



Universidade Federal de São Carlos  
Centro de Ciências Agrárias  
Programa de Pós-Graduação em Agricultura e  
Ambiente



**DAURI APARECIDO FADIN**

**ASPECTOS DA BIOLOGIA E DO CONTROLE QUÍMICO DE *Spermacoce  
verticillata* L.**

**Araras**

**2017**



Universidade Federal de São Carlos  
Centro de Ciências Agrárias  
Programa de Pós-Graduação em Agricultura e  
Ambiente



**DAURI APARECIDO FADIN**

**ASPECTOS DA BIOLOGIA E DO CONTROLE QUÍMICO DE *Spermacoce  
verticillata* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente da UFSCar-CCA para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente, sob orientação da Profa. Dra. Patrícia Andrea Monquero.

**Araras**

**2017**

Fadin, Dauri Aparecido

Aspectos da biologia e do controle químico de *Spermacoce verticillata* /  
Dauri Aparecido Fadin. -- 2017.  
62 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado)-Universidade Federal de São Carlos, campus  
Araras, Araras

Orientador: Patricia Andrea Monquero

Banca examinadora: Carlos Alberto Mathias Azania, Ricardo Toshio  
Fujiwara

Bibliografia

1. Controle químico. 2. Carbono marcado. 3. Anatomia vegetal. I.  
Orientador. II. Universidade Federal de São Carlos. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Agrárias  
Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente

---

**Folha de Aprovação**

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Dauri Aparecido Fadin, realizada em 18/12/2017:

*Patrícia Andrea Monquero*

Profa. Dra. Patrícia Andrea Monquero  
UFSCar

*Azania*

Prof. Dr. Carlos Alberto Mathias Azania  
IAC

*Ricardo Toshio Fujihara*

Prof. Dr. Ricardo Toshio Fujihara  
UFSCar

Dedico a todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim,  
fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que esteve comigo durante toda a minha jornada, me dando forças e muita determinação para superar todos os obstáculos e dificuldades e alcançar os meus objetivos;

A minha família que tanto amo: minha esposa (Fabiana) e meu filho (João Pedro), por estarem sempre presentes e me apoiarem e incentivarem durante todo este tempo;

A Universidade Federal de São Carlos – Campus Araras, em especial ao Programa de Pós Graduação em Agricultura e Ambiente, pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho;

A Professora Dra. Patricia Andrea Monquero pela confiança depositada em mim durante a elaboração do trabalho, na orientação, amizade e pelas contribuições para o meu conhecimento na área da Ciência das Plantas Daninhas;

Ao Professor Dr. Valdemar Tornisielo, do Departamento de Ecotoxicologia - Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP, por toda a ajuda e ensinamentos durante a condução e análise do estudo de absorção e translocação;

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nivel Superior (CAPES), pela bolsa (parcial) concedida, em nível de mestrado;

Ao Técnico do Laboratório do departamento de ecotoxicologia - Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP : Rodrigo, pela ajuda na elaboração e avaliações do estudo de absorção e translocação;

A Dow Agrosiences por ter fornecido todo o material e estrutura para a realização do trabalho, bem como ter me liberado para a realização do mestrado e projeto;

Aos amigos: Arthur, Rafael, Daumir, Fabricia e Stephanie que me ajudaram na elaboração do experimento e na interpretação dos resultados;

Aos meus amigos e colegas que adquiri no programa de mestrado: Aline, Andressa, Angela, Beatriz, Lucas, Victor e Talarico.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
Revisão de Literatura.....	5
Objetivos.....	8
Referências.....	8
CAPÍTULO 1 – CONTROLE QUÍMICO DE <i>Spermacoce verticillata</i> EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO .....	12
Introdução .....	14
Material e Métodos .....	15
Resultados e Discussão .....	17
Conclusões .....	26
Referências.....	27
CAPÍTULO 2 – ABSORÇÃO FOLIAR E TRANSLOCAÇÃO DE GLYPHOSATE EM <i>Spermacoce verticillata</i> . .....	30
Introdução .....	32
Material e Métodos .....	33
Resultados e Discussão .....	35
Conclusões .....	43
Referências.....	44
CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO FOLIAR DE <i>Spermacoce verticillata</i> EM TRÊS ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO. ....	47
Introdução .....	49
Material e Métodos .....	50
Resultados e Discussão .....	52
Conclusões .....	59
Referências.....	60

**RESUMO:** O controle de plantas daninhas é prática essencial no manejo de culturas agrícolas, entretanto, o uso de herbicidas pode deixar de ser eficaz em algumas situações, que vão desde problemas na tecnologia de aplicação até a seleção de indivíduos tolerantes e biótipos resistentes. No Estado da Bahia, em regiões produtoras de algodão, tem-se verificado falhas no controle de *Spermacoce verticillata* L. (vassourinha de botão) em operações de dessecação. Em virtude disto, esta pesquisa teve como objetivos: 1, determinar opções de controle em diferentes estágios de desenvolvimento da planta daninha, 2, verificar aspectos morfológicos da superfície foliar e 3, observar a absorção e translocação de glyphosate pela planta nos diferentes estádios fenológicos. Em um primeiro experimento foi testado o controle das plantas com aplicação de diferentes herbicidas nos estágios fenológicos de 2-4 folhas verdadeiras, 4-6 folhas verdadeiras e na emissão de botões florais, caracterizando a aplicação em pós-inicial, pós-normal e pós-tardia, respectivamente. Essa aplicação constou de 19 tratamentos arranjados em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições, em esquema fatorial 19x3, onde avaliou-se aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias o controle visual de plantas (%), acrescido, no último período, a avaliação da massa seca da parte aérea das plantas remanescentes. Esses dados foram analisados pelo teste F, que, quando significativo, tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de significância. Em um segundo experimento, analisou-se a absorção foliar e translocação do glyphosate pelo uso da técnica de C<sup>14</sup> em diferentes estágios fenológicos de desenvolvimento da planta. Essa avaliação foi realizada para diferentes períodos após a aplicação (4, 6, 8, 12 e 48 horas) nas diferentes partes da planta (folhas acima e abaixo da aplicação, caules e raízes). Nesses mesmos períodos as plantas foram radiografadas. Em um terceiro experimento, analisou-se a anatomia e a morfologia foliar da espécie através de análises de microscopia eletrônica óptica de luz e de varredura também nos diferentes estágios de desenvolvimento da espécie. Avaliaram-se as seguintes características: espessura total da lâmina foliar, espessura do parênquima paliçádico, espessura do parênquima lacunoso, espessura da cutícula e das células epidérmicas nas faces abaxial e adaxial, altura e largura da nervura central. Foram encontradas diversas opções de controle químico para *S. verticillata*, que vão desde herbicidas de contato como paraquat a sistêmicos como 2,4-D, glyphosate e diversas misturas de produtos com o glyphosate. A sensibilidade da planta foi alterada de acordo com o estágio de desenvolvimento e o produto aplicado. Plantas em estágio mais avançado de desenvolvimento (florescimento) apresentaram absorção mais lenta do herbicida glyphosate e plantas em estágio intermediário absorveram menores quantidades totais do herbicida (4-6 folhas). A translocação também foi facilitada em plantas novas ou velhas, principalmente influenciada pela translocação acima do ponto de aplicação. A translocação às raízes foi maior e mais rápida para plantas em menor estágio vegetativo de desenvolvimento. Com a evolução dos estágios de desenvolvimento de *S. verticillata* as plantas passaram a apresentar reduções da sua espessura foliar, devido a reduções da epiderme abaxial, das medidas dos vasos condutores e de seus parênquimas. Em estágios mais avançados (a partir de 6 folhas) de desenvolvimento as folhas apresentaram em sua superfície adaxial menor quantidade de estômatos e maior quantidade de tricomas. Não foram encontradas ligações entre essas características e a suscetibilidade diferencial da espécie a aplicações de glyphosate. Entretanto, plantas de *S. verticillata* apresentaram diversas mudanças morfoanatômicas que podem alterar a absorção de outros herbicidas nos diferentes estágios fenológicos.

**Palavras-chave:** anatomia vegetal, carbono marcado, controle químico, vassourinha-de-botão

## BIOLOGY AND CHEMICAL CONTROL OF *Spermacoce verticillata* L.

**ABSTRACT:** Weed control is an essential practice in cropmanagement. However, the use of herbicides may not be effective in some situations, ranging from problems in application technology to the selection of tolerant individuals and resistant biotypes. In the State of Bahia, Brazil, in cotton producing areas, *Spermacoce verticillata* (buttonweed) is not being controlled during burndownapplications. The objective of this project was to determine herbicide control options at different stages of development of plants, to verify the morphological aspects of the leaf surface of this weed and to observe the absorption and translocation of glyphosate by the plant. In a first experiment, the control of the plants with different herbicides was tested in the phenological stages of 2-4 true leaves, 4-6 true leaves and in the emission of floral buds, characterizing the application in post-initial, post-normal and post respectively. The experiment consisted of 19 treatments arranged in a completely randomized design, where the visual control of plants (%) was evaluated at 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days. At 42 days, the remaining plants were dried and dry weight was recorded. These data were analyzed by the F test, which when significant, had their means compared by the Tukey test at 5% significance. In a second experiment, the foliar absorption and glyphosate translocation were analyzed by the use of the C<sup>14</sup> technique in different phenological stages of plant development. This evaluation was performed for different periods after application (4, 6, 8, 12 and 48 hours) in the different parts of the plant (leaves above and below the application, stems and roots). In these same periods, the plants were radiographed. In a third experiment, the anatomy and leaf morphology of the species were analyzed through optical and scanning electron microscopy analyzes at the different stages of development of the species. The following characteristics were evaluated: total leaf blade thickness, chlorenchyma thickness, parenchyma thickness, cuticle and epidermal thickness on abaxial and adaxial surfaces, central rib height and width. Several chemical control options for *S. verticillata* have been found, ranging from contact herbicides such as paraquat to systemic, as 2,4-D and glyphosate and several product mixtures with glyphosate. The sensitivity of the plant was altered according to the stage of development and the herbicide applied. Plants with more advanced stages of development (flowering) showed slower absorption of glyphosate herbicide and intermediate plants absorbed smaller total amounts of the herbicide (4-6 leaves). Translocation was also facilitated in new or old plants, mainly influenced by translocation above the point of application. The translocation to the roots was larger and faster for plants in a lower vegetative stage of development. With the evolution of the stages of development of *S. verticillata* the plants began to show reductions of their leaf thickness due to reductions of the abaxial epidermis, the measurements of the conducting vessels and their parenchyma. In more advanced stages (from 6 leaves) of development the leaves presented in their adaxial surface a smaller quantity of stomata and a greater quantity of trichomes. No links were found between these characteristics and the species differential susceptibility to glyphosate applications. However, plants of *S. verticillata* presented several morphoanatomical changes that can alter the absorption and translocation of herbicides in the different phenological stages.

**Keywords:** vegetal anatomy, carbon-14, chemical control, buttonweed

## INTRODUÇÃO

Plantas daninhas são organismos vegetais que crescem espontaneamente em áreas onde não são desejadas. O controle dessas plantas é prática essencial no manejo de culturas agrícolas uma vez que a presença dessas pode acarretar perdas significativas de produtividade. Estima-se que a perda causada por essas plantas seja de 20% no total de alimentos produzidos no mundo. Em 2016, as plantas daninhas causaram prejuízos da ordem de 28 bilhões de dólares nos Estados Unidos. No Brasil o custo médio para o controle de plantas daninhas varia entre 120 a 236 reais por hectare (ADEGAS et al., 2017; SOLTANI et al., 2016; SILVA et al., 2007a; OERKE, 2006).

A prática de controle mais utilizada das plantas daninhas é a química, devido a fatores como custo, praticidade e eficácia. No entanto, o uso isolado de herbicidas com um mesmo mecanismo de ação pode levar a diversos problemas, como a seleção de espécies tolerantes e/ou populações resistentes. Ainda o uso isolado de herbicidas pode causar problemas de ordem ambiental (CROSS et al., 2015; CHAUHAN, 2012).

A espécie *Spermacoce verticillata* L., cujo um dos nomes vulgares é vassorinha de botão, vem nos últimos anos sendo relatada como problema em áreas de produção localizadas no Estado da Bahia por não ser efetivamente controlada pela aplicação de herbicidas como o glyphosate em operações de dessecação. Esta falha de controle passa a prejudicar o desenvolvimento das culturas pela convivência entre as espécies. Essa convivência gera interferência, que no caso de *S. verticillata* pode reduzir a produtividade de culturas em níveis superiores à 40%, como no arroz (CERQUEIRA et al., 2013).

Essa interferência, somada ao escape de plantas ao controle de herbicidas, justifica a necessidade de estudos de controle da espécie. Porém, são poucos os estudos relacionados encontrados na literatura sobre o controle de *S. verticillata* e os fatores que afetam a eficácia desse. Assim, neste trabalho buscou-se avaliar a tolerância de *S. verticillata* ao herbicida glyphosate em diferentes estádios fenológicos da planta e qualificar eventuais falhas de controle pelas diferenças de absorção e translocação do herbicida. Por fim, testou-se o controle alternativo da espécie pelo uso de diferentes herbicidas aplicados isolados ou em misturas.

## REVISÃO DA LITERATURA

O gênero *Spermacoce* apresenta mais de 150 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do continente americano. Dentre elas, a vassourinha-de-botão (*Spermacoce verticillata* (L.)) é considerada uma planta rústica, pois se desenvolve mesmo em solos ácidos e pobres (KISSMANN; GROTH, 2000). É uma planta de fisiologia do tipo C4 que forma rapidamente seu sistema radicular, passando a interferir em culturas agrícolas de maneira significativa (CERQUEIRA et al., 2013).

É nativa do Brasil, onde tem ampla distribuição, infestando áreas de pastagem, áreas desocupadas e culturas perenes. Recentemente, vem sendo relatada como problema em Luiz Eduardo Magalhães, BA, por apresentar escape do controle com herbicidas em operações de dessecação (MCT, 2002; TONI; MARIATH, 2004).

Com relação ao controle químico, segundo Caldeira et al. (2014), a melhor opção de controle se dá pelo uso de 2,4-D + picloram. Outra opção alternativa ao herbicida glyphosate encontrada foi a aplicação de paraquat e paraquat + diuron em plantas com pleno estágio vegetativo (FONTES, 2007).

Diversos são os fatores relacionados ao escape de plantas daninhas ao controle de herbicidas, que pode estar ligado a fatores humanos, ambientais ou do próprio vegetal. No controle químico, a penetração de herbicidas ocorre pelos tecidos aéreos (folhas, caules, flores e frutos), e por órgãos subterrâneos (raízes, rizomas e tubérculos) sendo a folha a principal via de entrada do herbicida na planta em aplicações em pós-emergência (SILVA et al., 2007b).

A correta penetração e absorção é essencial para que o herbicida atinja o sítio de ação em concentração adequada (FERREIRA et al., 2006). Sendo assim, a eficácia de controle dos herbicidas aplicados em pós-emergência, relaciona-se diretamente com a morfologia da folha (PROCÓPIO et al., 2003).

A área foliar e a orientação destas com relação à aplicação influenciam o total interceptado do herbicida. Características como presença de tricomas e de cera epicuticular influenciam a absorção do herbicida (HESS; FALK, 1990; BAKER, 1982). O tipo de superfície de cera influencia na capacidade de molhamento de solução. Superfícies lisas, ausentes de ceras são de fácil molhamento enquanto aquelas que apresentam cristais de ceras são mais difíceis de molhar (HESS, 1997). Plantas de *Abutilon theophrasti* Medik. submetidas a condições crescentes de luminosidade diminuíram o conteúdo total de cera epicuticular em suas folhas, elevando a absorção de

herbicidas tais como bentazon (HATTERMAN-VALENTI et al., 2011). O ambiente também modificou a absorção total de fluazifop por plantas de *Setaria faberi*. Plantas submetidas a condições de baixa luminosidade e déficit hídrico apresentaram menor velocidade do herbicida, principalmente devido a modificações na composição da cera epicuticular (HATTERMAN-VALENTI et al., 2006).

O conhecimento dessas estruturas pode elucidar possíveis interações entre herbicidas e superfícies foliares das plantas daninhas (PASSOS; MENDONÇA, 2006). Diversos estudos comprovam a importância dessa caracterização foliar na tomada de decisões de manejo (FERREIRA et al., 2003; MONQUERO et al., 2004).

Ainda ligado ao vegetal, a sensibilidade a um herbicida depende do estágio de desenvolvimento da planta, uma vez que ela tem diferentes prioridades para a condução dos seus fotoassimilados. Plantas em estágio vegetativo são mais facilmente controladas em comparação aquelas já em estágio reprodutivo. Uma destas causas está relacionada ao menor espessamento de células epidérmicas nos primeiros estágios de desenvolvimento da planta (PASSOS; MENDONÇA, 2006).

Segundo estudos de anatomia de *Urochloa decumbens* (capim-braquiária) e *Urochloa plantaginea* (capim-marmelada) observou-se que plantas adultas apresentavam maiores porcentagens de esclerênquima e parênquima, dificultando a absorção e o transporte de herbicidas na planta (MARQUES et al., 2012). No caso da *S. verticillata*, desconhecem-se as causas destas falhas de controle. Além disto, não existe na literatura trabalhos relacionados a biologia básica da espécie, como sua caracterização foliar, o que pode fomentar manejos específicos (PASSOS; MENDONÇA, 2006).

No azevém (*Lolium multiflorum*), biótipos resistentes apresentaram maiores densidades estomáticas, maiores quantidades de espaços intercelulares no mesofilo e feixes vasculares com menor quantidade de floema em relação ao xilema. Plantas de capim-massambará (*Sorghum halepense*) resistentes ao glyphosate apresentaram menor absorção de glyphosate em ambas as superfícies foliares (GALVANI et al., 2012; VILA-AIUB et al., 2011).

O herbicida glyphosate é um herbicida foliar aplicado na pós-emergência de plantas daninhas e culturas e é um herbicida não seletivo. Sua ação se dá pela inibição da atividade enzimática da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) (SHANER; BRIDGES, 2003). Esta inibição leva a não produção de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) que são essenciais para a produção da parede celular, defesa da planta a patógenos e insetos e produção de hormônios que são

produzidos a partir do corismato (DUKE, 1990). O glyphosate pode ainda afetar diretamente a fotossíntese da planta, reduzindo a atividade da ribulosebifosfatocarboxilase/oxigenase (RUBISCO), diminuindo a síntese de clorofila e interferindo na organização do aparelho fotossintético. Como resultado, tem-se um declínio no total de proteínas, cofatores enzimáticos, metabólitos secundários e fotossíntese, resultando na morte da planta (DUKE; POWLES, 2008). Com a inibição da EPSPS, acumula-se o chiquimato no vegetal, conforme esquema abaixo.

