biotypes of *Echinochloa colona* to carbon dioxide, soil moisture and glyphosate. *Sci Rep* 10:329–42. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57307-9>.

Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 22: 867-880.

Nascentes, R.F., Carbonari, C.A., Simões, P.S., Brunelli, M.C., Velini, E.D., Duke, S.O., 2018. Low doses of glyphosate enhance growth, CO₂ assimilation, stomatal

conductance and transpiration in sugarcane and eucalyptus. *Pest Manag. Sci.* 74, 1197–1205.

Peixoto, H.P.P., Cambraia, J., Sant'anna, R., Mosquim, P.R., Moreira, M.A. 1999. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. *Rev. Bras. Fisiol Veg.*, 11, 137-143.

Pincelli-Souza, R.P., Bortolheiro, F.P.A.P., Carbonari, C.A., Velini, E.D., Silva, M.A., 2020. Hormetic effect of glyphosate persists during the entire growth period and increases sugarcane yield. *Pest Manag. Sci.* 2020. <https://doi.org/10.1002/ps.5775>.

Queiroga VP, Girão EG e Albuquerque EMV., 2021. Cártamo (*Carthamus tinctorius* L.): Tecnologia de plantio e utilização. *Boletim Técnico, Embrapa*, pp 84-86.

Santaniello, A., Scartazza, A., Gresta, F., Loreti, E., Biasone, A., Di Tommaso, D., Piaggese, A., Perata, P., 2017. *Ascophyllum nodosum* seaweed extract alleviates drought stress in arabidopsis by affecting photosynthetic performance and related gene expression. *Front. Plant. Sci.*, 8, 1362. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01362>.

Santos, J.C.C., Silva, D.M.R., Amorim, D.J., Sab, M.P.V., Silva, M.A. 2020. Glyphosate hormesis mitigates the effect of water deficit in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Pest Manag. Sci.*, 77, 6231. <https://doi.org/10.1002/ps.6231>.

Schabenberger, O., Tharp, B.E., Kells, J.J., Penner, D., 1999. Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. *Agron. J.* 91, 713–721.

Silva, M.A., Aragao, N.C., Barbosa, M.A., Jeronimo, E.M., Carlin, S.D., 2009. Hormetic effect of glyphosate on the initial development of sugarcane. *Bragantia*, 68, 973-978.

Smedbol, E., Lucotte, M., Labrecque, M., Lepage L., Juneau P. 2017. Phytoplankton growth and PSII efficiency sensitivity to a glyphosate-based herbicide (Factor 540®). *Aquat. Toxicol.* 192, 265-273.

Streibig, J.C., 1988. Herbicide bioassay. *Weed Res.* 28, 479–484.

Van Genuchten, M.T.H. 1980. A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41, 892–898.

Velini, E.D., Alves, E., Godoy, M.C., Meschede, D.K., Souza, R.T., Duke. S.O., 2008. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth, *Pest Manag. Sci.* 64, 489-496.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em termos práticos, as plantas tratadas com baixas doses de glyphosate apresentaram maior tolerância ao déficit hídrico em relação às plantas controle sob condições de déficit hídrico, conferida através de estímulos horméticos que promoveram aumento do metabolismo aos níveis fisiológicos e bioquímicos, resultando em crescimento e desenvolvimento das plantas, que atingiram valores próximos ou iguais às plantas controle em condições hídricas normais, fator este considerado importante diante do atual cenário de mudanças climáticas.

Baixas doses de glyphosate ($< 37 \text{ g e.a. ha}^{-1}$) mitigaram os eventuais danos gerados pelo déficit hídrico severo em plantas de cârtamo, com redução do estímulo em doses $> 75 \text{ g e.a. ha}^{-1}$.

As plantas de cârtamo em condições de déficit hídrico, quando tratadas com baixas doses de glyphosate, atingiram níveis de AP e AF semelhantes aos das plantas controle bem irrigadas, fato este evidenciado pelo eficiente maquinário fisiológico e bioquímico, que atuaram em conjunto na manutenção das taxas de A, e reduziram *gs* e *E*, resultando em aumentos de AP e AF, conferidos pela manutenção da eficiência dos mecanismos de prevenção a danos no aparato fotossintético, *Fv/Fm*, ΦPSII , ETR, *qP* e NPQ, em que as plantas não acumularam ácido chiquímico, glyphosate ou AMPA, com aumento no potencial do mecanismo osmoprotetor (prolina), com reduções nos níveis de H_2O_2 e LPO, prevenindo os danos fotooxidativos pelas ERO devido à eficiência na atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, POD e APX).

Portanto, baixas doses de glyphosate aplicadas em plantas de cârtamo sob condições de déficit hídrico durante a fase vegetativa de desenvolvimento atuaram aumentando a tolerância das plantas ao déficit hídrico severo, se tornando uma importante ferramenta direcionada aos produtores rurais em áreas propensas à deficiência hídrica, sendo uma importante descoberta sobre hormesis de glyphosate diante do cenário atual de mudanças climáticas.

