

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP CÂMPUS DE
JABOTICABAL**

**SILÍCIO COMO ATENUADOR DE ESTRESSE CAUSADO
POR GLIFOSATO EM MUDAS DE LARANJEIRA VALÊNCIA**

Inácio João Barbosa

Engenheiro Agrônomo

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP CÂMPUS DE
JABOTICABAL**

**SILÍCIO COMO ATENUADOR DE ESTRESSE CAUSADO
POR GLIFOSATO EM MUDAS DE LARANJEIRA VALÊNCIA**

Discente: Inácio João Barbosa

Orientador: Prof. Dr. Silvano Bianco

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho

Coorientador: Prof. Dr. Renato de Mello Prado

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal)

2022

	Barbosa, Inácio João
B238s	Silício como atenuador de estresse causado por glifosato em mudas de laranjeira valência/ Inácio João
	Barbosa. -- , 2022
	55 p.
	Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal,
	Orientador: Silvano Bianco
	1. Estresse oxidativo. 2. Fotossíntese. 3. MDA. 4. Prolina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal.
Dados fornecidos pelo autor.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: SILÍCIO COMO ATENUADOR DE ESTRESSE CAUSADO POR GLIFOSATO EM MUDAS DE LARANJEIRA VALÊNCIA

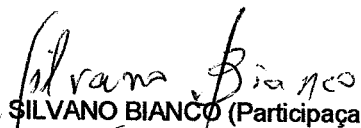
AUTOR: INÁCIO JOÃO BARBOSA

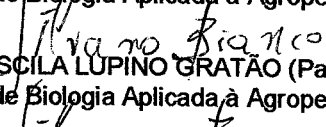
ORIENTADOR: SILVANO BIANCO

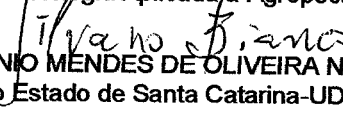
COORIENTADOR: LEONARDO BIANCO DE CARVALHO

COORIENTADOR: RENATO DE MELLO PRADO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. SILVANO BIANCO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV UNESP Jaboticabal


Profa. Dra. PRISCILA LUPINO GRATO (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. ANTONIO MENDES DE OLIVEIRA NETO (Participação Virtual)
Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC / Lages/SC

Jaboticabal, 04 de março de 2022

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Inácio João Barbosa, natural de Orangozinho, região de Arquipélago dos Bijagós, Guiné-Bissau. Filho de João Antônio Barbosa e de N'na Victor da Silva. Em 2014 ingressou no curso de Agronomia da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB) onde obteve o grau de Agrônomo em 2019. No período de 2015-2016, durante a graduação, participou do projeto de extensão universitária Programa Semear Alimentos e Ideias: Colher Saúde e Desenvolvimento, onde foi bolsista voluntário. De 2017 a 2019 foi bolsista da Incubadora Tecnológica da Economia Solidária (INTESOL), onde atuou em projetos como Rodas de Comercialização na UNILAB: Formação para estudos de comercialização, qualidade do produto, aceitação do consumidor, venda, consumo solidário e uso de moeda social; Agroecologia Alimentando o Conhecimento: ações aplicadas de Educação em Agroecologia e Segurança Alimentar e Nutricional, com bolsa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Em 2019 atuou como pesquisador visitante na Universidade Federal de Viçosa no programa de seleção de variedades de cana-de-açúcar do banco de germoplasma e programa de melhoramento genético de cana de açúcar da UFV-RIDES. Em 2020 iniciou o curso de mestrado acadêmico na Universidade Estadual Paulista, Júlio de Mesquita Filho, em Jaboticabal, orientado pelo Dr. Silvano Bianco e coorientado por Dr. Renato de Mello Prado e pelo Dr. Leonardo Bianco de Carvalho, onde desenvolveu a dissertação pesquisando o efeito do silício na mitigação do estresse causado pelo glifosato nas mudas de laranjeira.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO 1 - Considerações gerais	1
1. Introdução.....	1
2. Glifosato.....	2
2.1. Caracterização geral do glifosato	2
2.2. O uso de glifosato em citros	3
3. Silício	4
3.1. Caracterização geral do Si	4
3.2. Uso de Si em citros	5
4. Referências.....	5
CAPÍTULO 2- Efeitos de glifosato em mudas de laranjeira (<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck)	8
Resumo	8
1. Introdução.....	9
2. Material e métodos	10
2.1. Condições de crescimento e material vegetal	10
2.2. Tratamentos e delineamento experimental	11
2.3. Avaliações.....	11
2.3.1 Extravasamento de eletrólitos	12
2.3.2 Fluorescência de clorofila	12
2.3.3 Determinação de pigmentos (clorofila <i>a</i> , <i>b</i> , total, feofitina <i>a</i> , <i>b</i> , total e carotenoides)	13

2.3.4	Teor de fenóis totais	13
2.3.5	Crescimento (número de folhas e massa seca).....	13
2.4.	Análise estatística	13
3.	Resultados e discussão	14
3.1.	Extravasamento de eletrólitos e teor de fenóis totais	14
3.2.	Eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm), clorofila total, feofitina total e carotenoides totais	15
3.3.	Crescimento	16
4.	Conclusão.....	17
5.	Referências.....	18
CAPÍTULO 3- Silício como safener de glifosato em mudas de laranjeira		20
RESUMO.....		20
1.	Introdução.....	21
2.	Material e métodos	22
2.1.	Condições de crescimento e material vegetal.....	22
2.2.	Tratamentos e delineamento experimental	23
2.3.	Avaliações realizadas.....	24
2.3.1	Análise de teor de silício	24
2.3.2	Índice de extravasamento de eletrólitos e teor de fenóis.....	24
2.3.3	Análise do teor de pigmentos	25
2.3.4	Trocas gasosas e a eficiência quântica do fotossistema II	25
2.3.5	Análise da prolina e avaliação do estresse oxidativo através da análise de malondialdeído (MDA)	25
2.3.6	Avaliação de crescimento das plantas.....	26
2.4.	Análise estatística	26
3.	Resultados e discussão	27
3.1.	Teor de silício nas folhas.....	27

3.2. Extravasamento de eletrólitos	28
3.3. Níveis de malondialdeído (MDA).....	29
3.4. Teor de fenóis totais e da prolina	30
3.5. Pigmentos	33
Eficiência quântica do fotossistema II	37
3.6. Trocas gasosas.....	39
3.7. Crescimento das plantas.....	44
4. Conclusão.....	45
5. Referências.....	46

SILÍCIO COMO ATENUADOR DE ESTRESSE CAUSADO POR GLIFOSATO EM MUDAS DE LARANJEIRA VALÊNCIA

RESUMO - O glifosato é o herbicida mais utilizado no controle das plantas daninhas nas áreas de produção de citros e pode causar injúrias às plantas de laranjeira em caso da ocorrência da deriva ou das aplicações acidentais, provocando assim, danos na fotossíntese. Embora estudos que relacionam a nutrição de plantas com o manejo de estresse por herbicidas sejam escassos, o silício (Si), um elemento benéfico, pode ser uma alternativa devido sua ação na proteção das espécies vegetais em situação de estresse. Para isso, dois experimentos foram realizados na casa de vegetação com mudas de laranjeira de oito meses de idade, variedade Valência enxertada sobre Swingle. O primeiro experimento teve como objetivo, avaliar o efeito de doses de glifosato (0; 144; 288; 432; 576; 720; 864; 1008; 1.152; 1.296 e 1.440 g e.a.ha⁻¹), em blocos casualizados e 4 repetições, sobre as mudas de laranjeira. O segundo experimento teve como objetivo avaliar o efeito do Si como atenuante da toxicidade do glifosato em mudas de laranjeira. Os tratamentos foram constituídos de aplicações de silício via fertirrigação (0 e 2 mmol L⁻¹ complementada com 5 aplicações foliares de 2 mmol L⁻¹) e doses do glifosato (0; 576; 1.008 e 1.440 g e.a.ha⁻¹), 4 repetições e em delineamento de blocos casualizados. No primeiro experimento avaliou-se, aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos, o nível de extravasamento dos eletrólitos, teor de fenóis totais, teor da clorofila total, carotenoides totais, feofitina total, eficiência quântica do fotossistema II, número de folhas e a massa seca de folhas. No segundo experimento, as avaliações foram realizadas em folhas maduras aos 09 e 23 e, em folhas novas, aos 16 e 30 dias após aplicação do glifosato. No primeiro experimento o glifosato aumentou o nível de extravasamento dos eletrólitos e teor da feofitina total, diminuiu o conteúdo de fenóis totais, número de folhas e a massa seca de folhas. Não afetou a eficiência quântica do fotossistema II, a clorofila total e carotenoides totais. No segundo experimento aplicação do glifosato aumentou o nível de extravasamento dos eletrólitos e de MDA, indicadores de condições estressoras. Também reduziu a clorofila *a* e *b*, carotenoides, aumentou a feofitina total. A aplicação do Si foi eficiente em diminuir o nível dos eletrólitos e do conteúdo de MDA; O Si apresentou efeito positivo na mitigação do estresse por glifosato ao aumentar a eficiência quântica do fotossistema II, o conteúdo da clorofila *a* e *b*, carotenoides e promoveu maior número e massa seca de folhas. O elemento também aumentou a resposta do sistema antioxidante não enzimático, medida pelos níveis de prolina, fenóis e carotenoides. O Si, assim, diminui o efeito do glifosato em mudas de laranjeira, mesmo em doses mais altas.

Palavras-chave: estresse oxidativo, fotossíntese, MDA, prolina

SILICON AS MITIGATION OF THE STRESS CAUSED BY GLYPHOSATE IN VALENCIA ORANGE SEEDLINGS

ABSTRACT - Glyphosate is the most used herbicide for weed control in citrus production areas and can cause damage to orange plants in case of drift or accidental applications, causing damage to photosynthesis. Although there are few studies that relate plant nutrition to the management of stress by herbicides, silicon (Si), a beneficial element, may be an alternative due to its action in the protection of plant species under stress. For this, two experiments were carried out in a greenhouse with eight-month-old orange tree seedlings, Valencia variety grafted on Swingle. The first experiment aimed to evaluate the effect of glyphosate doses (0; 144; 288; 432; 576; 720; 864; 1008; 1,152; 1,296 and 1,440 g e.a.ha⁻¹), in randomized blocks and 4 replications, in orange seedlings. The second experiment aimed to evaluate the effect of Si as an attenuator of glyphosate toxicity in orange seedlings. The treatments consisted of silicon applications via fertigation (0 and 2 mmol L⁻¹ supplemented with 5 foliar applications of 2 mmol L⁻¹) and glyphosate doses (0; 576; 1,008 and 1,440 g e.a.ha⁻¹), 4 replications. and in a randomized block design. In the first experiment, 60 days after the application of treatments, the level of electrolyte extravasation, total phenols, total chlorophyll, total carotenoids, total pheophytin, quantum efficiency of photosystem II, number of leaves and dry leaf mass. In the second experiment, evaluations were performed on mature leaves at 9 and 23 days and on young leaves at 16 and 30 days after glyphosate application. In the first experiment, glyphosate increased the level of electrolyte extravasation and the total pheophytin content, decreased the total phenol content, the number of leaves and the dry mass of the leaves. It did not affect the quantum efficiency of photosystem II, total chlorophyll and total carotenoids. In the second experiment, the application of glyphosate increased the level of electrolyte and MDA extravasation, indicators of stressful conditions. It also reduced chlorophyll a and b, carotenoids, increased total pheophytin. The application of Si was efficient in reducing the electrolyte content and MDA content; Si had a positive effect on mitigating the stress caused by glyphosate, increasing the quantum efficiency of photosystem II, the content of chlorophyll a and b, carotenoids and promoting greater number and dry mass of leaves. The element also increased the response of the non-enzymatic antioxidant system, measured by levels of proline, phenols and carotenoids. Thus, Si diminishes the effect of glyphosate on orange seedlings, even at higher doses.

Keywords: oxidative stress, photosynthesis, MDA, proline.

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1. Introdução

O Brasil ocupa a posição de maior produtor e exportador mundial de citros e o setor citrícola é dos mais importantes do agronegócio do país (Cruz et al., 2020; Marques et al., 2022), o que tem contribuído de forma direta para o desenvolvimento econômico do país. Com um total de 16.713.534 t, o país também é o maior produtor mundial de laranja doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], o que corresponde a 35% da produção mundial. Da produção nacional o estado de São Paulo é responsável por mais 77% da produção do país, seguido de Minas Gerais (6%), Bahia (3,6%), Paraná (3,5%) e Pará (2,3%) que fecha a lista dos cinco maiores produtores (Marques et al., 2022).

Dos desafios encontrados na atividade da citricultura a ocorrência de plantas daninhas nas áreas de produção de citros merece uma atenção especial, visto que é capaz de causar prejuízos superiores a 52% da produção total da cultura, principalmente em pomares jovens (Cruz et al., 2020).

Para o manejo das espécies daninhas nas áreas de produção de citros, no Brasil, o herbicida mais utilizado é o glifosato (Cruz et al., 2020). Ele apresenta controle efetivo para muitas espécies de plantas daninhas tanto em Magnoliopsidas bem como nas Liliopsidas de ciclo anual ou perene e que ocorrem nas áreas da citricultura brasileira, tornando-o no herbicida mais utilizado na atividade citrícola do país. Entretanto, recomenda-se que se evite, no ato de sua aplicação, o contato com as plantas de interesse (Gravena et al., 2012; Viti et al., 2019).

Em caso de aplicações acidentais causadas pela má regulação dos equipamentos de aplicação ou até por condições ambientais, o glifosato pode causar danos às culturas de interesse (Gravena et al., 2009). Sua ação herbicida envolve inibição da atividade da enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPs), levando, assim, ao acúmulo do ácido chiquímico na planta (Cruz et al. 2020) comprometendo a biossíntese dos aminoácidos como fenilalanina, tirosina e triptofano assim como os compostos fenólicos que são sintetizados através da via bloqueada pela ação do herbicida (Gravena et al., 2012; Soares et al., 2020).

Os aminoácidos afetados pelo glifosato são importantes para a síntese proteica e produção de diversos compostos secundários e o comprometimento de sua síntese pode provocar o retardamento no crescimento das plantas, além da clorose e necrose nas folhas jovens, principalmente nas folhas jovens (Gravena et al., 2012).

Poucos trabalhos foram desenvolvidos no sentido de estudar a possibilidade da utilização dos elementos benéficos como silício, para reduzir a intensidade da fitointoxicação dos herbicidas nas culturas de interesse. O papel do Si em aliviar vários estresses nas plantas tem sido estudado e evidenciado na literatura tanto em espécies acumuladoras assim como nas não acumuladoras como os citros (Wutscher, 1989; Matichenkov, Calvert e Snyder, 1999).

Na planta o Si atua melhorando a ação de compostos antioxidantes que atuam no sistema de defesa vegetal e, além disso, melhora a eficiência fotoquímica e o conteúdo da clorofila nas plantas (Gurmani et al., 2013; Gong et al., 2005; Savvas e Ntatsi, 2015). O elemento melhora também, além da defesa antioxidante enzimática, a resposta antioxidante não enzimática como compostos fenólicos e carotenoides (Gurmani et al., 2013; Sarah et al., 2020).

Estudos que mostram uma possível ação de Si na atenuação do estresse gerado por herbicidas e, em particular, o glifosato, são incipientes e faz-se necessário estudar essa relação nas plantas. Trabalhos que avaliam o seu potencial na mitigação do estresse causado pelos herbicidas nas plantas jovens de citros devem ser realizados, o que auxiliaria no manejo e controle das espécies daninhas nos pomares. Em virtude disso, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial do silício na mitigação do efeito do glifosato em mudas de laranja.

2. Glifosato

2.1. Caracterização geral do glifosato

O glifosato, *N*-(fosfonometil)glicina, é um herbicida de amplo espectro, de ação sistêmica nas plantas, não seletivo e que não apresenta efeito residual no solo (Franz; Mao; Sikorski, 1997). Sua molécula foi sintetizada, inicialmente, em 1950 e, posteriormente suas propriedades herbicidas foram identificadas e descritas (Rodrigues; Almeida, 2005; Franz; Mao; Sikorski, 1997). No mercado, o glifosato é

comercializado na forma de diferentes sais com alta solubilidade em água e efeito herbicida, ao exemplo de sal de amônio, sal de potássio, isopropilamina e sal de trimetilsulfônico. Ele é o herbicida mais utilizado, a nível global, devido ao baixo custo, alta eficácia e ao desenvolvimento genético de espécies resistentes a ele (Gravena, 2006).

Duas etapas compõem a ação dos herbicidas nas plantas após aplicação. A primeira etapa inicia logo após a aplicação do herbicida na planta e envolve a absorção e translocação do herbicida até o sítio de ação e a segunda é referente às atividades metabólicas resultantes da interação do herbicida com o sítio de ação, podendo ocasionar morte do vegetal (Devine, Duke, Fedtke et al., 1993). Para os mesmos autores, após o glifosato ser aplicado, vários fatores podem atuar na absorção e na translocação do herbicida na planta, incluído as características da própria planta, condições ambientais, a dose do herbicida e o modo que este foi aplicado, podendo assim, influenciar a eficiência da ação herbicida do produto.

Na planta, o glifosato atua inibindo a atividade da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), bloqueando a via metabólica do chiquimato tendo como consequência o comprometimento da síntese de aminoácidos aromáticos, como, tirosina, fenilalanina e triptofano, necessários para a síntese proteica e que servem de substrato para a produção de diversos metabólitos secundários entre eles os fenóis (Franz; Mao; Sikorski, 1997). Além disso, o glifosato pode alterar as fases fotoquímicas do processo fotossintético, gerar excesso de elétrons livres nos cloroplastos e um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e o sistema de defesa antioxidante da planta (Santos et al., 2022) com possíveis efeitos negativos na fotossíntese, retardamento do crescimento das plantas, além da clorose e necrose nas folhas (Gravena et al., 2012; Gomes et al., 2016).

2.2.O uso de glifosato em citros

Nas áreas de produção de citros, no Brasil, o glifosato é o herbicida mais usado no manejo das espécies daninhas. Recomenda-se cuidados no momento da aplicação do herbicida de modo a evitar que entre em contato com as partes verdes das plantas de interesse econômico devido as características do herbicida, evitando, assim, riscos

da intoxicação. Trabalhos desenvolvidos por Victoria Filho (1983), Tersi; Souza; Rigolin (1999), Gravena (2006), Gravena et al. (2012) mostram existir uma certa tolerância de citros ao glifosato. Entretanto, as alterações fisiológicas observadas pelos mesmos autores sugerem que o efeito do herbicida pode ser intenso além de poder diminuir a produtividade da cultura ao longo do tempo.

3. Silício

3.1. Caracterização geral do Si

O Si é um elemento benéfico às plantas e é absorvido na forma de ácidos monossilícicos ou suas formas de ânions (Yoshida, 1975). O papel do Si como atenuador de estresse em diversas culturas e diversos tipos de estresse, sejam eles de natureza biótica ou abiótica, é conhecido na literatura.

Em condições estressoras para as plantas o papel de Si na defesa vegetal, seja pelo sistema antioxidante enzimático ou pelo não enzimático, torna-se importante uma vez que o elemento atua diminuindo o conteúdo de H_2O_2 , a peroxidação lipídica e o extravasamento dos eletrólitos (Moldes et al., 2013), ao aumentar a transcrição dos genes envolvidos na ativação da resposta de defesa das plantas (Khandekar e Leisner, 2011; Moldes et al., 2013).