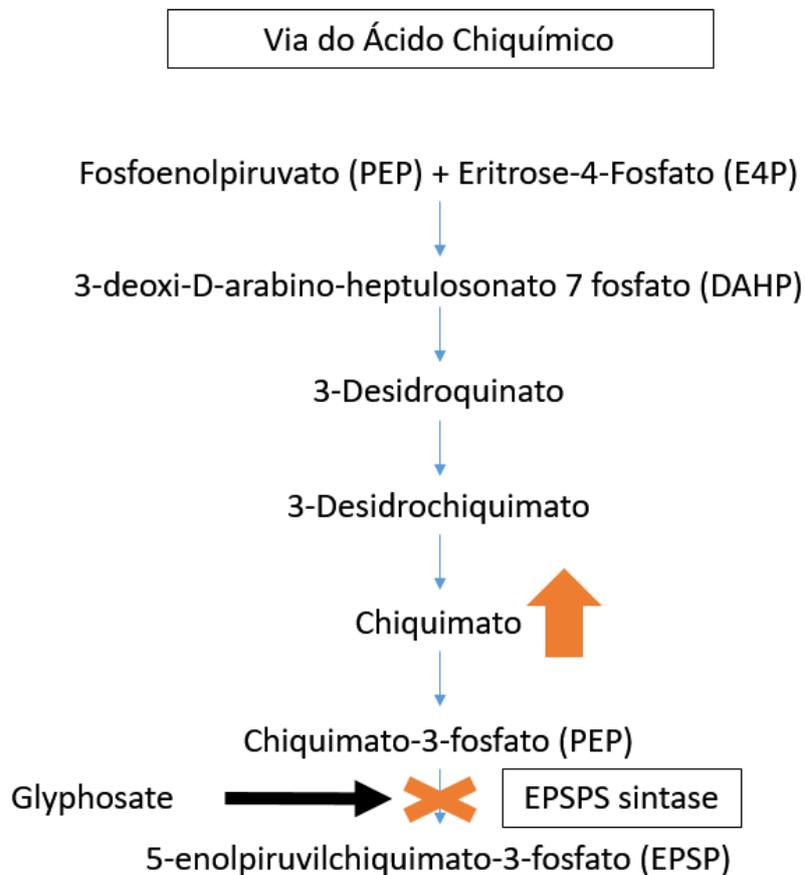


Figura 1. Modo de ação do herbicida glyphosate. O herbicida é responsável pela inibição da enzima EPSPS e, com isso, rompe-se a via do ácido chiquímico (chiquimato), impedindo a produção de aminoácidos essenciais à planta.

O glyphosate é o herbicida mais utilizado no mundo (HARTZLER, 2008). Seu uso se elevou nos últimos anos devido à crescente adoção de culturas transgênicas tolerantes ao herbicida e a facilidade do seu uso, pois este apresenta baixa toxicidade, baixo custo, amplo espectro de controle e rápida adsorção no solo (VELINI et al., 2009).

O glyphosate é absorvido principalmente pela parte aérea das plantas sendo a camada cuticular sobre a superfície das folhas considerada a maior barreira a absorção do herbicida. O processo de transporte do glyphosate ocorre via difusão através da cutícula e o gradiente de concentração entre a região de deposição do produto e o interior da planta. Nas células a absorção de glyphosate é mediada via proteínas específicas transportadoras de fosfato. Na planta o glyphosate é translocado via floema onde é altamente móvel e via xilema (Kruse et al. 2000). Plantas que recebem o herbicida em estágio mais desenvolvidos, podem dificultar a absorção e atranslocação do herbicida.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o controle de plantas de *Spermacoce verticillata* em diferentes estágios fenológicos (2-4 folhas, 4-6 folhas e plantas florescidas) por meio da aplicação de diferentes herbicidas (isolados e em mistura), analisar a absorção e translocação do glyphosate e observar as diferenças morfoanatômicas foliares dessa espécie nesses mesmos estágios fenológicos.

## REFERÊNCIAS

ADEGAS, F. S. et al. Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil. **Circular Técnica**, EMBRAPA, v.132, 2017.

BAKER, E. A. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In: CUTTLE, D.F.; ALVIN, K.L.; PRICE, C.E. (ed.). **The plant cuticle**. Academic Press, London, 1982.

CALDEIRA, D. S. A. et al. Controle de plantas daninhas em pastagem usando doses e misturas de herbicidas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, p. 1.052-1.060, 2014.

CERQUEIRA, F. B. et al. Competição inicial entre cultivares de arroz de terras altas tolerantes à seca e plantas daninhas sob condições de estresse hídrico. **Planta Daninha**, v. 31, p. 291-302, 2013.

CHAUHAN, B. D. Weed ecology and management strategies for dry-seeded rice in Asia. **Weed Technology**, v. 26, p. 1-13, 2012.

CROSS, R. B. et al. A Pro106 to Ala substitution is associated with resistance to glyphosate in annual bluegrass (*Poa annua*). **Weed Science**, v. 63, p. 613-622, 2015.

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

DUKE, S. O. Overview of herbicides mechanism of action. **Environmental Health Perspectives**, v. 87, p. 263-271, 1990.

FERREIRA, E. A. et al. Translocação do glyphosate em biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta Daninha**, v. 24, p. 365-370, 2006.

FERREIRA, E.A. et al. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. IV *Amaranthus deflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Alternanthera tenella* e *Euphorbia heterophylla*. **Planta Daninha**, v. 21, p. 263-271, 2003.

FONTES, J. R. A. **Manejo de plantas daninhas em seringais de cultivo na Amazônia**. Manaus: Embrapa-CPAA, 2007. 6p. (Embrapa- CPAA. Circular Técnica, 6).

GALVANI, J. et al. Leaf anatomy of *Lolium multiflorum* sensitive and resistant to glyphosate. **Planta Daninha**, v. 30, p. 407-413, 2012.

HARTZLER, B. Wich glyphosate products is best? Disponível em: <http://www.weeds.iastate.edu/glyphosateformulations>. Acesso em: 11 jan 2011.

HATTERMAN-VALENTI, H. et al. Environmental Effects on Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) Epicuticular Wax Deposition and Herbicide Absorption. **Weed Science**, v. 59, p. 14-21, 2011.

HATTERMAN-VALENTI, H. et al. Effect of environment on giant foxtail (*Setaria faberi*) leaf wax and fluazifop-P absorption. **Weed Science**, v. 54, p. 607-614, 2006.

HESS, F. D. Absorption. In: Weller, S.C. (Coord.). **Herbicide action course**. West Lafayette: Purdue University, cap.2, p. 15-37, 1997.

HESS F. D.; FALK R. H. Herbicide deposition on leaf surfaces. **Weed Science**, v. 38, p. 280-288, 1990.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**: Tomo III. 2.ed. São Paulo: Basf. 2000. 722p.

KRUSE, N. D. et al. Herbicidas inibidores da EPSPS: Revisão de literature. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 1, p. 139-146, 2000.

MARQUES, R. P. et al. Characteristics of the leaf anatomy of Surinam grass and Alexandergrass related to sensitivity to herbicides. **Planta Daninha**, v. 30, p. 809-816, 2012.

Ministério da Ciência e Tecnologia, MCT, 2002. **Recuperação de áreas de pastagens abandonadas e degradadas através de sistemas agroflorestais na Amazônia Ocidental**. Disponível em: [https://qprocura.com.br/dp/15637/recuperacao-de-areas-de-pastagens-abandonadas-e-degradadas-atraves-de-sistemas-agroflorestais-na-Amazonia Ocidental](https://qprocura.com.br/dp/15637/recuperacao-de-areas-de-pastagens-abandonadas-e-degradadas-atraves-de-sistemas-agroflorestais-na-Amazonia-Ocidental). Acesso em: 20 ago. 2009.

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

OERKE, E. C. Crop losses to pests. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 144, p. 31-41, 2006.

PASSOS, M. A. B.; MENDONÇA, M. S. Epiderme dos segmentos foliares de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) em três fases de desenvolvimento. **Acta Amazonica**, v. 36, p. 431-436, 2006.

PROCÓPIO, S. O. et al. Leaf anatomical studies in weed species widely common in Brazil. III - *Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* and *Ipomoea cairica*. **Planta Daninha**, v. 21, p. 1-9, 2003.

SATICHIWI, N. M. et al. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Science**, v. 48, p. 675-679, 2000.

SHANER, D.; BRIDGES, D. **Inhibitors of aromatic amino acid biosynthesis (glyphosate)**. In: Herbicide action course. West Lafayette: Purdue University, 2003. p. 514-529.

SILVA, A. A. et al. Biologia de plantas daninhas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007a. 318p.

SILVA, A. A. et al. Herbicidas: absorção, translocação, metabolismo, formulação e misturas. In: SILVA, A. A. (Orgs.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: UFV. 2007b. v. 1, p. 149-187.

SOLTANI, N. et al. Potential corn yield losses from weeds in North America. **Weed Technology**, v. 30, p. 979-984, 2016.

TONI, K. L. G.; MARIATH, J. E. A. Desenvolvimento do rudimento seminal em *Borreria verticillata* (L). G. Mey. (Rubiaceae – Rubioideae – Spermacocaea). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, p. 185-192, 2004.

VELINI, E. D. et al. **Modo de ação do glyphosate**. In Glyphosate, E. D. VELINI. et al. Fundação de Estudos e Pesquisas Florestais. Botucatu-SP, Brasil. p. 113-133, 2009

VILA-AIUB, M. M. et al. Glyphosate resistance in perennial *Sorghum halepense*, endowed by reduced glyphosate translocation and leaf uptake. **Pest Management Science**, v. 68, p. 430-436, 2011.

## **CAPÍTULO 1 – Controle químico de *Spermacoce verticillata* em diferentes estágios de desenvolvimento**

**RESUMO.** Na maioria das vezes, o controle de plantas daninhas é realizado pela aplicação de herbicidas. A operação de dessecação tem por objetivo realizar o plantio da cultura sem a presença de plantas daninhas, portanto, “no limpo”. Recentemente, há relatos do escape da planta daninha *Spermacoce verticillata* (vassourinha-de-botão) aos herbicidas utilizados em campo. Sendo assim, esse trabalho teve por objetivo avaliar o controle químico proporcionado pela aplicação de diferentes herbicidas isolados ou em mistura na dessecação desta planta daninha em diferentes estágios fenológicos. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizados, com quatro repetições arranjado em esquema fatorial 19x3, onde 19 foram os tratamentos e três os estágios fenológicos. Os herbicidas utilizados foram glyphosate (1.440 e 2.400 g ea ha<sup>-1</sup>), paraquat (400 g ea ha<sup>-1</sup>), 2,4-D (670 e 1.000 g ea ha<sup>-1</sup>), chlorimuron-ethyl (20 g ea ha<sup>-1</sup>), carfentrazone-ethyl 920 g ea ha<sup>-1</sup>), flumioxazin (50 g ea ha<sup>-1</sup>), s-metolachlor (960 g ea ha<sup>-1</sup>), cloransulam-methyl (40 g ea ha<sup>-1</sup>), saflufenacil (28 g ea ha<sup>-1</sup>) e a mistura de glyphosate com os herbicidas 2,4-D (1.440+670 g ea ha<sup>-1</sup>), chlorimuron-ethyl (1.440+20 g ea ha<sup>-1</sup>), carfentrazone-ethyl (1.440+20 g ea ha<sup>-1</sup>), flumioxazin (1.440+50 g ea ha<sup>-1</sup>), s-metolachlor (1.440+960 g ea ha<sup>-1</sup>), cloransulam-methyl (1.440+40 g ea ha<sup>-1</sup>) e saflufenacil (1.440+28 g ea ha<sup>-1</sup>) mais uma testemunha sem aplicação e as aplicações ocorreram em três estágios fenológicos distintos: 2-4 folhas, 4-6 folhas e florescimento. A porcentagem de controle visual foi observada aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA), sendo que nessa última data, foi também aferida a massa seca da parte aérea das plantas tratadas. Os dados tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de significância pelo programa estatístico Agroestat. Foram eficazes os herbicidas paraquat, 2,4-D, glyphosate, flumioxazin, cloransulam-methyl e saflufenacil no controle da vassourinha-de-botão, bem como a mistura de glyphosate com 2,4-D, saflufenacil e flumioxazin em todos os estágios avaliados. Os herbicidas chlorimuron-ethyl, carfentrazone-ethyl e s-metolachlor não apresentaram eficácia de controle em nenhuma das aplicações. Estágios mais avançados de desenvolvimento apresentam maior tolerância ao chlorimuron-ethyl e semelhante tolerância para a maioria dos herbicidas utilizados, como glyphosate, paraquat e 2,4-D.

**Palavras-chave:** 2,4-D, dessecação, estágio de desenvolvimento, glyphosate, paraquat.

## CHAPTER 1 – Chemical control of *Spermacoce verticillata* in different stages of plant development

**ABSTRACT.** Most of the time, the control of weeds is carried out by the application of herbicides. One of them, the burndown operation, aims to carry out planting of the crop without the presence of weeds. Recently, there have been reports of the escape of *Spermacoce verticillata* (buttonweed) weed to herbicides commonly used in the field. The objective of this study was to evaluate the chemical control provided by the application of different herbicides isolated or mixed in the desiccation of this weed in different phenological stages. A completely randomized design with four replications was used arranged in a factorial 19x3 scheme. The herbicides used were glyphosate (1,440 e 2,400 g ea ha<sup>-1</sup>), paraquat (400 g ea ha<sup>-1</sup>), 2,4-D (670 e 1,000 g ea ha<sup>-1</sup>), chlorimuron-ethyl (20 g ea ha<sup>-1</sup>), carfentrazone-ethyl (920 g ea ha<sup>-1</sup>), flumioxazin (50 g ea ha<sup>-1</sup>), s-metolachlor (960 g ea ha<sup>-1</sup>), cloransulam-methyl (40 g ea ha<sup>-1</sup>), saflufenacil (28 g ea ha<sup>-1</sup>) and the mixtures of glyphosate with 2,4-D (1,440+670 g ea ha<sup>-1</sup>), chlorimuron-ethyl (1,440+20 g ea ha<sup>-1</sup>), carfentrazone-ethyl (1,440+20 g ea ha<sup>-1</sup>), flumioxazin (1,440+50 g ea ha<sup>-1</sup>), s-metolachlor (1,440+960 g ea ha<sup>-1</sup>), cloransulam-methyl (1,440+40 g ea ha<sup>-1</sup>) and saflufenacil (1,440+28 g ea ha<sup>-1</sup>) plus a check without application. The applications occurred in three distinct phenological stages: 2-4 leaves, 4-6 leaves and flowering. The percentage of visual control was observed at 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days after application (DAA). On this last date, the dry mass of the aerial part of the treated plants was also measured. The data had their means compared by the Tukey test at 5% of significance by the Agroestat statistical program. The herbicides paraquat, 2,4-D, glyphosate, flumioxazin, cloransulam-methyl and saflufenacil were effective in the control of the buttonweed, as well as the mixture of glyphosate with 2,4-D, saflufenacil and flumioxazin in all stages evaluated. The herbicides chlorimuron-ethyl, carfentrazone-ethyl and s-metolachlor had no efficacy in any of the applications. More advanced stages of development plants present greater tolerance to chlorimuron-ethyl and similar tolerance for most of the herbicides used, such as glyphosate, paraquat and 2,4-D.

**Keywords:** 2,4-D, burndown, stage of development, glyphosate, paraquat.

## INTRODUÇÃO

A presença de plantas daninhas reduz o potencial produtivo de culturas (Oerke, 2006). Entre as espécies que apresentam esse potencial de causar prejuízos, encontra-se *Spermacoce verticillata* (vassourinha-de-botão), planta nativa da América Tropical que pode ocorrer em diversas regiões do mundo, tais como Ásia, América do Norte, Oceania e América do Sul (CHIQUIERI et al., 2014).

É uma espécie de ciclo de vida perene, com reprodução exclusiva por sementes, porte herbáceo, caule ramificado e raiz pivotante que pode alcançar grandes profundidades do solo. É considerada uma espécie rústica, pois apresenta crescimento satisfatório em ampla gama de ambientes, tais como beiras de estradas, pastagens e cultivos agrícolas, estando adaptada a diferentes tipos de solos (alcalinos, ácidos e pobres em nutrientes) e ambientes (PIER, 2016; KISSMANN; GROTH, 2000).

Plantas dessa espécie já foram relatadas na literatura como causadoras de prejuízos em culturas tais como feijão, cana-de-açúcar, mandioca, pastagens e milho (DIAS-FILHO, 2015; MARQUES et al., 2011; HOLM, 1997; JOHNSON, 1997; FOURNET; HAMMERTON, 1991). Esses prejuízos decorrem devido a competição entre plantas por fatores como água, nutrientes, espaço e luz (ANDRADE et al., 2012).

Assim, essas plantas daninhas precisam ser controladas, o que é realizado na maioria das vezes pela aplicação de herbicidas, isolados ou em mistura. A associação de produtos apresenta vantagens, tais como a redução de doses, aumento da eficácia de controle e prevenção da seleção de populações resistentes de plantas daninhas à determinado herbicida, mesmo não sendo uma prática regulamentada no Brasil (GAZZIEIRO, 2015; LAGATOR et al., 2013).

No Brasil, poucos são os trabalhos que estudam o controle da vassourinha-de-botão, principalmente se levado em conta o estágio de aplicação. Segundo relatos esse controle pode ser obtido pelo uso de 2,4-D + picloram ou paraquat/paraquat + diuron para plantas em estágio vegetativo pleno com plantas adultas pré-florescimento (CALDEIRA et al., 2014; FONTES, 2007). Aliado a isso, apenas 4 herbicidas são registrados para o controle da espécie, sendo eles glufosinato de amônio, imazapir, picloram e diuron + hexazinona, o que restringe a possibilidade de controle da espécie em diferentes culturas (MAPA, 2017; RODRIGUES, 2011).

## OBJETIVOS

Este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito de diferentes herbicidas aplicados isolados ou em mistura no controle de plantas de *S. verticillata* em diferentes estágios fenológicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação sob condições semi-controladas na Estação Experimental da Dow Agrosiences, em Mogi Mirim – SP (686 m de altitude; latitude de 22°27'02.26"S e longitude de 47°04'10.47"W). Sementes de *Spermacoce verticillata* foram coletadas em regiões produtoras em Luis Eduardo Magalhães, BA, onde existiam relatos da falha de controle da espécie em operações de dessecação com uso de glyphosate e enviadas para instalação dos experimentos. A espécie foi identificada por chaves dicotômicas na universidade Estadual Paulista, UNESP, campus de Jaboticabal, pela pesquisadora Maria do Carmo Pavani (Comunicação Pessoal).

Inicialmente, 25 sementes de vassourinha-de-botão foram colocadas para germinar em caixas plásticas do tipo gerbox, contendo duas folhas de papel, dentro de câmara de germinação com fotoperíodo 12h luz e 12h escuro à 26°C. As plântulas na fase inicial (1° par de folhas verdadeiras) foram transplantadas para vasos com capacidade volumétrica de 3L, contendo mistura de substrato comercial Tropstrato® (casca de pinus, turfa, vermiculita expandida, enriquecido com macro e micronutriente) + solo na proporção 1:1

No primeiro estágio, as aplicações de herbicidas foram realizadas quando as plantas apresentavam de 2-4 folhas verdadeiras com 7 a 10 cm de altura (caracterizando uma aplicação em pós-emergência inicial). No segundo quando as plantas apresentavam 4-6 folhas verdadeiras e até 20 cm de altura (pós-normal) e no terceiro quando as plantas se encontravam em pleno florescimento com mais de 30 cm e muito ramificada (pós-tardia). Foram aplicados 18 tratamentos de herbicidas mais uma testemunha, totalizando 19 tratamentos com quatro repetições cada (Tabela 1).

Para aplicação foi utilizado pulverizador costal mantido a pressão constante utilizando-se CO<sub>2</sub> (3 kPa) munido com barra de pulverização de um metro e dois bicos espaçados em 0,5 m, sendo as pontas do tipo leque jato plano, modelo TeeJet AIXR110015, reguladas a distribuir volume de calda de 200 L ha<sup>-1</sup>. As condições ambientais no momento das aplicações encontram-se na tabela 2.

**Tabela 1.** Tratamentos químicos utilizados para o controle de *Spermacoce verticillata*.

Nome		Dose ml ou g ha <sup>-1</sup>
Comum	Comercial	i.a. <sup>1</sup>
Glyphosate	Glizmax Prime	1.440
Glyphosate	Glizmax Prime	2.400
Paraquat	Gramoxone	400
2,4-D	DMA 806	670
2,4-D	DMA 806	1.000
Chlorimuron-ethyl	Classic	20
Carfentrazone-ethyl	Aurora 400 CE	20
Flumioxazin	Flumioxazin	50
S-metolachlor	Dual Gold	960
Cloransulam-methyl	Pacto	40
Saflufenacil <sup>2</sup>	Heat	28
Glyphosate + 2,4-D	Glizmax Prime + DMA 806	1.440 + 670
Glyphosate + Chlorimuron-ethyl	Glizmax Prime + Classic	1.440 + 20
Glyphosate + Carfentrazone-ethyl	Glizmax Prime + Aurora	1.440 + 20
Glyphosate + Flumioxazin	Glizmax Prime + Flumioxazin	1.440 + 50
Glyphosate + S-metolachlor	Glizmax Prime + Dual Gold	1.440 + 960
Glyphosate + Cloransulam-methyl	Glizmax Prime + Pacto	1.440 + 40
Glyphosate + Saflufenacil <sup>2</sup>	Glizmax Prime + Heat	1.440 + 28

<sup>1</sup>ingrediente ativo, <sup>2</sup>adição Dash a 0,5% v/v.