REFERÊNCIAS

- BACCHETTI, T.; MORRESI, C.; BELLACHIOMA, L.; FERRETTI, G. Antioxidant and pro-oxidant properties of *Carthamus tinctorius*, hydroxy safflor yellow A, and safflor yellow A. **Antioxidants**, v. 9, n. 2, p. 119, 2020.
- BAE, C. S.; PARK, C. H.; CHO, H. J.; HAN, H. J.; KANG, S. S.; CHOI, S. H. Therapeutic effects of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed powder on osteoporosis. **Applied Microscopy**, v. 32, n. 3, p. 285-290, 2002.
- BELZ, R. B.; PIEPHO, H. P. Statistical modeling of the hormetic dose zone and the toxic potency completes the quantitative description of hormetic dose responses. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 5, p. 1169-1177, 2015.
- BELZ, R. G.; PATAMA, M.; SINKKONEN, A. Low doses of six toxicants change plant size distribution in dense populations of *Lactuca sativa*. **Science of the Total Environment**, v. 631, p. 510-523, 2018.
- BELZ, R. G.; PIEPHO, H. P. Modeling effective dosages in hormetic dose-response studies. **PloS One**, v. 7, n. 3, p. e33432, 2012.
- BERRY III, R.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, G. A dose of experimental hormesis: When mild stress protects and improves animal performance. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 242, p. 110658, 2020.
- BEYYAVAS, V.; HALILOGLU, H.; COPUR, O.; YILMAZ, A. Determination of seed yield and yield components of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars, lines and populations under the semi-arid conditions. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 527-534, 2011.
- BORTOLHEIRO, F. P. A. P.; SILVA, M. A. Physiological response and productivity of safflower lines under water deficit and rehydration. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 4, p. 3051-3066, 2017.
- BRAIN, P.; COUSENS, R. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses. **Weed Research**, v. 29, n. 2, p. 93-96, 1989.
- BRITO, I. P.; TROPALDI, L.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Hormetic effects of glyphosate on plants. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1064-1070, 2018.
- CANAVAR, O.; GOTZ, K. P.; KOCA, Y. O.; ELLMER, F. Relationship between water use efficiency and $\delta^{13}C$ isotope discrimination of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under drought stress. **Turkish Journal of Field Crops**, v. 19, n. 2, p. 203-211, 2014.
- CARVALHO, L. B.; DUKE, S. O.; ALVES, P. L. C. A. Physiological responses of *Eucalyptus x urograndis* to glyphosate are dependent on the genotype. **Scientia Forestalis**, n. 118, p. 177-187, 2018.

CEDERGREEN, N.; RITZ, C.; STREIBIG, J. C. Improved empirical models describing hormesis. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 24, n. 12, p. 3166-3172, 2005.

CERVEIRA JUNIOR, W. R.; COSTA, Y. K. S.; CARBONARI, C. A.; DUKE, S.O.; ALVES, P. L. C. A.; CARVALHO, L. B. Growth, morphological, metabolic and photosynthetic responses of clones of eucalyptus to glyphosate. **Forest Ecology and Management**, v. 470, p. 118218, 2020.

DELSHAD, E.; YOUSEFI, M.; SASANNEZHAD, P.; RAKHSHANDEH, H.; AYATI, Z. Medical uses of *Carthamus tinctorius* L. (safflower): a comprehensive review from traditional medicine to modern medicine. **Electronic physician**, v. 10, n. 4, p. 6672, 2018.

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

EMONGOR, V. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) the underutilized and neglected crop: a review. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 6, p. 299-306, 2010.

FLEMMER, A. C.; FRANCHINI, M. C.; LINDSTRÖM, L. I. Description of safflower (*Carthamus tinctorius*) phenological growth stages according to the extended BBCH scale. **Annals of Applied Biology**, v. 166, n. 2, p. 331-339, 2015.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. **Plant Physiology**, v. 155, n. 1, p. 2-18, 2011.

GOMES, M. P.; MANAC'H, L.; SARAH, G.; HÉNAULT-ETHIER, L.; LABRECQUE, M.; LUCOTTE, M.; JUNEAU, P. Glyphosate-dependent inhibition of photosynthesis in willow. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 207, 2017.

ISTANBULLUOGLU, A. Effects of irrigation regimes on yield and water productivity of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under Mediterranean climatic conditions. **Agricultural Water Management**, v. 96, n. 12, p. 1792-1798, 2009.

LIAO, H.; LI, Y.; ZHAI, X.; ZHENG, B.; BANBURY, L.; ZHAO, X.; LI, R. Comparison of inhibitory effects of safflower decoction and safflower injection on Protein and mRNA expressions of iNOS and IL-1 β in LPS-activated RAW264.7 Cells. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, 2019.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MOLLAEI, M.; MOBLI, A.; CHAUHAN, B. S. The response of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible biotypes of *Echinochloa colona* to carbon dioxide, soil moisture and glyphosate. **Scientific Reports**, v. 10, 2020.