A aplicação de Si resulta em uma série de efeitos positivos na planta (Bocharnikova, 1996) e, em condições de estresse, aumenta as propriedades de defesa vegetal (Epstein, 1999). Também é conhecida a ação do elemento na melhoria de variáveis fotossintéticas, por atuar na manutenção dos feixes vasculares das plantas bem como no fluxo de água e nutrientes pelos vasos do xilema e melhora a arquitetura do vegetal permitindo, assim, a melhor captação da luz e aumentos na fotossíntese (Javaid et al., 2019; Raven, 1983).

3.2. Uso de Si em citros

O Si é acumulado principalmente no tecido epidérmico tanto nas raízes como na parte aérea (folhas) como sílica gel polimerizada e é associado à pectina (Waterkeyn et al., 1982) e, desta forma, pode aumentar a resistência das plantas à pragas, doenças, ao estresse salino bem como o hídricos, condições ambientais desfavoráveis e diversos outros (Epstein, 1999; Yoshida, 1975).

Em plantas de citros, poucos estudos foram realizados com o Si, provavelmente devido à dificuldade em fazer as plantas acumularem o elemento, uma vez que não são acumuladoras. Seu teor em folhas de citros varia de 1,19 a 1,49 % da massa seca (Wutscher, 1989). O seu efeito no crescimento das plantas cítricas foi evidenciado em um estudo feito por Taranovskaia (1939), na Rússia, com aumentos de 30 a 80% de crescimento em apenas um mês. Outro efeito do Si foi na tolerância à geada, e foi demonstrado na pesquisa realizada por Taranovskaia (1940). Também foi evidenciado que o Si aumenta a massa fresca dos brotos e melhora a absorção dos outros nutrientes nas plantas de laranja (Wutscher, 1989).

4. Referências

Bocharnikova EA (1996) The study of direct silicon effect on root demographics of some cereals. p. 143-144. In: Proc. Fifth Symp. Intl. Soc. of Root Research. **Root Demographics and Their Efficiencies in Sustainable Agriculture, Grasslands, and Forest Ecosystems**. Clemson, S.C. p.14-18.

Cruz RA, Amaral GS, Oliveira GM, Rufino LR, Azevedo FA, Carvalho LB, Silva MFGF (2020) Glyphosate Resistance in *Amaranthus viridis* in Brazilian Citrus Orchards. **Agriculture** 10:1-10.

Devine MD, Duke S, Fedtke C (1993) Physiology of herbicide action. New Jersey: **P T R Pretinnce Hall Englewood Cliffs** 441p.

Epstein E (1999) Silicon. Annu **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 50:641-664.

Franz JE, Mao MK, Sikorski JA (1997) Glyphosate: a unique global herbicide. Washington: ACS monograph 653p.

Gomes MP, Manac'h SG, 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. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 130: 65–70.

Gong H, Zhu X, Chen K, Wang S, Zhang C (2005) Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Science** 169:313-321.

Gravena R (2006) **Resposta bioquímicas e fisiológicas de plantas de citrus atingidas pelo glifosato**. 144 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – USP, Piracicaba.

Gravena R, Victoria Filho R, Alves PLCA, Mazzafera P, Gravena AR (2009) Low glyphosate rates do not affect *Citrus limonia* (L.) Osbeck seedlings. **Pest Management Science** 65:420–425.

Gravena R, Victoria Filho R, Alves PLCA, Mazzafera P, Gravena AR (2012) Glyphosate has low toxicity to citrus plants growing in the field. **Canadian Journal of Plant Science** 92:119-127.

Gurmani AR, Banco A, Najeeb U, Zahng J, Khan SU, Flowers TJ (2013) Exogenously applied silicate and abscisic acid ameliorates the growth of salinity stressed wheat (*Triticum aestivum* L) seedlings through Na⁺ exclusion. **Australian Journal of Crop Science**, v.7, n.8, p.1123-1130.

Javaid T, Farooq MA, Akhtar J, Saqib ZA, Anwar-ul-haq M (2019) Silicon nutrition improves growth of salt-stressed wheat by modulating flows and partitioning of Na⁺, Cl⁻ and mineral ions. **Plant Physiology and Biochemistry** 141:291–299.

Khandekar S, Leisner S (2011) Soluble silicon modulates expression of Arabidopsis thaliana genes involved in copper stress. **Journal of Plant Physiology** 168:699– 705.

Marques LOD, Farias PM, Oliveira RP, Dini M, Santos RF, Malgarim MB, Soares Filho WS (2022) Nursery performance of potentially promising rootstocks for citriculture in the south of Brazil. **Ciência Rural** 52:1-10.

Matichenkov V, Calvert D, Snyder G (1999) Silicon fertilizers for citrus in Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society** 112:5-8.

Moldes CA, Lima Filho OF, Camiña JM, Kiriachek SG, Molas ML, Tsai SM (2013) Assessment of the effect of silicon on antioxidant enzymes in cotton plants by multivariate analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 61:11243–11249.

Moldes CA, Medici LO, Abrahão OS, Tsai SM, Azevedo RA (2008) Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiol Plant** 30:469–479.

Raven JA (1983) The transport and function of silicon in plants. **Biological Reviews** 58:179–207.

Rodrigues BN, Almeida FS (2005) Guia de herbicidas. 5. Ed. Londrina: IAPAR, 2005. 592p.

Santos JCC, Silva DMR, Amorim DJ, Rosa VR, Santos ALF, Velini ED, Carbonari CA, Silva MA (2022) Glyphosate hormesis attenuates water deficit stress in safflower

(*Carthamus tinctorius* L.) by modulating physiological and biochemical mediators. **Science of the Total Environment** 810:1-11.

Sarah MMS, Prado RM, Teixeira GCM, Souza Júnior JP, Medeiros RLS, Barreto RF (2022) Silicon supplied via roots or leaves relieves potassium deficiency in maize plants. **Silicon** 14:773-782.

Savvas D, Ntatsi G (2015) Biostimulant activity of silicon in horticulture. **Scientia Horticulturae** 196:66-81.

Soares C, Pereira R, Martins M, Tamagnini P, Serôdio J, Pereira JM, Cunha A, Fidalgo F (2020) Glyphosate-dependent effects on photosynthesis of *Solanum lycopersicum* L.—An ecophysiological, ultrastructural and molecular approach. **Journal of Hazardous Materials** 398:1-14.

Taranovskaia VG (1939) The silicication of subtropics greenhouse and plantations. **Soviet Subtropics** 7:32-37.

Taranovskaia VG (1940) The role of silicication for citrus, tunga and siderates. **Soviet Subtropics** 5:38-43.

Tersi FEA, Souza ECA, Rigolin AT (1999) Efeito de métodos de manejo de plantas daninhas em crescimento, produtividade, qualidade do suco e estado nutricional de um pomar cítrico. **Laranja, Cordeirópolis** 20:119-133.

Victoria Filho R (1983) **Efeitos do uso contínuo de herbicidas no desenvolvimento, produção e qualidade dos frutos de dois cultivares de citros (*Citrus sinensis* (L.) Orbeck).** 1983. 231p. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Viti ML, Alves PAT, Mendes KF, Pimpinato RF, Guimarães ACD, Tornisiello VL (2019) Translocation and root exudation of glyphosate by *Urochloa brizantha* and its transport on sugarcane and citrus seedlings. **Planta Daninha** 37:1-8.

Waterkeyn L, Bientait A, Peeters A (1982) Callose et silice épidermiques rapports avec la transpiration cuticulaire. **La Cellule**. 73:263-287.

Wutscher HK (1989) Growth and mineral nutrition of young orange trees grown with high levels of silicon. **Hort Science** 24:275-277.

Yoshida S (1975) The physiology of silicon in rice. Food Fert. Tech. Centr., Tech. Bull. No. 25, Taipei, Taiwan.

CAPÍTULO 2- Efeitos de glifosato em mudas de laranjeira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)

Resumo

O glifosato é o herbicida mais utilizado no controle das plantas daninhas no mundo, devido seu amplo espectro de controle. Sua aplicação nas áreas de produção de citros é uma prática comum, entretanto, requer elevados cuidados para diminuir a possibilidade de ocorrência de deriva ou das aplicações acidentais. Em contato com as plantas de interesse, é comum o surgimento de danos fisiológicos capazes de reduzir a produção. O objetivo deste estudo foi de avaliar o efeito de doses de glifosato (0; 144; 288; 432; 576; 720; 864; 1008; 1.152; 1.296 e 1.440 g e.a.ha⁻¹), sobre mudas de laranjeira de oito meses de idade, variedade Valência enxertada sobre Swingle. Para tanto, um experimento foi conduzido em vasos na casa de vegetação, em um delineamento de blocos casualizados com 4 repetições, onde o glifosato foi aplicado na parte aérea das mudas. Aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos, avaliou-se o nível de extravasamento dos eletrólitos, teor de fenóis, clorofila total, carotenoides totais, feofitina total, eficiência quântica do fotossistema II, número de folhas e a massa seca das folhas. Foi constatado que o glifosato, a partir da dose de 720 g e.a.ha⁻¹ aumentou o nível de extravasamento além de diminuir o teor de fenóis, clorofila total, o número e a massa secas das folhas. O herbicida não afetou a eficiência quântica do fotossistema II.

Palavras-chave: extravasamento dos eletrólitos. fotossíntese. herbicida. pigmentos.

1. Introdução

As frutas cítricas estão entre as mais produzidas no mundo sendo o Brasil o maior produtor e exportador mundial de citros, segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (2021). Entre os citros mais produzidos no país estão as laranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), cujo cenário de produção nacional é dominado pelo Estado de São Paulo que responde por aproximadamente 77% da produção (Cruz et al., 2020). Entretanto, um dos maiores desafios da citricultura brasileira e do mundo se refere à ocorrência e manejo de plantas daninhas, capazes de reduzir de 23 a 52% da produção total, principalmente em pomares jovens (Ramirez et al., 2018; Cruz et al., 2020).

O glifosato é o herbicida mais utilizado para o controle das espécies daninhas nos pomares de citros no Brasil, dada a sua grande disponibilidade no mercado e seu amplo espectro (Cruz et al., 2020; Costa et al., 2021). O glifosato [N- (fosfonometil) glicina] é um herbicida não seletivo e que apresenta um controle efetivo para muitas espécies de plantas daninhas e sua aplicação requer o máximo de cuidado de modo a evitar seu contato com as plantas de interesse (Schrubbers et al., 2014; Gravena et al., 2012; Viti et al., 2020).

Na planta, o glifosato atua inibindo a atividade da enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPs), levando, assim, ao acúmulo do ácido chiquímico (Cruz et al. 2020) afetando negativamente a biossíntese dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) bem como de compostos secundários que são sintetizados através da via bloqueada pela ação do herbicida (Gravena et al., 2012; Soares et al., 2020). Também altera as fases fotoquímicas do processo fotossintético, reduzindo a regeneração da Rubisco (ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigênio) através da diminuição da atividade do Ciclo de Calvin e, desta forma, causa a superprodução de espécies reativas de oxigênio com efeitos na peroxidação dos lipídios e das membranas celulares (Santos et al., 2022), com efeitos negativos na fotossíntese (Gomes et al., 2016), retardamento no crescimento das plantas, além da clorose e necrose nas folhas (Gravena et al., 2012).

Informações a respeito de doses de glifosato a partir das quais pode-se observar os efeitos do herbicida nas mudas de laranjeira são incipientes, o que

constitui uma preocupação, visto que, embora seja indispensável que seja feito o controle das espécies daninhas nestes pomares, é fundamental compreender a partir de quais doses os efeitos são mais severos de modo a diminuir as possíveis perdas de produção. Portanto, o objetivo deste estudo foi de avaliar o efeito de doses de glifosato sobre mudas de laranjeira de oito meses de idade, variedade Valência enxertada sobre Swingle.

2. Material e métodos

2.1. Condições de crescimento e material vegetal

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Câmpus de Jaboticabal, no período de junho a agosto de 2021, utilizando-se vasos de polietileno de 12 L, preenchidos com um substrato argissolo, cuja análise física revela 59, 18 e 23% de argila, silte e areia, respectivamente. De acordo com a análise química, o solo apresentava 5,9; 13; 16; 36; 22; 7; 2,8; 18; 31,7; 50; 64 e 8,1, respectivamente para pH(CaCl₂); M.O. (g dm⁻³); P e S (mg dm⁻³); Ca, Mg, K, H+Al, SB e CTC (mmol dm⁻³); V (%) e Si (mg dm⁻³).

Foram utilizadas mudas de laranjeira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.) com 8 meses de idade, variedade Valência enxertada sobre Citrumelo Swingle, obtidas em viveiro comercial. As mudas foram transplantadas para vasos, deixando uma muda por vaso, e mantidas no interior da casa de vegetação. Durante o período experimental foi coletada a temperatura e a umidade relativa (Figura 1) de modo a monitorar possível ocorrência de estresse térmico.

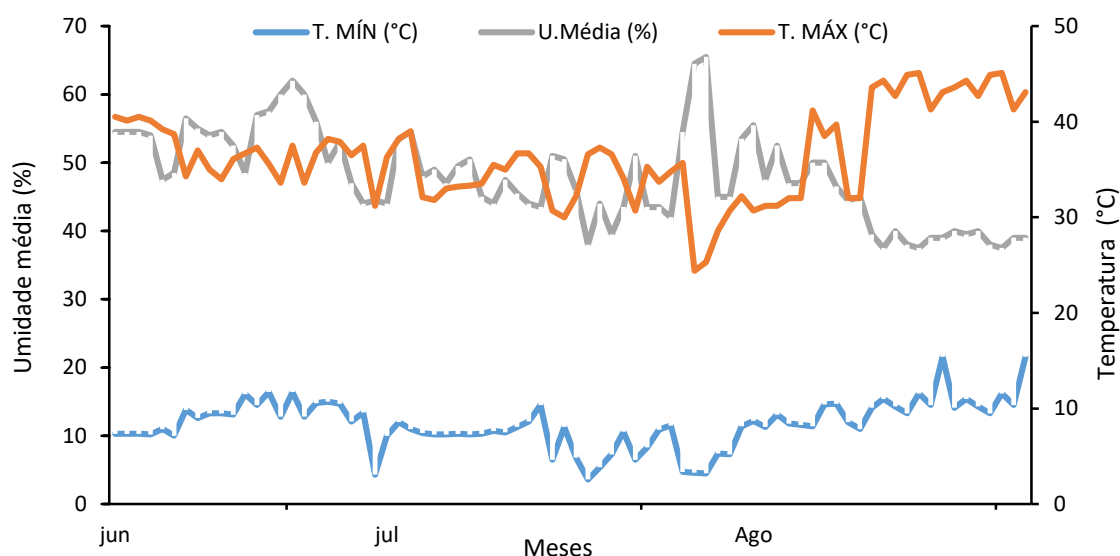


Figura 1: Temperatura mínima (T. mín) e temperatura máxima (T. máx) e umidade relativa média (U.Média, %) no interior da casa de vegetação durante o período experimental (junho a agosto de 2021).

2.2.Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi conduzido no delineamento em blocos casualizados com 11 tratamentos e 4 repetições constituídos por aplicação de glifosato Roundup WG (0; 144; 288; 432; 576; 720; 864; 1008; 1.152; 1.296 e 1.440 g e.a.ha⁻¹) sobre a parte aérea das mudas, utilizando um pulverizador costal pressurizado a CO₂. O equipamento foi calibrado e a pressão da aplicação foi mantida a 2,0 bar, com um consumo de calda de 200 L.ha⁻¹. Utilizou-se pontas de 110.02.

Os tratamentos foram aplicados 20 dias após o transplântio das mudas para os vasos. No momento da aplicação dos tratamentos com glifosato as mudas foram retiradas da casa de vegetação para o ambiente a céu aberto com temperatura de 22,3 °C, umidade relativa do ar de 74%. Após a aplicação as mudas foram colocadas imediatamente no interior da casa de vegetação.

2.3.Avaliações

Após a aplicação dos tratamentos com glifosato as mudas foram monitoradas diariamente para observar o surgimento dos efeitos fitotóxicos característicos do herbicida (amarelecimento das folhas e dos meristemas, necrose e a morte do vegetal). Esses efeitos são aguardados nas três semanas após o herbicida entrar

contato com as plantas, porém, os sintomas da fitointoxicação podem persistir até dois anos após a aplicação do herbicida (Toth e Morrison, 1977), motivo pelo qual as avaliações foram realizadas 60 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA).

Portanto, 60 DAA foi avaliado, em folhas totalmente desenvolvidas (mais de um mês de idade e certificadas de terem recebido a aplicação do glifosato), as seguintes variáveis: fluorescência de clorofila, teor de pigmentos, compostos fenólicos, índice de extravasamento dos eletrólitos e também o número de folhas e a massa seca das mesmas.

2.3.1 Extravasamento de eletrólitos

O índice de extravasamento de eletrólitos foi determinado segundo Dionisio-Sese e Tobita (1998). Foram retirados cinco discos de aproximadamente 0,035 g de amostras de folhas frescas e estes foram colocados em um béquer com 20 mL de água deionizada e imersos durante 2h. Após esse período foi determinada a condutividade elétrica da solução (CE_1) usando um condutivímetro portátil (TDS-3). Posteriormente foram colocados na autoclave a 120°C por 20 minutos e, em seguida, resfriados à temperatura ambiente para determinação da condutividade elétrica final (CE_2). O extravasamento dos eletrólitos (EE) foi calculado utilizando-se a fórmula: $EE = EC_1 / EC_2 \times 100$.

2.3.2 Fluorescência de clorofila

A eficiência quântica do fotossistema II (F_v / F_m) foi estimada com uso de um fluorômetro portátil (Opti-Science – OS30P), das 7:30 h às 10:00 h. As folhas foram mantidas no escuro por 30 minutos para a adaptação ao ambiente e posteriormente foram excitadas por um pulso de luz vermelha por 1 segundo, com a finalidade de determinar a fluorescência inicial e fluorescência máxima. A eficiência quântica do fotossistema II foi calculada pela razão entre a fluorescência máxima e a fluorescência variável (Alves, 1998).

2.3.3 Determinação de pigmentos (clorofila total, feofitina total e carotenoides)

Foi avaliado o teor da clorofila clorofila total ($a + b$), carotenoides e da feofitina total ($a + b$). As folhas foram coletadas e lavadas com água destilada e de imediato foi separada a massa de 25 a 30 mg da folha e colocada em tubos eppendorf com 2 mL de acetona a 80%. Após a despigmentação uma alíquota do extrato foi adicionada a acetona a 80%, numa relação de 1:2. As leituras foram feitas com uso de um espectrofotômetro (SP-220, bioespectro TM), e os valores foram expressos em $\mu\text{g mL}^{-1}$, sendo que as concentrações de pigmentos foram estimadas segundo Lichtenthaler (1987).