**Tabela 2.** Condições ambientais verificados durante a aplicação dos tratamentos.

Aplicação	Data	Horário	Vento (km/h)	U.R.	Temperatura
				(%)	Média do Ar
					(°C)
1	26/Set/2016	16:22	0,00	43,7	28,8
2	10/Out/2016	13:30	0,00	66,1	24,9
3	21/Out/2016	08:46	0,00	88,7	24,0

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial 19x3 onde 19 foram os tratamentos e 3 os estágios de aplicação. Foram feitas avaliações de eficácia de controle proporcionada pelos herbicidas através de escala visual de injúria das plantas, que varia de 0 a 100%, sendo 0% a ausência de sintomas visíveis e 100% a completa morte da planta (SBCPD, 1995). Estas foram realizadas aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA). Aos 42

DAA, as plantas foram cortadas no caule, rente ao solo e tiveram sua biomassa submetida a secagem em estufa de circulação forçada de ar, por 60°C em 72 horas para posterior pesagem e aferimento da massa seca de cada indivíduo. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e suas médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo programa estatístico Agroestat.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos sete dias após a aplicação, apenas o herbicida paraquat foi eficaz no controle de *Spermacoce verticillata* (Tabela 3). No estágio de 4-6 folhas o herbicida saflufenacil foi tão eficaz como o paraquat quando aplicado isolado ou em mistura com o glyphosate. Nas aplicações com plantas em florescimento o saflufenacil perdeu sua eficácia.

**Tabela 3.** Controle visual (%) de *Spermacoce verticillata* aos 7 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos herbicidas quando aplicados em plantas em diferentes estágios vegetativos.

Tratamentos	Dose ml ou g ha <sup>-1</sup> i.a. <sup>1</sup>	Estágio		
		2-4 Folhas	4-6 Folhas	Florescimento
Glyphosate	1.440	10,0 Ah	10,0 Aj	10,0 Ag
Glyphosate	2.400	37,5 Acd	10,0 Bj	10,0 Bg
Paraquat	400	96,5 Aa	77,5 Babc	95,0 Aa
2,4-D	670	46,3 Ac	43,8 Ag	40,0 Ade
2,4-D	1.000	58,8 Ab	50,0 Bfg	45,0 Bcd
Chlorimuron-ethyl	20	23,8 Befg	41,3 Agh	20,0 Bfg
Carfentrazone-ethyl	20	46,3 Ac	63,8 Ade	27,5 Cf
Flumioxazin	50	65,0 ABb	67,5 Acd	60,0 Bb
S-metolachlor	960	32,5 Adef	32,5 Ahi	26,3 Af
Cloransulam-methyl	40	13,8 Cgh	31,3 Ahi	21,3 Bf
Saflufenacil	28	46,3 Bc	78,8 Aab	47,5 Bcd
Glyphosate + 2,4-D	1.440 + 670	22,5 Bfg	26,3 Bi	51,3 Abc
Glyphosate + Chlorimuron-ethyl	1.440 + 20	10,0 Bh	13,8 ABj	20,0 Afg
Glyphosate + Carfentrazone-ethyl	1.440 + 20	33,8 Bde	70,0 Abcd	30,0 Bef
Glyphosate + Flumioxazin	1.440 + 50	27,5 Bdef	55,0 Aef	53,8 Abc
Glyphosate + S-metolachlor	1.440 + 960	6,3 Bh	6,3 Bj	30,0 Aef
Glyphosate + Cloransulam-methyl	1.440 + 40	5,5 Ch	12,5 Bj	20,0 Afg
Glyphosate + Saflufenacil	1.440 + 28	47,5 Bc	84,3 Aa	47,5 Bcd

Médias seguidas pela mesma letra na coluna/linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de probabilidade de erro de 5%. Letras minúsculas comparam os herbicidas dentro dos estágios vegetativos (leitura vertical) e letras maiúsculas os estágios vegetativos dentro dos herbicidas (leitura horizontal). Coeficiente de variação: 10,89.

Aos 14 DAA, o herbicida paraquat manteve sua eficácia de controle quando aplicado em ambos os estágios vegetativos de *S. verticillata*. Passaram também a ser eficazes independente do estágio de aplicação os herbicidas flumioxazin isolado ou em mistura com o herbicida glyphosate (Tabela 4). No estágio de 4-6 folhas também foram eficazes os herbicidas chloransulan-methyl e saflufenacil e no florescimento os herbicidas saflufenacil. Os restantes dos herbicidas até esta data de avaliação mostraram-se ineficazes no controle de *S. verticillata*.

**Tabela 4.** Controle visual (%) de *Spermacoce verticillata* aos 14 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos herbicidas quando aplicados em plantas em diferentes estágios vegetativos.

Tratamentos	Dose ml ou g ha <sup>-1</sup> i.a. <sup>1</sup>	Estágio					
		2-4 Folhas		4-6 Folhas	Florescimento		
Glyphosate	1.440	61,3	Abc	50,0	gBhi	48,8	Bfgh
Glyphosate	2.400	62,5	Bbc	48,8	Chi	73,8	Abcd
Paraquat	400	97,0	Aa	83,8	Bbcd	98,3	Aa
2,4-D	670	50,0	Bcd	61,3	Afgh	61,3	Adef
2,4-D	1.000	50,0	Bcd	65,0	Aefg	65,0	Ade
Chlorimuron-ethyl	20	55,0	Acd	56,3	Afghi	43,8	Bgh
Carfentrazone-ethyl	20	33,8	Be	63,8	Aefgh	41,3	Bh
Flumioxazin	50	88,5	Aa	96,0	Aab	97,0	Aa
S-metolachlor	960	11,3	Bf	41,3	Ai	47,5	Afgh
Cloransulam-methyl	40	33,8	Ce	92,0	Aabc	67,5	Bcde
Saflufenacil	28	43,8	Cde	97,8	Aab	84,5	Bab
Glyphosate + 2,4-D	1.440 + 670	52,5	Ccd	63,8	Befgh	81,3	Abc
Glyphosate + Chlorimuron-ethyl	1.440 + 20	48,8	Bcde	77,3	Acde	58,8	Bdefg
Glyphosate + Carfentrazone-ethyl	1.440 + 20	55,0	Bcd	71,3	Adef	55,0	Befgh
Glyphosate + Flumioxazin	1.440 + 50	97,0	Aa	100,0	Aa	99,5	Aa
Glyphosate + S-metolachlor	1.440 + 960	72,5	Ab	51,3	Bghi	47,5	Bfgh
Glyphosate + Cloransulam-methyl	1.440 + 40	50,0	Bcd	69,8	Adef	67,5	Acde
Glyphosate + Saflufenacil	1.440 + 28	60,0	Bbc	98,3	Aab	67,5	Bcde

Médias seguidas pela mesma letra na coluna/linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de probabilidade de erro de 5%. Letras minúsculas comparam os herbicidas dentro dos estágios vegetativos (leitura vertical) e letras maiúsculas os estágios vegetativos dentro dos herbicidas (leitura horizontal). Coeficiente de variação: 9,63.

Aos 21 DAA, ou seja, três semanas após a aplicação, foram eficazes no controle de *S. verticillata*, independente do estágio de aplicação, os herbicidas paraquat, flumioxazin e as misturas entre glyphosate e flumioxazin ou cloransulam-methyl (Tabela 5).

Nos estágios iniciais de desenvolvimento (2-4 folhas), foram efetivos o herbicida glyphosate em suas duas doses, o herbicida cloransulam-methyl, e as misturas entre glyphosate e 2,4-D, chlorimuron-ethyl, s-metolachlor e cloransulam-methyl. Em estágios mais avançado (4-6 folhas), foram eficazes também os herbicidas cloransulam-methyl, saflufenacil, e a mistura entre glyphosate com estes dois herbicidas. Nota-se que os herbicidas glyphosate, a mistura entre glyphosate e 2,4-D, glyphosate e chlorimuron-ethyl e glyphosate e s-metolachlor perderam sua eficácia em aplicações mais tardias. Na aplicação com plantas em pleno florescimento, foram eficazes também os herbicidas saflufenacil e a mistura entre glyphosate e 2,4-D (Tabela 5).

**Tabela 5.** Controle visual (%) de *Spermacoce verticillata* aos 21 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos herbicidas quando aplicados em plantas em diferentes estágios vegetativos.

Tratamentos	Dose ml ou g ha <sup>-1</sup> i.a. <sup>1</sup>	Estágio		
		2-4 Folhas	4-6 Folhas	Florescimento
Glyphosate	1.440	80,0 Aabc	56,3 Bd	71,3 Acd
Glyphosate	2.400	89,0 Aab	56,3 Bd	70,0 Bcd
Paraquat	400	99,5 Aa	88,3 Aabc	99,5 Aa
2,4-D	670	62,5 Acd	60,0 Ad	57,5 Ade
2,4-D	1.000	72,5 Abc	66,3 Acd	66,3 Ad
Chlorimuron-ethyl	20	41,3 Bde	58,8 Ad	40,0 Bef
Carfentrazone-ethyl	20	32,5 Be	62,5 Ad	28,8 Bf
Flumioxazin	50	99,5 Aa	99,5 Aa	98,8 Aab
S-metolachlor	960	0,0 Bf	32,5 Ae	32,5 Af
Cloransulam-methyl	40	93,8 Aab	97,3 Aa	71,0 Bcd
Saflufenacil	28	40,0 Ce	97,5 Aa	78,3 Babcd
Glyphosate + 2,4-D	1.440 + 670	91,0 Aab	63,8 Bd	100,0 Aa
Glyphosate + Chlorimuron-ethyl	1.440 + 20	82,3 Aabc	74,5 Abcd	70,8 Acd
Glyphosate + Carfentrazone-ethyl	1.440 + 20	76,5 Abc	68,8 ABcd	56,3 Bde
Glyphosate + Flumioxazin	1.440 + 50	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
Glyphosate + S-metolachlor	1.440 + 960	93,5 Aab	55,0 Bd	56,3 Bde
Glyphosate + Cloransulam-methyl	1.440 + 40	90,8 Aab	92,0 Aab	90,8 Aabc
Glyphosate + Saflufenacil	1.440 + 28	80,8 Babc	98,3 Aa	77,3 Bbcd

Médias seguidas pela mesma letra na coluna/linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de probabilidade de erro de 5%. Letras minúsculas comparam os herbicidas dentro dos estágios vegetativos (leitura vertical) e letras maiúsculas os estágios vegetativos dentro dos herbicidas (leitura horizontal). Coeficiente de variação: 12,12.

Aos 28 DAA, foram eficazes no controle de *S. verticillata* independente do estágio de aplicação os herbicidas paraquat, flumioxazin, cloransulam-methyl, a mistura entre glyphosate e flumioxazin, a mistura entre glyphosate e cloransulam-methyl e a mistura entre glyphosate e saflufenacil (Tabela 6).

Em aplicações em estágios iniciais do desenvolvimento das plantas, outros herbicidas fossem eficazes, como o herbicida glyphosate em ambas doses aplicadas, a mistura entre glyphosate e os herbicidas saflufenacil e a mistura entre glyphosate e chlorimuron em plantas com 4-6 folhas. Observou-se que muitas misturas perderam a eficácia de controle se aplicadas em estágios de desenvolvimento mais tardios. No florescimento, apenas os herbicidas glyphosate em sua maior dose, saflufenacil e glyphosate + 2,4-D apresentaram controle da espécie. (Tabela 6).

Baseado na inconsistência de controle de *S. verticillata* em plantas de determinado estágio de aplicação com o herbicida glyphosate até os 21 dias após a aplicação, pode-se explicar em partes os relatos de falhas de controle da espécie por agricultores.

**Tabela 6.** Controle visual (%) de *Spermacoce verticillata* aos 28 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos herbicidas quando aplicados em plantas em diferentes estágios vegetativos.

Tratamentos	Dose ml ou g ha <sup>-1</sup>		Estágio			
	i.a. <sup>1</sup>	2-4 Folhas	4-6 Folhas	Florescimento		
Glyphosate	1.440	90,8 Aab	52,5 Cde	73,8 Bbcd		
Glyphosate	2.400	95,3 Aa	48,8 Bdef	83,3 Aabc		
Paraquat	400	100,0 Aa	88,0 Aab	97,5 Aa		
2,4-D	670	56,3 Acd	50,0 Adef	56,3 Ade		
2,4-D	1.000	67,5 Abc	63,8 Acde	71,3 Abcd		
Chlorimuron-ethyl	20	48,8 Acd	41,3 Aef	46,3 Ae		
Carfentrazone-ethyl	20	40,0 Ad	47,5 Adef	45,0 Ae		
Flumioxazin	50	99,8 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa		
S-metolachlor	960	10,0 Ce	28,8 Bf	55,0 Ade		
Cloransulam-methyl	40	93,3 Aa	98,0 Aa	82,5 Aabc		
Saflufenacil	28	37,5 Cd	97,5 Aa	77,3 Babcd		
Glyphosate + 2,4-D	1.440 + 670	97,0 Aa	70,0 Bbcd	100,0 Aa		
Glyphosate + Chlorimuron-ethyl	1.440 + 20	94,8 Aa	81,8 ABabc	67,8 Bbcde		
Glyphosate + Carfentrazone-ethyl	1.440 + 20	85,3 Aab	70,0 ABbcd	66,3 Bcde		
Glyphosate + Flumioxazin	1.440 + 50	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa		
Glyphosate + S-metolachlor	1.440 + 960	95,0 Aa	48,8 Cdef	72,5 Bbcd		
Glyphosate + Cloransulam-methyl	1.440 + 40	95,0 Aa	100,0 Aa	90,8 Aab		
Glyphosate + Saflufenacil	1.440 + 28	94,8 Aa	98,3 Aa	88,3 Aabc		

Médias seguidas pela mesma letra na coluna/linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de probabilidade de erro de 5%. Letras minúsculas comparam os herbicidas dentro dos estágios vegetativos (leitura vertical) e letras maiúsculas os estágios vegetativos dentro dos herbicidas (leitura horizontal). Coeficiente de variação: 12,52.

Aos 35 DAA, independente do estágio das plantas no momento da aplicação, os herbicidas flumioxazin, cloransulam-methyl e a misturas entre glyphosate + 2,4-D,

glyphosate + flumioxazin, glyphosate + cloransulam-methyl e glyphosate + saflufenacil apresentaram controle superior a 90%. O herbicida paraquat perdeu sua eficácia nas aplicações de 4-6 folhas (Tabela 7), apresentando 66% de controle.

Nos estágios iniciais (2-4 folhas) os herbicidas glyphosate em ambas as doses aplicadas, o herbicida 2,4-D na sua maior dose e a mistura entre glyphosate e chlorimuron-ethyl, glyphosate + carfentrzone-ethyl e glyphosate + S-metolachlor provocaram controle superior a 80%. Nas aplicações em plantas com 4-6 folhas, foram também satisfatórios os herbicidas 2,4-D na sua maior dose e saflufenacil e nas aplicações com plantas em pleno florescimento, os herbicidas glyphosate em ambas as doses, o herbicida paraquat e a mistura entre glyphosate +chlorimuron-ethyl (Tabela 7).

**Tabela 7.** Controle visual (%) de *Spermacoce verticillata* aos 35 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos herbicidas quando aplicados em plantas em diferentes estágios vegetativos.

Tratamentos	Dose ml ou g ha <sup>-1</sup> i.a. <sup>1</sup>	Estágio					
		2-4 Folhas		4-6 Folhas		Florescimento	
Glyphosate	1.440	88,3	Aa	68,8	Bbcd	77,3	ABabcd
Glyphosate	2.400	91,8	Aa	60,0	Bcd	87,0	Aabc
Paraquat	400	100,0	Aa	66,0	Bbcd	97,5	Aa
2,4-D	670	62,5	Ab	58,8	Acd	70,5	Abcde
2,4-D	1.000	85,3	Aab	88,8	Aab	50,0	Be
Chlorimuron-ethyl	20	62,5	Ab	62,5	Acd	50,0	Ae
Carfentrazone-ethyl	20	35,0	ABcd	48,8	Ade	23,8	Bf
Flumioxazin	50	100,0	Aa	100,0	Aa	100,0	Aa
S-metolachlor	960	12,5	Bd	30,0	Ae	22,5	ABf
Cloransulam-methyl	40	96,3	Aa	99,5	Aa	92,0	Aab
Saflufenacil	28	36,3	Cc	95,8	Aa	71,3	Bbcde
Glyphosate + 2,4-D	1.440 + 670	98,8	Aa	77,5	Babc	100,0	Aa
Glyphosate + Chlorimuron-ethyl	1.440 + 20	93,5	Aa	88,5	Abab	77,5	Babcd
Glyphosate + Carfentrazone-ethyl	1.440 + 20	78,8	Aab	61,3	Bcd	66,3	ABcde
Glyphosate + Flumioxazin	1.440 + 50	100,0	Aa	100,0	Aa	100,0	Aa
Glyphosate + S-metolachlor	1.440 + 960	97,0	Aa	61,3	Bcd	62,5	Bde
Glyphosate + Cloransulam-methyl	1.440 + 40	96,8	Aa	100,0	Aa	96,3	Aa
Glyphosate + Saflufenacil	1.440 + 28	91,8	Aa	97,3	Aa	83,0	Aabcd

Médias seguidas pela mesma letra na coluna/linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de probabilidade de erro de 5%. Letras minúsculas comparam os herbicidas dentro dos estágios vegetativos (leitura vertical) e letras maiúsculas os estágios vegetativos dentro dos herbicidas (leitura horizontal). Coeficiente de variação: 12,22.

Aos 42 DAA, na avaliação final de controle, foram eficazes em todos os estágios aplicados, o herbicida glyphosate em ambas as doses aplicadas, o herbicida 2,4-D, o herbicida flumioxazin, o herbicida cloransulam-methyl, e as misturas entre glyphosate e

2,4-D, chlorimuron-ethyl, flumioxazin, cloransulam-methyl e saflufenacil (Tabela 8). A mistura entre glyphosate e carfentrazone ethyl e S-metolachlor nos estágios de aplicação de 2-4 folhas, saflufenacil e glyphosate + S-metolachlor na aplicação de 4-6 folhas também controlaram as plantas daninhas de maneira satisfatória. Os herbicidas foram sempre mais eficazes se aplicados em estágios iniciais de desenvolvimento de *S. verticillata* (Tabela 8).

**Tabela 8.** Controle visual (%) de *Spermacoce verticillata* aos 42 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos herbicidas quando aplicados em plantas em diferentes estágios vegetativos.