MORAES, C. P.; BRITO, I. P. F. S.; TROPALDI, L.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Hormetic effect of glyphosate on *Urochloa decumbens* plants. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 55, n. 4, p. 376-381, 2020.

NASCENTES, R. F.; CARBONARI, C. A.; SIMÕES, P. S.; BRUNELLI, M. C.; VELINI, E. D.; DUKE, S. O. Low doses of glyphosate enhance growth, CO₂ assimilation, stomatal conductance and transpiration in sugarcane and eucalyptus. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1197-1205, 2018.

PINCELLI-SOUZA, R. P.; BORTOLHEIRO, F. P. A. P.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D.; SILVA, M. A. Hormetic effect of glyphosate persists during the entire growth period and increases sugarcane yield. **Pest Management Science**, v. 76, n. 7, p. 2388-2394, 2020.

QUEIROGA, V. P.; GIRÃO, E. G. E.; ALBUQUERQUE, E. M. V. **Cártamo (*Carthamus tinctorius* L.): Tecnologia de plantio e utilização**. Boletim Técnico, 1º ed. Embrapa, pp 11-12, 2021.

SCHABENBERGER, O.; THARP, B. E.; KELLS, J. J.; PENNER, D. Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. **Agronomy Journal**, v. 91, n. 4, p. 713-721, 1999.

SILVA, J. C.; GERLACH, G. A. X.; RODRIGUES, R. A. F.; A. R. F, O. The impact of water regimes on hormesis by glyphosate on common bean. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 2, p. 237, 2016.

SILVA, M. A.; ARAGAO, N. C.; BARBOSA, M. A.; JERONIMO, E. M.; CARLIN, S. D. Efeito hormótico de glyphosate no desenvolvimento inicial de cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 68, n. 4, p. 973-978, 2009.

SILVA, M. A.; JIFON, J. L.; SANTOS, C. M.; JADOSKI, C. J.; SILVA, J. A. G. Photosynthetic capacity and water use efficiency in sugarcane genotypes subject to water deficit during early growth phase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 5, p. 735-748, 2013.

VELINI, E. D.; ALVES, E.; GODOY, M. C.; MESCHÉDE, D. K.; SOUZA, R. T.; DUKE, S. O. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 489-496, 2008.

ZONG-JIN, P.; SHI-JUN, Y.; GUI-SHENG, Z.; HUI, Y.; XU-QIN, S.; ZHEN-HUA, Z.; SHENG-LIANG, H.; GUO-PING, P.; YAN-YAN, C.; JI-QING, B.; XIAO-PING, W.; SHU-LAN, S.; YU-PING, T.; JIN-AO, D. The comprehensive evaluation of safflowers in different producing areas by combined analysis of color, chemical compounds, and biological activity. **Molecules**, v. 24, n. 18, p. 3381, 2019.

APÊNDICE A – Tabelas Suplementares do Capítulo 1

Tabela S1. Parâmetros de regressão e características quantitativas estimadas: comparação em pares usando a declaração CONTRAST dentro do procedimento NLMIXED, entre os dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa), para os parâmetros de crescimento e desenvolvimento (número de folhas, altura de planta, massa da matéria seca e área foliar) aos 7, 14, 21 e 28 dias após o tratamento, e os parâmetros fisiológicos (taxa de assimilação de CO₂ (*A*), condutância estomática (*gs*), taxa transpiratória (*E*), concentração interna de carbono (*C_i*), eficiência da carboxilação (*EC*) e eficiência do uso da água (*EUA*)) aos 3 e 7 dias após o tratamento, em plantas de *Carthamus tinctorius* que foram tratadas com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹).

Tensão hídrica		Parâmetros de Crescimento e Desenvolvimento							
		-10 kPa vs -70 kPa							
Variável	Número de folhas			Altura de planta [cm]				Massa da matéria seca [g]	Área foliar [cm ²]
Dias após tratamento	14	21	28	7	14	21	28	28	28
Modelo	Eq (3)	Eq (3)	Eq (3)	Eq (2)	Eq (3)	Eq (3)	Eq (3)	Eq (3)	Eq (3)
Parâmetros e características quantitativas									
c	-	-	-	ns	ns	-	-	*	-
d	*	*	*	ns	ns	*	*	*	*
f	*	-	ns	-	ns	*	*	ns	*
e	*	*	*	-	ns	ns	ns	*	ns
b	*	*	*	ns	ns	ns	ns	ns	*
ED ₅₀	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
a	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Continua na próxima página...

Continuação...

ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
M [g e.a. ha ⁻¹]	*	*	*	-	ns	ns	ns	*	*					
LDS [g e.a. ha ⁻¹]	*	ns	*	-	ns	ns	ns	*	ns					
y _{max}	*	*	*	-	*	*	*	*	*					
y _{max} [%]	ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns					
y _{max2} vs d1	-	-	*	-	-	-	ns	*	ns					
Parâmetros Fisiológicos														
Tensão hídrica	-10 kPa vs -70 kPa													
Variável	gs	EC	EUA	E	EUA	A	gs	E	EC	EUA	gs	C _i	EC	EUA
Dias após tratamento	3			3		7					7			
	Experimento 1			Experimento 2		Experimento 1					Experimento 2			
Modelo	Eq (2)	Eq (2)	Eq (5)	Eq (2)	Eq (5)	Eq (2)	Eq (2)	Eq (2)	Eq (2)	Eq (5)	Eq (2)	Eq (4)	Eq (2)	Eq (5)
Parâmetros e características quantitativas														
c	ns	*	-	ns	-	ns	ns	*	*	-	ns	ns	*	-
d	ns	*	-	ns	-	ns	*	*	*	-	*	*	*	-
f	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	-	-
e	ns	ns	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
b	ns	ns	-	ns	-	ns	*	*	ns	-	ns	ns	*	-
ED ₅₀	*	ns	-	ns	-	ns	ns	ns	*	-	ns	*	*	-
a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Continua na próxima página...

Continuação...

ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	-	-
M [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
LDS [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	-	-
y _{max}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-
y _{max} [%]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	-	-
y _{max2} vs d1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
θ	-	-	*	-	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	*
β	-	-	*	-	*	-	-	-	-	*	-	-	-	-	*

ns: não significativo; *parâmetros significativamente diferentes entre os dois regimes hídricos (p<0,05); ED₁₁₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa estímulo de 110% do controle; M [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa uma estimulação máxima; LDS [g e.a. ha⁻¹] = dose limitante para a estimulação; y_{max} [%] = resposta máxima de estimulação; y_{max} = resposta máxima estimulatória em termos absolutos; y_{max2} = resposta máxima estimulatória em termos absolutos de plantas sob déficit hídrico; d1 = valor médio do controle com e sem déficit hídrico.

Tabela S2. Características quantitativas $\pm$ erro padrão dos parâmetros (ED_{110} , M, LDS, $y_{\max}$) da modelagem bifásica (Equação 3) ou (Equação 4)^{36,37} para número de folhas e altura de plantas de *Carthamus tinctorius* aos 7, 14, 21 e 28 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$).

Variável	Número de folhas				Número de folhas			
Tensão hídrica	-10 kPa				-70 kPa			
Dias após tratamento	7	14	21	28	7	14	21	28
Modelo	Equação (4)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)
Carac. quantitativas								
ED_{110} [g e.a. ha ⁻¹]	ns	-	-	-	-	-	-	-
M [g. e.a. ha ⁻¹]	11,2093 $\pm$ 4,1007	31,4718 $\pm$ 3,3368	31,2811 $\pm$ 4,1705	45,3150 $\pm$ 6,5168	22,3603 $\pm$ 5,0376	23,2908 $\pm$ 2,4042	15,0842 $\pm$ 2,0132	15,8562 $\pm$ 3,0769
LDS [g, e.a. ha ⁻¹]	49,6649 $\pm$ 13,1895	64,3913 $\pm$ 4,7720	71,4671 $\pm$ 6,5053	101,2900 $\pm$ 8,238	73,5727 $\pm$ 11,3195	83,0083 $\pm$ 7,1400	54,1692 $\pm$ 7,1654	57,1033 $\pm$ 9,9988
$y_{\max}$ [%]	112,00 $\pm$ 0,3492	126,91 $\pm$ 6,1385	137,62 $\pm$ 9,5341	128,56 $\pm$ 5,8576	137,67 $\pm$ 5,9818	127,02 $\pm$ 7,4292	126,35 $\pm$ 8,9530	

Continua na próxima página...

Continuação...

Variável	Altura de planta [cm]				Altura de planta [cm]			
Tensão hídrica	-10 kPa				-70 kPa			
Dias após tratamento	7	14	21	28	7	14	21	28
Modelo	Equação (2)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (3)	Equação (3)
Carac. quantitativas								
ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-	-	-	-	-
M [g. e.a. ha ⁻¹]	-	28,7311 ± 2,5496	21,0904 ± 1,7900	20,4432 ± 2,1382	-	24,2385 ± 2,7710	23,6971 ± 1,7621	21,7149 ± 1,4385
LDS [g. e.a. ha ⁻¹]	-	62,0906 ± 3,0372	59,4578 ± 4,0497	57,6369 ± 4,4448	-	54,8547 ± 4,0467	57,1572 ± 3,0028	51,4803 ± 2,2835
y _{max} [%]	-	135,99 ± 5,1211	145,21 ± 7,2301	132,15 ± 5,6596	-	126,74 ± 5,8960	136,73 ± 5,4078	124,48 ± 4,1743

ns: não significativo; ED₁₁₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa estímulo de 110% do controle; M [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa uma estimulação máxima; LDS [g e.a. ha⁻¹] = dose limitante para a estimulação; y_{max} [%] = resposta máxima de estimulação.