2.3.4 Teor de fenóis totais

O teor dos compostos fenólicos totais foram determinados em uma massa de 0,1 g de folhas frescas, utilizando metanol concentrado. Após a extração, uma reação colorimétrica de fenóis totais foi induzida com o reagente 2 N Folin-Ciocalteu, por 3 minutos, e o carbonato de sódio a 20%, durante duas horas. Após esse período, o conteúdo de fenóis totais foi determinado com o uso de um espectrofotômetro, de acordo com metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965) e expresso em g equivalente de ácido gálico (EAG) 100 g^{-1} .

2.3.5 Crescimento (número de folhas e massa seca)

No final do experimento, 60 DAA, foi realizada a contagem de número de folhas e, em seguida, as mesmas foram coletadas e postas a secar na estufa de circulação forçada de ar a $65 \pm 5^\circ \text{C}$, por um período de 72 horas e posteriormente determinou-se massa seca.

2.4. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com o auxílio do software AgroEstat (Barbosa; Maldonado Júnior, 2010) seguida de teste de comparação de médias pelo Teste de Tukey, com $p \leq 0,05$. As figuras foram elaboradas com o uso do software SigmaPlot 12.5.

3. Resultados e discussão

Aos 13 DAA foi observado leve amarelecimento nas folhas novas a partir da dose de 1.008 g.e.a ha⁻¹, entretanto, não progrediu ao longo do tempo experimental.

3.1.Extravasamento de eletrólitos e teor de fenóis totais

O nível de extravasamento dos eletrólitos foi incrementado com o aumento nas doses de glifosato, o que indica ocorrência de danos à membranas das células das folhas de mudas de laranjeira (Figura 2 A) O índice de extravasamento de eletrólitos foi maior nos tratamentos com aplicação de glifosato em doses de 1.440 e 1.296 g.e.a ha⁻¹ com valores de 24, 07 e 25,62 respectivamente, seguidos do tratamento de 1.152 g.e.a ha⁻¹ que apresentou o índice de extravasamento de eletrólitos de 20,89. Esse fato sugere que o comprometimento da integridade da membrana celular pode ter ocorrido em função do aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou ainda pelo aumento na síntese de etileno que, por sua vez, estimula a síntese de enzimas que degradam fosfolipídios, tudo isso provocado pela ação do glifosato (Yamada & Castro, 2007; Martinez, 1998).

A aplicação de glifosato reduziu o nível de fenóis totais nas folhas de mudas de citros (Figura 2 B). Até a dose de 1008 g.e.a ha⁻¹ não foi observado efeito significativo de glifosato no teor de fenóis, com valores aproximados de 34,48 g EAG 100 g⁻¹. O efeito foi mais intenso e significativo nas doses de 1.440, 1.296 e 1.152 g.e.a ha⁻¹ com teores de 29,04; 28,33; 29,37 g EAG 100 g⁻¹ respectivamente, onde foi observada redução no teor de fenóis totais. A ausência de efeito significativo de glifosato sobre teor de fenóis totais, em doses menores, pode ser normal visto que, além de ter sido observado efeito visual transitório, o herbicida pode ter afetado qualitativamente a produção de fenóis e sem que isso afete significativamente a quantidade (Gravena, 2006; Becerril, Duke e Lydon, 1989). Em doses mais altas, devido sua conhecida ação herbicida no bloqueio da rota metabólica do ácido chiquímico, o glifosato pode ter comprometido a biossíntese de aminoácidos aromáticos e compostos secundários da via do chiquimato, entre eles os compostos fenólicos (Gomes e Juneau, 2016).

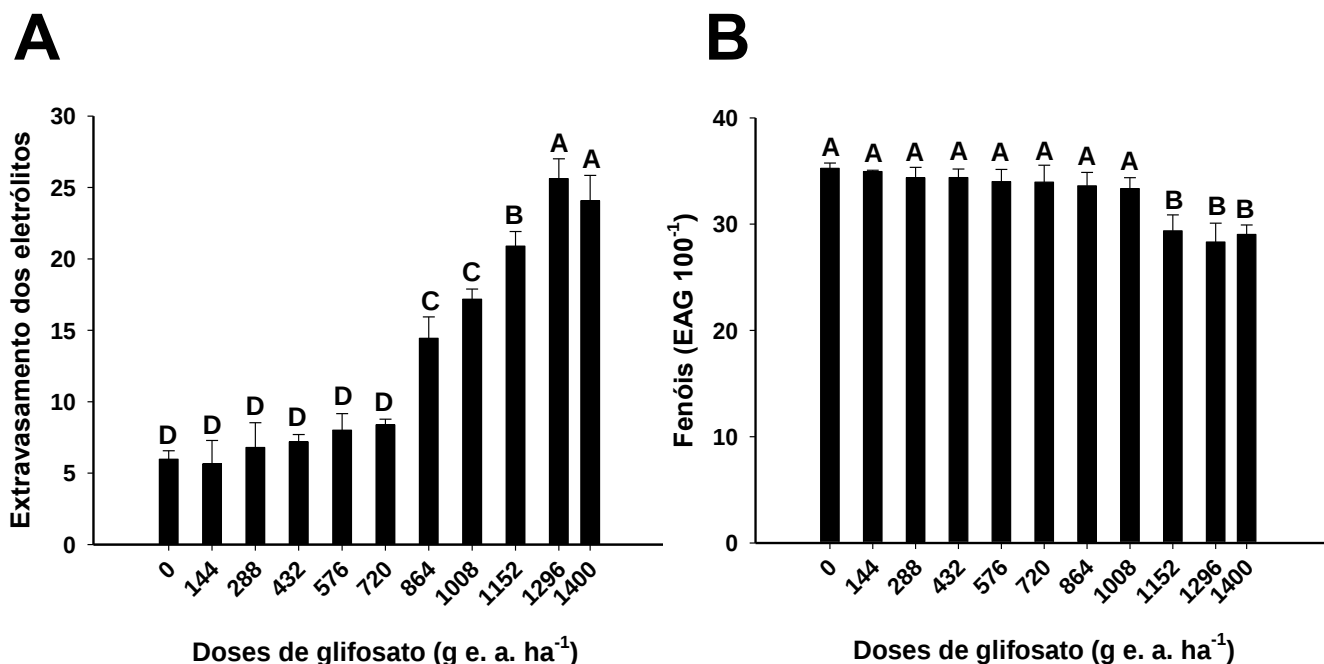


Figura 2: Níveis de extravasamento dos eletrólitos (A) e teor de fenóis totais (B) avaliado 60 DAA, em folhas maduras de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato. Tratamentos seguidos por letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2. Eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm), clorofila total, feofitina total e carotenoides totais.

A razão fluorescência variável da clorofila a e fluorescência máxima (Fv/Fm) que mede o potencial máximo da eficiência quântica fotoquímica do fotossistema II (PS_{II}) não foi afetada pela aplicação de glifosato mesmo em doses maiores (Figura 3 A), o que evidencia não ter ocorrido inibição ou redução da transferência de elétrons entre os fotossistemas. Os valores ficaram na faixa considerada ideal, 0,81 a 0,74. Esse fato pode estar relacionado com o período em que as leituras foram realizadas, 60 DAA, após o desaparecimento dos efeitos visuais. Resultados que demonstram efeitos significativos de glifosato na eficiência quântica fotoquímica do fotossistema II são relatados na literatura, nas análises logo após a aplicação do herbicida, e são relacionadas às modificações causadas pelo herbicida no metabolismo fotossintético do ciclo de carbono (Gravena, 2006; Gomes et al., 2014; Carvalho et al., 2018).

Não foi observado efeito significativo do glifosato sobre os teores relativos da clorofila total (Figura 3 B) e carotenoides totais (Figura 3 C), apenas o teor da feofitina total foi aumentado com aumento nas doses de glifosato (Figura 3 D), mostrando a

ocorrência da degradação da clorofila o que pode estar relacionado com aumento no conteúdo de espécies reativas de oxigênio (Gomes et al., 2016) ou ainda pela modificação e desregulação do metabolismo do C nas plantas ao comprometer o fluxo de C na via chiquímica e levando ao acúmulo do chiquimato nos cloroplastos (Gomes et al., 2014; Carvalho et al., 2018; Nascentes et al., 2018).

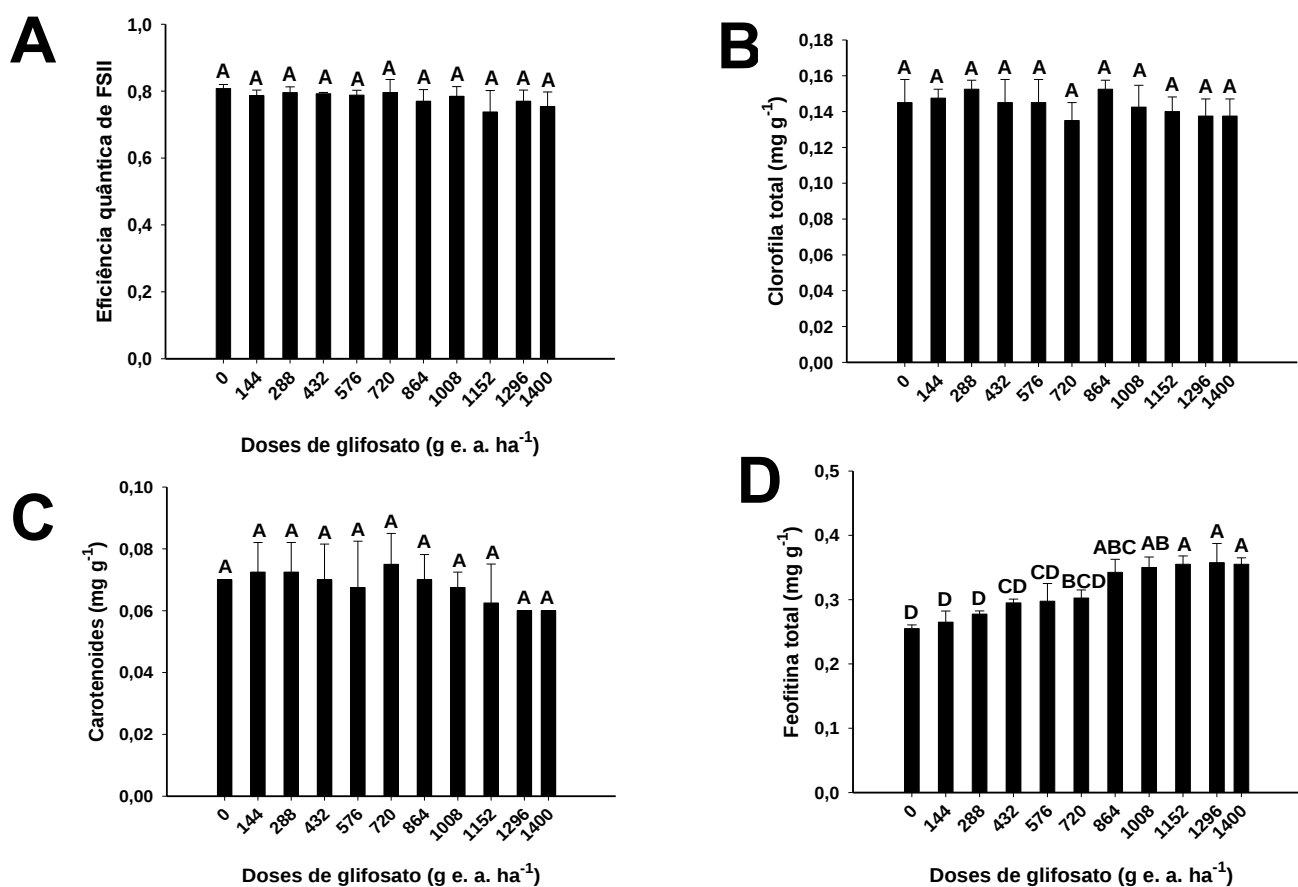


Figura 3: Eficiência quântica do fotossistema II (A), teor da clorofila total (B), carotenoides (C) e teor da feofitina (D) avaliados aos 60 DAA, em folhas maduras de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato. Tratamentos seguidos por letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3. Crescimento

Aplicação de glifosato diminuiu o crescimento de mudas de laranjeira, medido pelo número de folhas emitidas (Figura 4 A) e pela massa seca das mesmas (Figura 4 B). Em subdoses de glifosato, doses de 144 a 576 g.e.a ha⁻¹, não foi observado o efeito do herbicida sobre número de folhas, não diferindo da testemunha. As variações

significativas foram observadas a partir da dose de 720 g.e.a ha⁻¹ até a dose máxima usada no presente estudo, 1440 g.e.a ha⁻¹. A massa seca das folhas também foi maior em doses menores do herbicida e, não diferiram da testemunha, tendo decaído nas doses acima de 720 g.e.a ha⁻¹. Em estudo realizado por Velini et al. (2008), foi avaliado o efeito de subdoses de glifosato em diversas espécies e constataram que, o glifosato estimulou o crescimento das plantas.

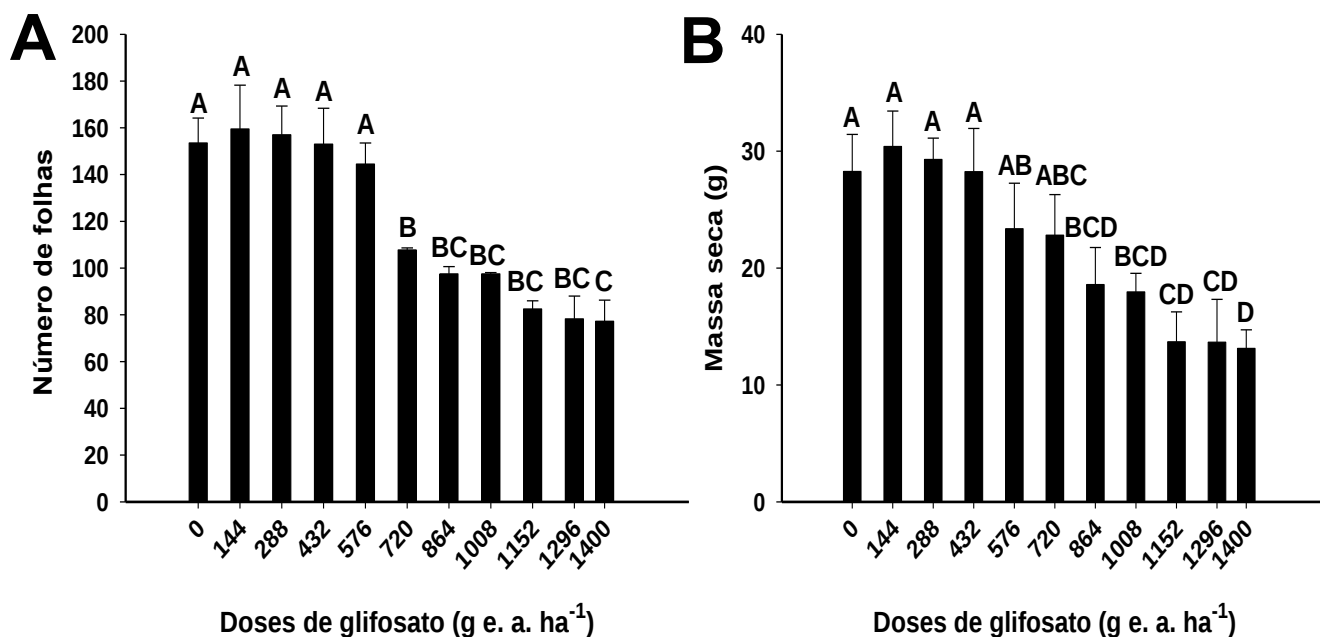


Figura 4: Número de folhas (A) e a massa seca das folhas (B) avaliados 60 DAA, em mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato. Tratamentos seguidos por letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. Conclusão

A aplicação de glifosato na parte aérea de mudas de laranjeira em doses superiores a 576 g.e.a ha⁻¹ mostra aumentar o dano às membranas celulares e reduzir o crescimento das plantas.

5. Referências

- Alves PLCA (1998) **Comportamento fotossintético de duas espécies de eucalipto sob condições fotoinibitórias**. 176 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Campinas.
- Barbosa JC, Maldonado Júnior W (2010) AgroEstat - sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. Jaboticabal: FCAV/UNESP. 396p
- Becerril JM, Duke SO, Lydon J (1989) Glyphosate Effects on Shikimate Pathway Products in Leaves and Flowers of Velvetleaf. **Phytochemistry** 28:695-99.
- Carvalho LB, Duke SO, Alves PLCA (2018) Physiological responses of *Eucalyptus x urograndis* to glyphosate are dependent on the genotype. **Scientia Forestalis** 46:177-187.
- Costa YKS, Ribeiro NM, Moura GCP, Oliveira AR, Bianco S, Cruz RA, Carvalho LB (2021) Effect of glyphosate and P on the growth and nutrition of *Coffea arabica* cultivars and on weed control. **Scientific Reports** 11:1-10.
- Cruz RA, Amaral GS, Oliveira GM, Rufino LR, Azevedo FA, Carvalho LB, Silva MFGF (2020) Glyphosate Resistance in *Amaranthus viridis* in Brazilian Citrus Orchards. **Agriculture** 10:1-10.
- Dionisio-Sese ML, Tobita S (1998) Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. **Plant Science** 135:1–9.
- Gomes MP, Juneau P (2016) Oxidative stress in duckweed (*Lemna minor* L.) induced by glyphosate: Is the mitochondrial electron transport chain a target of this herbicide?. **Environmental Pollution** 218:402-409.
- Gomes MP, Manac'h SG, 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. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 130: 65–70.
- Gomes MP, Smedbol E, Chalifour A, Hénault-Ethier L, Labrecque M, Lepage L, Lucotte M, Juneau P (2014) Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: an overview. **Journal of Experimental Botany** 65:4691-4703.
- Gravena R (2006) **Resposta bioquímicas e fisiológicas de plantas de citrus atingidas pelo glifosato**. 144 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – USP, Piracicaba.
- Gravena R, Victoria Filho R, Alves PLCA, Mazzafera P, Gravena AR (2012) Glyphosate has low toxicity to citrus plants growing in the field. **Canadian Journal of Plant Science** 92:119-127.
- Lichtenthaler H (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymology** 148:350–382.
- Martínez CM (1998) Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. **Ars Pharmaceutica** 39:5-18.

Nascentes RF, Carbonari CA, Simões OS, Brunelli MC, Velinia ED, Duke SO (2018) Low doses of glyphosate enhance growth, CO₂ assimilation, stomatal conductance and transpiration in sugarcane and eucalyptus. **Pest Management Science** 74: 1197–1205.

Ramirez AHM, Futch SH, Jhala AJ, Abit MJM, Singh M (2018) Weed management practices and herbicide resistance in weeds in Florida Citrus. **Philippine Journal of crop science** 43:1-8.

Santos JCC, Silva DMR, Amorim DJ, Rosa VR, Santos ALF, Velini ED, Carbonari CA, Silva MA (2022) Glyphosate hormesis attenuates water deficit stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) by modulating physiological and biochemical mediators. **Science of the Total Environment** 810:1-11.

Schrübbbers LC, Valverde BE, Sørensen JC, Cedergreen N (2014) Glyphosate spray drift in *Coffea arabica*—Sensitivity of coffee plants and possible use of shikimic acid as a biomarker for glyphosate exposure. **Pesticide Biochemistry Physiology** 115:15–22.

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology and Viticulture** 16:144–158.