Tratamentos	Dose ml ou g ha <sup>-1</sup> i.a. <sup>1</sup>	Estágio					
		2-4 Folhas		4-6 Folhas		Florescimento	
Glyphosate	1.440	93,8	Aa	80,8	Aabcd	88,7	Aab
Glyphosate	2.400	92,5	Aa	78,0	Aabcd	91,3	Aab
Paraquat	400	100,0	Aa	78,8	Babcd	97,5	Aa
2,4-D	670	58,8	Ac	70,8	Abcde	58,8	Ac
2,4-D	1.000	89,8	Aa	88,8	Aab	82,0	Aabc
Chlorimuron-ethyl	20	61,3	Abc	57,5	Ade	18,8	Bd
Carfentrazone-ethyl	20	30,0	Bd	51,3	Ae	10,0	Cd
Flumioxazin	50	100,0	Aa	100,0	Aa	100,0	Aa
S-metolachlor	960	10,0	Ad	10,0	Af	10,0	Ad
Cloransulam-methyl	40	93,8	Aa	99,3	Aa	90,5	Aab
Saflufenacil	28	22,5	Cd	95,0	Aab	71,3	Bbc
Glyphosate + 2,4-D	1.440 + 670	99,3	Aa	77,5	Babcd	100,0	Aa
Glyphosate + Chlorimuron-ethyl	1.440 + 20	94,0	Aa	88,8	Aab	82,5	Aabc
Glyphosate + Carfentrazone-ethyl	1.440 + 20	85,5	Aab	60,0	Bcde	68,8	Abbc
Glyphosate + Flumioxazin	1.440 + 50	100,0	Aa	100,0	Aa	100,0	Aa
Glyphosate + S-metolachlor	1.440 + 960	98,3	Aa	83,8	ABabc	70,0	Bbc
Glyphosate + Cloransulam-methyl	1.440 + 40	97,8	Aa	100,0	Aa	93,8	Aab
Glyphosate + Saflufenacil	1.440 + 28	89,0	Aa	96,3	Aab	83,3	Aabc

Médias seguidas pela mesma letra na coluna/linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de probabilidade de erro de 5%. Letras minúsculas comparam os herbicidas dentro dos estágios vegetativos (leitura vertical) e letras maiúsculas os estágios vegetativos dentro dos herbicidas (leitura horizontal). Coeficiente de variação: 13,39.

Observando-se a massa seca acumulada pelas plantas após a aplicação dos herbicidas aos 42 DAA, observou-se que nas aplicações em plantas com 2-4 folhas, os herbicidas que mais reduziram a a massa de plantas foram, glyphosate em ambas as doses, paraquat, 2,4-D na sua maior dose, chlorimuron-ethyl, flumioxazin, cloransulam-methyl, e todas as misturas com glyphosate (Tabela 9). Para os herbicidas aplicados em plantas com 4-6 folhas, glyphosate em ambas dosagens, paraquat, 2,4-D em ambas dosagens,

flumioxazin, cloransulam-methyl, saflufenacil e todas as misturas de glyphosate reduziram drasticamente a massa seca.

Para aplicações em plantas florescendo foram menos eficazes os herbicidas 2,4-D na sua menor dose, chlorimuron-ethyl, carfentrazone-ethyl, S-metolachlor e a mistura entre glyphosate e carfentrazone-ethyl (Tabela 9). Pela massa acumulada na testemunha infere-se que as diferenças observadas de controle entre aplicações em 4-6 folhas e em plantas em florescimento, as diferenças de controle se devem provavelmente a diferenças morfológicas ou fisiológicas das plantas já que nestes estágios o acúmulo de massa foi semelhante entre as plantas.

**Tabela 9.** Massa seca (g) de *Spermacoce verticillata* aos 42 dias após a aplicação (DAA) dos tratamentos herbicidas quando aplicados em plantas em diferentes estágios vegetativos.

Tratamentos	Dose ml ou g ha <sup>-1</sup>		Estágio			
	i.a. <sup>1</sup>	2-4 Folhas	4-6 Folhas	Florescimento		
Glyphosate	1.440	0,10 Bd	0,52 ABde	1,20	Acd	
Glyphosate	2.400	0,10 Ad	0,55 Acde	0,93	Acd	
Paraquat	400	0,03 Ad	0,25 Ae	0,22	Ad	
2,4-D	670	0,47 Bbcd	0,90 Bcde	2,18	Ac	
2,4-D	1.000	0,22 Acd	0,72 Acde	0,97	Acd	
Chlorimuron-ethyl	20	0,47 Cbcd	1,97 Bbc	4,78	Ab	
Carfentrazone-ethyl	20	1,67 Bb	1,87 Bbcd	5,20	Ab	
Flumioxazin	50	0,07 Ad	0,17 Ae	0,45	Ad	
S-metolachlor	960	1,85 Cb	3,00 Bb	5,78	Ab	
Cloransulam-methyl	40	0,15 Ad	0,12 Ae	0,83	Acd	
Saflufenacil <sup>2</sup>	28	1,60 Abc	0,17 Be	0,99	ABcd	
Glyphosate + 2,4-D	1.440 + 670	0,07 Ad	0,77 Acde	0,39	Ad	
Glyphosate + Chlorimuron-ethyl	1.440 + 20	0,12 Bd	0,47 ABde	1,33	Acd	
Glyphosate + Carfentrazone-ethyl	1.440 + 20	0,12 Bd	0,50 Bde	2,11	Ac	
Glyphosate + Flumioxazin	1.440 + 50	0,02 Ad	0,17 Ae	0,36	Ad	
Glyphosate + S-metolachlor	1.440 + 960	0,07 Bd	0,62 Bde	1,62	Acd	
Glyphosate + Cloransulam-methyl	1.440 + 40	0,07 Ad	0,25 Ae	0,65	Ad	
Glyphosate + Saflufenacil <sup>2</sup>	1.440 + 28	0,07 Ad	0,15 Ae	0,85	Acd	
Testemunha	-	3,75 Ba	6,45 Aa	6,60	Aa	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna/linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de probabilidade de erro de 5%. Letras minúsculas comparam os herbicidas dentro dos estágios vegetativos (leitura vertical) e letras maiúsculas os estágios vegetativos dentro dos herbicidas (leitura horizontal). Coeficiente de variação: 48,38.

Notou-se, portanto, que para o controle de *S. verticillata*, não houve a necessidade de mistura de produtos, existindo opções de controle com aplicações únicas, tais como flumioxazin ou paraquat. Sabe-se que o efeito do herbicida paraquat é rápido, pois é um produto de contato que logo nas primeiras horas de sua aplicação já apresenta sintomas.

É um herbicida atuante no fotossistema I da planta, causando paralização da fotossíntese e peroxidação lipídica, que levam o tecido à morte pela produção de espécies reativas de oxigênio (HAWKES, 2014). Em outros trabalhos relata-se a eficácia desse mesmo herbicida no controle de *S. verticillata* (BRIGHENTI et al., 2006). Porém, alguns cuidados devem ser tomados, pois pela aplicação de paraquat, podem ocorrer brotações de plantas após um período de tempo. Como o herbicida pouco transloca, pontos de crescimento podem ser inatingidos na aplicação e dar continuidade ao desenvolvimento vegetal, como o observado aqui para aplicações em plantas com 4-6 folhas nas avaliações de 35 e 42 DAA. Além disso, existem restrições de uso a essa herbicida hoje e daqui três anos sua proibição (ANVISA, 2017).

Com relação ao herbicida glyphosate, não existe recomendação de bula para a espécie em questão. Com a aplicação de 1.400 g e.a ha<sup>-1</sup>, o controle atingido não foi satisfatório em algumas ocasiões, porém a aplicação de 2.400 g e.a ha<sup>-1</sup> foi suficiente para controlar as plantas. O uso de 2.400 g e.a ha<sup>-1</sup> está acima do máximo recomendado na bula para o herbicida aplicado o que pode explicar o escape de controle relatado pelos produtores. Além disso, em alguns casos, mesmo na sua maior dose, o herbicida glyphosate não controlou satisfatoriamente as plantas, principalmente até os 28 DAA. Notou-se que o herbicida glyphosate nesse caso controlou bem a espécie ao final do período avaliado, porém, o que se percebe é um atraso no efeito em comparação a outras espécies de plantas daninhas, que em geral apresentam níveis ótimos de controle logo aos 14 ou 21 dias após a aplicação. Esse mesmo atraso é observado para espécies tolerantes como *Commelina benghalensis*, evidenciando uma possível tolerância da planta ao herbicida glyphosate (RAMIRES et al., 2011).

Com base no observado, para aplicações em plantas pequenas, de 2-4 folhas, com até 10 cm, existiram várias opções de controle. Porém não foram eficazes em controlar a espécie os herbicidas 2,4-D na menor dose testada, chlorimuron-ethyl, carfentrazone-ethyl, s-metolachlor e saflufenacil. Nesse caso plantas em estágio inicial com 2-4 folhas não apresentaram tolerância ao herbicida glyphosate nem ao paraquat, como observado para outras populações da mesma espécie (CHUAH et al., 2005).

O herbicida chlorimuron-ethyl é um inibidor da enzima acetolactato sintase (ALS) e sua recomendação para dessecações pode atingir até os 80 g e.a ha<sup>-1</sup> (RODRIGUES, 2011). A essa falha de controle aqui encontrada pode ser atribuída a baixa dose utilizada (20 g e.a ha<sup>-1</sup>). Já o herbicida s-metolachlor resultou em baixos controles se aplicado

isoladamente, pois se trata de um herbicida destinado mais ao controle de gramíneas na pré-emergência da planta daninha (RODRIGUES, 2011).

Para aplicações em plantas mais desenvolvidas, em torno de 20 centímetros (4-6 folhas), existiram várias opções de controle. Apenas não foram eficazes em controlar a espécie os herbicidas chlorimuron-ethyl, s-metolachlor, carfentrazone-ethyl e a mistura glyphosate + carfentrazone-ethyl. O estágio de maior desenvolvimento não alterou o controle satisfatório proporcionado pelos herbicidas aplicados, porém a aplicação de glyphosate, 2,4-D e paraquat resultaram em menores controles percentuais. A isso, atribui-se que em maior estágio de desenvolvimento, em geral, as plantas apresentam maior tolerância a aplicação de herbicidas aplicados em pós-emergência (MARTINS; CHRISTOFFOLETI, 2014). No caso específico de *S. verticillata*, notou-se que as folhas mais desenvolvidas poderiam atrapalhar o contato da solução herbicida com as folhas localizadas mais abaixo na planta para o paraquat enquanto plantas mais desenvolvidas apresentam em geral maiores reservas energéticas, que podem ter recuperado as plantas da fitotoxicidade causada pelos herbicidas glyphosate e 2,4-D.

Descarta-se o uso, independente do estágio fenológico, do chlorimuron-ethyl, carfentrazone-ethyl e s-metolachlor para controle de *S. verticillata*. O baixo controle proporcionado pela aplicação de saflufenacil nos estágios iniciais precisa ser melhor investigado pois constitui-se numa importante ferramenta de manejo na dessecação em áreas que apresentem comprovada resistência de plantas daninhas ao glyphosate, como por exemplo, espécies do gênero *Conyza* (BUDD et al., 2017). Em outros trabalhos a aplicação de saflufenacil, bem como carfentrazone-ethyl controlaram satisfatoriamente plantas de *S. verticillata* que apresentavam entre 2 a 6 folhas (RIOS et al., 2011).

A mistura de produtos com o glyphosate já foi relatada como eficaz para outras plantas do gênero *Spermacoce*, entre elas a mistura entre glyphosate + 2,4-D (MARTINS; CHRITOFFOLETI, 2014; FERREIRA et al., 2006). As falhas de controle específicas relacionadas aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase (ALS) e da protoporfirogênio oxidase (PROTOX) aqui observadas devem ser melhor estudadas e essa população comparada a outras da espécie, já que existem relatos de controle com os mesmos produtos para a mesma espécie e espécies próximas pertencentes ao mesmo gênero (MAGI, 2013; MARTINS; CHRITOFFOLETI, 2014). Além disso, é comum a resistência aos inibidores da PROTOX apresentar-se somada a resistência a herbicidas inibidores da ALS sendo casos de resistência múltipla, pois os inibidores da PROTOX

em geral são utilizados como alternativa aos inibidores da ALS onde existem relatos de resistência (HEAP, 2017; SALAS et al., 2016).

Apesar da eficiência de controle apresentada com o glyphosate, os relatos de falha de controle com esse herbicida, justificam a execução dos próximos capítulos. O gênero *Spermacoce* possui diversas espécies no Brasil e devido à elevada plasticidade fenotípica entre plantas, essas podem desenvolver resistência aos herbicidas utilizados (VIVIAN et al., 2013). A fim de se evitar a seleção de plantas resistentes, outras opções de herbicidas com diferentes mecanismos de ação devem ser utilizadas, priorizando a rotação desses ou adotando-se, por exemplo, a mistura de produtos (MARTINS; CHRITOFFOLETI, 2014).

## CONCLUSÕES

Foram eficazes no controle de *S. verticillata* aplicações únicas de herbicidas tais como 2,4-D, glyphosate, paraquat e flumioxazin bem como aplicações de misturas entre o herbicida glyphosate e flumioxazin, cloransulam-methyl, 2,4-D ou saflufenacil.

O estágio fenológico de *S. verticillata* influenciou pouco a eficácia dos herbicidas testados, sendo que no estágio de florescimento as menores doses testadas de glyphosate e 2,4-D apresentaram menor potencial de diminuir a massa de plantas enquanto misturas entre glyphosate e 2,4-D e flumioxazin os maiores potenciais de controle.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, C. M. S. et al. **Reforma de pastagens com alta infestação de capim-navalha (*Paspalum virgatum*)**. Rio Branco, Ac: Embrapa Acre, 2012. 14p.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa finaliza reavaliação toxicológica do Paraquate. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/reavaliacao-de-agrotoxicos>. Acesso em: 20 de novembro de 2017.

BRIGHENTI, A. M. et al. *Spermacoce verticillata*: Eficácia de herbicidas no controle em pós-emergência. **Anais...Congresso Brasileiro de Soja**, Londrina, PR, 2006.

BUDD, C. M. et al. Efficacy of saflufenacil for control of glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) as affected by height, density, and time of day. **Weed Science**, v. 65, p. 275-284, 2017.

CALDEIRA, D. S. A. et al. Controle de plantas daninhas em pastagem usando doses e misturas de herbicidas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, p. 1.052-1.060, 2014.

CHIQUIERI, A. et al. Distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss. na flora brasiliensis de martius. **Rodriguésia**, v. 55, p. 47-57, 2004.

CHUAH, T. S. et al. Paraquat and glyphosate resistance in woody borrhéria (*Hedyotis verticillata*) growing at oil palm plantations in Terengganu, Malaysia. **Malaysia Applied Biology**, v. 34, p. 43-49, 2005.

DIAS-FILHO, M. B. **Controle de capim-capeta (*Sporobulus indica* (L.) R. Br.) em pastagens no estado do Pará**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2015. 7p.

FERREIRA, A. C. B. et al. **Manejo de plantas daninhas na cultura do algodoeiro**. Campina Grande: Embrapa, 2006. (Circular Técnica, 96)

FONTES, J. R. A. **Manejo de plantas daninhas em seringais de cultivo na Amazônia. Manaus**: Embrapa-CPAA, 2007. 6p. (Embrapa- CPAA. Circular Técnica, 6).

FOURNET, J.; HAMMERTON, J. L. **Weeds of the Lesser Antilles**. Paris, France: Department d'Economie et Sociologie Rurales, Institut National de la Recherche Agronomique, 1991.

GAZZIERO, D. L. P. Mixtures of pesticides in tank, in Brazilian farms. **Planta Daninha**, v. 33, p. 83-92, 2015.

HAWKES, T. R. Mechanisms of resistance to paraquat in plants. **Pest Management Science**, v. 70, p. 1.316-1.326, 2014.

HEAP, I. **The international survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org). Acesso em: 04 de maio de 2017.

HOLM, L. et al. **World weeds: Natural histories and distribution**. Wiley-Blackwell, 1997, 1129 pp.

JOHNSON, D. E. **Weeds of rice in West Africa**. West Africa Rice Development Association (WARDA), 1997, 312 pp.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: BASF, 2000, t.3. 722p.

LAGATOR, M. et al. Herbicide mixtures at high doses slow the evolution of resistance in experimentally evolving populations of *Chlamydomonas reinhardtii*. **New Phytologist**, v. 198, p. 938-945, 2013.

MAGI, E. **Manejo integrado da vassourinha-de-botão (*Borreria verticillata*) Piauí**. Informação Simples e Prática, informativo 110, 2013. Disponível em: <http://www.imparag.com.br/noticias/Impar%20News%20-%202013.05.pdf>. Acesso em: 4 de maio de 2017.

MARQUES, L.J.P. et al. Phytosociology of weeds in cowpea and cassava crops under the slash-and-burn with plow. **Planta Daninha**, v. 29, p. 981-989, 2011.

MARTINS, B. A. B.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Herbicide efficacy on *Borreria densiflora* control in pre and post-emergence conditions. **Planta Daninha**, v. 32, p. 817-825, 2014.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Agrofit**. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em 26 de abril de 2017.

OERKE, E.C. Crop losses to pests. **Journal of Agricultural Science**, v. 144, p. 31-43, 2006.

PIER, 2016. **Pacific Island Ecosystems at Risk**. Honolulu, USA: HEAR, University of Hawaii. Disponível em: <http://www.hear.org/pier/index.html>. Acesso em 24 de abril de 2017.

RAMIRES. A. C. et al. Glyphosate associado a outros herbicidas no controle de *Commelina benghalensis* e *Spermacoce latifolia*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, p. 883-896, 2011.

RIOS, F.A. et al. Controle de plantas daninhas problemáticas pelo herbicida heat aplicado em jato dirigido na cultura do algodoeiro. **Anais...8º Congresso Brasileiro de Algodão**, São Paulo, SP, 2011.

RODRIGUES, B.N. **Guia de Herbicidas**. 6.ed. Londrina, 2011, 697.

SALAS, R. A. et al. Resistance to PPO-inhibiting herbicides in Palmer amaranth from Arkansas. **Pest Management Science**, v. 72, p. 145-150, 2003.

Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas - SBCPD. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: 1995. 42 p.

VIVIAN, R. et al. **Weed management in soybean – issues and practices, soybean- Pest resistance**. Disponível em: [www.interchopen.com/books/soybean-pest-resistance/weed-management-in-soybean-issues-and-practices](http://www.interchopen.com/books/soybean-pest-resistance/weed-management-in-soybean-issues-and-practices). Acesso em: 25 de abril de 2013.

## **CAPÍTULO 2 – Absorção foliar e translocação de glyphosate em *Spermacoce verticillata*.**

**RESUMO.** Plantas de *Spermacoce verticillata* (L.) (vassourinha-de-botão) vem se tornando cada vez mais presentes em áreas agrícolas. Recentemente, houve relatos de falhas no controle dessas plantas com o herbicida glyphosate. Efeitos na absorção e translocação do glyphosate podem afetar a sensibilidade das plantas ao herbicida. Objetivou-se com este trabalho, verificar a absorção e translocação do herbicida glyphosate em plantas de *S. verticillata* com diferentes estágios de desenvolvimento. Conduziu-se esse experimento no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA, USP, onde foram avaliados a absorção e translocação do glyphosate em plantas de *S. verticillata* em diferentes estágios de desenvolvimento, sendo eles; 2-4 folhas, 4-6 folhas, florescimento. Plantas receberam a aplicação de glyphosate radiomarcado ( $C^{14}$ -glyphosate) no segundo par de nó de folhas na forma de cinco gotas por folha (1,0  $\mu$ L), num total de 2 folhas tratadas, com auxílio de microaplicador. As plantas foram então transferidas para bancadas após a aplicação e a irrigação feita diretamente no solo, impedindo qualquer contato com as folhas. Avaliou-se após 4, 6, 8, 12 e 48 horas a absorção total do glyphosate e a translocação desse para as folhas superiores às aplicadas, inferiores, caules e raízes. Posteriormente essas plantas foram radiografadas. O experimento foi instalado e conduzido em delineamento inteiramente casualizados com três repetições por tratamento. A absorção e translocação do glyphosate foi determinada como porcentagem de radioatividade presente no interior da planta com relação à radioatividade total aplicada recuperada. Os dados de absorção e translocação totais foram submetidos à análise de regressão não-linear logística e as translocações por tecido da planta à análise de comparação de médias pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. Plantas em estágio mais avançado de desenvolvimento (4-6 folhas) apresentaram absorção mais lenta do herbicida glyphosate e plantas em estágio intermediário absorveram menores quantidades totais do herbicida. A translocação foi facilitada em plantas novas ou velhas, principalmente influenciada pela translocação acima do ponto de aplicação. A translocação às raízes foi maior e mais rápida para plantas em menor estágio vegetativo de desenvolvimento (2-4 folhas). Os diferentes estágios de desenvolvimento de *S. verticillata* modificaram a absorção e translocação do glyphosate.

