

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CÂMPUS UNIVERSITARIO DE SINOP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS

MECANISMOS MORFOFISIOLÓGICOS DE TOLERÂNCIA DE
***Borreria densiflora* AO GLYPHOSATE**

Rodrigo Pereira Dourado
Engenheiro Agrônomo

RODRIGO PEREIRA DOURADO

**MECANISMOS MORFOFISIOLÓGICOS DE TOLERÂNCIA DE
Borreria densiflora AO GLYPHOSATE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano André Petter
Coorientador: Prof. Dr. Matheus de Freitas Souza

Junho de 2024

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

D739m Dourado, Rodrigo Pereira.
Mecanismos morfofisiológicos de tolerância de *Borreria densiflora* ao glyphosate [recurso eletrônico] / Rodrigo Pereira Dourado. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 62 f., pdf). -- 2024.

Orientador: Fabiano André Petter.

Coorientador: Matheus de Freitas Souza.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Sinop, 2024.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

1. Ácido ametilfosfônico. 2. Cera epicuticular. 3. Anatomia foliar. 4. Vassourinha-de-botão. 5. Alcanos. I. Petter, Fabiano André, *orientador*. II. Souza, Matheus de Freitas, *coorientador*. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "Mecanismos Morfofisiológicos de tolerância de borreria densiflora ao Glyphosate"

AUTOR (A): Mestrando Rodrigo Pereira Dourado

Dissertação defendida e aprovada em **21 de junho de 2024**.

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Presidente Banca Doutor(a) Fabiano André Petter
Instituição : Universidade Federal de Mato Grosso

Orientador(a) Doutor(a) Fabiano André Petter
Instituição : Universidade Federal de Mato Grosso

Examinador(a) Externo(a) Doutor(a) Daniel Valadão Silva
Instituição : Universidade Federal Rural do Semi Árido

Examinador(a) Externo(a) Doutor(a) Eliezer Antonio Gheno
Instituição : Centro de Pesquisa Ceilero do Norte - CPCEN

Examinador(a) Externo(a) Doutor(a) Matheus de Freitas Souza
Instituição : Universidade de Rio Verde

Examinador(a) Externo(a) Doutor(a) Guilherme Braga Pereira Braz
Instituição : Universidade do Rio Verde

Examinador(a) Suplente Doutor(a) Fellipe Goulart Machado
Instituição : Centroagro Pesquisa no Cerrado

SINOP, 21/06/2024.



Documento assinado eletronicamente por **GUILHERME BRAGA PEREIRA BRAZ**, Usuário Externo, em 02/07/2024, às 17:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eliezer Antonio Gheno**, Usuário Externo, em 02/07/2024, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Matheus de Freitas Souza**, Usuário Externo, em 06/07/2024, às 18:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **FABIANO ANDRE PETTER**, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso, em 08/07/2024, às 10:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Valadão Silva**, Usuário Externo, em 11/07/2024, às 18:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6914334** e o código CRC **B067ACD4**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que tenho certeza que me acompanha durante toda minha vida e não somente nesta jornada acadêmica.

Agradeço a Universidade Federal de Mato Grosso, e ao programa de Pós-Graduação em Agronomia que por meio do seu corpo docente possibilitaram meu desenvolvimento acadêmico.

Ao meu orientador professor Dr. Fabiano André Petter, pela orientação, dedicação, confiança e incentivo para a realização deste trabalho e pelas experiências compartilhadas.

A UNIRV campus Rio Verde - GO, nas pessoas do professor Dr. Matheus de Freitas Souza e professor Dr. Guilherme Braga Pereira Braz pela confiança, suporte e amizade, pela disponibilidade da estrutura da instituição para desenvolver as atividades necessárias para finalização deste projeto.

A minha esposa Vanessa Miyake Dourado e minha filha Isabela Miyake Dourado por toda a compreensão, dedicação, companheirismo e incentivo durante esta jornada.

Aos familiares, amigos e colegas de trabalho, pela força e apoio durante o período de pós-graduação.

A todos os profissionais que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste projeto.

Muito obrigado!

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Rodrigo Pereira Dourado, nascido em 13 de Abril de 1985 no município de Rondonópolis, estado do Mato Grosso, filho de José Ubaldo França Dourado e Enilza Pereira Dourado. Em fevereiro de 2009 ingressou no curso de bacharelado em Agronomia pelo Faculdade Anhanguera de Rondonópolis (FAR), em fevereiro de 2014 obteve o título de Engenheiro Agrônomo, trabalhando como profissional na área de pesquisa experimental de defensivos agrícolas e desenvolvimento de mercado nas empresas Nufarm do Brasil e Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. Em fevereiro de 2021 ingressou no curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Agronomia na Universidade Federal de Mato Grosso, câmpus universitário de Sinop.