Soares C, Pereira R, Martins M, Tamagnini P, Serôdio J, Moutinho-Pereira J, Cunha A, Fidalgo F (2020) Glyphosate-dependent effects on photosynthesis of *Solanum lycopersicum* L.—An ecophysiological, ultrastructural and molecular approach. **Journal of Hazardous Materials** 398:1-14.

Toth J, Morrison G (1977) Glyphosate drift damages fruit trees. The Agricultural Gazette of New South Wales 88:44-45.

U.S. Department of Agriculture [USDA]. Citrus: World Markets and Trade. Available online: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf> (Acessado em 19 de novembro de 2021).

Velini ED, Alves E, Godoy MC, Meschede DK, Souza RT, Duke SO (2008) Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pesticide Management Science** 4:489-496.

Viti ML, Alves PAT, Mendes KF, Pimpinato RF, Guimarães ACD, Tornisiello VL (2020) Translocation and root exudation of glyphosate by *Urochloa brizantha* and its transport on sugarcane and citrus seedlings. **Planta Daninha** 37:1-8.

Yamada T, Castro PRC (2007) Efeitos do glyphosate nas plantas: implicações fisiológicas e agrônômicas. **Informações Agrônômicas, Piracicaba** 119:1-24.

CAPÍTULO 3- Silício como safener de glifosato em mudas de laranjeira

RESUMO

O glifosato é o herbicida mais utilizado no controle das espécies daninhas nas áreas de produção de citros e pode afetar negativamente as plantas de laranjeira em caso de ocorrência de deriva ou das aplicações acidentais. Para amenizar o efeito do glifosato, o silício (Si) pode ser uma alternativa uma vez que atua na proteção das espécies vegetais em situação de estresse, aumentando a resposta das plantas ao estresse oxidativo, ativando os mecanismos de defesa vegetal. Para testar esta hipótese, o estudo teve como objetivo, avaliar o efeito do Si aplicado via fertirrigação combinada com aplicação foliar na mitigação da toxicidade do glifosato nas mudas de laranjeira. O experimento foi conduzido na casa de vegetação, com mudas de laranjeira “variedade Valência”. Os tratamentos foram constituídos de aplicações de silício via fertirrigação (0 e 2 mmol L⁻¹ complementadas com 5 aplicações foliares de 2 mmol L⁻¹) e doses do glifosato (0; 576; 1008 e 1440 g e.a.ha⁻¹) em delineamento de blocos casualizados. As avaliações foram realizadas aos 09 e 23; e 16 e 30 dias após a aplicação do glifosato. Os resultados indicam que a aplicação do glifosato aumentou o extravasamento de eletrólitos e MDA, reduziu a clorofila *a* e *b*, carotenoides, aumentou a feofitina total. Também aumentou o teor da prolina. A aplicação do Si foi eficiente em aumentar o teor foliar do elemento. O Si apresentou efeito positivo na mitigação do estresse por glifosato ao aumentar a eficiência quântica do fotossistema II, o conteúdo da clorofila *a* e *b*, carotenoides, teor de fenóis totais e promoveu maior número e massa seca de folhas, além de diminuir a prolina e o conteúdo de MDA. Com isso, o Si mostrou amenizar os efeitos da ação de glifosato em mudas de laranjeira ao reduzir o extravasamento de eletrólitos e proteger o aparato fotossintético das plantas e também ao diminuir a ocorrência do estresse oxidativo.

Palavras-chave: *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, estresse oxidativo, fotossíntese, herbicida, pigmentos.

1. Introdução

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial das frutas cítricas, segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (2021). O cenário nacional de produção de laranjas (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) é dominado pelo Estado de São Paulo que responde por aproximadamente 77% da produção (Cruz et al., 2020). Entretanto, um dos maiores desafios da citricultura brasileira e do mundo se refere à ocorrência de plantas daninhas capazes de reduzir de 23 a 52% da produção total, principalmente em pomares jovens (Ramirez et al., 2018; Cruz et al., 2020).

No manejo das espécies daninhas nas áreas da citricultura brasileira é comum o uso do glifosato, dada a sua grande disponibilidade e alta capacidade de controlar as mais diversas espécies daninhas (Cruz et al., 2020; Costa et al., 2021). O glifosato [N- (fosfonometil) glicina] é um herbicida não seletivo e que apresenta um controle efetivo para muitas espécies de plantas daninhas e sua aplicação requer o máximo de cuidados de modo a evitar seu contato com as plantas de interesse (Schrubbers et al., 2014; Gravena et al., 2012; Viti et al., 2020).

Sua ação na planta consiste na inibição da atividade da enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPs), levando, assim, ao acúmulo do ácido chiquímico na planta (Cruz et al. 2020) e afetando negativamente a biossíntese dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) bem como de compostos secundários que são sintetizados através da via bloqueada pela ação do herbicida (Gravena et al., 2012; Soares et al., 2020).

A ação do glifosato também leva à alteração das fases fotoquímicas do processo fotossintético, reduzindo a regeneração da Rubisco (ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigênio) por meio da diminuição da atividade do Ciclo de Calvin e, o que leva à superprodução de espécies reativas de oxigênio com efeitos na peroxidação dos lipídios e das membranas celulares (Santos et al., 2022), com efeitos negativos na fotossíntese (Gomes et al., 2016).

Como alternativa no manejo de glifosato em plantas de interesse, a utilização do silício (Si) pode apresentar viabilidade. Vários estudos realizados com outras culturas têm demonstrado o efeito positivo do silício na redução do estresse abiótico como estresse salino (Hurtado et al., 2020; Gurmani et al., 2013), deficiência e toxicidade de nutrientes (Sarah et al., 2020; Souza Júnior et al., 2019; Oliveira et al.,

2021; Souza Júnior et al., 2021) além de aumentar a eficiência fotoquímica das plantas em condições adversas (Ferraz et al., 2014), efeitos esses relacionados ao estresse oxidativo. Na planta, o Si melhora a ação de compostos antioxidantes, aumenta o conteúdo da clorofila e de compostos fenólicos de ação antioxidante (Gurmani et al., 2013; Gong et al., 2005; Savvas e Ntatsi, 2015), o que pode estar relacionado com a ocorrência de resistência das plantas ao glifosato (Maroli et al., 2015; Piasecki et al., 2019).

Com base no exposto, o presente trabalho apresenta a hipótese de que o Si pode amenizar os efeitos de glifosato nas mudas de laranjeira “variedade Valência, porta-enxerto citrumelo Swingle” aumentando assim, a proteção ao aparato fotossintético das plantas. Isto poderá, ao se confirmar, contribuir para otimização do manejo do glifosato nos citros, reduzindo os danos causados por este herbicida. Portanto, o objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito do silício aplicado via fertirrigação, complementada com aplicação foliar, como safener de glifosato nas mudas de laranjeira.

2. Material e métodos

2.1. Condições de crescimento e material vegetal

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Câmpus de Jaboticabal, utilizando-se vasos de polietileno de 12 L, preenchidos com um substrato argissolo cuja análise física revela 59, 18 e 23% de argila, silte e areia, respectivamente. De acordo com a análise química, o solo apresentava 5,9; 13; 16; 36; 22; 7; 2,8; 18; 31,7; 50; 64 e 8,1, respectivamente para pH(CaCl₂); M.O. (g dm⁻³); P e S (mg dm⁻³); Ca, Mg, K, H+Al, SB e CTC (mmol dm⁻³); V (%) e Si (mg dm⁻³). Foram utilizadas mudas de laranjeira (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.) com 8 meses de idade, variedade Valência enxertada em Citrumelo Swingle, no período de junho a agosto de 2021.

Durante a condução do experimento, foram coletadas a temperatura máxima e mínima assim como a umidade relativa do ar (Figura 1) utilizando um termohigrômetro instalado no interior da casa de vegetação.

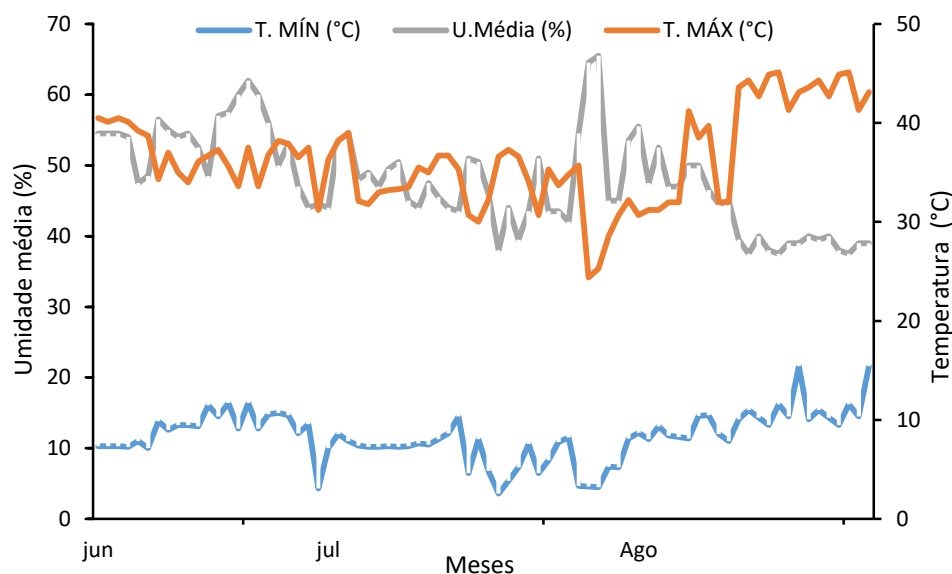


Figura 1: Temperatura mínima (T. mín), temperatura máxima (T. máx) e a umidade relativa média (U. média) dentro da casa de vegetação durante o período experimental (junho a agosto de 2021).

2.2. Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com esquema fatorial (4x2). Os tratamentos constaram de quatro doses de glifosato Roundup WG, selecionadas em função dos resultados do experimento preliminar (0; 576, 1008 e 1.440 g e.a.ha⁻¹), na ausência e presença de silício (0; 2 mmol L⁻¹), com 4 repetições e cada unidade experimental formada por uma muda por vaso. A aplicação de silício foi via fertirrigação (iniciada 8 dias após o transplântio das mudas para os vasos e mantida durante todo o período experimental) e complementada com cinco aplicações foliares de 2 mmol L⁻¹ de silício feitas a cada oito dias durante os 40 dias que antecederam a aplicação do glifosato.

O pH da solução do silício aplicada via fertirrigação foi ajustado com o uso do ácido acético para uma variação entre 5,5 a 6,5. Para as aplicações foliares, a solução do silício foi estabilizada com sorbitol (90% de silicato de potássio e 10% de sorbitol) e o pH ajustado para 7,0 com o ácido acético. Foi aplicado um volume de aproximadamente 59 mL da solução por planta. Para os tratamentos sem silício foi feito o balanceamento de potássio com a aplicação do cloreto de potássio equivalente ao K contido no silicato.

2.3. Avaliações realizadas

Para avaliar os efeitos dos tratamentos do presente estudo, as avaliações foram realizadas em folhas velhas (mais de um mês de idade) aos 09 e 23 dias após a aplicação do glifosato (DAA) e em folhas novas (menos de 1 mês de idade) aos 16 e 30 DAA, com exceção das leituras das trocas gasosas, análise da prolina e malondialdeído (MDA). As trocas gasosas foram realizadas em 3 ocasiões, aos 09, 16 e 30 DAA. A prolina e MDA em duas ocasiões, 09 e 16 DAA.

2.3.1 Análise de teor de silício

Para a análise de silício foram coletadas 2 folhas por unidade experimental e estas foram lavadas em uma solução de detergente neutro (0,1%), solução HCl (0,1%) e água deionizada e depois foram secas em uma estufa de circulação forçada de ar a 65 ± 5 °C por um período de 72 horas. Em seguida foi determinada a massa seca das folhas, e as mesmas foram moídas em moinho tipo Willey. A concentração de silício nas folhas de laranjeira foi determinada segundo metodologia proposta por Kondörfer et al (2001).

2.3.2 Índice de extravasamento de eletrólitos e teor de fenóis

O índice de extravasamento de eletrólitos foi determinado segundo Dionisio-Sese e Tobita (1998). Foram retirados cinco discos de aproximadamente 0,035 g de amostras de folhas frescas e estes foram colocados em um béquer com 20 mL de água deionizada e imersos durante 2h. Após esse período foi determinada a condutividade elétrica da solução (CE_1) usando um condutivímetro portátil (TDS-3). Posteriormente foram colocados na autoclave a 120°C por 20 minutos e, em seguida, resfriados à temperatura ambiente para determinação da condutividade elétrica final (CE_2). O extravasamento dos eletrólitos (EE) foi calculado utilizando-se a fórmula: $EE = EC_1/EC_2 \times 100$.

Os compostos fenólicos solúveis totais foram analisados em uma massa de 0,1 g de discos de folhas frescas, utilizando metanol concentrado. Após a extração, uma reação colorimétrica de fenóis totais foi induzida com o reagente 2 N Folin-Ciocalteu, por 3 minutos, e o carbonato de sódio a 20%, durante duas horas. Após esse período, o conteúdo de fenóis totais foi determinado com o uso de um espectrofotômetro, de acordo com metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965) e expresso em g equivalente de ácido gálico (EAG) 100 g^{-1} .

2.3.3 Análise do teor de pigmentos

O teor de pigmentos foi analisado coletando 2 folhas por planta. As folhas foram coletadas e lavadas com água destilada e de imediato foi separada a massa de 0,025 a 0,030 g do material vegetal e colocada em tubos eppendorf com 2 mL de acetona a 80%. Após a despigmentação, uma alíquota do extrato foi adicionada em acetona 80% numa relação de 1:2. As leituras foram feitas com uso de um espectrofotômetro (SP-220, bioespectro TM). Foi analisado o teor da clorofila *a* e clorofila *b*, carotenoides e feofitina total e os valores foram expressos em mg g⁻¹. O teor dos pigmentos foi estimado segundo Lichtenthaler (1987).

2.3.4 Trocas gasosas e a eficiência quântica do fotossistema II

Foi feita a leitura das trocas gasosas, analisando a taxa da fotossíntese líquida (A), taxa da condutância estomática (gs) e transpiração foliar (E). A eficiência instantânea do uso de água (A/E) foi calculada pela relação A/E. As leituras foram feitas no período da manhã, entre 09:30 e 11:00 horas, utilizando um medidor portátil (LcPro-SD, ADC BioScientific Ltd., Hoddesdon, Reino Unido) com uma intensidade de luz constante de 1600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ emitida por uma fonte de luz LED azul-vermelha.

A fluorescência inicial (F_0) e fluorescência máxima (F_m) foram medidas e a eficiência quântica do fotossistema II (F_v / F_m) foi estimada com uso de um fluorômetro portátil (Opti-Science – OS30P), das 7:30 h às 10:00 h. As folhas foram mantidas no escuro por 30 minutos para a adaptação ao ambiente e posteriormente foram excitadas por um pulso de luz vermelha por 1 segundo, com a finalidade de determinar a fluorescência inicial e fluorescência máxima. A eficiência quântica do fotossistema II foi calculada pela razão entre a fluorescência máxima e a fluorescência variável (Alves, 1998).

2.3.5 Análise da prolina e avaliação do estresse oxidativo através da análise de malondialdeído (MDA)

A caracterização do estresse oxidativo foi realizada por meio da peroxidação de lipídios (Heath e Packer, 1968), determinada pela produção de malondialdeído (MDA). Para isso, as folhas foram coletadas e imediatamente armazenadas em

nitrogênio líquido a -80°C e depois transferidas para freezer a -20°C , onde permaneceram até o momento das análises. As amostras foram moídas com 20% (m/v) de polivilipirrolidona e 0,1% de ácido tricloroacético (TCA) e centrifugadas a 11.000 rotações por minuto e 4°C por 10 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi coletado e colocado em tubos eppendorff com uma solução de TCA a 20% e ácido triobarbutírico (TBA) a 5% e, em seguida, mantidas em banho maria por 30 minutos a 95°C . Após isso, foram transferidas para banho em gelo por 10 minutos e, novamente, centrifugadas a 11.000 rotações por minutos e 4°C por 10 minutos. Posteriormente foram realizadas as leituras em espectrofotômetro nos comprimentos de onda entre 535 e 600 nanômetros e seguido do cálculo do MDA (Gratão et al., 2012). Os valores foram expressos em nMol de MDA g^{-1} da massa fresca.

A prolina foi determinada pelo método de Bates et al. (1973). O material vegetal que foi coletado e armazenado a -20°C foi descongelado à temperatura ambiente. Dele foi retirado 0,5 g de massa fresca e foi previamente macerado em nitrogênio líquido, e posteriormente em 2 mL de ácido sulfossalicílico, com adição de mais 8 mL do mesmo reagente. O material macerado foi duplamente filtrado a partir de um funil de vidro com papel de filtro e foi pipetado em um tubo de ensaio de vidro de 1 mL de ácido acético glacial, 1 mL de ácido nítrico e 1 mL do extrato vegetal. Em seguida, os tubos foram agitados e colocados em banho-maria a 100°C por 1 hora. Após esse período foi adicionado 2 mL de tolueno e agitado por 20 segundos. Em seguida foi feita a leitura em espectrofotômetro a 520 nm e os valores expressos em $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$.

2.3.6 Avaliação de crescimento das plantas

Aos 30 DAA, foi realizada a contagem do número de folhas e, em seguida, foram coletadas e postas a secar na estufa de circulação forçada de ar a $65 \pm 5^{\circ} \text{C}$, por um período de 72 horas e posteriormente determinou-se massa seca.

2.4. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com o uso do software AgroEstat (Barbosa; Maldonado Júnior, 2010) seguida de comparação de médias pelo Teste de Tukey, com $p \leq 0,05$. As figuras foram elaboradas no software SigmaPlot 12.5.

3. Resultados e discussão

3.1. Teor de silício nas folhas

A aplicação do silício via fertirrigação, complementada com aplicações foliares, aumentou o teor do elemento nas folhas de mudas de laranjeira em comparação com os tratamentos sem silício, independentemente da dose do herbicida, aos 09 (Figura 2 A) e 23 (Figura 2 C) DAA em folhas maduras e aos 16 e 30 DAA, em folhas novas (Figura 2 B e 2 D, respectivamente). Os teores de Si em tratamentos sem aplicação do elemento podem estar relacionados ao seu teor no solo usado como substrato (8,1 mg dm⁻³). Não foi observado o efeito do glifosato sobre o teor do silício nas mudas de laranjeira em todos os períodos de avaliações.