**Palavras-chave:** carbono marcado, tolerância, vassourinha-de-botão.

## **CHAPTER 2 – Glyphosate foliar absorption and translocation in *Spermacoce verticillata*.**

**ABSTRACT.** Plants of *Spermacoce verticillata* (L.) (buttonweed) have become increasingly present in agricultural areas. Recently, there were reports of control failures of these plants with glyphosate. Effects on glyphosate uptake and translocation affect plant susceptibility to herbicide. The objective of this work was to verify the uptake and translocation of glyphosate in *S. verticillata* plants in different stages of development. This experiment was conducted at the Center for Nuclear Energy in Agriculture, CENA, USP, where glyphosate uptake and translocation were evaluated in plants with; 2-4 leaves, 4-6 leaves and flowering plants. Plants received the application of radiolabeled glyphosate (C14-glyphosate) on the second leaf node pair in the form of five drops per leaf (1.0  $\mu$ L), in total two leaves treated, with the aid of microapplicator. The plants were then transferred to benches after application and irrigation done directly on the soil, preventing any contact with the leaves. After 4, 6, 8, 12 and 48 hours, the total glyphosate uptake and its translocation to superior and lower leaves of those applied, stems and roots were evaluated. Later these plants were radiographed. The experiment was installed and conducted in a completely randomized design with three replicates per treatment. Absorption and translocation of glyphosate was determined as percentage of radioactivity present within the plant relative to total applied radioactivity recovered. The total absorption and translocation data were submitted to non-linear logistic regression analysis and plant tissue translocations to the analysis of means comparison by Tukey test at 5% probability. More advanced plants (4-6 leaves) showed slower absorption of the herbicide glyphosate and intermediate plants absorbed lower total amounts of the herbicide. Translocation was facilitated in new or old plants, mainly influenced by translocation above the point of application. The translocation to the roots was larger and faster for plants in the lower vegetative stage of development (2-4 leaves). The different stages of development of *S. verticillata* modified the uptake and translocation of glyphosate.

**Keywords:** C-14 glyphosate, tolerance, buttonweed.

## INTRODUÇÃO

A planta daninha vassourinha-de-botão (*Spermacoce verticillata*) vem tornando-se cada vez mais problemática nas novas regiões de exploração agrícola brasileiras como o MATOPIBA (Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia). A espécie pertence à família Rubiaceae e é considerada uma planta de difícil controle. Cada planta é capaz de produzir em torno de 90.000 sementes, que são dispersas pelo vento devido seu tamanho reduzido, enriquecendo assim o banco de sementes. Devido a essas características, apresenta facilidade de adaptação a diferentes ambientes, sendo cada vez mais relatadas em cultivos de soja, milho e algodão (MAGI, 2013).

Plantas de *S. verticillata* são nativas das Américas, e ocorrem em todo território brasileiro. É uma espécie perene, bastante rústica, que cresce em ampla gama de solos, desde férteis à solos pobres. São plantas muito ramificadas e apresentam aparência cespitosa, com raiz pivotante longa e profunda (KISMANN; GROTH, 2000). Quando em convívio com culturas agrícolas, pode acarretar perdas de produtividade superiores à 40% (CERQUEIRA et al., 2013).

Além dos relatos da presença dessa espécie, vem ocorrendo relatos de falhas no controle dessas plantas com a aplicação de herbicidas nas operações de dessecação de culturas, entre elas, a falha de controle pela aplicação do herbicida glyphosate. O herbicida glyphosate é o herbicida mais vendido e utilizado no mundo. Seu mecanismo de ação se dá pela inibição da enzima EPSPS (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase), que interrompe a síntese dos aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano, o que prejudica o desenvolvimento das plantas. Em estágios mais avançados, a planta deixa de produzir proteínas, metabólitos e tem reduzida sua fotossíntese, resultando na morte da planta (DUKE; POWLES, 2008; REDDY et al., 2008).

O controle proporcionado pelo herbicida é influenciado pela absorção inicial e consequente translocação de quantidades suficientes para atingir o sítio de ação e a enzima-alvo. A absorção de herbicidas pela planta inicia-se com a penetração desse pela cutícula da folha, epiderme, parênquima, até atingir os vasos condutores, onde serão translocados. Algumas variações influenciam essa absorção, entre elas a idade da planta no momento da aplicação (SILVA et al., 2007; SATICHIVI et al., 2000).

Em vários casos, as diferenças entre a suscetibilidade de plantas ao glyphosate, seja em plantas cultivadas ou daninhas, estão relacionadas com diferenças de absorção e/ou translocação do herbicida. Segundo Machado et al. (2009), plantas de eucalipto

apresentam diferenças de suscetibilidade ao glyphosate causadas por absorção, translocação, compartimentalização e exsudação do herbicida. Em plantas de *Lolium multiflorum* (azevém) e *Sorghum halepense* (capim-massambará), características foliares foram relatadas como responsáveis por alterar a sensibilidade ao glyphosate onde plantas menos sensíveis apresentaram menor absorção de glyphosate (GALVANI et al., 2012; VILA-AIUB et al., 2011). Outra população de *Lolium multiflorum* (azevém) também apresentou seletividade ao glyphosate devido a problemas com a translocação (GHANIZADEH et al., 2016). Assim, plantas de vassourinha-de-botão, podem estar escapando do controle com glyphosate devido a diferenças na absorção e translocação do herbicida.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a absorção e translocação do herbicida glyphosate em plantas de vassourinha-de-botão, quantificando o total de glyphosate radiomarcado absorvido e translocado, em diferentes horas após a aplicação em plantas de diferentes estágios vegetativos de desenvolvimento.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Este experimento foi conduzido no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA, Piracicaba, SP, Brasil. Sementes de *Spermacoce verticillata*, foram postas a germinar em caixas plásticas do tipo gerbox, contendo duas folhas de papel, dentro de câmara de germinação com fotoperíodo 12h luz e 12h escuro à 26°C. As plântulas na fase inicial (um par de folhas verdadeiras) foram transplantadas para vasos com capacidade volumétrica de 3L, contendo mistura de substrato comercial Tropstrato® (casca de pinus, turfa, vermiculita expandida, enriquecido com macro e micronutriente) + solo na proporção de 1:1. Estes vasos foram alocados em casas de vegetação sob condições semi-controladas.

O experimento foi conduzido com plantas em três estágios vegetativos de desenvolvimento, sendo: 2-4 folhas, 4-6 folhas e plantas em florescimento. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizados com três repetições. Foram tratadas o total de duas folhas expandidas em suas faces adaxial sob a forma de cinco gotas totalizando 1,0 µL nas duas folhas de uma solução contendo o herbicida glyphosate, marcados com C<sub>14</sub>, com auxílio de microaplicador (Hamilton PB6000 Dispenser, Hamilton Co. EUA). O glyphosate utilizado foi radiomarcado no radical phosphonomethylene (C3), apresentando atividade específica de 50mCi/mmol<sup>-1</sup> e

99% de pureza e utilizado para preparo de uma solução de aplicação com volume de 127  $\mu\text{L}$ , contendo 14800 KBq. Essa solução foi preparada diluindo-se o glyphosate marcado em uma calda contendo o glyphosate comercial, de tal forma que a concentração final do herbicida fosse equivalente à dose comercial de 720 g e.a.  $\text{ha}^{-1}$ , com um volume de calda de 200 L  $\text{ha}^{-1}$ . Um total de 91,89 KBq foi aplicado em cada planta.

Após aplicação as plantas foram então transferidas para bancadas e a irrigação feita diretamente no solo, impedindo qualquer contato com as folhas. As plantas foram cortadas para análises 4, 6, 8, 12 e 48 horas após o tratamento (HAT) e divididas em quatro partes: todas as folhas tratadas, folhas acima das folhas tratadas, folhas abaixo das folhas tratadas, caule e raízes, com o objetivo de quantificar a radioatividade em cada uma destas partes.

As folhas tratadas foram lavadas com 3,5 mL (sendo lavadas sete vezes com auxílio de uma pipeta calibrada para 500  $\mu\text{L}$ ) de solução contendo 1mL de metanol, 1mL de água deionizada, e 0,2% (v/v) de surfactante não iônico (Agral) para retirar o herbicida não absorvido. Do líquido proveniente dessa lavagem, foi retirada uma alíquota que foi misturada com líquido de cintilação para posterior análise da radioatividade através da espectrometria de cintilação líquida (ELC) (Packard 1900 TR). A radioatividade presente no líquido das folhas lavadas e nas outras partes da planta foi determinada para verificar se a soma se aproxima do total aplicado (balanço de massa).

As partes previamente separadas após a lavagem das plantas foram secas em estufa com circulação a 50°C por 48 horas e submetidas a combustão em um oxidador biológico (OX 600 Harvey Instruments). A absorção do glyphosate foi determinada como porcentagem de radioatividade presente no interior da planta (para cada parte) em relação à radioatividade total recuperada (Equação 1). Para melhor visualização da posição final do herbicida radiomarcado, as plantas tratadas foram expostas à placas fosforescentes (Storage Phosphor Screen, Perkin Elmer), e lidas no Cyclone PPlus para se obter a autoimagem correspondente a translocação do glyphosate.

$$\% H \text{ abs} = \frac{C14 - \text{tec.ox.}}{C14 - \text{tec.ox.} + C14 - \text{lav.}} \times 100$$

[1]

Equação 1: Em que  $H_{abs}$  = herbicida absorvido pelas plantas;  $C14 - \text{tec.ox.}$  = quantidade de  $C^{14}$  detectada nos tecidos oxidados (raízes + folha tratada + parte aérea); e  $C14 - \text{lav.}$  =

quantidade de  $C^{14}$  detectada na lavagem da folha tratada (líquido de lavagem + radioatividade no interior da planta).

Para descrição do padrão de absorção e translocação dos herbicidas, regressões foram ajustadas de acordo com os dados, sendo os dados de absorção e translocação totais para cada período de aplicação, submetidos à regressões não-lineares do tipo logística, seguindo a equação 2 (REIS et al., 2015).

$$Y = A2 + \frac{(A1 - A2)}{1 + \left(\frac{x}{x0}\right)^p}$$

[2]

Equação 2: Em que  $Y$  = porcentagem total do herbicida absorvido/translocado pelas plantas;  $A1$  = absorção/translocação mínima de glyphosate;  $A2$  = absorção/translocação máxima de glyphosate e  $x0$  = Período em que a absorção/translocação do glyphosate se iguala a 50% do total absorvido/translocado.

Posteriormente, os dados relativos as partes da planta em que o herbicida foi translocado, foram submetidos à análise de variância, que sendo significativa, tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A absorção total do herbicida glyphosate por plantas de *Spermacoce verticillata* foi baixa, sendo em média 31% do herbicida aplicado. A absorção de glyphosate não ultrapassou 40% do total aplicado em nenhum dos estágios avaliados (Figura 1). Essa absorção varia muito de espécie para espécie e entre as diferentes adaptações que essas apresentam. Plantas de *Amaranthus hybridus* e *Ipomoea grandifolia*, por exemplo, absorveram mais o glyphosate (absorção superior à 80% do aplicado), enquanto plantas de *Digitaria insularis* menos (50% do herbicida aplicado). Essas diferenças podem estar ligadas a espessura e a composição das cutículas foliares de cada espécie (CARVALHO et al., 2012; MONQUERO et al., 2004). Para os diferentes estágios de desenvolvimento, observou-se que aplicações em plantas em menor estágio vegetativo

garantiram maior absorção do herbicida, porém para que 80% desse total ocorressem, levaram-se aproximadamente 13 dias (Figura 1, Tabela 1).

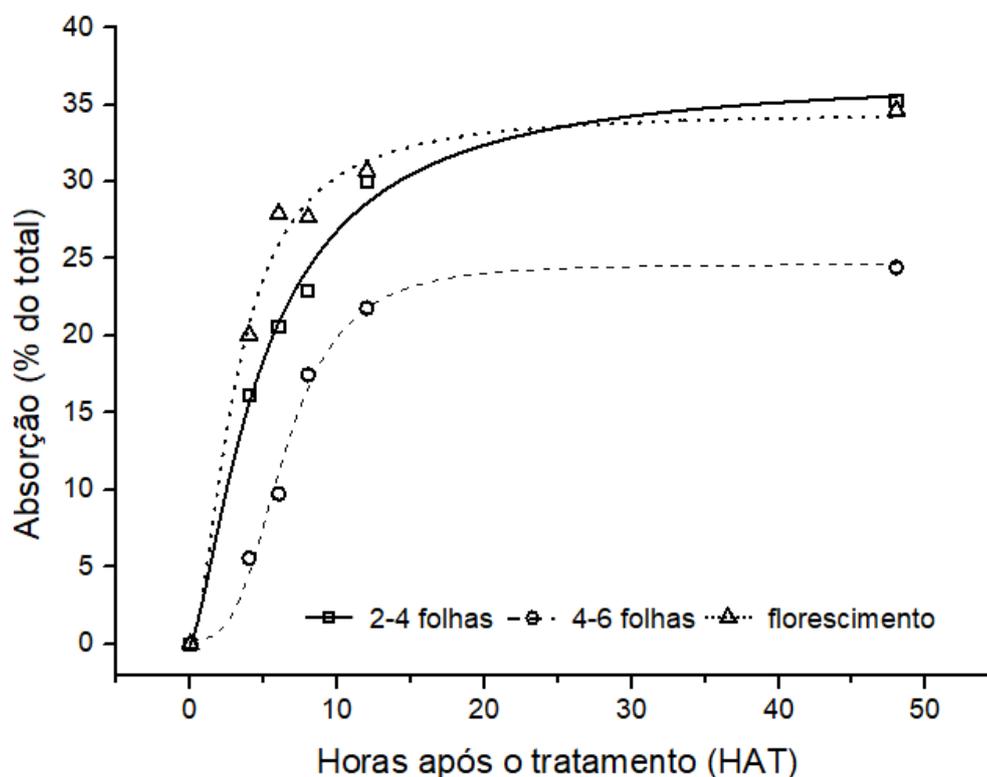


Figura 1. Absorção de  $^{14}\text{C}$ -glyphosate aplicado em folhas de *Spermacoce verticillata* às 0, 4, 6, 8, 12 e 48 horas após o tratamento, expressa como a porcentagem do total aplicado.

Em aplicações nas plantas mais desenvolvidas (plantas de 4 a 6 folhas e plantas em florescimento), reduziu-se o total final absorvido de glyphosate (24% e 34%, respectivamente), porém, para essas plantas, mais rápido atingiu-se a saturação de absorção do glyphosate. Para absorção de 80% do total absorvido, levaram-se 10 e 7 dias, para plantas nos estágios de 4-6 folhas e florescimento respectivamente (Figura 1, Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros das regressões logísticas utilizadas para calcular a porcentagem de absorção do total de  $^{14}\text{C}$ -glyphosate aplicado em folhas de *Spermacoce verticillata* nas diferentes horas após o tratamento e estágios de aplicação.

Aplicação/Estágio	A1	A2	P	EC <sub>50</sub>	EC <sub>80</sub>	R <sup>2</sup>
2- 4 Folhas	0,05 ± 1,4	37,06 ± 2,3	1,39 ± 0,3	5,03 ± 0,6	13,55 ± 3,9	0,98
4 - 6 Folhas	0,32 ± 1,3	24,65 ± 1,2	3,23 ± 0,6	6,43 ± 0,4	9,88 ± 1,1	0,98
Florescimento	0,01 ± 1,7	34,55 ± 2,0	1,69 ± 0,6	3,15 ± 0,5	7,08 ± 1,7	0,98

Equação:  $Y = A2 + (A1-A2)/(1+(x/x0)^p)$ , onde Y é a porcentagem do total absorvida, A1, a menor absorção, A2, a maior absorção, p e x, parâmetros da equação, EC<sub>50</sub>, EC<sub>80</sub>, as quantidades de horas para absorção de 50% e 80% do total respectivamente, e R<sup>2</sup> o coeficiente de determinação.

Sabe-se que a absorção do glyphosate em geral ocorre de maneira acelerada nas primeiras 24 horas da sua aplicação, e que depois dessa, essa velocidade de absorção diminui (GASKIN; HOLLOWAY, 1992). Neste caso a aplicação em plantas em estágios vegetativos menores, permitiu uma absorção contínua do herbicida até o período avaliado (48 horas). Plantas jovens de *S. verticillata* e plantas em pleno florescimento absorveram maior quantidade de glyphosate. Plantas com 4-6 folhas não absorveram menos herbicida.

Essas diferenças de absorção encontradas nos diferentes estágios de desenvolvimento de plantas de *S. verticillata* podem ser resultado dos diferentes processos fisiológicos que ocorrem nas plantas devido a diferenças morfológicas apresentadas por essas. Ressalta-se que em capítulos anteriores, não foram relatadas diferenças de controle com o glyphosate nos distintos estágios de aplicação, indicando que as quantidades aqui absorvidas (no mínimo 24% do aplicado), são, portanto na teoria, suficientes para o controle da espécie.

Com relação às características morfo-anatômicas, podem existir fatores que alterem a absorção do herbicida como observado por outros autores para outras espécies (MICHITTE et al., 2004). Assim, a absorção diferencial nos diferentes estágios pode estar relacionada com a composição das camadas de ceras epicuticulares presentes o que precisa ser melhor investigado (GUIMARÃES et al., 2009; NANDULA et al., 2008).

A translocação total do glyphosate foi maior em plantas com desenvolvimento vegetativo mais avançado (pós-tardio, 35%) e menor para plantas em estágio intermediário de desenvolvimento, não ultrapassando 29% e 17% para plantas nos estágios de aplicação pós-inicial e pós-normal respectivamente (Figura 2).

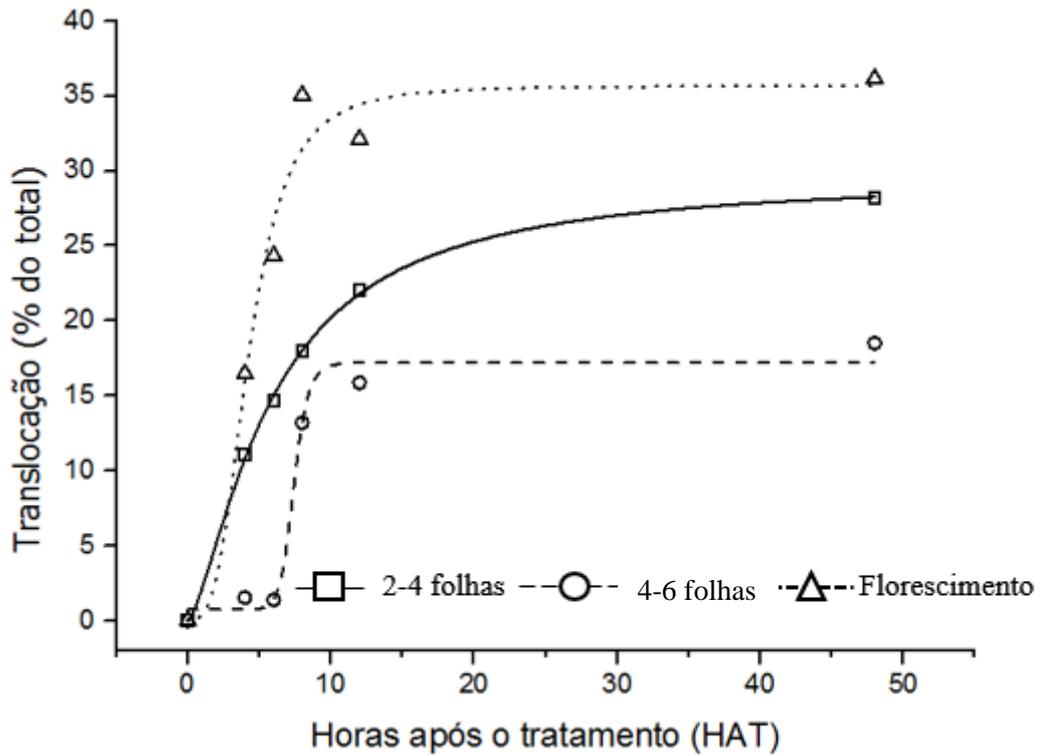


Figura 2. Translocação de  $^{14}\text{C}$ -glyphosate aplicado em folhas de *Spermacoce verticillata* às 0, 4, 6, 8, 12 e 48 horas após o tratamento, expressa como a porcentagem do total aplicado.