Tabela S3. Características quantitativas $\pm$ erro padrão dos parâmetros (ED_{110} , M, LDS, y_{max}) da modelagem bifásica (Equação 3)³⁶ para massa de matéria seca e área foliar de plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 28 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos (exp.1 e exp.2) foram combinados em um único experimento de acordo com a significância da análise de variância ($p > 0,05$).

Variável	Massa de matéria seca [g]		Área foliar [cm ²]	
Tensão hídrica	-10 kpa	-70 kpa	-10 kpa	-70 kpa
Modelo	Eq (3)	Eq (3)	Eq (3)	Eq (3)
Carac. quantitativas				
ED_{110} [g. e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-
M [g. e.a. ha ⁻¹]	31,7652 $\pm$ 3,8530	19,6210 $\pm$ 2,8537	25,3086 $\pm$ 1,9302	31,3086 $\pm$ 1,7671
LDS [g. e.a. ha ⁻¹]	63,7836 $\pm$ 3,0710	47,8315 $\pm$ 3,5729	63,9049 $\pm$ 3,7140	63,2822 $\pm$ 2,5084
y_{max} [%]	127,55 $\pm$ 4,4693	128,50 $\pm$ 5,7249	136,97 $\pm$ 5,2810	138,28 $\pm$ 4,8267

ED_{110} [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa estímulo de 110% do controle; M [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa uma estimulação máxima; LDS [g e.a. ha⁻¹] = dose limitante para a estimulação; y_{max} [%] = resposta máxima de estimulação.

Tabela S4. Características quantitativas $\pm$ erro padrão dos parâmetros (ED_{110} , M , LDS , y_{max}) da modelagem bifásica (Equação 3) ou (Equação 4)^{36,37} taxa de assimilação de CO_2 (A), condutância estomática (gs), taxa transpiratória (E) e concentração interna de carbono (C_i) de plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 7 dias após o tratamento com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha^{-1}), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados dos dois experimentos independentes (exp.1 e exp.2).

Dias após tratamento	3 DAT				7 DAT			
	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 1		Experimento 2	
Variável	A				A			
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (4)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (4)	Equação (2)
Carac. quantitativas								
ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	ns	-	-	-	-	-	ns	-
M [g e.a. ha ⁻¹]	17,7871 ± 6,0702	-	41,3920 ± 5,546	-	-	-	7,8409 ± 1,7432	-
LDS [g e.a. ha ⁻¹]	97,5876 ± 24,6767	-	83,1693 ± 8,2289	-	-	-	53,6717 ± 11,1166	-
y _{max} [%]	105,38 ± 2,6741		110,05 ± 3,4116	-	-	-	109,90 ± 2,7146	-
Variável	E				E			
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (2)	Equação (4)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (2)
Carac. quantitativas								
ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	-	0,2785 ± 0,0874	-	-	-	-	-	-
M [g e.a. ha ⁻¹]	-	11,1281 ± 2,8844	-	-	-	-	20,7564 ± 2,7976	-
Continua na próxima página...								

Continua na próxima página...

Continuação...

LDS [g e.a. ha ⁻¹]	-	64,3132 ± 10,2554	-	-	-	-	47,2662 ± 4,1349	-
y _{max} [%]	-	125,44 ± 6,4952	-	-	-	-	122,57 ± 6,2568	-
Variável		gs				gs		
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (2)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)	Equação (2)
Carac. quantitativas								
ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-	-	-	-	-
M [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	23,6657 ± 2,1632	-	-	-	-	-
LDS [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	84,3759 ± 7,1292	-	-	-	-	-
y _{max} [%]	-	-	125,16 ± 6,5078	-	-	-	-	-
Variável		C _i				C _i		
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação (2)	Equação (4)	Equação (2)	Equação (3)	Equação (4)	Equação (2)	Equação (4)	Equação (4)
Carac. quantitativas								
ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	-	0,7169 ± 0,2511	-	-	ns	-	ns	0,4750 ± 0,5598
M [g e.a. ha ⁻¹]	-	35,9620 ± 5,3795	-	49,5873 ± 2,9185	23,7682 ± 6,2689	-	9,9744 ± 3,0523	50,7751 ± 16,8090
LDS [g e.a. ha ⁻¹]	-	84,3996 ± 5,5897	-	76,6997 ± 1,8459	92,7539 ± 12,1111	-	77,4400 ± 13,0693	69,0291 ± 11,6921
y _{max} [%]	-	155,90 ± 12,8830	-	180,46 ± 11,7170	105,48 ± 1,6970	-	106,41 ± 1,1560	110,60 ± 3,5850

ns: não significativo; ED₁₁₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa estímulo de 110% do controle; M [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa uma estimulação máxima; LDS [g e.a. ha⁻¹] = dose limitante para a estimulação; y_{max} [%] = resposta máxima de estimulação.

APÊNDICE B – Tabelas Suplementares do Capítulo 2

Tabela S1. Parâmetros dos modelos de dose-resposta $\pm$ erro padrão e características quantitativas (ED_{110} , M , LDS , y_{max}) $\pm$ erro padrão, modelagem monofásica (Equação 2)^{Streibig (1988)} ou bifásica (Equação 3)^{Cedergreen et al. (2005)} para eficiência fotoquímica máxima do PSII (F_v/F_m), rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Phi PSII$) e taxa de transporte de elétrons (ETR) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 7 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados referentes a dois experimentos independentes (Experimento1 e Experimento 2).