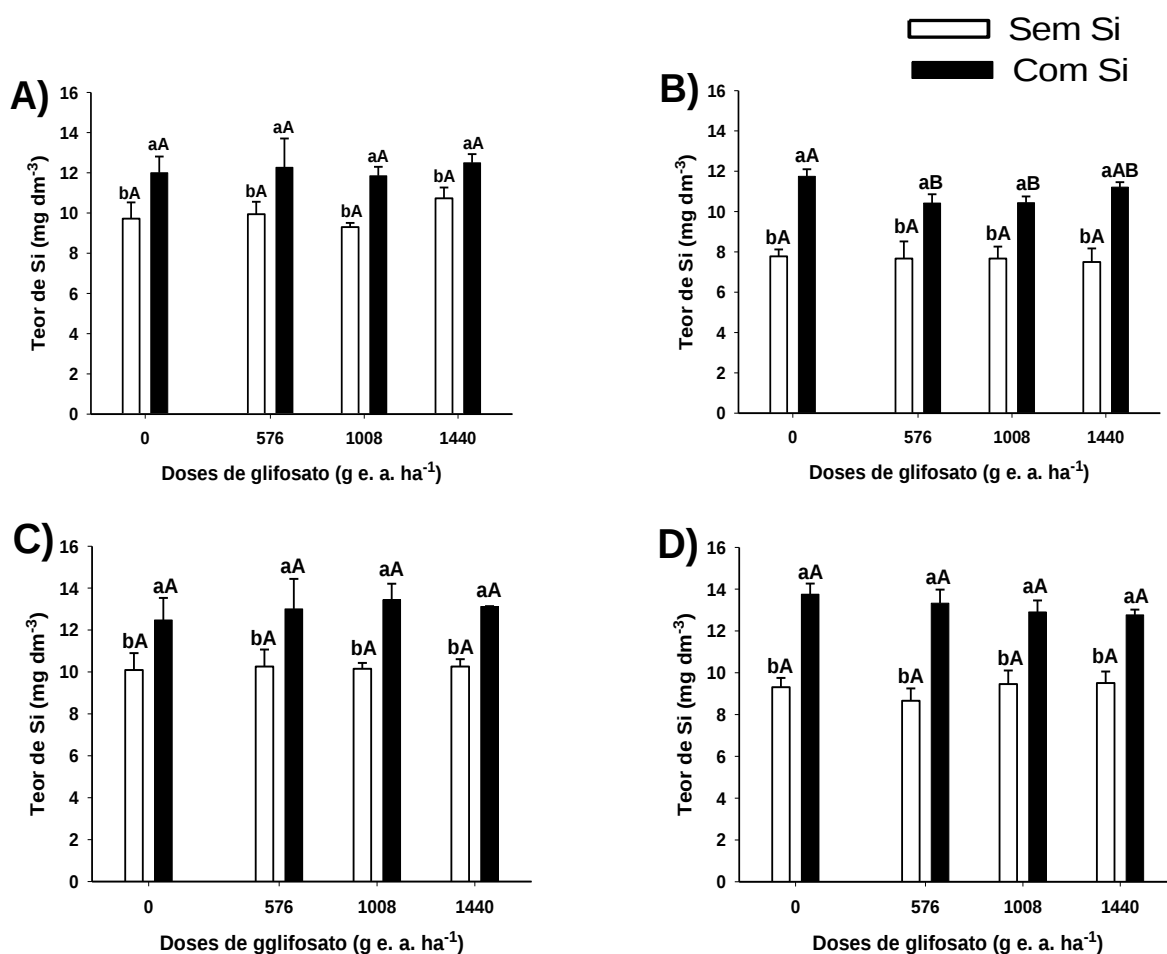


Figura 2: Teor de Si avaliado aos 09 (A), 23 (C) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (D) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Embora os citros sejam classificados como plantas não acumuladoras de Si (Wutscher, 1989), estudos com esse elemento têm mostrado seu efeito positivo no crescimento de plantas cítricas (Matichenkov et al., 2000). No presente estudo, a média do teor de silício, em tratamentos com e sem a aplicação do elemento foi de 12,16 e 9,92 (09 DAA) e 13,01 e 10,19 mg kg⁻¹ (23 DAA) respectivamente, em folhas maduras. Em folhas novas, a média do teor de silício foi de 13,19 e 9,24 mg kg⁻¹ em tratamentos com e sem aplicação do elemento, respectivamente. O acúmulo de Si nas folhas também pode estar relacionado à alta qualidade da fonte do elemento (K₂SiO₃) assim como à adição do sorbitol cujo o uso promove estabilidade do Si em solução, na forma monomérica (H₄SiO₄) e diminui a taxa de polimerização desse elemento, o que favorece a sua absorção quando aplicado via foliar (Kubicki; Heaney, 2003).

3.2. Extravasamento de eletrólitos

O glifosato promoveu a desintegração da membrana celular das folhas de laranja, fato observado pelos aumentos no extravasamento de eletrólitos com o aumento nas doses de glifosato na presença e na ausência de Si aos 09 (Figura 3 A) e 23 (Figura 3 C) DAA, em folhas maduras e aos 16 e 30 DAA (Figura 3 B e 3 D, respectivamente) em folhas novas. A aplicação de silício reduziu o efeito do glifosato nas mudas, independentemente da idade das folhas. Na presença do elemento, o nível de extravasamento de eletrólitos foi mantido baixo, comparado à sua ausência, em folhas maduras. O mesmo efeito foi observado em folhas novas, onde o nível de extravasamento de eletrólitos foi mantido baixo com a aplicação do Si.

O glifosato, embora não tenha como principal ação herbicida a geração de estresse oxidativo, entretanto, o aumento nos níveis de extravasamento dos eletrólitos pode ser consequência direta da superprodução de espécies reativas de oxigênio (ERO) após as plantas serem atingidas pelo glifosato (Cruz et al., 2020). A quebra do equilíbrio entre a produção e a eliminação das ERO leva ao seu aumento súbito nos níveis intracelulares (Gill e Tuteja, 2010; Santos et al., 2022).

O Si, ao ser absorvido pelas plantas é depositado na parede celular e nos espaços externos das células da epiderme na forma de sílica biogênica, promovendo, desta forma, a integridade da membrana celular e, deste modo, diminuir a peroxidação lipídica (Souza Júnior et al., 2019; Zargar et al., 2019).

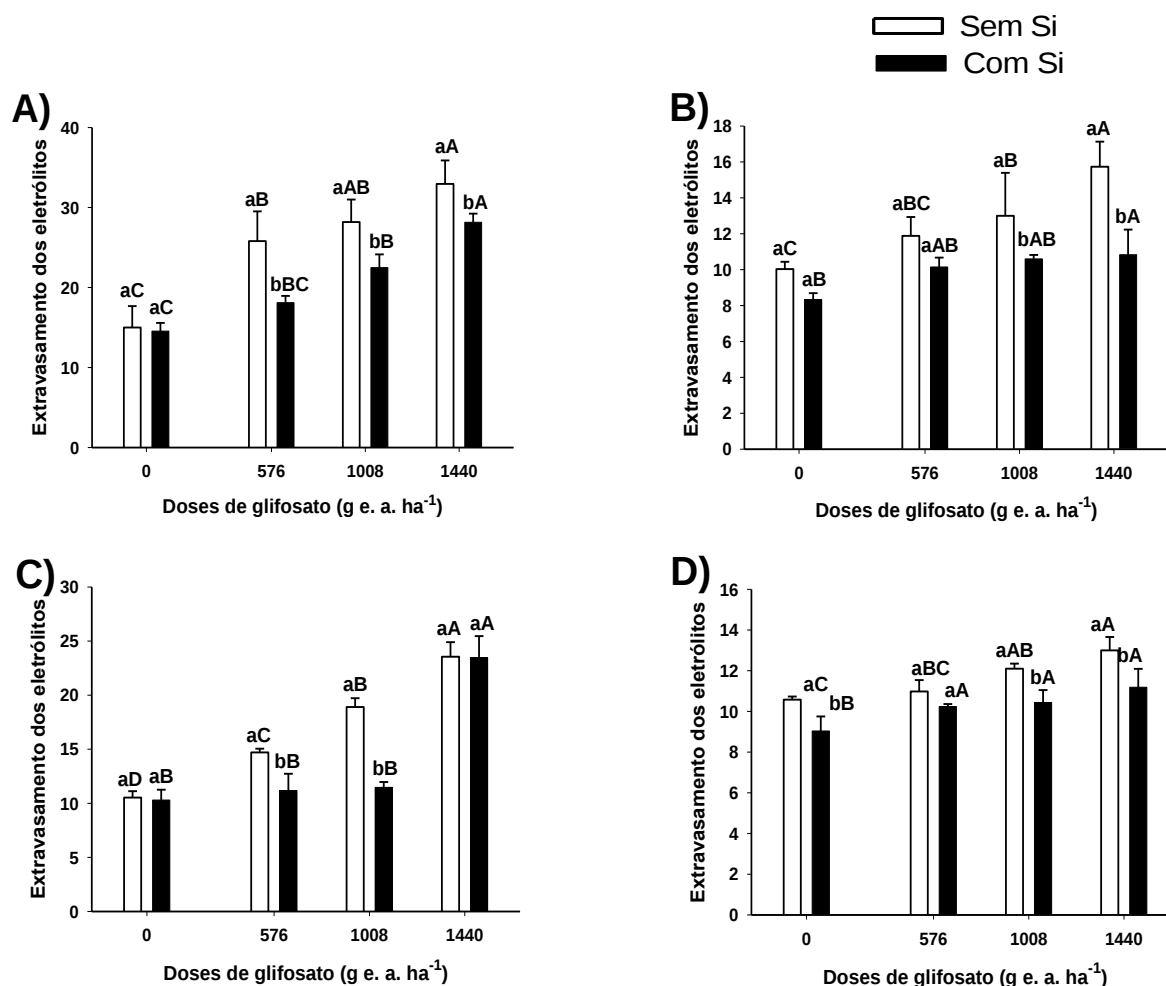


Figura 3: Níveis de extravasamento dos eletrólitos avaliados aos 09 (A), 23 (C) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (D) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.3. Níveis de malondialdeído (MDA)

A aplicação de glifosato aumentou o nível de MDA nas plantas, sugerindo a ocorrência do estresse oxidativo. Os níveis de MDA foram aumentados em função do aumento nas doses de glifosato, nas duas avaliações, mostrando, assim, o aumento

no nível de estresse oxidativo nas mudas sob aplicações do glifosato. Nas duas avaliações e na ausência do Si, os níveis baixos de MDA foram observados apenas na testemunha, sem aplicações de glifosato (Figura 4 A e 4 B) aos 09 e 16 DAA. Entretanto, os tratamentos com aplicação do Si apresentaram o nível reduzido de MDA nas mudas, em comparação com ausência do elemento. Na presença do elemento, a diferença nos níveis de MDA foi mais acentuada na dose de 1440 g e.a ha⁻¹, comparada à testemunha sem aplicação do herbicida, nas duas avaliações. Em condições de estresse, seja ele biótico ou abiótico, a resposta da planta ao estresse oxidativo é agravada (Gratão et al., 2005).

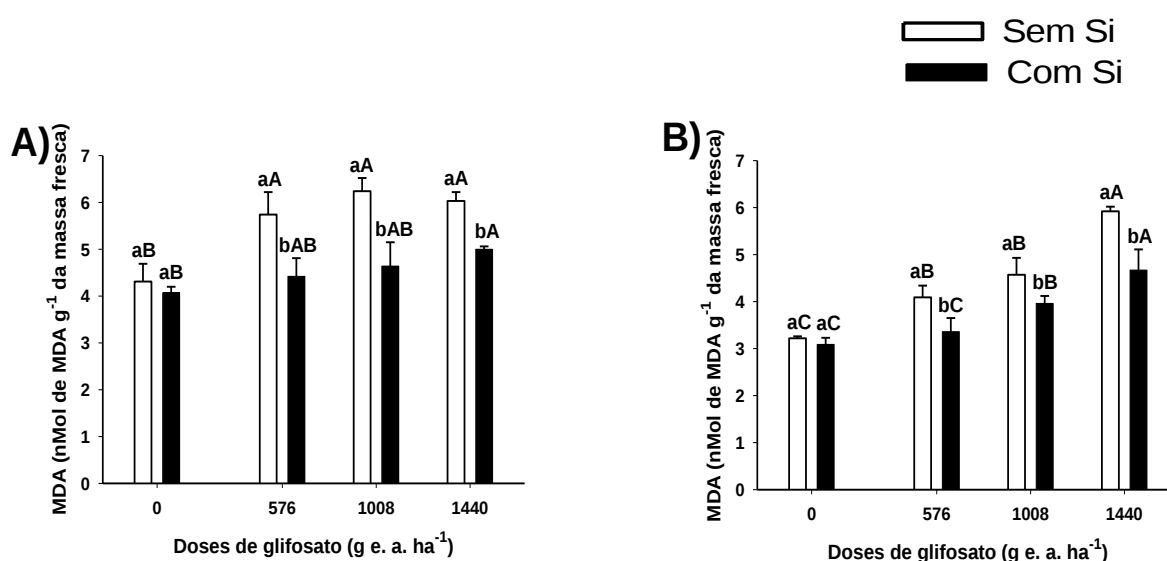


Figura 4: Níveis de MDA avaliados aos 09 (A), em folhas maduras, e aos 16 (B) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.4. Teor de fenóis totais e da prolina

A aplicação de Si aumentou o teor de fenóis nas plantas na presença do glifosato em folhas maduras (Figura 5 A e 5 C) e em folhas novas (Figura 5 B e 5 D). Na ausência do elemento, a produção de fenóis totais, aos 09 DAA, caiu à medida que a dose de glifosato foi aumentada e, aos 23 DAA, apenas na dose de 1440 g e.a ha⁻¹ foi observada redução considerável.

Os compostos fenólicos são dos compostos secundários de ação antioxidante não enzimática cuja biossíntese é comprometida pela ação do glifosato ao bloquear a rota metabólica do ácido chiquímico (Gomes e Juneau, 2016). A sua ação na defesa vegetal inclui uma possível diminuição do estresse oxidativo causado pelo glifosato, eliminando os radicais livres e prevenindo o sistema de defesa antioxidante da planta (Zeng et al., 2020; Shopova et al., 2021). A sua produção nas plantas é aumentada na presença do silício se comparada com a ausência do elemento benéfico (Oliveira et al., 2021).

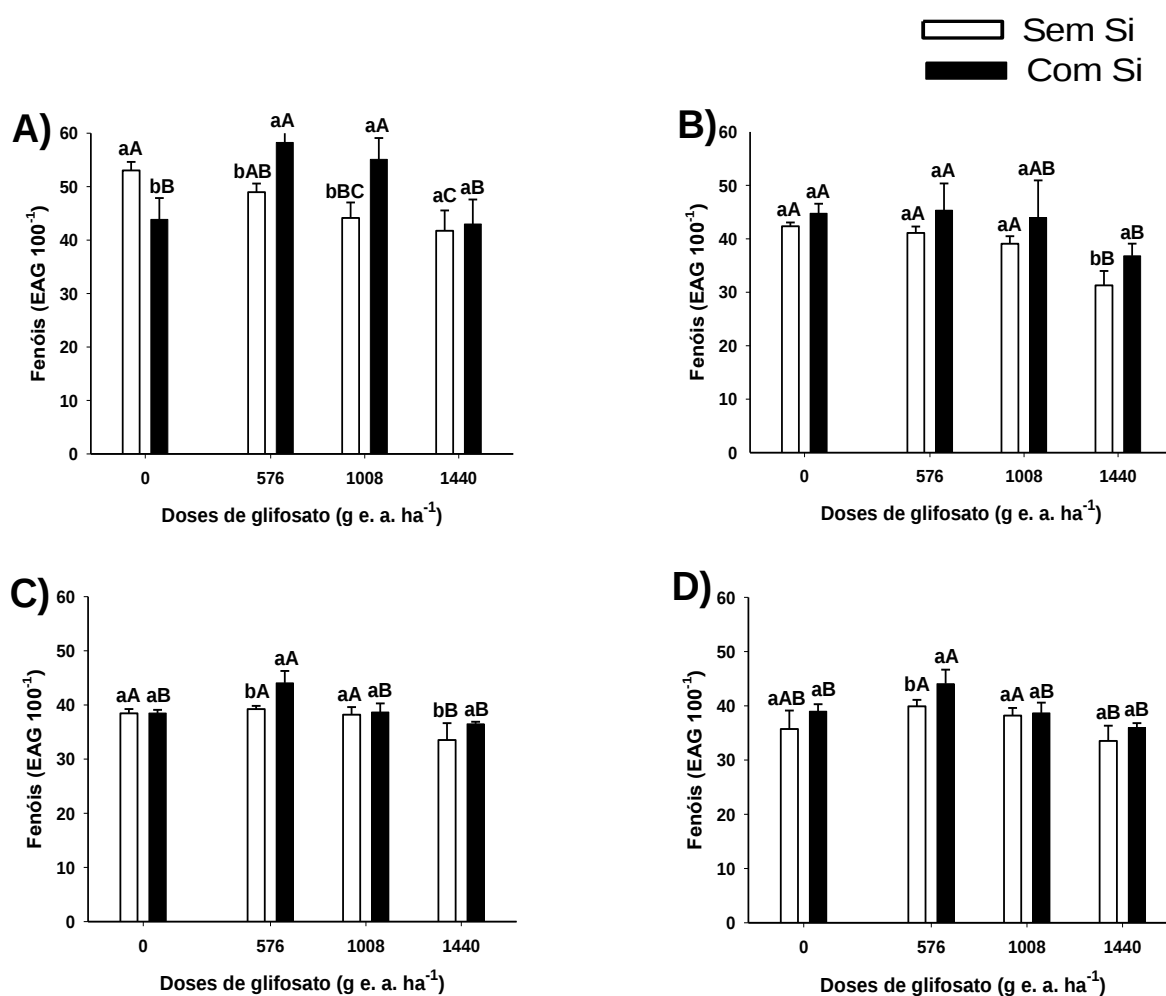


Figura 5: Teor de fenóis totais avaliados aos 09 (A), 23 (C) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (D) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A aplicação de glifosato também aumentou a produção da prolina, com diferenças acentuadas nas doses de 1008 e 1440 g e.a ha⁻¹ aos 09 DAA (Figura 6 A). Na presença do Si houve diminuição no teor da prolina nas folhas no mesmo período de avaliação, e não houve diferença significativa mesmo com o aumento nas doses de glifosato, o que evidencia a ação do Si na diminuição da ocorrência do estresse. Aos 16 DAA o teor da prolina foi maior com a aplicação do glifosato, entretanto, a aplicação do Si manteve os níveis do osmólito reduzidos (Figura 6 B).

A prolina é considerada um forte antioxidante não enzimático que atua na tolerância das plantas ao estresse oxidativo e protegendo as membranas celulares (Gill e Tuteja, 2010). Sua síntese gera NADP⁺ e ao oxidar resulta na produção de NADPH, o que lhe permite atuar como agente tamponante do potencial redox dentro das células (Hossain et al., 2014), se ligando e neutralizando as ERO (Liang et al., 2013). Assim, plantas em condições de estresse elevam o nível de produção da prolina uma vez que o meio permite a ocorrência de superprodução de compostos com baixo peso molecular (Pei et al., 2010).

No entanto, o papel desempenhado pela prolina na defesa vegetal parece controverso e não apresenta uma unanimidade na comunidade científica. Algumas pesquisas correlacionam acúmulo de prolina com tolerância das espécies vegetais ao estresse (Nayyar e Walia, 2003) e outras sugerem que o seu acúmulo é um sintoma da ocorrência de estresse (Lacerda et al., 2003; Pei et al., 2010). Os resultados de níveis de extravasamento dos eletrólitos e de MDA observados no presente estudo corroboram a segunda teoria, indicando aumento de danos às membranas nas doses onde houve aumentos em níveis da prolina. Com isso, as diminuições nos níveis de prolina induzidas pelas aplicações de Si indicam que o elemento alivia o estresse causado por glifosato em mudas de laranjeira.