A velocidade de translocação acompanhou os estágios de desenvolvimento das plantas, assim como na absorção. Plantas com estágio fenológico mais avançado apresentaram translocação maior em menor período de tempo (Tabela 2). Pelas diferenças entre translocação e absorção, nota-se que 8% do glyphosate ficou retido nas folhas de *S. verticillata* quando a aplicação ocorreu em pós-inicial; 7,45% em pós-normal e 0% em aplicações pós-tardias. A baixa retenção do herbicida nas folhas aplicadas, reforça a idéia de que as falhas de controle não ocorrem devido à resistência de plantas ao herbicida glyphosate, causadas por diferenças de absorção e translocação, como evidenciado por outros autores (YU et al., 2007; LORRAINE-COLWILL et al., 2003).

Tabela 2. Parâmetros das regressões log-logísticas utilizadas para calcular a porcentagem de translocação do total de <sup>14</sup>C-glyphosate aplicado em folhas de *Spermacoce verticillata* nas diferentes horas após o tratamento e estágios de aplicação.

Aplicação/Estágio	A1	A2	P	EC <sub>50</sub>	EC <sub>80</sub>	R <sup>2</sup>
2- 4 Folhas	0,02 ± 0,3	29,63 ± 0,6	1,43 ± 0,1	5,89 ± 0,2	15,46 ± 1,4	0,99
4 – 6 Folhas	0,75 ± 1,0	17,20 ± 1,0	14,8 ± 9,8	7,41 ± 0,4	8,14 ± 0,3	0,96
Florescimento	0,06 ± 3,4	35,67 ± 2,9	3,20 ± 1,4	4,28 ± 0,5	6,60 ± 1,4	0,93

Equação:  $Y = A2 + (A1-A2)/(1+(x/x0)^p)$ , onde Y é a porcentagem do total absorvida, A1, a menor absorção, A2, a maior absorção, p e x, parâmetros da equação, EC<sub>50</sub>, EC<sub>80</sub>, as quantidades de horas para absorção de 50% e 80% do total respectivamente, e R<sup>2</sup> o coeficiente de determinação.

O glyphosate translocou-se diferencialmente para acima das folhas tratadas e para as raízes de acordo com o estágio de aplicação. A translocação para baixo, ou para os caules não apresentou diferenças significativas entre estágios. Nenhuma das translocações sofreu ação dos períodos avaliados bem como a interação desses com o estágio de aplicação (Tabela 3).

Tabela 3. Valores de p para a translocação de <sup>14</sup>C-glyphosate nas diferentes partes da planta de *Spermacoce verticillata* nas diferentes horas após o tratamento e estágios de aplicação.

Translocação	Estágio	Horas	Estágio x Horas
Total	<b>0,0468</b>	0,2810	0,8896
Acima aplicado	<b>0,0322</b>	0,0745	0,4306
Abaixo aplicado	0,3941	0,0973	0,8022
Caule	0,2979	0,5577	0,4626
Raíz	<b>0,0336</b>	0,3237	0,9275

Valores inferiores à 0,05, representam diferenças significativas à 5%.

A translocação foi maior para as folhas localizadas acima das folhas que receberam o herbicida radioativo. Em média essa translocação foi de 67%, sendo mais representativa para plantas em florescimento. Essa translocação influenciou na sua maioria, portanto, a translocação total do glyphosate. Plantas que receberam a aplicação em pleno florescimento apresentaram maior translocação de glyphosate em comparação a plantas que receberam o herbicida com 4-6 folhas. A translocação acima das folhas aplicadas para plantas em pós-inicial foi semelhante aos demais estágios (Figura 3).

A translocação de glyphosate para as folhas superiores de plantas bem como para as raízes é comum. O glyphosate apresenta ambos os movimentos, porém tende a translocar-se para os ápices da planta, pois esse movimento acompanha o fluxo de carboidratos de órgãos tidos como fontes para os drenos metabólicos, ocasionando o acúmulo do herbicida nos meristemas apicais e em raízes (REIS et al., 2015; CHEN et al., 2009; MCALLISTER; HADERLIE, 1985).

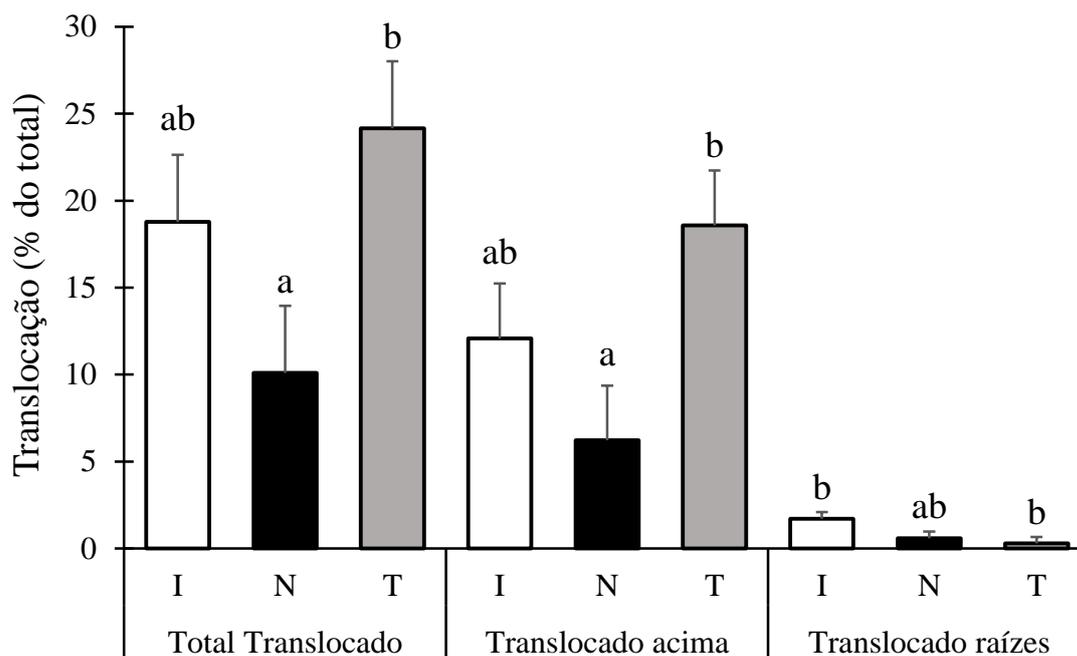


Figura 3. Média da translocação de  $^{14}\text{C}$ -glyphosate em *Spermacoce verticillata*, expressa como a porcentagem do total aplicado, porcentagem do total aplicado translocado acima do local de aplicação e porcentagem do total aplicado translocado para as raízes para os diferentes momentos de aplicação (I: Inicial (2 – 4 Folhas), N: Normal (4 – 6 Folhas) e T: Tardio (Florescimento)).

Para as raízes, a translocação do glyphosate foi pequena (5%), porém muito diferente entre os estágios. Aqui, obedeceu-se uma ordem decrescente de translocação, onde em plantas mais jovens foi translocado mais glyphosate para as raízes (9%) em comparação às plantas mais velhas em pleno florescimento (1%) (Tabela 3). Essa translocação pode ser melhor observada nas radioimagens, onde logo nas horas iniciais de aplicação (6 HAT), observa-se que apenas plantas jovens apresentaram o glyphosate em suas raízes (Figura 4). Com o passar do tempo (12 HAT), plantas que apresentavam de 4-6 folhas, passaram a apresentar também o glyphosate em suas raízes, ao contrário das plantas em florescimento (Figura 5).

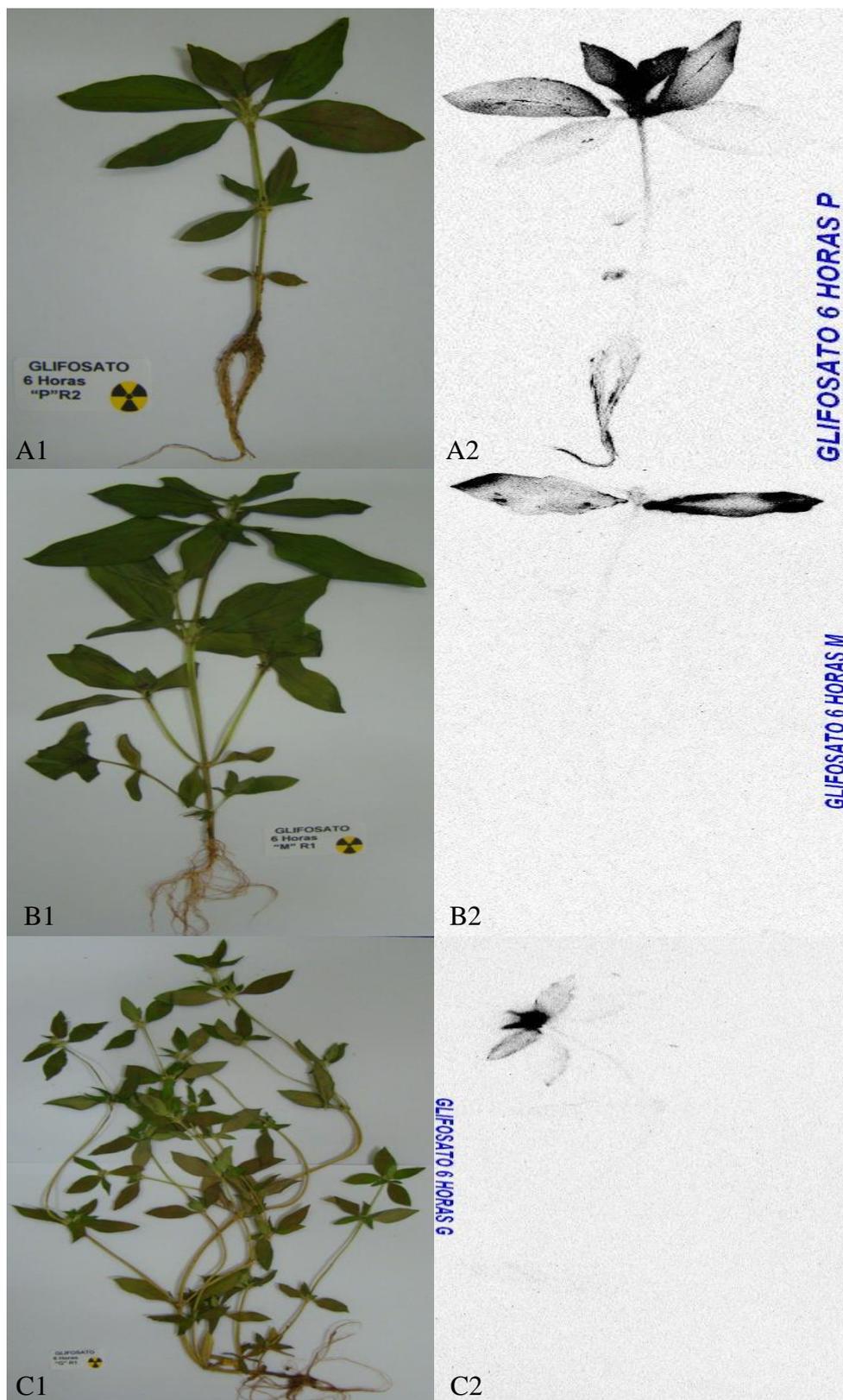


Figura 4. Foto das plantas tratadas e radioimagens de *Spermacoce verticillata* com aplicação foliar de  $^{14}\text{C}$ -glyphosate seis horas após o tratamento (HAT). 1: Foto da planta tratada, 2: Radioimagem da translocação do herbicida. A: estágio de aplicação 2 – 4 folhas; B: estágio de aplicação 4 – 6 folhas; C: estágio de aplicação florescimento. Fonte: Autoria própria.

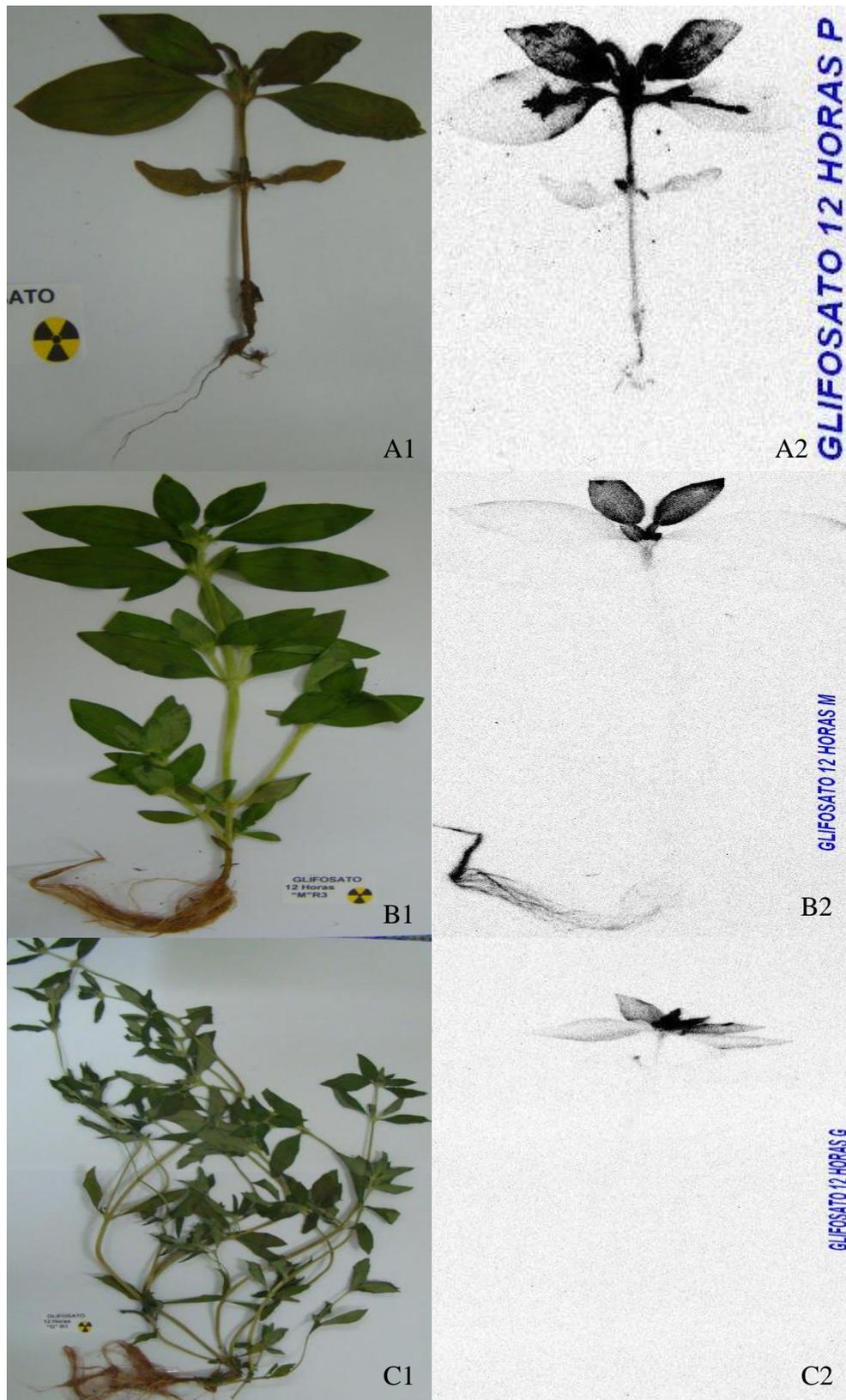


Figura 5. Fotos das plantas tratadas e radioimagens de *Spermacoe verticillata* com aplicação foliar de  $^{14}\text{C}$ -glyphosate doze horas após o tratamento (HAT). 1: Foto da planta tratada, 2: Radioimagem da translocação do herbicida. A: estágio de aplicação 2 – 4 folhas; B: estágio de aplicação 4 – 6 folhas; C: estágio de aplicação florescimento. Fonte: Autoria própria.

Para as raízes, a translocação de glyphosate está relacionada ao transporte de açúcares no floema. Plantas mais jovens apresentam maiores atividades fotossintéticas e conseqüentemente maiores translocações (TAIZ; ZEIGER, 2004). A translocação varia entre espécies e plantas devido a diferenças em seu metabolismo, causadas por mudanças fisiológicas ou anatômicas. As plantas em maior estágio vegetativo foram controladas, mostrando que a translocação aqui obtida foi suficiente para o controle da espécie. Porém, plantas que se encontravam florescidas, receberam menores quantidades de herbicida em suas raízes o que em situações específicas pode modificar a eficácia de controle do herbicida, como ocorre para outras espécies, tais como plantas de buva ou azevém (POWLES; YU, 2010).

## **CONCLUSÕES**

Plantas de *Spermacoce verticillata* em estágio de florescimento apresentaram absorção mais lenta do herbicida glyphosate e plantas com 4-6 folhas absorveram menores quantidades totais do herbicida. A translocação foi facilitada em plantas novas ou velhas, principalmente influenciada pela translocação acima do ponto de aplicação. A translocação às raízes foi maior e mais rápida para plantas em menor estágio vegetativo de desenvolvimento.

## REFERÊNCIAS

CARVALHO, L. B. C. et al. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 615-622, 2012.

CHEN, R. F. et al. Translocation and metabolism of injected glyphosate in lead tree (*Leucaena leucocephala*). **Weed Science**, v. 57, p. 229-234, 2009.

CERQUEIRA, F. B. et al. Competição inicial entre cultivares de arroz de terras altas tolerantes à seca e plantas daninhas sob condições de estresse hídrico. **Planta Daninha**, v. 31, p. 291-302, 2013.

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

GALVANI, J. et al. Leaf anatomy of *Lolium multiflorum* sensitive and resistant to glyphosate. **Planta Daninha**, v. 30, p. 407-413, 2012.

GASKIN, R. E.; HOLLOWAY, P. J. Some physicochemical factors influencing foliar uptake enhancement of glyphosate mono (isopropylammonium) by polyoxyethylene surfactants. **Pesticide Science**, v. 34, p. 195–206, 1992.

GHANIZADEH, K. C. et al. Restricted herbicide translocation was found in two glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) populations from New Zealand. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 18, p. 1.041-1.051, 2016.

GUIMARAES, A. A. et al. Chemical composition of the epicuticular wax of Italian ryegrass biotypes resistant and susceptible to glyphosate. **Planta Daninha**, v. 27, p. 149–154, 2009.

HEAP, I. **The international survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org). Acesso em: 04 de maio de 2017.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. Tomo III, 2ª ed. 2000. 725p.

LORRAINE-COLWILL, D. F. et al. Investigations into the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 74, p. 62–72, 2003.

MACHADO, A. F. L. et al. Absorção, translocação e exsudação radicular de glyphosate em clones de eucalipto. **Planta Daninha**, v. 27, p. 549-554, 2009.

MAGI, E. **Manejo integrado da vassourinha-de-botão (*Borreria verticillata*)** Piauí. Informação Simples e Prática, informativo 110, 2013. Disponível em: <http://www.imparag.com.br/noticias/Impar%20News%20-%202013.05.pdf>. Acesso em: 4 de maio de 2017.

MCALLISTER, R.; HABERLIE, L. L. Translocation of <sup>14</sup>C-glyphosate and <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>-labeled photoassimilates in Canada thistle (*Cirsium arvense*). **Weed Science**, v. 33, p. 153-159, 1985.

MICHITTE, P. et al. Resistance to glyphosate in *Lolium multiflorum*: involvement of epicuticular waxes? In XII International Conference on Weed Biology; Association Francaise de la Protection des Plantes: Dijon, France, 2004; pp 597–602.