Variável	<i>F_v/F_m</i>				<i>F_v/F_m</i>			
Dias após tratamento	3 DAT				7 DAT			
	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 1		Experimento 2	
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2
Parâmetros								
c	0,6800 $\pm$ 0,0071	0,6909 $\pm$ 0,0071	0,7009 $\pm$ 0,0119	0,6860 $\pm$ 0,0117	0,6412 $\pm$ 0,0257	0,6687 $\pm$ 0,0133	0,6412 $\pm$ 0,0104	0,6553 $\pm$ 0,0364
d	0,8339 $\pm$ 0,0023	0,8429 $\pm$ 0,0032	0,8508 $\pm$ 0,0033	0,8456 $\pm$ 0,0056	0,8474 $\pm$ 0,0057	0,8498 $\pm$ 0,0048	0,8499 $\pm$ 0,0050	0,8554 $\pm$ 0,0063
f	-	-	-	-	-	-	-	-
e	-	-	-	-	-	-	-	-
b	3,5112 $\pm$ 0,9500	2,8198 $\pm$ 0,5926	4,8796ns	2,9191 $\pm$ 0,9878	1,9929 $\pm$ 0,5300	1,8929 $\pm$ 0,3928	2,6838 $\pm$ 0,5774	1,2534 $\pm$ 0,3375
ED ₅₀	189,28 $\pm$ 13,3090	125,78 $\pm$ 16,7476	166,55 $\pm$ 11,1736	128,41 $\pm$ 25,2571	105,27 $\pm$ 29,5924	163,36 $\pm$ 21,6589	69,86 $\pm$ 17,47	170,00 $\pm$ 59,0853
a	-	-	-	-	-	-	-	-

Continua na próxima página...

Continuação...

Variável	ΦPSII				ΦPSII			
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 3	Equação 2	Equação 2	Equação 3	Equação 3
Parâmetros								
c	0,0601 ± 0,00258	0,1382 ± 0,0126	0,0302 ± 0,0088	0,0709 ± 0,0135	0,01541 ± 0,0096	0,0 [#]	0,0 [#]	0,0 [#]
d	0,2958 ± 0,0051	0,2789 ± 0,0065	0,2293 ± 0,0033	0,1596 ± 0,0129	0,2955 ± 0,0069	0,2873 ± 0,0047	0,1684 ± 0,0114	0,1912 ± 0,0102
f	-	-	-	0,0658 ± 0,0205	-	-	0,0604 ± 0,0154	0,1153 ± 0,0413
e	-	-	-	172,32ns	-	-	103,09 ± 8,5625	75,5762 ± 26,6644
b	2,4679 ± 0,6827	2,9012 ± 1,3297	4,2717 ± 1,8147	18,0955ns	3,2361 ± 0,6557	2,3309 ± 0,3393	2,2631 ± 0,3155	0,8822 ± 0,1540
ED ₅₀	235,05 ± 36,1688	115,67 ± 28,3281	185,25 ± 14,0754	180,85 ± 7,3002	111,40 ± 11,3221	243,69 ± 16,0101	130,74 ± 12,3039	176,98 ± 32,3165
a	-	-	-	0,50 [#]	-	-	1,00 [#]	0,50 [#]
ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	0,2497 ± 0,1192	-	-	0,7826 ± 0,1942	0,3434 ± 0,1412
M [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	109,40 ± 36,6687	-	-	12,7912 ± 2,1765	4,3143 ± 1,0936
LDS [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	160,00 ± 47,2665	-	-	65,1053 ± 9,3613	35,1791 ± 9,2632
y _{max} [%]	-	-	-	137,33 ± 14,5870	-	-	132,20 ± 10,2543	127,09 ± 8,7529

Continua na próxima página...

Continuação...