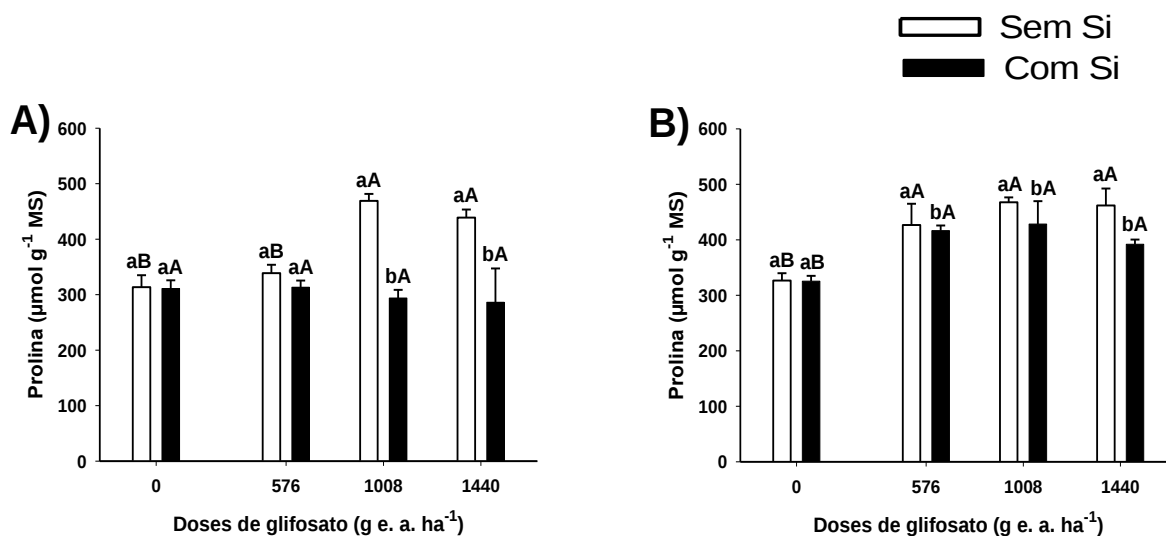


Figura 6: Teor da prolina avaliada aos 09 (A) em folhas maduras e aos 16 (B) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.5. Pigmentos

O efeito do glifosato, sobre os pigmentos, foi evidenciado pela diminuição no teor da clorofila *a* (Figura 7), clorofila *b* (Figura 8), carotenoides (Figura 9) e pelo aumento no conteúdo da feofitina total (Figura 10) nas doses mais elevadas de glifosato em todas as avaliações realizadas. O teor da clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides foram sempre maiores na presença do silício, independentemente da dose e do período das avaliações. Em relação ao teor da feofitina total, esta foi maior nas doses de 1008 e 1440 g e.a ha⁻¹ de glifosato na ausência de Si aos 09 e 23 DAA (Figura 7 A e 7 C, respectivamente). O mesmo comportamento foi observado aos 16 e 30 DAA (Figura 7 B e 7 D), sempre com diminuições na presença de Si, o que sugere a ação benéfica do silício na mitigação dos efeitos do glifosato sobre as mudas de laranjeira.

O glifosato demonstra ter ação na fotossíntese, mesmo esta não sendo seu alvo primário na planta (Carvalho et al., 2016; Gomes et al., 2016). O aumento na degradação dos pigmentos fotossintéticos avaliados, na presença do glifosato, e o aumento no teor da feofitina, resultado da degradação da clorofila, pode estar

relacionado ao possível aumento no conteúdo de espécies reativas de oxigênio após a exposição das plantas ao herbicida (Gomes et al., 2016) ou ainda pela modificação e desregulação do metabolismo do C nas plantas ao comprometer o fluxo de C na via chiquímica e levando ao acúmulo do chiquimato nos cloroplastos (Gomes et al., 2014; Carvalho et al., 2018; Nascentes et al., 2018).

O silício possui ação benéfica na fotossíntese das espécies vegetais, aumentando o teor de clorofila *a* e *b* além de aumentar o teor de carotenoides (Oliveira et al., 2021; Souza Júnior et al., 2019). O aumento no conteúdo de pigmentos na presença de silício, em relação à sua ausência, nas mudas sob estresse causado por glifosato, pode estar relacionado à ação do elemento na proteção ao aparelho fotossintético e efeito na redução da peroxidação das membranas conforme observado pela redução de extravasamento de eletrólitos. O efeito do Si na redução da peroxidação das membranas vegetais foi relatado em vários estudos com toxidades relacionadas ao estresse oxidativo ao exemplo da toxicidade de boro (Souza Júnior et al., 2019), deficiência de zinco (Anwaar et al., 2015), toxicidade de cádmio (Farooq et al., 2013), deficiência e toxicidade de manganês (Oliveira et al., 2021).

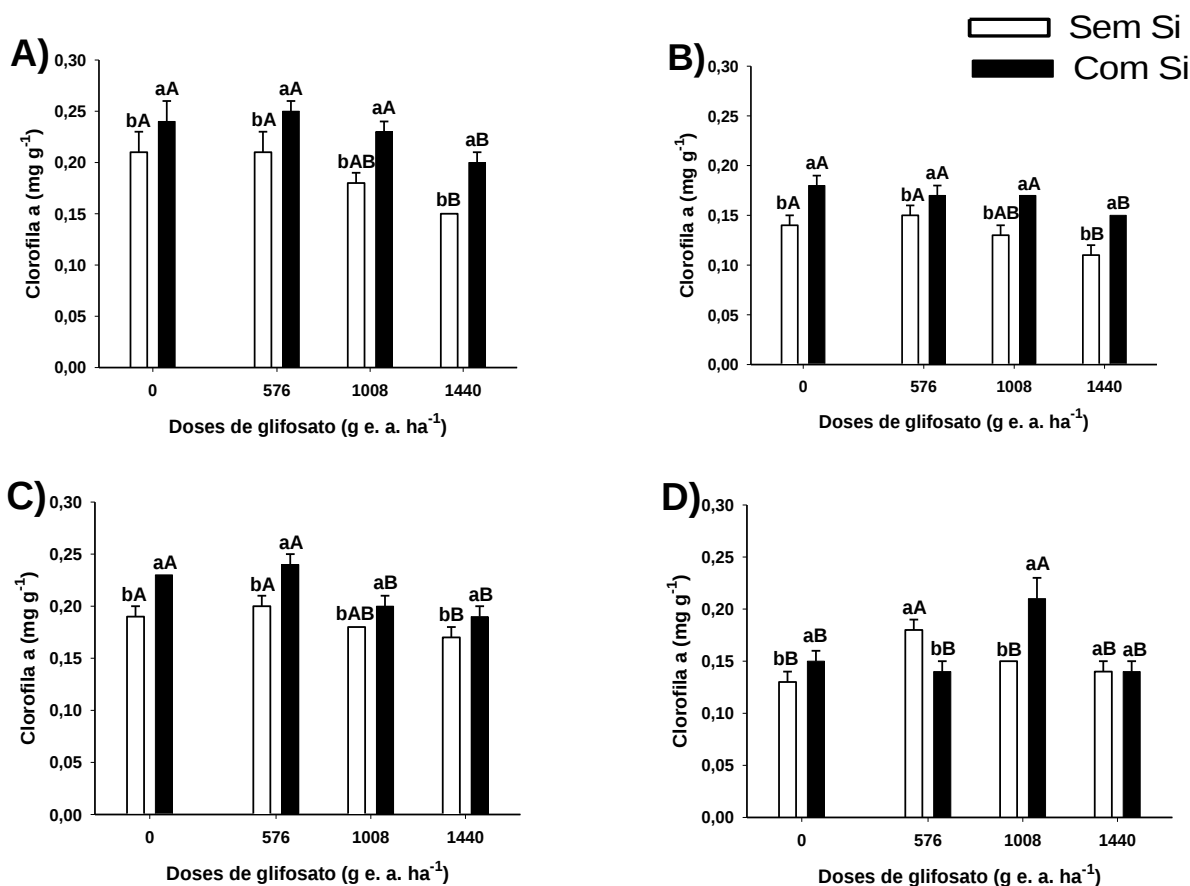


Figura 7: Teor da clorofila *a* avaliada aos 09 (A), 23 (C) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (D) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

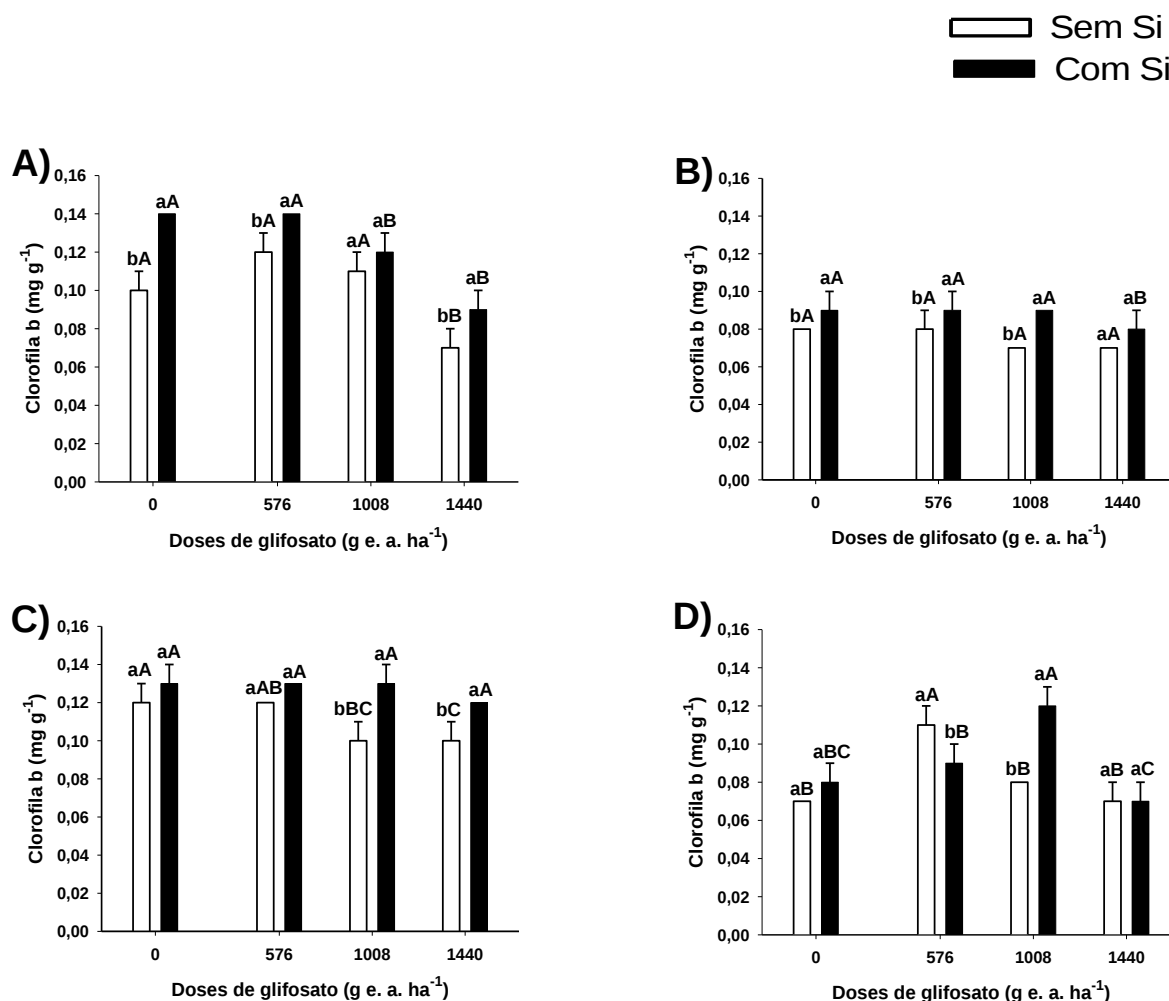


Figura 8: Teor da clorofila *b* avaliado aos 09 (A), 23 (C) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (D) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

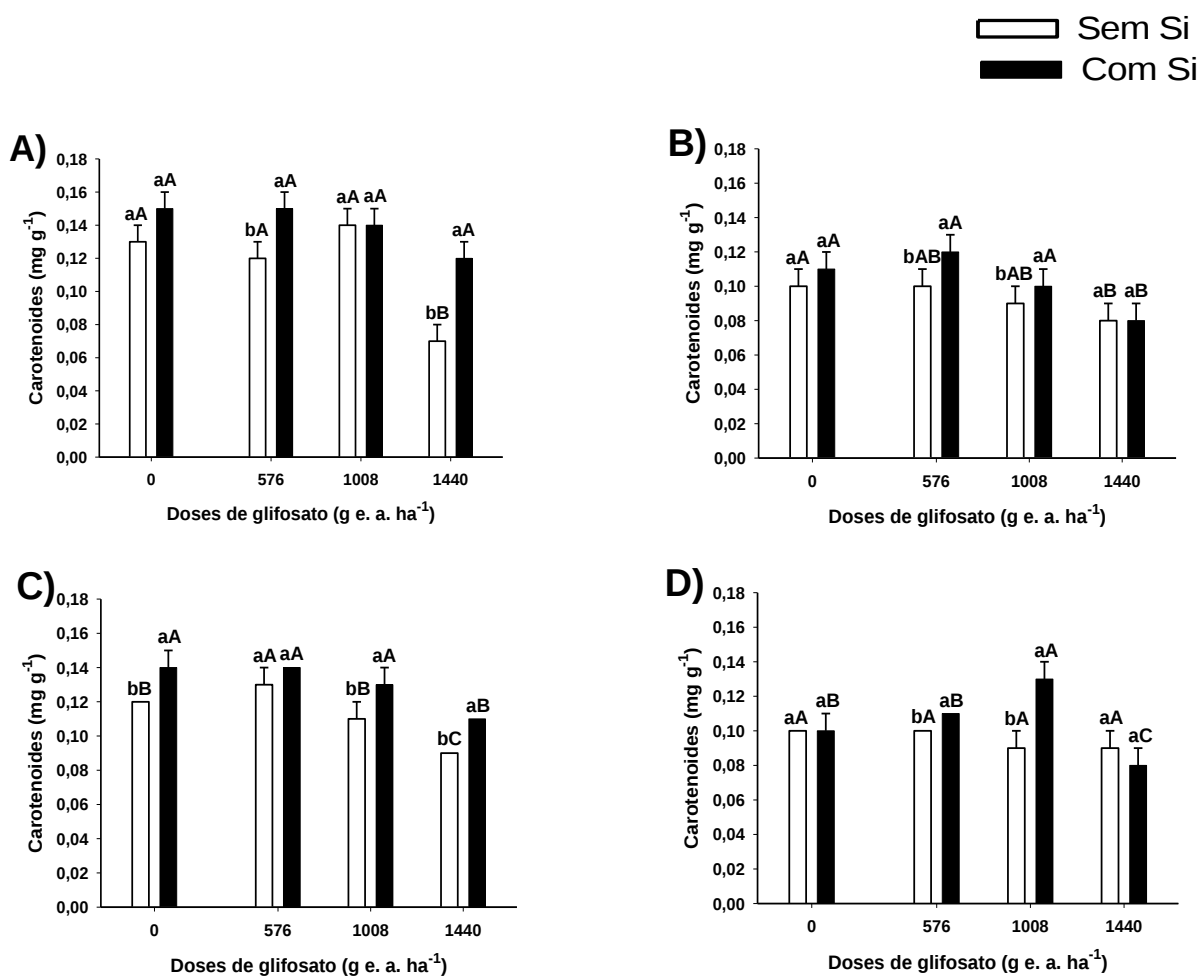


Figura 9: Teor de carotenoides avaliado aos 09 (A), 23 (C) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (D) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

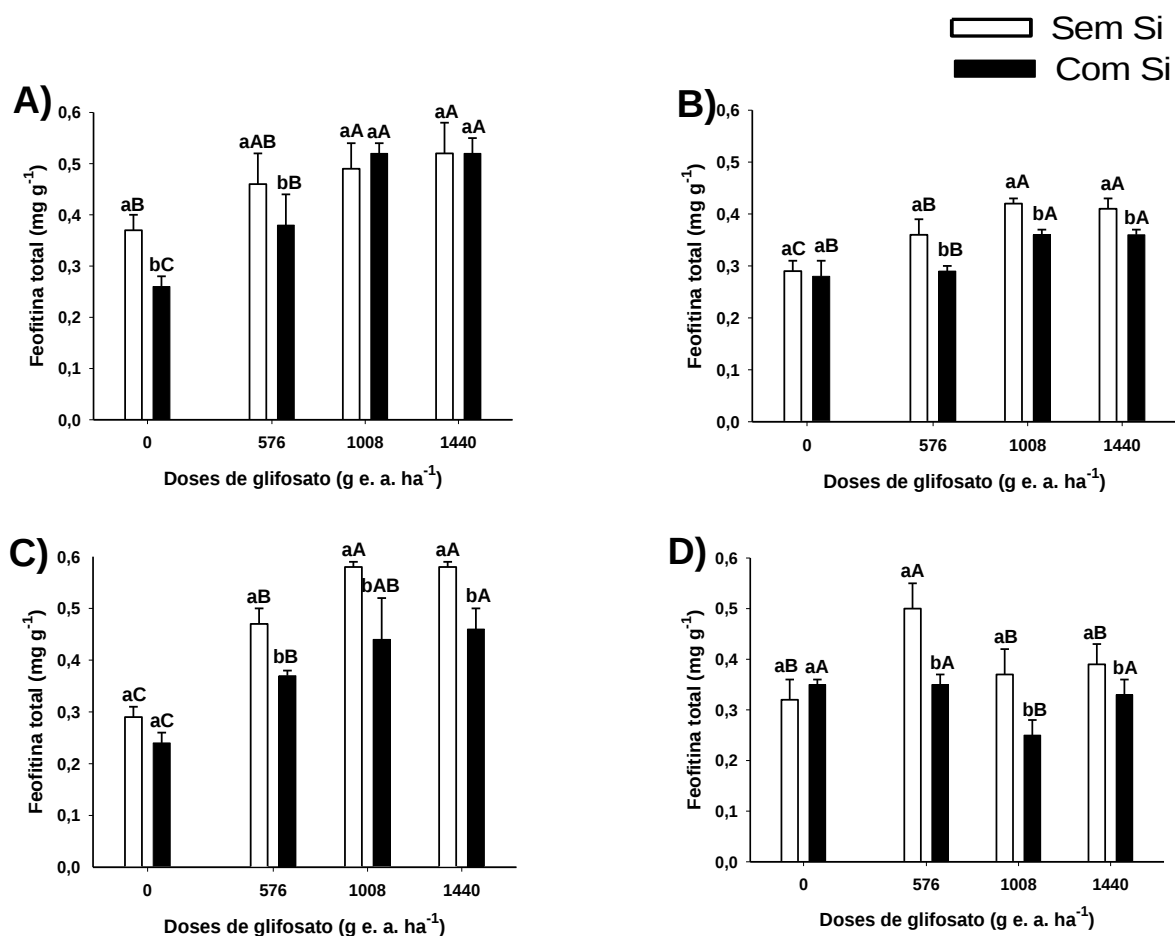


Figura 10: Teor da feofitina total avaliado aos 09 (A), 23 (C) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (D) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.6. Eficiência quântica do fotossistema II

O aumento das doses de glifosato desfavoreceu a manutenção do aparato fotossintético, fato evidenciado pelas alterações na eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) em folhas maduras e em folhas novas (Figura 5). A aplicação de silício manteve alto o nível da eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) aos 09 e 23 DAA (folhas maduras) e aos 16 e 30 DAA (folhas novas), o que mostra sua eficiência na redução da perda energética do aparelho fotossintético. Na ausência de silício a aplicação de glifosato causou reduções na eficiência quântica do fotossistema II a

partir da dose de 1008 g e.a ha⁻¹ e não houve diferenças significativas na presença do elemento na avaliação realizada 09 DAA. Já aos 23 DAA e na ausência do elemento benéfico, as reduções ocorreram, apenas, na dose de 1440 g e.a ha⁻¹, e na presença de Si, aplicação de glifosato não gerou alteração na relação Fv/Fm.