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

NANDULA, V. K. et al. Glyphosate tolerance mechanism in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) from Mississippi. **Weed Science**, v. 56, p. 344–349, 2008.

POWLES, S.B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Reviews in Plant Biology**, v. 61, p. 317–347, 2010.

REDDY, K. N. et al. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 2125-2130, 2008.

REIS, F. C. et al. Uptake, translocation, and control of trumpet flower (*Tecoma stans*) with aminocyclopyrachlor. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 50, p. 1-7, 2015.

SATICHIWI, N. M. et al. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Science**, v. 48, p. 675-679, 2000.

SILVA, J. F. et al. **Herbicida**: absorção, translocação, metabolismo, formulação e misturas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. Tópicos em manejo de plantas daninhas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 367 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. São Paulo: Artmed, 2004. 719 p.

VILA-AIUB, M. M. et al. Glyphosate resistance in perennial *Sorghum halepense*, endowed by reduced glyphosate translocation and leaf uptake. **Pest Management Science**, v. 68, p. 430-436, 2011.

YU, Q. et al. Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. **Planta**, v. 225, p. 499–513, 2007.

### **CAPÍTULO 3 – Caracterização foliar de *Spermacoce verticillata* em três estágios de desenvolvimento.**

**RESUMO.** Os diferentes estágios de desenvolvimento de uma planta, podem modificar suas estruturas anatômico foliares, o que pode influenciar no controle resultante da aplicação do herbicida, modificando sua retenção, absorção, translocação e seu efeito final. Este trabalho tratou do estudo de diferenças morfológicas e histológicas em folhas de *Spermacoce verticillata* em diferentes estágios de desenvolvimento, a fim de se buscar diferenças que pudessem explicar a suscetibilidade diferencial aos herbicidas. Folhas foram coletadas de plantas em diferentes estágios fenológicos (2-4 folhas, 4-6 folhas e florescimento) e submetidas a análises histológicas e de microscopia de varredura. Nas análises histológicas foram coletadas 4 folhas retiradas dos nós superiores. Avaliaram-se as seguintes características foliares: espessura total da lâmina foliar, espessura do parênquima paliçádico, espessura do parênquima lacunoso, espessura da cutícula e das células epidérmicas nas faces abaxial e adaxial, altura e largura da nervura central. Esses dados foram observados 5 vezes, em 2 folhas para cada cinco indivíduos, totalizando 50 repetições por estágio. Esses dados foram submetidos a análise de variância que quando significativa, tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. As análises de superfície foliar foram realizadas com observação em microscópio eletrônico de varredura. Observou-se que com o avançar dos estágios de desenvolvimento de *S. verticillata* as plantas passaram a apresentar reduções da sua espessura foliar, devido a reduções da epiderme abaxial, das medidas dos vasos condutores e de seus parênquimas. Em estágios mais avançados de desenvolvimento (4-6 folhas e florescimento) as folhas apresentaram em sua superfície adaxial menor quantidade de estômatos e maior quantidade de tricomas. Plantas com menor quantidade de estômatos e maior presença de tricomas podem dificultar a absorção de herbicidas.

**Palavras-chave:** Cutícula, epiderme, estômatos, tricomas.

### **CHAPTER 3 – Foliar characterization of *Spermacoce verticillata* in three stages of development.**

**ABSTRACT.** Recently, *Spermacoce verticillata* has been reported as a difficult control plant in herbicide burndown operations. The good absorption of the herbicide is essential for it to reach the site of action. It is known that different stages of development of a plant can modify its anatomical foliar structures, which may influence the control resulting from the application of the herbicide, modifying its retention, absorption, translocation and its final effect. This study had the objective to identify morphological and histological differences in leaves of *Spermacoce verticillata* at different stages of development, in order to explain differential susceptibility to herbicides. Leaves were collected from plants at different phenological stages (2-4 leaves, 4-6 leaves and flowering plants) and submitted to histological analysis and scanning microscopy. In the histological analysis, four leaves were collected from the upper nodes. The following foliar characteristics were evaluated: total leaf thickness, palisade parenchyma thickness, lacunar parenchyma thickness, cuticle thickness and epidermal cells on the abaxial and adaxial surfaces, height and width of the central rib. These data were observed five times, in two leaves for every five individuals, totalizing 50 repetitions per stage. These data were submitted to analysis of variance, which, when significant, had their means compared by the Tukey test at 5% probability. Leaf surface analyzes were performed with scanning electron microscopy. It was observed that with the advancement of the stages of development of *S. verticillata* the plants began to show reductions of their leaf thickness due to reductions of the abaxial epidermis, the measurements of the conducting vessels and their parenchyma. At more advanced stages of development (4-6 leaves and flowering), the leaves presented on their adaxial surface a lower quantity of stomata and a larger quantity of trichomes. Plants with fewer stomata and greater presence of trichomes may hinder the absorption of herbicides.

**Keywords:** Cuticle, epidermis, stomata, trichomes.

## INTRODUÇÃO

O herbicida pode ser absorvido através de suas estruturas aéreas e subterrâneas, como folhas, caules, raízes e rizomas. Contudo, a principal via de entrada do herbicida na planta é a folha (SILVA et al., 2002). É nessa que se encontram estruturas tais como ceras epicuticulares e tricomas, que podem impor barreiras à absorção e modificações anatômicas que podem alterar a translocação de herbicidas (VIDAL, 2002).

A morfologia foliar regula a retenção do produto, enquanto a anatomia a velocidade de absorção do ativo (PROCÓPIO et al., 2003). Desta forma, modificações foliares, podem afetar a sensibilidade da planta à ação do herbicida (FERREIRA et al., 2006).

O estágio de desenvolvimento da planta e a forma de suas folhas, sua orientação e área específica podem alterar a eficácia do herbicida. Além disso, em diferentes estágios, diferentes são as prioridades para a condução dos fotoassimilados no vegetal, afetando também a translocação do herbicida (HETHERINGTON et al., 1998; JOHNSON; HOVERSTAD, 2002; SILVA et al., 2002). Em geral, aplicações realizadas em estágios iniciais de desenvolvimento resultam em maior eficácia de controle (MARQUES et al., 2012).

Algumas plantas, como as de *Lolium multiflorum* (azevém) apresentam diferenças foliares que modificaram a sensibilidade ao glyphosate, que vão desde a modificações de compactação de células do mesofilo até modificações na proporção floema/xilema (GALVAN et al., 2012). A absorção foliar é um dos mecanismos da resistência ao glyphosate em *Sorghum halepense* (capim-massambará) tanto por uma maior retenção foliar, quanto por uma menor velocidade de absorção em plantas menos sensíveis (VILA-AIUB et al., 2011).

A diferenciação na absorção de herbicidas também é característica de plantas tolerantes (CRUZ-HIPOLITO et al., 2011). A essa barreira ao herbicida pode-se atribuir a presença de ceras epicuticulares ou a epidermes mais espessas (HESS; FALK, 1990). Além disso, plantas em estágios mais avançados podem modificar sua composição foliar, principalmente aquela relacionada à camada epicuticular, tornando folhas velhas mais lipofílicas e alterando assim a suscetibilidade da planta ao herbicida. Estudos desse tipo são fundamentais para o sucesso do controle químico de plantas daninhas (Chacalis et al., 2011). Este trabalho teve por objetivo analisar a anatomia foliar de *Spermacoce*

*verticillata* em diferentes estágios vegetativos de desenvolvimento e relacionar esta anatomia com a suscetibilidade a aplicação de herbicidas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para caracterização foliar de *S. verticillata* foram conduzidos dois experimentos na Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, ESALQ, USP sendo o primeiro a avaliação histológica das populações de *S. verticillata* e o segundo a análise de microscopia eletrônica de varredura de folhas. Plantas foram originadas por sementes obtidas de maneira semelhante ao capítulo dois.

Foram avaliados três estágios fenológicos sendo eles a) plantas com 2-4 folhas totalmente expandidas, b) plantas com 4-6 folhas completamente expandidas e c) plantas em florescimento. Para cada estágio utilizado foram coletadas 4 folhas, sendo elas retiradas dos dois nós mais apicais. Para cada par de folhas, uma foi destinada para a confecção de lâminas para contagem de estômatos e células epidérmicas ordinárias e para análise ao microscópio eletrônico de varredura. A segunda folha do nó foi utilizada confecção de lâminas histológicas para obtenção dos demais parâmetros (espessura da cutícula e epiderme, largura e altura da nervura central e altura do parênquima paliçádico e lacunoso). Portanto, para cada indivíduo, 2 folhas foram analisadas em regiões diferentes.

### **Análises anatômicas**

Todas as folhas coletadas foram fixadas em solução Karnovsky (Karnovsky 1965, modificada com a utilização de tampão fosfato pH 7,2), submetidas à bomba de vácuo para retirada do ar contido nos tecidos, para posteriores análises estruturais. Para a confecção das lâminas histológicas permanentes, parte das amostras foi desidratada em série etílica e infiltradas em historresina (LeicaHistoresin®) segundo as instruções do fabricante. Os blocos obtidos foram seccionados em micrótomo rotativo manual (Leica®) com navalha do tipo C, a uma espessura de 5 µm. As secções foram coradas com azul de toluidina 0,05% (Sakai, 1973) em tampão fosfato e citrato pH 4,5 e montadas em resina sintética Entellan® (Merck®).

Para caracterização das células epidérmicas em vista frontal e para a contagem de estômatos, de células epidérmicas ordinárias e para contagem de tricomas, foi realizada a

técnica de dissociação de epiderme em solução de álcool etílico, ácido acético glacial e glicerina (na concentração de 3:1:1) (JOHANSEN, 1940). Os fragmentos foram corados com safranina 1% em água (BUKATSCH, 1972) e montados em glicerina para posterior captura de imagens.

Os seguintes parâmetros foram obtidos a partir das seções transversais do limbo foliar: espessura da cutícula das faces adaxial e abaxial; espessura das células epidérmicas em ambas as faces; espessura total da lâmina foliar; espessura do parênquima paliçádico e do parênquima lacunoso e altura e largura da nervura central. Para cada parâmetro, foram realizadas cinco medidas/contagens. Para as medições e contagens foi utilizado o Software Image J (RASBAND, 2006) e o software Image Pro Plus.

A documentação dos resultados foi feita através da captura de imagens a partir das lâminas usando câmera de vídeo Leica® DFC310Fx acoplada ao microscópio Leica® DM LB, com auxílio do software LAS 4.0. As observações de cada característica foram repetidas por cinco vezes, em duas folhas para cada cinco indivíduos, totalizando 50 repetições por estágio. Esses dados foram submetidos a análise de variância que quando significativa, tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

### **Microscopia eletrônica de varredura**

As análises de superfície foliar foram realizadas com amostras previamente fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965 - modificada com a utilização de tampão fosfato pH 7,2), desidratadas em série etílica até etanol absoluto, secas pelo método do ponto crítico de CO<sub>2</sub> (Horridge e Tamm 1969) no equipamento Balzers modelo CPD 030, montadas sobre suportes de alumínio e cobertas com uma camada de ouro de 30 a 40 nm no equipamento Balzers modelo SCD 050.

As observações e eletromicrografias foram realizadas ao microscópio eletrônico de varredura LEO modelo VP 435, operado a 20 kV, com as escalas das eletromicrografias diretamente impressas nas mesmas, no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Agricultura - NAP/MEPA - da ESALQ/USP e a avaliação se deu através da observação dessas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análise anatômica

Observando-se plantas de *Spermacoce verticillata*, notou-se que com o maior desenvolvimento da espécie, essas passaram a apresentar menor espessura foliar. A análise da cutícula foliar na sua superfície adaxial não resultou em diferenças na espessura nos diferentes estágios avaliados, porém, na face abaxial, a cutícula apresentou-se mais espessa nos estágios mais avançados, contrariando o observado para a espessura total da folha (Tabela 1). Esses resultados de espessura de cutícula, porém, pouco impactam a espessura total foliar observada, representando juntas (adaxial + abaxial), na média 0,06%, do valor total observado.

Já os dados observados para a epiderme foliar seguem o observado para a espessura total da lâmina foliar. A epiderme adaxial não apresentou diferenças significativas de espessura ao longo dos estágios de desenvolvimento, porém, a abaxial, diminuiu com o avanço dos estágios, sendo menos espessa em plantas em florescimento em comparação com plantas apresentando de 2-4 folhas. As epidermes nesse caso representaram 31% da espessura total foliar (Tabela 1).

**Tabela 1.** Espessura laminar, das cutículas e das epidermes de folhas de *Spermacoce verticillata* em três estágios vegetativos de desenvolvimento.

Estágio/ Superfície Foliar	Espessura Lâmina Foliar (µm)	Cutícula (µm)		Epiderme (µm)	
		Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial
2-4 folhas	252,12 a	0,76 a	0,69 ab	40,68 a	36,88 a
4-6 folhas	248,33 ab	0,79 a	0,67 b	42,67 a	35,25 ab
Florescimento	235,65 b	0,80 a	0,74 a	42,94 a	32,86 b
F	3,61 *	1,64 <sup>NS</sup>	4,27 *	1,63 <sup>NS</sup>	4,24 *
DMS <sup>1</sup>	15,19	0,05	0,05	3,23	3,28
CV <sup>2</sup> (%)	13,06	15,41	17,4	16,21	19,82

<sup>1</sup>Diferença mínima significativa. <sup>2</sup>Coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, em nível de probabilidade de erro de 5%.

\*Significativo a 5% de probabilidade. <sup>NS</sup>Não significativo.

A cutícula nesse caso, na face adaxial, se manteve da mesma espessura durante os estágios de desenvolvimento da planta, não implicando necessariamente devido a esse motivo, possíveis diferenças de controle observadas com a aplicação de herbicidas. Porém, para anular o efeito da cutícula nas diferenças de suscetibilidade da espécie, seria necessária uma análise dos componentes dessa, pois esses podem sofrer alterações de acordo com os estágios de desenvolvimento da planta (SILVA et al., 2002).

Ainda, as diferenças de espessura de cutícula e epiderme, nas faces abaxiais da planta, pouco impactariam o efeito de herbicida, pois em geral a retenção desse em folhas eudicotiledôneas ocorre na face adaxial (superior) da planta, diferente de gramíneas, que devido a orientação foliar, podem reter maiores quantidades de herbicidas na superfície abaxial (SCHOTT et al., 1991).

Do ponto de vista fisiológico, a espessura foliar apresenta relação inversamente proporcional com a área foliar e relação proporcional com a densidade estomática. O aumento da área foliar, bem como diminuição dos estômatos com o avanço da idade da planta podem estar relacionados com mecanismos que elevem a transpiração da espécie (BOEGER; WISNIEWSKI, 2003). Porém, diferenças na cutícula da face abaxial (nesse caso, um aumento da sua espessura) são consideradas como prevenção contra a transpiração e nesse caso podem balancear esse efeito (LARCHER, 2000).

Se por um lado, a redução da espessura da epiderme foliar, pode levar a planta a uma condição de fragilidade frente a fatores do meio, nesse caso, plantas de *S. verticillata* apresentaram maiores espessuras foliares em todos os estágios observados se comparadas a outras plantas daninhas como *Galinsoga parviflora*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*, porém apresentam menores espessuras de cutícula (PROCÓPIO et al., 2003).

Com relação aos dados observados para o vaso condutor, observou-se que em estágios mais avançados de desenvolvimento, plantas de *S. verticillata* apresentaram menor largura e menor altura, portanto, vasos de menores diâmetros com o avançar da idade da planta. Corroboram essa diminuição, as observações realizadas para a altura do parênquima, seja paliçádico, seja lacunoso e a diminuição da espessura foliar. Vasos de menor diâmetro, translocam menores quantidades de herbicida (Tabela 2).

**Tabela 2.** Largura e altura da nervura central e altura dos diferentes parênquimas presentes em folhas de *Spermacoce verticillata* em três estágios de desenvolvimento.

Estágio/ Superfície Foliar	Nervura Central ( $\mu\text{m}$ )		Altura Parênquima ( $\mu\text{m}$ )	
	Largura	Altura	Paliçádico	Lacunoso
2-4 folhas	16,96 a	45,36 a	0,16 a	0,37 A
4-6 folhas	17,8 a	43,24 a	0,13 b	0,34 B
Florescimento	13,12 b	35,98 b	0,13 b	0,34 B
F	20,3 **	16,53 **	16,73 **	13,72 **
DMS <sup>1</sup>	1,85	4,005	0,011	0,016
CV <sup>2</sup> (%)	24,53	20,6	17,2	9,62

<sup>1</sup>Diferença mínima significativa. <sup>2</sup>Coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, em nível de probabilidade de erro de 5%. \*\* Significativo a 1% de probabilidade. <sup>NS</sup>Não significativo.

O parênquima paliçádico é formado por vários extratos de células, que em geral, responde a alterações de intensidade luminosa. O menor número de extratos do parênquima paliçádico apresentado aqui em estágios mais avançados de desenvolvimento acompanha o aumento da área foliar, contribuindo para a redução da espessura da folha. Essa mesma compensação pode explicar as reduções, também observadas, para o parênquima lacunoso e a possível maior transpiração das plantas, já que a redução de espaços intercelulares reduz o CO<sub>2</sub> disponível para ser usado na fotossíntese (FAHN, 1990).

Por outro lado, a compactação de espaços celulares pode diminuir a velocidade da translocação de herbicidas como já observado, por exemplo, para *Lolium multiflorum* e para *Brassica juncea* com o uso do herbicida glyphosate (GALVAN et al., 2012; HUANGFU et al., 2009).

Também com o avançar dos estágios de desenvolvimento, plantas de *S. verticillata* reduziram a presença de estômatos nas suas folhas em ambas as superfícies (adaxial e abaxial). Ressalta-se que pelos dados observados trata-se de uma espécie anfiestomática, pois apresenta estômatos em ambas as faces de sua superfície foliar, característica comumente encontrada entre espécies de plantas daninhas (MACHADO et al., 2008; PROCÓPIO et al., 2003; FERREIRA et al., 2002).

O índice estomático, para ambas as faces foliares, foi reduzido nos estágios em que a planta apresentava 4-6 folhas e em plantas em florescimento. O número de tricomas na superfície adaxial elevou-se com o avançar dos estágios e variou na superfície abaxial,

sendo maior no estágio intermediário de desenvolvimento e menor no estágio inicial (Tabela 3).

**Tabela 3.** Número de estômatos, índice estomático e número de tricomas de folhas de *Spermacoce verticillata* em três estágios de desenvolvimento.

Estágio/ Superfície Foliar	Número Estômatos <sup>1</sup>		Índice Estomático		Número Tricomas <sup>1</sup>	
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial
2-4 folhas	16,96 a	45,36 a	0,16 a	0,37 a	36,84 c	22,04 c
4-6 folhas	17,8 a	43,24 a	0,13 b	0,34 b	43,56 b	43,56 a
Florescimento	13,12 b	35,98 b	0,13 b	0,34 b	49,12 a	31,5 b
F	20,3 **	16,53 **	16,73 **	13,72 **	15,24 **	61,41 **
DMS <sup>2</sup>	1,85	4,005	0,011	0,016	5,27	4,61
CV <sup>3</sup> (%)	24,53	20,6	17,2	9,62	25,79	30,07

<sup>1</sup>Por 0,3 mm<sup>2</sup>. <sup>2</sup>Diferença mínima significativa. <sup>3</sup>Coefficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, em nível de probabilidade de erro de 5%. \*\*, \* Significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente. <sup>NS</sup>Não significativo.

A densidade estomática está relacionada a capacidade fotossintética das folhas, uma vez que, quanto maior o número de estômatos por área, menor a resistência à difusão de gases. Assim, a menor densidade estomática observada em ambas as faces das folhas de *S. verticillata* com o aumento da idade da planta, pode levar a menores taxas fotossintéticas. Essa diferença pode ser compensada pela maior quantidade de folhas apresentada por planta, bem como o tamanho dessas folhas (LIMA JUNIOR et al., 2006).