Variável	ETR				ETR			
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 3	Equação 2	Equação 2	Equação 3	Equação 3
Parâmetros								
c	39,1413 ± 17,1928	81,0755 ± 4,5518	16,6390 ± 3,9290	46,2568 ± 5,2636	10,1212 ± 6,3177	0,0 [#]	1,8586ns	0,0 [#]
d	194,17 ± 3,3062	180,76 ± 2,5352	146,18 ± 1,8662	101,1400 ± 5,6484	193,87 ± 4,5131	180,63 ± 3,2706	111,14 ± 7,2521	121,55 ± 5,5735
f	-	-	-	60,0991 ± 10,9831	-	-	35,6986 ± 9,6258	98,5667 ± 26,6154
e	-	-	-	178,8200 ± 9,6162	-	-	102,91 ± 8,9079	75,6451 ± 21,9263
b	2,4427 ± 0,6761	3,0254 ± 0,5275	3,8382 ± 0,8730	16,2826ns	3,2396 ± 0,6546	2,5351 ± 0,3948	2,4714 ± 0,4415	0,9133 ± 0,1020
ED ₅₀	235,29 ± 36,6994	129,41 ± 12,7568	184,02 ± 11,2775	167,89 ± 10,9793	111,39 ± 11,2920	240,26 ± 14,0442	125,97 ± 13,3365	182,52 ± 23,4702
a	-	-	-	0,25 [#]	-	-	1,00 [#]	0,25 [#]
ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	-	-		ns	-	-	0,8448 ± 0,2343	ns
M [g e.a. ha ⁻¹]	-	-		105,50 ± 23,1988	-	-	13,7448 ± 2,7178	3,4518 ± 0,9869
LDS [g e.a. ha ⁻¹]	-	-		156,25 ± 18,8410	-	-	65,0347 ± 9,1072	38,7742 ± 8,9574
y _{max} [%]	-	-		143,27 ± 10,2080	-	-	128,99 ± 9,5620	131,12 ± 8,0982

#parâmetro fixado; ED₅₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa 50% de inibição calculada diretamente do modelo monofásico ou por reparametrização do modelo bifásico; ns: não significativo; ED₁₁₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que provoca estimulação de 110% do controle; M [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa estimulação máxima; LDS [g e.a. ha⁻¹] = dose limite para estimulação; y_{max} [%] = resposta estimulatória máxima.

Tabela S2. Parâmetros dos modelos de dose-resposta $\pm$ erro padrão e características quantitativas (ED_{110} , M, LDS, y_{max}) $\pm$ erro padrão, modelagem monofásica (Equação 2)^{Streibig (1988)} e exponencial (Equação 4)^{Mollae et al. (2020)} para coeficiente de extinção fotoquímico (qP) e coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 7 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados referentes a dois experimentos independentes (Experimento 1 e Experimento 2).

Variável	qP				qP			
Dias após tratamento	3 DAT				7 DAT			
	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 1		Experimento 2	
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2
Parâmetros								
c	0,1710 $\pm$ 0,0788	0,3521 $\pm$ 0,0130	0,1565 $\pm$ 0,0094	0,1813 $\pm$ 0,0232	0,0318ns	0,0 [#]	0,0 [#]	0,1468 $\pm$ 0,0470
d	0,5341 $\pm$ 0,0105	0,5031 $\pm$ 0,0094	0,3891 $\pm$ 0,0064	0,2827 $\pm$ 0,0148	0,5343 $\pm$ 0,0100	0,5407 $\pm$ 0,0070	0,3049 $\pm$ 0,0219	0,4324 $\pm$ 0,0124
f	-	-	-	0,1739 $\pm$ 0,0298	-	-	0,0919 $\pm$ 0,0279	-
e	-	-	-	161,44ns	-	-	188,91 $\pm$ 22,7468	-
b	2,1383 $\pm$ 0,8440	18,4238ns	5,4005ns	17,8603ns	1,8976 $\pm$ 0,3264	2,8821 $\pm$ 0,3481	1,7561 $\pm$ 0,2358	1,4447 $\pm$ 0,4691
ED ₅₀	290,01 $\pm$ 82,5788	80,3595ns	187,82 $\pm$ 13,0099	172,52 $\pm$ 15,0421	174,61 $\pm$ 22,5336	294,40 $\pm$ 14,9992	246,92 $\pm$ 28,0087	129,54 $\pm$ 49,1775
a	-	-	-	0,25 [#]	-	-	1,00 [#]	-

Continua na próxima página...

Continuação...

ED ₁₁₀ [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	ns	-	-	0.9072 ± 0.3053	-
M [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	107,68 ± 33,0676	-	-	13,2865 ± 2,9653	-
LDS [g e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	161,09 ± 14,9897	-	-	94,8504 ± 21,9352	-
y _{max} [%]	-	-	-	144,86 ± 9,9192	-	-	126,76 ± 10,0397	-
NPQ				NPQ				
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação 5	Equação 5	Equação 5	Equação 5	Equação 5	Equação 5	Equação 5	Equação 5
Parâmetros								
θ	1,6923 ± 0,0536	1,7848 ± 0,0365	1,7533 ± 0,0446	1,7541 ± 0,0343	1,7493 ± 0,0773	1,8014 ± 0,0632	1,6997 ± 0,0774	1,9916 ± 0,0516
β	0,00078 ± 0,0001	0,00065 ± 0,00005	0,00057 ± 0,00009	0,00053 ± 0,00006	0,00184 ± 0,00008	0,00088 ± 0,00011	0,00126 ± 0,00011	0,00050 ± 0,00007

#parâmetro fixado; ED₅₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa 50% de inibição calculada diretamente do modelo monofásico ou por reparametrização do modelo bifásico; ns: não significativo; ED₁₁₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que provoca estimulação de 110% do controle; M [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa estimulação máxima; LDS [g e.a. ha⁻¹] = dose limite para estimulação; y_{max} [%] = resposta estimulatória máxima.