Aos 16 DAA houve reduções na eficiência quântica do fotossistema II, na ausência de Si, nas doses de 1008 e 1440 g e.a ha⁻¹. Nos tratamentos com aplicações de Si os níveis da eficiência quântica foi mantido elevado, entretanto, nas doses mais altas (1008 e 1440 g e.a ha⁻¹) foram observadas reduções mais acentuadas. Aos 30 DAA não houve diferenças significativas na eficiência quântica fotoquímica provocadas pelas aplicações de glifosato na presença e nem na ausência do Si.

A redução da eficiência quântica do fotossistema II, provocada pela aplicação de glifosato, indica a perda de estabilidade e degradação fotoquímica no centro de reação de PSII, ocorrendo a perda de energia durante o processo fotossintético (Bussoti et al., 2014). Os resultados obtidos no presente estudo indicam a ação protetora do Si nas mudas em situação de estresse causado pelo glifosato, evidenciado pelo fato de que, na presença do elemento, os foram mantidos altos. Outros estudos reforçam a ideia da ação do silício na proteção do aparato fotossintético nas plantas sob outros tipos de estresse (Souza Júnior et al., 2019; Oliveira et al., 2021).

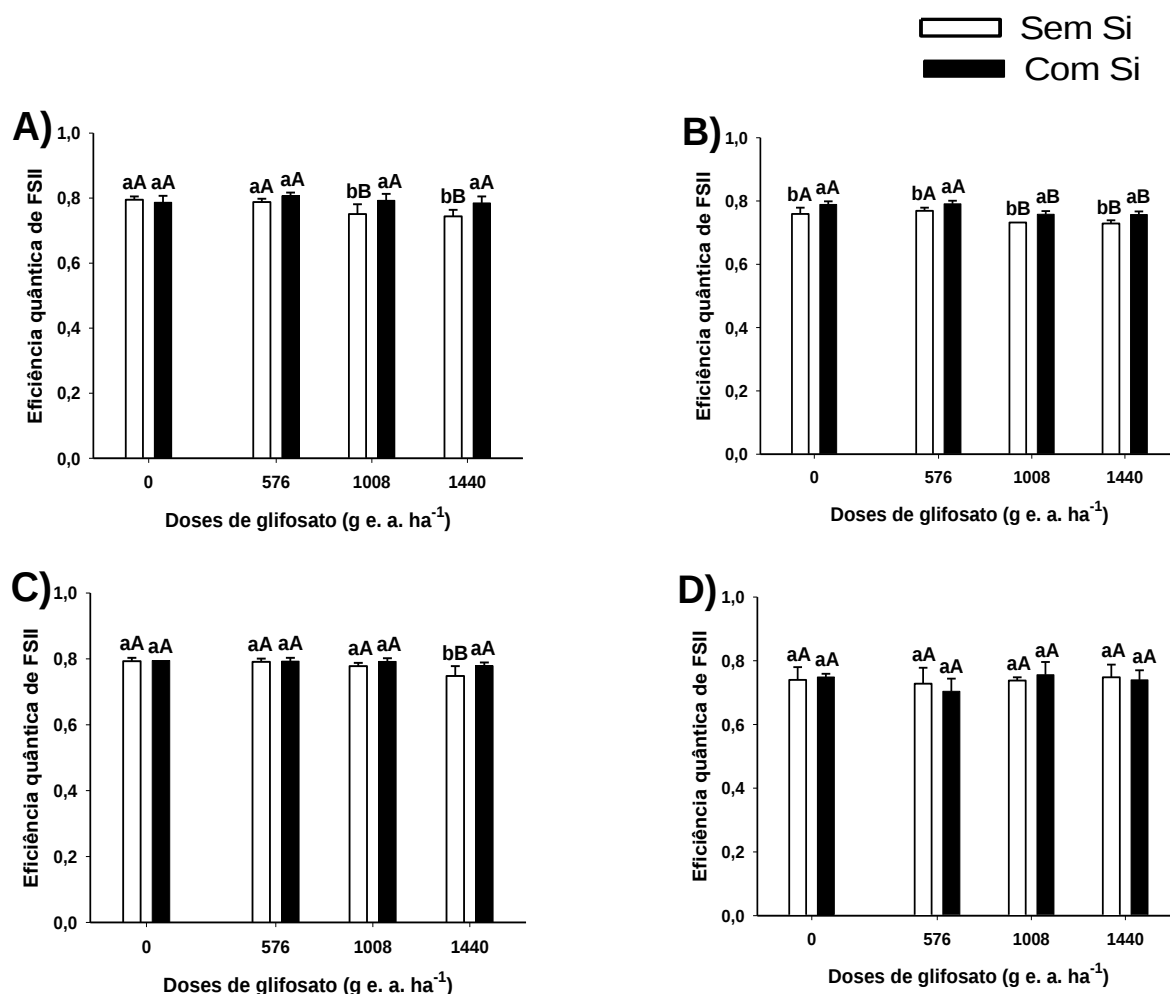


Figura 11: Eficiência quântica do fotossistema II avaliada aos 09 (A), 23 (C) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (D) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.7. Trocas gasosas

O glifosato reduziu a fotossíntese nas folhas avaliadas aos 09 DAA (Figura 12 A), tanto na presença assim como na ausência das aplicações de Si, apenas na dose máximo do presente estudo (1440 g e.a ha⁻¹). Aos 16 DAA doses crescentes de glifosato diminuíram a fotossíntese na ausência de Si. Na presença do elemento, a fotossíntese foi maior no tratamento com 576 g e.a ha⁻¹ (6,27 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e menor na dose de 1440 g e.a ha⁻¹ (4,35 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). 30 DAA não foi observada modificação na fotossíntese nos tratamentos sem aplicações de glifosato. Na ausência do Si, o glifosato diminuiu a fotossíntese das plantas. Ao aplicar o Si a fotossíntese foi maior

nas doses de 576 e 1008 g e.a ha⁻¹, superando assim os valores observados na testemunha.

Em relação à transpiração (Figura 13) esta variável foi alterada pelas aplicações de Si e de glifosato. Na presença e na ausência de Si, doses crescentes de glifosato aumentaram transpiração aos 09 DAA, analisado em folhas maduras. Para as avaliações realizadas em folhas novas, 16 e 30 DAA, a transpiração foi maior nas doses menores, 0 e 576 g e.a ha⁻¹. Houve efeito de silício e de glifosato na condutância estomática em mudas de laranjeira avaliadas no presente estudo (Figura 14). A aplicação do glifosato diminuiu a condutância estomática com o aumento nas doses do herbicida, aos 09 DAA. Aos 30 DAA os valores da eficiência de uso de água foram significativamente diminuídos à medida que as doses de glifosato foram acrescidas. Similarmente, o silício aumentou a condutância estomática 09 DAA nas doses de 0 e 1008 g e.a ha⁻¹. 16 DAA a condutância foi elevada quando as doses de glifosato foram aumentadas para 576 g e.a ha⁻¹ e, aos 30 DAA, foi maior nas doses de 576 e 1008 g e.a ha⁻¹. O uso eficiente de água foi aumentada em todas as doses de glifosato na presença do Si (Figura 15).

Existem relatos na literatura sobre ação do glifosato na alteração do balanço hídrico das plantas, resultando, assim, no fechamento dos estômatos e comprometimento das trocas gasosas (Gravena et al., 2012; Gravena, 2006). Também é conhecida a ação do Si na melhoria de variáveis fotossintéticas dos vegetais, principalmente em plantas sob estresse. O elemento atua na manutenção dos feixes vasculares das plantas bem como no fluxo contínuo de água e nutrientes pelos vasos do xilema. Ao ser absorvido, é depositado, em forma de dupla camada cutícula – Si nas células da epiderme ou nas células especializadas em armazenar o elemento (Kim et al., 2002; Javaid et al., 2019; Kumar et al., 2019) e melhora a arquitetura do vegetal permitindo, assim, a melhor captação da luz e aumentos na fotossíntese (Javaid et al., 2019; Raven, 1983), o que pode justificar os resultados observados no presente estudo.

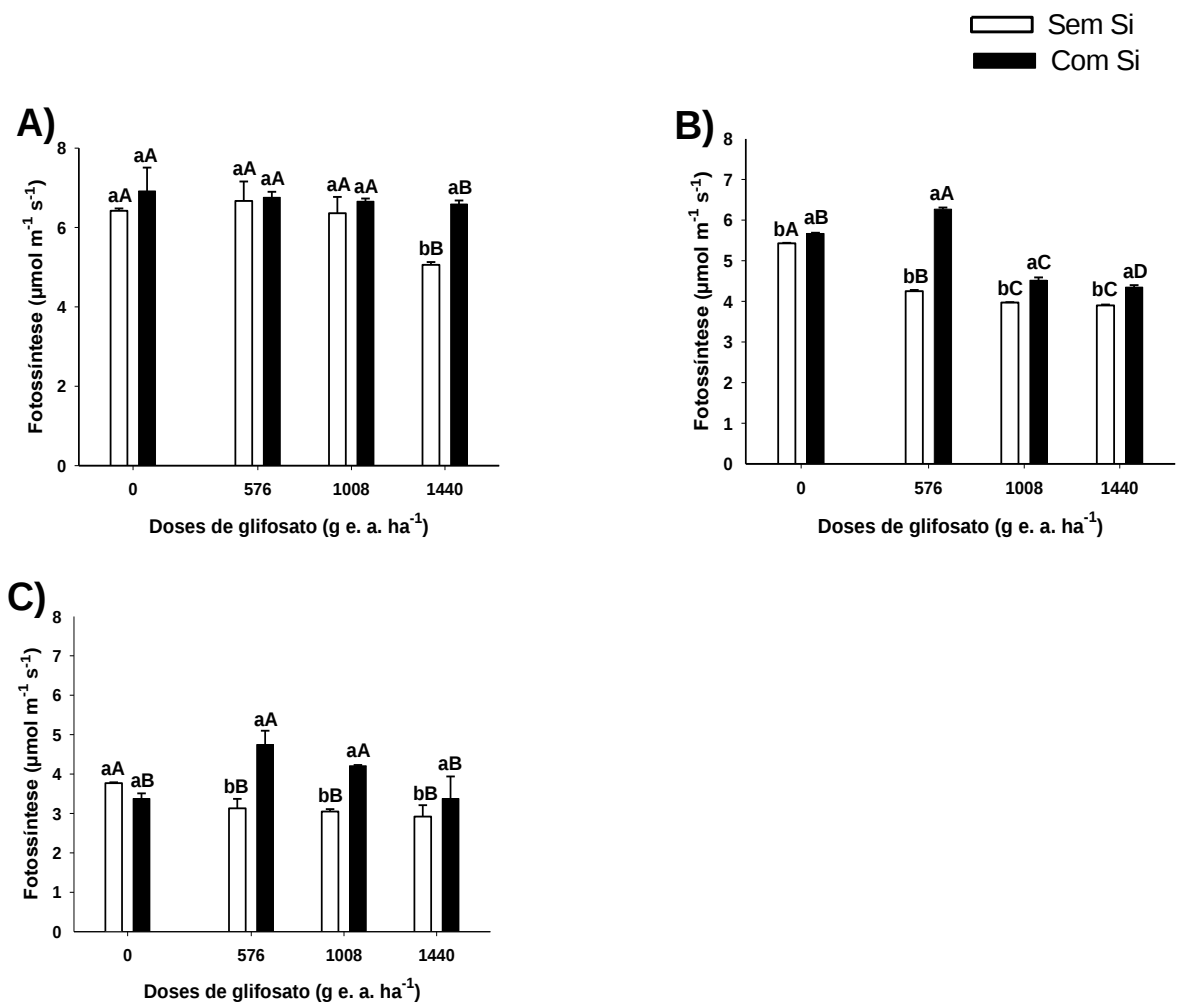


Figura 12: Taxa fotossintética analisada aos 09 (A) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (C) DAA em folhas novas de mudas de laranja, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

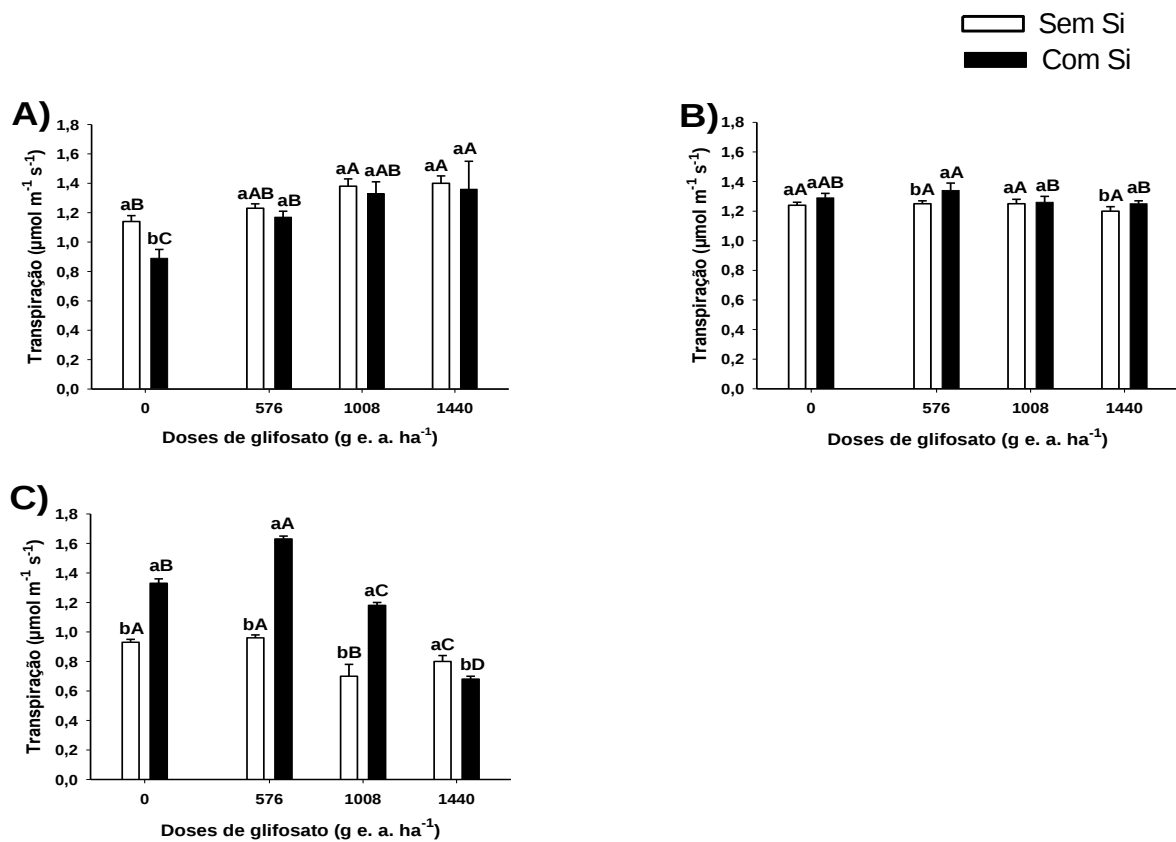


Figura 13: Taxa de transpiração analisada aos 09 (A) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (C) DAA em folhas novas de mudas de laranja, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

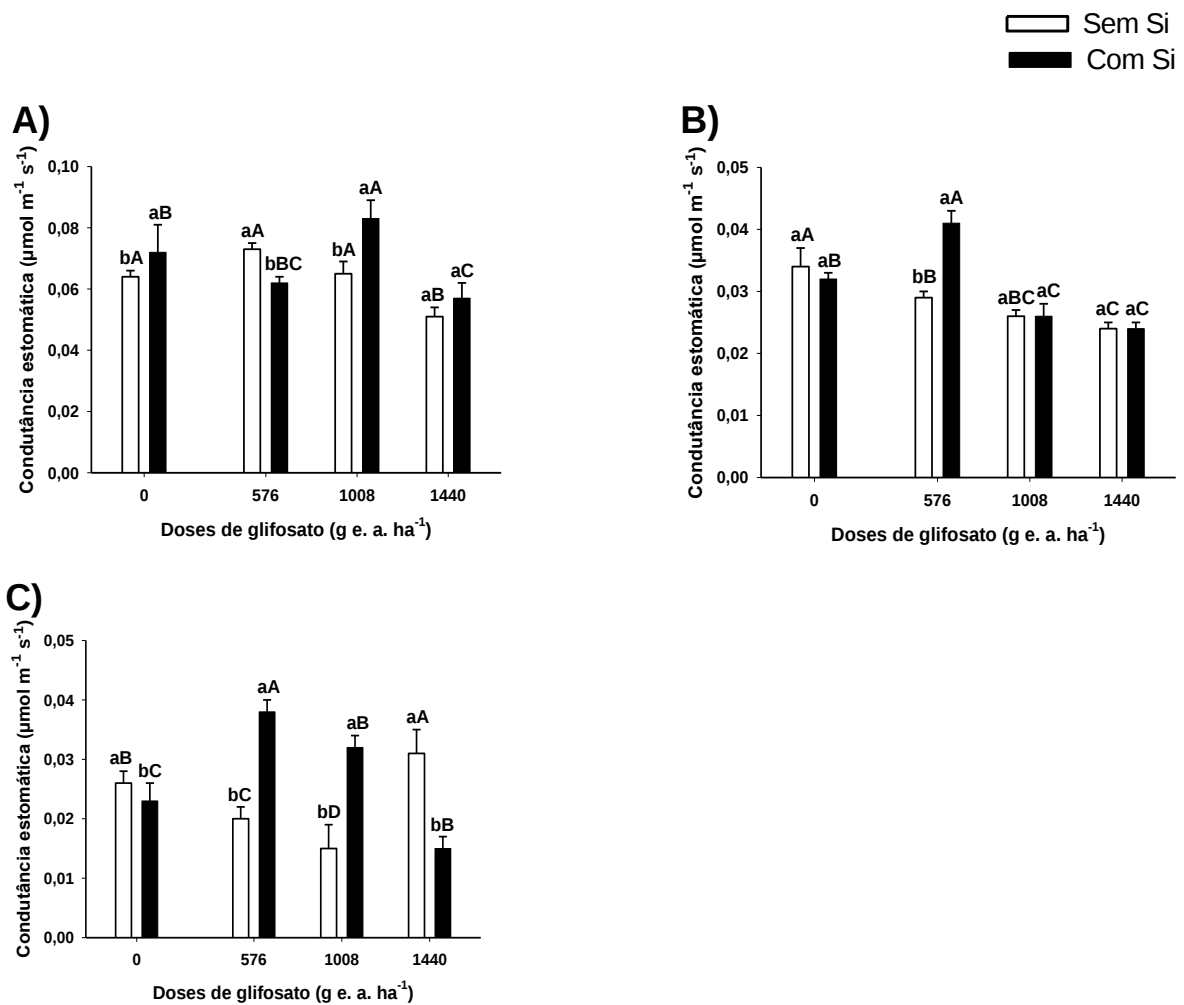


Figura 14: Condutância estomática analisada aos 09 (A) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (C) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