Com relação ao índice estomático esse em geral é mais elevado quando a planta se encontra sob maiores intensidades luminosas (LIMA JUNIOR et al., 2006). No caso, por tratar-se de uma planta daninha, é comum que essa esteja adaptada em seus estágios iniciais a apresentar maior densidade estomática a fim de competir com outras espécies em seu desenvolvimento, sendo que em estágios mais avançados, venha a apresentar reduções do número de estômatos presentes devido a menor intensidade luminosa que estaria submetida. Corroborar essa estratégia o fato de que plantas mais adaptadas ao estresse, apresentariam em teoria, maiores capacidades de transporte de seiva, e por isso sendo observada também a redução das medidas apresentadas pelos vasos condutores nos estágios mais avançados (ALVES; ANDYALOSSY-AFFONSO, 2000).

Para o número de tricomas, sabe-se que a presença desses pode prejudicar o controle proporcionado por herbicidas, por interceptar e causar a aderência das gotas de pulverização (HESS; FALK, 1990; PROCÓPIO et al., 2003; GALVANI et al., 2012). A relação entre número de estômatos e tricomas e a facilidade de absorção de herbicidas é

muito mal interpretada. Alguns autores alegam que a maior presença de estômatos pode elevar a eficácia de produtos, porém sabe-se que a absorção desses não ocorre por essas estruturas e sim nos espaços intercelulares que apresentam essas estruturas (GREENE; BULKOVAC, 1974; SCHONHERR, 2006; TUFFI-SANTOS et al., 2009; BARROSO et al., 2015). Para que o herbicida penetre o estômato, esse necessita quebrar a tensão superficial da gota, sendo recomendado nesse caso a adição à calda do herbicida de surfactantes organossiliconados (FERREIRA et al., 2012; PROCÓPIO et al., 2003). Por outro lado, nas células-guarda dos estômatos, a presença da cutícula é reduzida, o que pode facilitar a absorção de herbicidas (SCHONHERR, 2006).

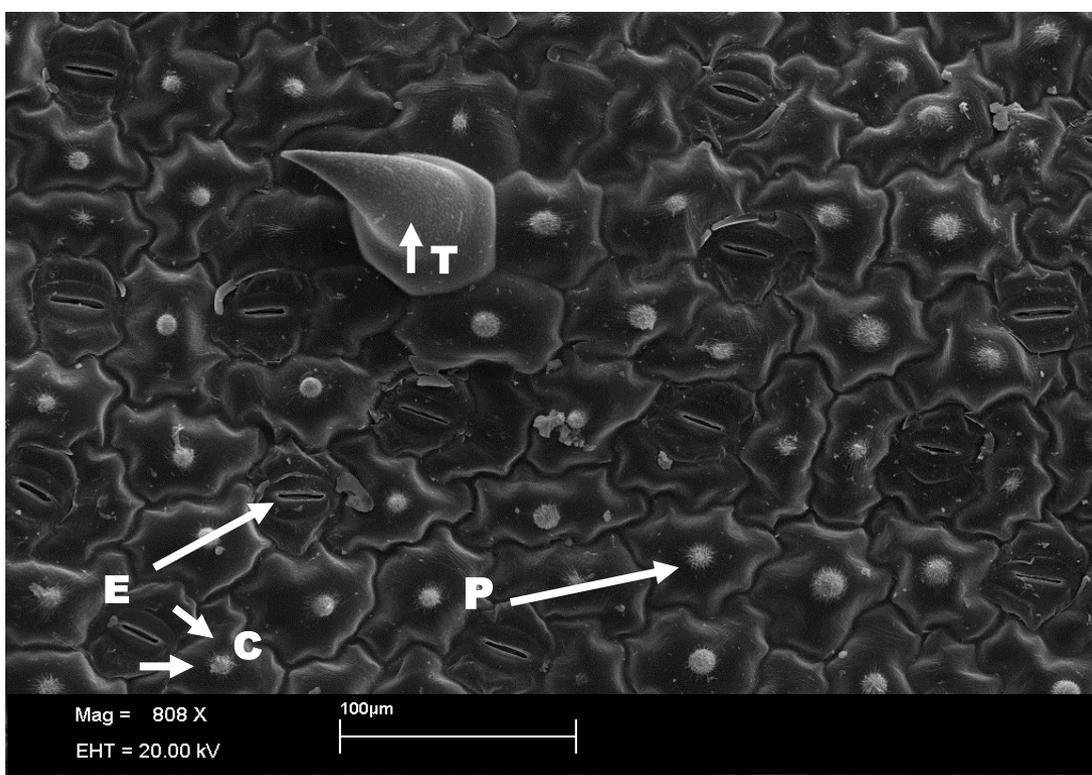
As estruturas anatômicas da folha, aqui observadas, podem influenciar a deposição, retenção, absorção e translocação de soluções aplicadas sobre as folhas, funcionando como barreiras e assim associando-se a maior ou menor suscetibilidade ao controle com herbicidas. Porém, observou-se que com o avançar dos estágios de desenvolvimento de *S. verticillata*, a planta reduziu a espessura de suas folhas, reduzindo conjuntamente a espessura da sua epiderme abaxial, dos seus vasos condutores, das suas células fotossintéticas e do seu número de estômatos, estando pouco provavelmente essas características relacionadas a falhas de controle.

Por outro lado, plantas em maior estágio de desenvolvimento apresentaram maiores quantidades de tricomas presentes na superfície adaxial, superfície essa que mantém o maior contato com as gotas pulverizadas do herbicida, podendo essa ser uma barreira a absorção de alguns produtos, como já observado por outros autores (PROCÓPIO et al., 2003). Reforçam os dados aqui apresentados, a quase inexistência de herbicidas que resultaram em reduções de controle de *S. verticillata* quando aplicados em plantas mais desenvolvidas (como observado no capítulo 2).

As falhas de controle de *S. verticillata*, dentre os relatos realizados por produtores, bem como pelos dados observados em conjunto nesse trabalho, podem estar ligadas a outros fatores, como a tolerância dessa espécie a herbicidas inibidores da ALS e/ou PROTOX, ou devido à resistência múltipla a esses mecanismos de ação, como já relatado para outras espécies (SHOUP et al., 2002; WHALEY et al., 2007). Essas diferenças de controle precisam ser melhores investigadas.

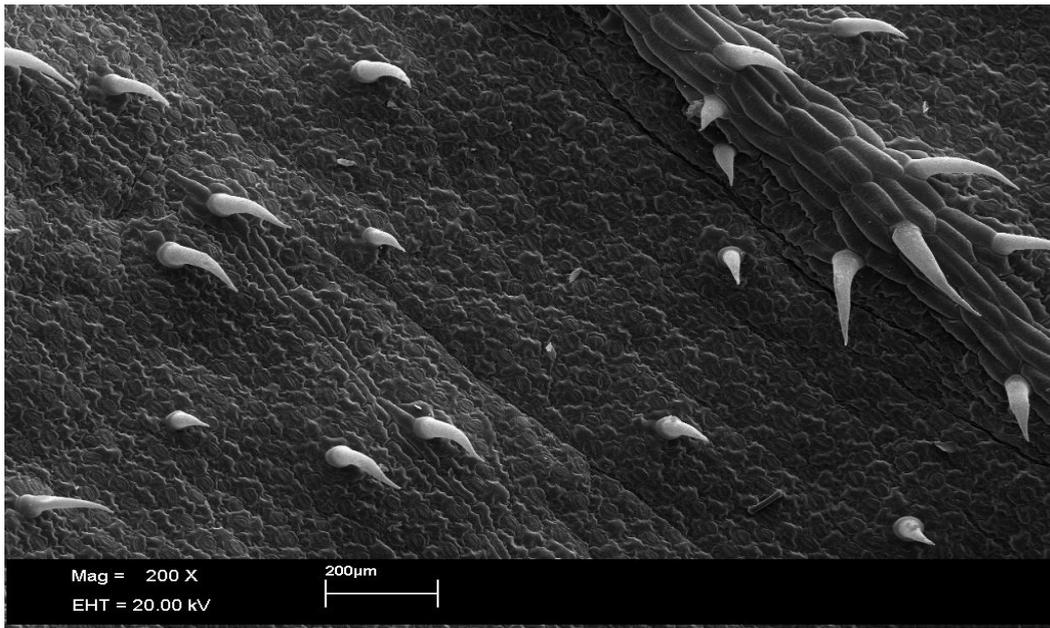
## Microscopia eletrônica de varredura

As folhas de *S. verticillata* apresentaram baixas espessuras de cera epicuticular, o que pode ser visto na Figura 1. Os estômatos dessa espécie, que se apresentou anfiestomática, são do tipo paracítico, apresentando duas células subsidiárias paralelas às células-guarda e apresentaram distribuição reticulada, comum em eudicotiledôneas. As células epidérmicas apresentaram a presença de papilas, que por podem convergir raios luminosos para o interior do mesófilo, sendo um mecanismo adaptativo auxiliar a fotossíntese, característica comum na família Rubiaceae (PEREIRA et al., 2003).



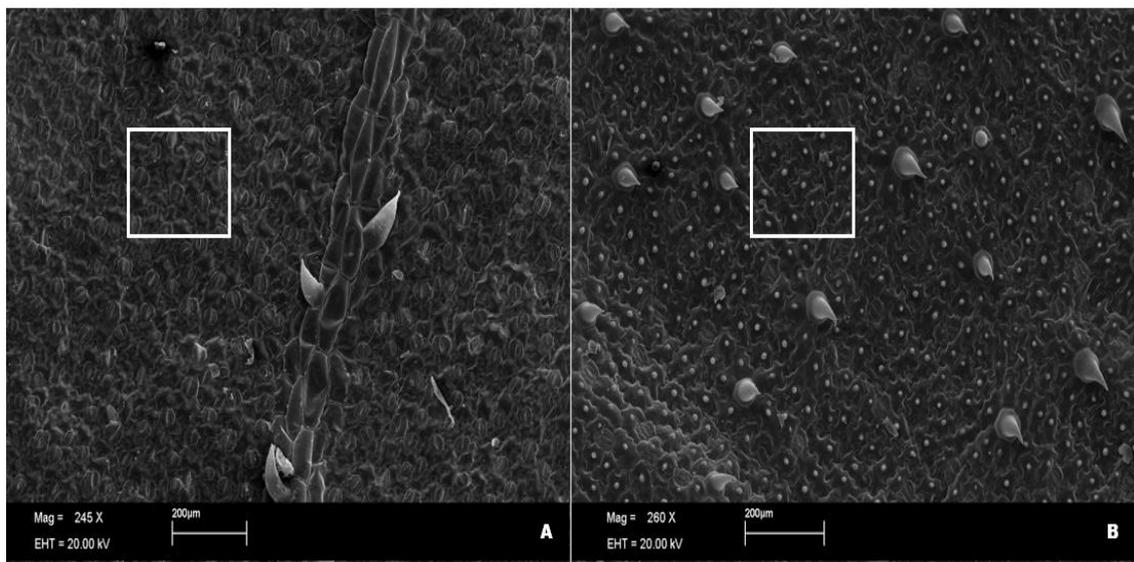
**Figura 1.** Aspecto geral da superfície adaxial de folhas de *Spermacoce verticillata* observadas em microscópio eletrônico de varredura em estágio de 4-6 folhas. T, tricomas; E, estômatos; C, células subsidiárias; P, papilas.

Os tricomas encontrados apresentaram-se unicelulares, do tipo tector e distribuídos na superfície abaxial da lâmina enfileirados do lado da nervura central e também distribuídos aleatoriamente em menor intensidade no restante da folha, como observado na superfície abaxial (Figura 2).

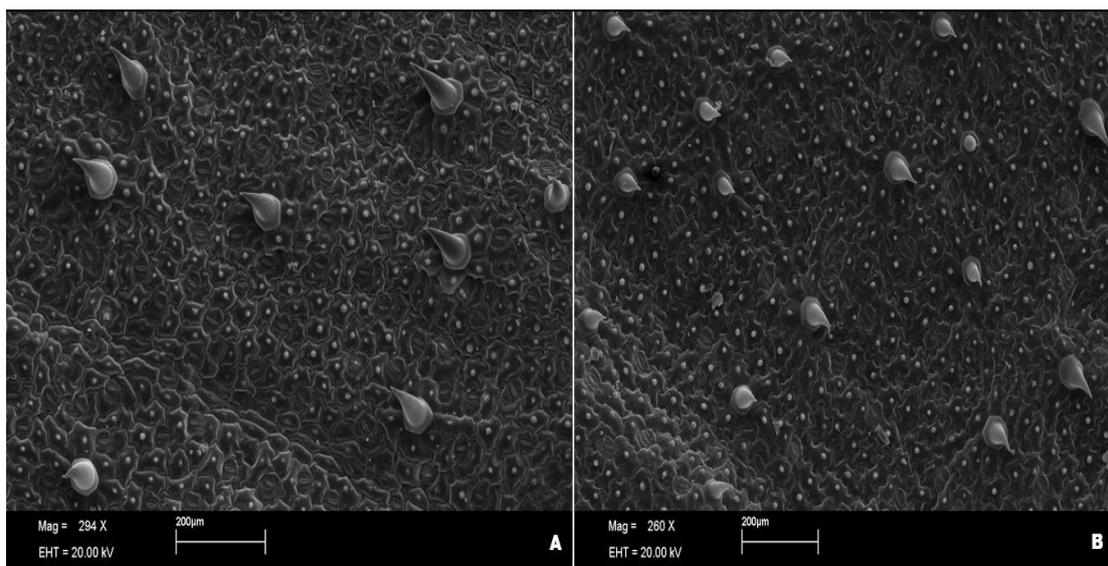


**Figura 2.** Aspecto geral da superfície abaxial de folhas de *Spermacoce verticillata* observadas em microscópio eletrônico de varredura detalhando a distribuição dos tricomas em plantas de 4-6 folhas.

No avanço dos estágios de desenvolvimento da planta, como observado nas análises histológicas, o número de estômatos foi reduzido (Figura 3), ao contrário do número de tricomas, que se elevou (Figura 4).



**Figura 3.** Aspecto geral da superfície adaxial de folhas de *Spermacoce verticillata* observadas em microscópio eletrônico de varredura detalhando a redução do número de estômatos nos estágios posteriores de desenvolvimento. A, plantas com 2-4 folhas; B, plantas em florescimento.



**Figura 4.** Aspecto geral da superfície adaxial de folhas de *Spermacoce verticillata* observadas em microscópio eletrônico de varredura detalhando o incremento do número de tricomas nos estágios posteriores de desenvolvimento. A, plantas com 2-4 folhas; B, plantas em florescimento.

## CONCLUSÕES

Com o avançar dos estágios de desenvolvimento de *Spermacoce verticillata* as plantas passaram a apresentar reduções da sua espessura foliar, devido a reduções da epiderme abaxial, das medidas dos vasos condutores e de seus parênquimas. Em estágios mais avançados de desenvolvimento as folhas apresentaram em sua superfície adaxial menor quantidade de estômatos e maior quantidade de tricomas. Não foram encontradas ligações entre essas características e a suscetibilidade diferencial da espécie à aplicações de herbicidas.

## REFERÊNCIAS

ALVES, E. S.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the wood of some Brazilian species 1: growth rings and vessels. **Iawa Journal**, v. 21, p. 3-30, 2000.

BARROSO, A. A. M. et al. Does sourgrass leaf anatomy influence glyphosate resistance? **Comunicata Scientiae**, v. 6, p. 445-453, 2015.

BOEGER, M. R.; WISKIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estágios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (floresta atlântica) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 61-72, 2003.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 255, 1972.

CHACALIS, D. et al. Characterization of leaf surface, wax composition, and control of redvine trumpet creeper with glyphosate. **Weed Science**, v. 49, p. 156-163, 2001.

CRUZ-HIPOLITO, H. et al. Glyphosate tolerance by *Clitoria ternatea* and *Neonotonia wightii* plants involves differential absorption and translocation of the herbicide. **Plant Soil**, v. 347, p. 221-230, 2011.

FAHN, A. **Plant Anatomy**. Pergamon Press, Oxford, 1990.

FERREIRA, E. A. et al. Estudos anatômicos de folhas de plantas daninhas. I - *Nicandra physaloides*, *Solanum viarum*, *Solanum americanum* e *Raphanus raphanistrum*. **Planta Daninha**, v. 20, p. 159-167, 2002.

FERREIRA, E. A. et al. Translocação do glyphosate em biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 365-370, 2006.

GALVAN, J. et al. Leaf anatomy of *Lolium multiflorum* sensitive and resistant to glyphosate. **Planta Daninha**, v. 30, p. 407-413, 2012.

GREENE, D. W.; BUKOVAC, M. J. Stomatal penetration: effect of surfactants and role in foliar absorption. **American Journal of Botany**, v. 61, p. 101-6, 1974.

HESS, F. D.; FALK, R. H. Herbicide deposition on leaf surfaces. **Weed Science**, v. 38, p. 280-288, 1990.

HETHERINGTON, P. et al. The absorption, translocation and distribution of the herbicide glyphosate in maize expressing the CP-4 transgene. **Journal of Experimental Botany**, v. 50, p. 1.567-1.576, 1998.

HORRIDGE, G.; TAMM, S. Critical point drying for scanning electron microscopic study of ciliary motion. **Science**, v. 163, p. 818, 1969.

HUANGFU, C. et al. Morphological disparities in the epidermal and anatomical features of the leaf among wild *Brassica juncea* populations. **Weed Biology and Management**, v. 9, p. 232-242, 2009.

JOHANSEN, D. **Plant Microtechnique**. New York: Mcgraw-Hill Book co. Inc, 1940.

JOHNSON, G. A.; HOVERSTAD, T. R. Effect of row spacing and herbicide application timing on weed control and grain yield in corn (*Zea mays*). **Weed Technology**, v. 16, p. 548-553, 2002.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **The Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 137-138, 1965.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Rima artes e textos, São Carlos, 2000.

LIMA JUNIOR, E. C. et al. Aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 30, p. 33-41, 2006.

MACHADO, A. F. L. et al. Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de *Digitaria insularis*. **Planta daninha**, v. 26, p. 1-8, 2008.

MARQUES, R. P. et al. Características da anatomia foliar de espécies de braquiária e sua relação com a sensibilidade a herbicidas. **Planta Daninha**, v. 30, p. 809-816, 2012.

PEREIRA, Z. V. et al. Morfoanatomia foliar de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). **Revista Árvore**, v. 27, p. 759-767, 2003.

PROCÓPIO, S. O. et al. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. I - *Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. **Planta Daninha**, v. 21, p. 1-9, 2003.

RASBAND, W. S.; Image, J, U. S. Nacional Institute of Health, Bethesda, Maryland. <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>. Acesso em: 30 de ago de 2016.

SAKAI, W. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue o. **Stain technology**, v. 43, p. 247-249, 1973.

SCHONHERR, J. Characterization of aqueous pores in plant cuticles and permeation of ionic solutes. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 2.471- 2.491, 2006.

SCHOTT, J. J. et al. Effects of adjuvants on herbicidal action. III – Effects of petroleum and rapeseed oils on diclofopmethylacton on ryegrass. **Agronomie**, v. 11, p. 27–34, 1991.

SHOUP, D. E. et al. Common waterhemp (*Amarathus rudis*) resistance to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. **Weed Science**, v. 51, p. 145-150, 2003.

SILVA, A. A. et al. **Biologia e Controle de Plantas Daninhas**. Brasília: ABEAS, 2002. 189 p.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Leaf anatomy and morphometry in three eucalypt clones treated with glyphosate. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 129-136, 2009.

VIDAL, R. A. **Ação dos herbicidas**. 1ª ed. Porto Alegre. 2002. 89 p.

VILA-AIUB, M. M. et al. Glyphosate resistance in perennial *Sorghum halepense*, endowed by reduced glyphosate translocation and leaf uptake. **Pest Management Science**, v. 68, p. 430-436, 2011.

WHALEY, C. M. et al. A new mutation in plant ALS confers resistance to five classes of ALS-inhibiting herbicides. **Weed Science**, v. 55, p. 83-90, 2007.