Tabela S3. Parâmetros de regressão e características quantitativas estimadas: comparação em pares usando a declaração CONTRAST dentro do procedimento NLMIXED, entre os dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa), para eficiência fotoquímica máxima do PSII (F_v/F_m), rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Φ_{PSII}), taxa de transporte de elétrons (ETR), coeficiente de extinção fotoquímico (qP) e coeficiente de extinção não fotoquímica (NPQ) em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 e 7 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹).

Componentes de fluorescência da clorofila a										
Contrastes										
(-10 kPa vs -70 kPa)										
Variável	F_v/F_m	Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ	F_v/F_m	Φ_{PSII}	ETR	qP	NPQ
3 DAT						3 DAT				
Experimento 1						Experimento 2				
Modelo	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 5	Equação 2	-	-	-	Equação 5
Parâmetros										
c	ns	*	*	*	-	ns	-	-	-	-
d	*	*	*	*	-	ns	-	-	-	-
b	ns	ns	ns	ns	-	ns	-	-	-	-
ED ₅₀	*	*	*	ns	-	ns	-	-	-	-
θ	-	-	-	-	ns	-	-	-	-	ns
β	-	-	-	-	ns	-	-	-	-	ns

Continua na próxima página...

Continuação...

Contrastes		(-10 kPa vs -70 kPa)								
Variável	<i>Fv/Fm</i>	ΦPSII	ETR	qP	NPQ	<i>Fv/Fm</i>	ΦPSII	ETR	qP	NPQ
Dias após tratamento	7 DAT					7 DAT				
Experimento 1						Experimento 2				
Modelo	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 2	Equação 5	Equação 2	Equação 3	Equação 3	-	Equação 5
Parâmetros										
c	ns	-	-	-	-	ns	-	-	-	-
d	ns	ns	*	ns	-	ns	ns	ns	-	-
f	-	-	-	-	-	-	ns	*	-	-
e	-	-	-	-	-	-	ns	ns	-	-
b	ns	ns	ns	*	-	*	*	*	-	-
ED ₅₀	ns	*	*	*	-	ns	ns	*	-	-
θ	-	-	-	-	ns	-	-	-	-	ns
β	-	-	-	-	*	-	-	-	-	ns
ED ₁₁₀ [g. e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-	-	-	ns	-	-	-
M [g. e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-	-	-	*	*	-	-
LDS [g. e.a. ha ⁻¹]	-	-	-	-	-	-	*	*	-	-
y _{max}	-	-	-	-	-	-	ns	*	-	-
y _{max} [%]	-	-	-	-	-	-	ns	ns	-	-

ns: não significativo; *parâmetros significativamente diferentes entre os dois regimes hídricos ($p < 0,05$); ED₅₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa 50% de inibição calculada diretamente do modelo monofásico ou por reparametrização do modelo bifásico; ED₁₁₀ [g e.a. ha⁻¹] = dose que provoca estimulação de 110% do controle; M [g e.a. ha⁻¹] = dose que causa estimulação máxima; LDS [g e.a. ha⁻¹] = dose limite para estimulação; y_{max} = resposta estimulatória máxima absoluta; y_{max} [%] = resposta estimulatória máxima.

Tabela S4. Parâmetros do modelo de Gompertz (Equação 5)^{Gompertz (1825)} $\pm$ erro padrão e comparação em pares usando a declaração CONTRAST dentro do procedimento NLMIXED, para ácido chiquímico em plantas de *Carthamus tinctorius*, aos 3 dias após tratamentos com baixas doses de glyphosate (0; 1,8; 3,6; 7,2; 18; 36; 72; 180; 360 e 720 g e.a. ha⁻¹), em dois regimes hídricos (-10 kPa e -70 kPa). Dados referentes a dois experimentos independentes (Experimento 1 e Experimento 2).

Variável	Ácido chiquímico			
Dias após tratamento	3 DAT			
	Experimento 1		Experimento 2	
Tensão hídrica	-10 kPa	-70 kPa	-10 kPa	-70 kPa
Modelo	Equação 4	Equação 4	Equação 4	Equação 4
Parâmetros				
ϕ	2,1465 $\pm$ 0,0296	2,1236 $\pm$ 0,0371	1,9073 $\pm$ 0,0383	2,0357 $\pm$ 0,0288*
ψ	0,1979 $\pm$ 0,0954	0,1442ns	0,2089 $\pm$ 0,1063	0,0400ns
τ	0,0097 $\pm$ 0,0027	0,0105 $\pm$ 0,0022	0,0108 $\pm$ 0,0028	0,0097 $\pm$ 0,0017
Contrastes	[-10 kPa vs -70 kPa]		[-10 kPa vs -70 kPa]	
ϕ	ns		*	
ψ	ns		ns	
τ	ns		ns	
max_(experimento1) vs max_(experimento2)	ns		*	

ns: não significativo; *parâmetros significativamente diferentes entre os dois regimes hídricos ($p < 0,05$); $\max_i = \exp(\phi_i)$.