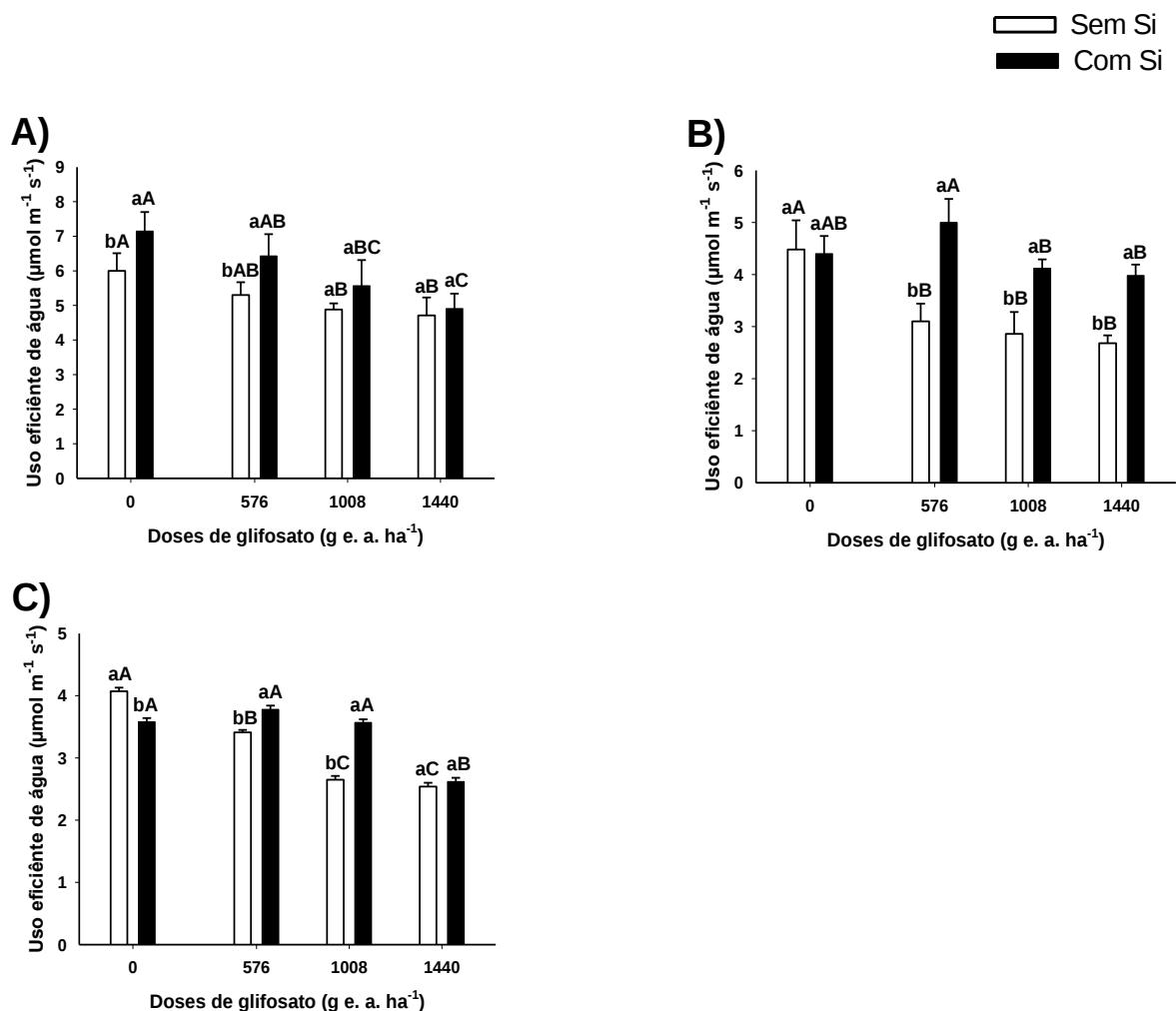


Figura 15: Uso eficiente de água avaliado aos 09 (A) DAA em folhas maduras e aos 16 (B) e 30 (C) DAA em folhas novas de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.8.Crescimento das plantas

A aplicação de silício teve efeito positivo no crescimento das plantas de laranjeira, efeito esse observado pelo aumento na emissão de folhas e pela massa seca das folhas (Figura 16 A e 16 B). Efeitos positivos do Si no crescimento das plantas de laranjeira foi relatado por Matichenkov, Bocharnikova, Calvert (2000). Em

relação ao efeito do herbicida, este não foi observado em nenhuma das avaliações sobre o número e a massa seca das folhas, o que era esperado uma vez que as avaliações se deram logo após aplicação do herbicida e não ocorreu a emissão de folhas novas.

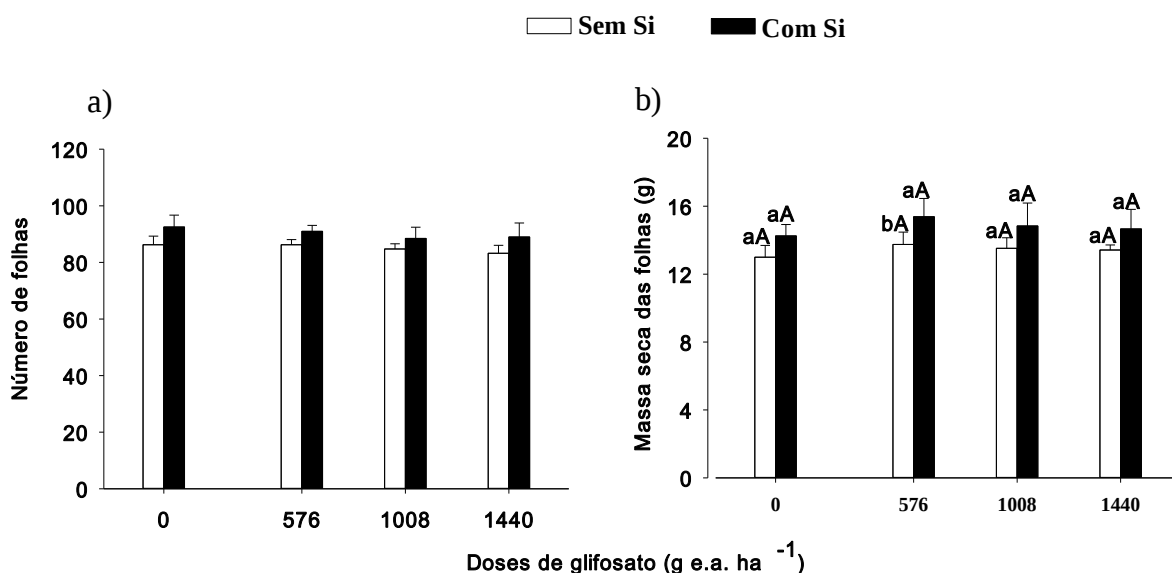


Figura 15: Número de folhas (A) e massa seca das folhas (B) de mudas de laranjeira, variedade Valência, tratadas com glifosato na ausência (Sem Si) e presença de Silício (Com Si). Tratamentos seguidos por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para presença e ausência de Si. Tratamentos acompanhados por letras maiúsculas idênticas não diferem entre si, para doses de glifosato, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. Conclusão

O silício aplicado via fertirrigação e complementado com aplicações foliares atenuou os efeitos fitotóxicos do glifosato em mudas de laranjeira, mostrando seu potencial uso como safener deste herbicida. O uso de silício como safener do glifosato aumentou a resposta antioxidante não enzimática das plantas, avaliada por meio dos compostos fenólicos, carotenoides e da prolina, e diminuiu o nível de estresse oxidativo, indicado pela redução dos níveis de malondialdeído. O elemento aumentou a proteção do aparato fotossintético e melhorou a eficiência quântica do fotossistema II, o que sustenta a hipótese criada para o presente estudo. As informações aqui

obtidas podem auxiliar no manejo de glifosato em citros, entretanto, mais estudos devem ser feitos de forma a elucidar os mecanismos pelos quais o Si reduz os efeitos do glifosato nas plantas.

5. Referências

Alves PLCA (1998) **Comportamento fotossintético de duas espécies de eucalipto sob condições fotoinibitórias**. 176 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Campinas.

Anwaar AS, Ali S, Ali S, Ishaque W, Farid M, Farooq MA, Najeeb U, Abbas F, Sharif M (2015) Silicon (Si) alleviates cotton (Gossypium hirsutum L.) from zinc (Zn) toxicity stress by limiting Zn uptake and oxidative damage. **Environmental Science and Pollution Research** 22:3441–3450.

Barbosa JC, Maldonado Júnior W (2015) AgroEstat - **sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos**. Jaboticabal: FCAV/UNESP. 396p

Bates LS, Waklren RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline water stress studies. **Plant Soil** 39:205–207.

Busotti F, Ferrini F, Pollastrini M, Fini A (2014) The challenge of Mediterranean sclerophyllous vegetation under climate change: From acclimation to adaptation. **Environmental and Experimental Botany** 103:80–98.

Carvalho LB, Alves PLCA, Andrade TCGR (2016) Content and fluorescence of chlorophyll in eucalypt exposed to glyphosate. **Communications in Plant Sciences** 6:7-11.

Carvalho LB, Duke SO, Alves PLCA (2018) Physiological responses of Eucalyptus x urograndis to glyphosate are dependent on the genotype. **Scientia Forestalis** 46:177-187.

Costa YKS, Ribeiro NM, Moura GCP, Oliveira ARO, Bianco S, Cruz RA, Carvalho LB (2021) Effect of glyphosate and P on the growth and nutrition of Coffea arabica cultivars and on weed control. **Scientific Reports** 11:1-10.

Cruz RA, Amaral GS, Oliveira GM, Rufino LR, Azevedo FA, Carvalho LB, Silva MFGF (2020) Glyphosate Resistance in Amaranthus viridis in Brazilian Citrus Orchards. **Agriculture** 10:1-10.

Dionísio-Sese ML, Tobita S (1998) Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. **Plant Science** 135:1–9.

Farooq MA, Ali S, Hameed A, Ishaque W, Mahmood K, Iqbal Z (2013) Alleviation of cadmium toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes; suppressed cadmium uptake and oxidative stress in cotton. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 96: 242–249.

Ferraz RLS, Beltrão NEM, Melo AS, Magalhães IDM, Fernandes PD, Rocha MS (2014) Trocas gasosas e eficiência fotoquímica de cultivares de algodoeiro herbáceo sob aplicação de silício foliar. **Semina: Ciências Agrárias** 35:735-748.

Gill SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry** 48:909-930.

Gomes MP, Juneau P (2016) Oxidative stress in duckweed (*Lemna minor* L.) induced by glyphosate: Is the mitochondrial electron transport chain a target of this herbicide?. **Environmental Pollution** 218:402-409.

Gomes MP, Manac'h SG, 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. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 130: 65–70.

Gong H, Zhu X, Chen K, Wang S, Zhang C (2005) Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. **Plant Science** 69:313-321.

GRATÃO PL, Monteiro CC, Carvalho RF, Tezotto T, Piotto FA, Peres LEP, Azevedo RA (2012) Biochemical dissection of diageotropica and never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. Plant. Physiol. Biochem. **Plant Physiology and Biochemistry** 56:79–96.

Gratão PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA (2005) Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology** 32: 481-494.

Gravena R (2006) **Resposta bioquímicas e fisiológicas de plantas de citrus atingidas pelo glifosato**. 144 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – USP, Piracicaba.

Gravena R, Victoria Filho R, Alves PLCA, Mazzafera P, Gravena AR (2012) Glyphosate has low toxicity to citrus plants growing in the field. **Canadian Journal of Plant Science** 92:119-127.

Gurmani AR, Banco A, Najeeb U, Zahng J, Khan SU, Flowers TJ (2013) Exogenously applied silicate and abscisic acid ameliorates the growth of salinity stressed wheat (*Triticum aestivum* L) seedlings through Na⁺ exclusion. **Australian Journal of Crop Science**, v.7, n.8, p.1123-1130.

Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 125:189–198.

Hossain MA, Hoque MA, Burritt DJ, Fujita M (2014) Proline protects plants against abiotic oxidative stress: Biochemical and molecular mechanisms. In.: Ahmad P (Ed) **Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling**. Nova York: Elsevier p.477–522.

Hurtado AC, Chiconato DA, Prado RM, Souza Jr GS, Viciado DO, Díaz YP, Calzada KP, Gratão PL (2020) Silicon alleviates sodium toxicity in sorghum and sunflower plants by enhancing ionic homeostasis in roots and shoots and increasing dry matter accumulation. **Silicon** 13:475-486.

Javaid T, Farooq MA, Akhtar J, Saqib ZA, Anwar-ul-Haq M (2019) Silicon nutrition improves growth of salt-stressed wheat by modulating flows and partitioning of Na⁺, Cl⁻ and mineral ions. **Plant Physiology and Biochemistry** 141:291–299.

Kim SG, Kim KW, Park EW, Choi D (2002) Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: A possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. **Phytopathology** 92:1095–1103.

Korndörfer, GH, Snyder GH, Ulloa M, Powell G, Datnoff LE (2001). Calibration of soil and plant silicon analysis for rice production. **Journal of Plant Nutrition** 24:1071-1084.

Kubicki JD, Heaney PJ (2003) Molecular orbital modeling of aqueous organosilicon complexes: Implications for silica biomineralization. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **Oxford** 67:4113–4121.

Kumar S, Adiram-Filiba N, Blum S, Sanchez-Lopez JA, Tzfadia O, Omid A, Volpin H, Heifetz Y, Goobes G, Elbaum R (2020). Siliplant1 protein precipitates silica in sorghum silica cells. **Journal of Experimental Botany** 71:6830-6843.

Lacerda CF, Cambraia J, Oliva MA, Ruiz HA, Prisco JT (2003) Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. **Environmental and Experimental Botany** 49:107–120.

Liang X, Zhang L, Natarajan SK, Becker DF (2013) Proline mechanisms of stress survival. **Antioxidants and Redox Signaling** 19:998–1011.

Lichtenthaler H (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymology** 148:350–382.

Maroli AS, Nandula VK, Dayan FE, Duke SO, 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. **Journal Agricultural Food Chemistry** 63:9199-9209.

Matichenkov V, Bocharnikova L, Calvert D (2000) Response of citrus to silicon soil amendments. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society** 114:94-97.

Matichenkov V, Calvert D, Snyder G (1999) Silicon fertilizers for citrus in Florida. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society** 112:5-8.

Nascentes RF, Carbonari CA, Simões OS, Brunelli MC, Velini ED, Duke, SO (2018). Low doses of glyphosate enhance growth, CO₂ assimilation, stomatal conductance and transpiration in sugarcane and eucalyptus. **Pest management science** 74:1197-1205.

Nayyar H, Walia DP (2003) Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid. **Biologia plantarum** 46:275–279.

Oliveira KS, Prado RM, Checchico MV, Gratão PL (2021) Silicon via nutrient solution modulates deficient and sufficient manganese sugar and energy cane antioxidant systems. **Scientific Reports** 11:1-14.

Pei ZF, Ming DF, Liu D, Wan G L, Geng XX, Gong HJ, Zhou WJ (2010). Silicon improves the tolerance to water-deficit stress induced by polyethylene glycol in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **Journal of Plant Growth Regulation** 29:106-115.

Piasecki C, Carvalho IR, Cechin J, Goulart FAP, Maia LC, Agostinetto D, Caverzan A, Stewart Jr CN, Vargas L (2019) Oxidative stress and differential antioxidant enzyme activity in glyphosate-resistant and -sensitive hairy fleabane in response to glyphosate treatment. **Bragantia** 78:379-396.

Ramirez AHM, Futch SH, Jhala AJ, Abit MJM, Megh S (2018) Weed management practices and herbicide resistance in weeds in Florida citrus. **Philippine Journal of Crop Science** 43:1-8.

Raven JA (1983) The transport and function of silicon in plants. **Biological Reviews** 58:179–207.

Santos JCC, Silva DMR, Amorim DJ, Rosa VR, Santos ALF, Velini ED, Carbonari CA, Silva MA (2022) Glyphosate hormesis attenuates water deficit stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) by modulating physiological and biochemical mediators. **Science of the Total Environment** 810:1-11.

Sarah MMS, Prado RM, Teixeira GCM, Souza Júnior JP, Medeiros RLS, Barreto RF (2020). Silicon supplied via roots or leaves relieves potassium deficiency in maize plants. **Silicon** 14:773-782.

Savvas D, Ntatsi G (2015) Biostimulant activity of silicon in horticulture. **Scientia Horticulturae** 196:66-81.

Schrübbbers LC, Valverde BE, Sørensen JC, Cedergreen N (2014). Glyphosate spray drift in *Coffea arabica*—Sensitivity of coffee plants and possible use of shikimic acid as a biomarker for glyphosate exposure. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 115:15-22.

Shopova E, Katerova Z, Brankova L, Dimitrova L, Sergiev I, Todorova D, Talaat NB (2021) Modulation of Physiological Stress Response of *Triticum aestivum* L. to Glyphosate by Brassinosteroid Application. **Life** 11:1-12.

Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with hosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology and Viticulture** 16:144–158.

Soares C, Pereira R, Martins M, Tamagnini P, Serôdio J, Moutinho-Pereira J, Cunha A, Fidalgo F (2020) Glyphosate-dependent effects on photosynthesis of *Solanum lycopersicum* L.—An ecophysiological, ultrastructural and molecular approach. **Journal of Hazardous Materials** 398:1-14.

Souza Jr JP, Prado RM, Morais TCB, Franzão JJ, Sarah MMS, Oliveira KR, Paula RC (2021) Silicon fertigation and salicylic acid foliar spraying mitigate ammonium deficiency and toxicity in *Eucalyptus* spp. clonal seedlings. **Plos One** 16:1-11.

Souza Jr JP, Prado RM, Sarah MMS, Felisberto G (2019) Silicon mitigates boron deficiency and toxicity in cotton cultivated in nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 182:805-814.

U.S. Department of Agriculture [USDA]. Citrus: World Markets and Trade. Available online: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf> (Acessado em 19 de novembro de 2021).

Viti ML, Alves PAT, Mendes KF, Pimpinato RF, Guimarães ACD, Tornisielo VL (2019). Translocation and root exudation of glyphosate by *Urochloa brizantha* and its transport on sugarcane and citrus seedlings. **Planta Daninha** 37:1- 8.

Wutscher HK (1989) Growth and mineral nutrition of young orange trees grown with high levels of silicon. **Hort Science** 24:275-277.

Zargar SM, Mahajan R, Bhat,JA, Nazir M, Deshmukh R (2019) Role of silicon in plant stress tolerance: opportunities to achieve a sustainable cropping system. **3 Biotech** 9:1-16.

Zeng X, Ding X, Pu Y, Jiang H, Du Z, Jiang W (2020) Banana condensed tannins scavenge glyphosate in aqueous solution through non-covalent interactions. **LWT - Food Science and Technology** 131:1-6.