RESUMO

MECANISMOS MORFOFISIOLÓGICOS DE TOLERÂNCIA DE *Borreria densiflora* AO GLYPHOSATE

A tolerância de plantas daninhas a herbicidas é um fenômeno causado por diferentes fatores, sejam eles morfológicos, anatômicos, fisiológicos e bioquímicos. Conhecer o mecanismo que tornam as plantas tolerantes aos herbicidas é crucial para a elaboração de estratégias mais eficientes de controle. Assim levantou-se a hipótese de que mudanças nas características anatômicas e da cera cuticular ao longo dos estágios fenológicos de *Borreria densiflora* DC. (vassourinha-de-botão) desempenham um papel importante na absorção e metabolização do herbicida glyphosate. Desta forma, um experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento experimental inteiramente casualizados, em esquema fatorial 4x2x3+1. O primeiro fator consistiu na aplicação de glyphosate em quatro estádios fenológicos da *B. densiflora* DC. O segundo fator foram duas doses (1440 e 2880 gr.ea. ha⁻¹) do glyphosate. O terceiro foi a época de coleta das folhas após a aplicação dos herbicidas (24, 48 e 72 horas após a aplicação). Além disso, um controle adicional sem aplicação de glyphosate foi adicionado. As variáveis avaliadas foram: espessura da folha e epidermes, quantidade de cera cuticular, composição química da cera cuticular, eficácia de controle e o teor de glyphosate e ácido aminometilfosfônico (AMPA) na parte aérea. Os resultados evidenciam que a eficácia do glyphosate varia com o estágio fenológico, sendo mais acentuada nas fases iniciais de desenvolvimento. A metabolização do glyphosate, especialmente durante o florescimento, sugere uma adaptação da planta para resistir ao herbicida. As mudanças na composição da cera cuticular, incluindo a presença de compostos como decosano e 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) phenol, associam-se à menor absorção do glyphosate, revelando a influência direta desses componentes na dinâmica da resposta da planta ao herbicida. Essas descobertas contribuem para uma compreensão aprofundada das interações planta-herbicida, fornecendo uma base sólida para estratégias integradas e sustentáveis no controle de *B. densiflora* DC.

Palavras-chaves: ácido aminometilfosfônico; cera epicuticular; anatomia foliar; vassourinha-de-botão; alcanos; metabolização; absorção foliar.

ABSTRACT

MORPHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF TOLERANCE OF *Borreria densiflora* TO GLYPHOSATE

Weed tolerance to herbicides is a phenomenon caused by different factors, be they morphological, anatomical, physiological and biochemical. Knowing the mechanism that makes plants tolerant to herbicides is crucial for developing more efficient control strategies. Thus, we start from the hypothesis that changes in anatomical characteristics and cuticular wax throughout the phenological stages of *Borreria densiflora* DC. play a crucial role in the absorption and metabolization of the herbicide glyphosate. The experiment was conducted in a greenhouse in a completely randomized experimental design, in a factorial scheme 4x2x3+1. The first factor consisted of the application of glyphosate in four phenological stages of *B. densiflora* DC. The second factor was two doses of glyphosate. The third was the time of leaf collection after the application of herbicides. Furthermore, an additional control without glyphosate application was added. The variables evaluated were: leaf and epidermis thickness, amount of cuticular wax, chemical composition of the cuticular wax, control efficacy and the content of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in the aerial part. The results show that the effectiveness of glyphosate varies with the phenological stage, being more pronounced in the initial stages of development. The metabolization of glyphosate, especially during flowering, suggests an adaptation of the plant to resist the herbicide. Changes in the composition of cuticular wax, including the presence of compounds such as decosane and 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) phenol, are associated with lower absorption of glyphosate, revealing the direct influence of these components on the dynamics of the cuticular wax response. plant to herbicide. These findings contribute to an in-depth understanding of plant-herbicide interactions, providing a solid foundation for integrated and sustainable strategies in *B. densiflora* DC. control.

Keywords: aminomethylphosphonic acid; epicuticular wax; leaf anatomy; button broom; alkanes; metabolization; leaf absorption.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Espessura da folha (mm), espessura do parênquima (mm), espessura da epiderme adaxial (mm), espessura da epiderme abaxial (mm) e relação quantidade de cera/área foliar (mg cm^2) obtidas para a *Borreria densiflora* DC. em 4 estádios de desenvolvimento diferentes. Letras minúsculas diferem as médias dos tratamentos pelo teste Tukey p-valor $< 0,05$25
- Figura 2- Intoxicação de *Borreria densiflora* DC. em diferentes estádios de desenvolvimento aos 28 dias após a aplicação de glyphosate após a aplicação de glyphosate nas doses de 1.440 e 2.880 g e.a. ha^{-1}32
- Figura 3- Concentração de glyphosate ($\mu\text{g kg}^{-1}$) na parte aérea de *Borreria densiflora* DC. em diferentes estádios de desenvolvimento após 24, 48 e 72 horas da aplicação das doses de 1.440 e 2.880 g de e.a ha^{-1} . Letras minúsculas diferem as médias referentes aos estádios de desenvolvimento e letras maiúsculas diferem as médias referentes a dose aplicada pelo teste Tukey p-valor $< 0,05$33
- Figura 4- Concentração de glyphosate ($\mu\text{g kg}^{-1}$) na parte aérea de *Borreria densiflora* DC. 24, 48 e 72 horas da aplicação das doses de 1.440 e 2.880 g de e.a. ha^{-1} de glyphosate em plantas com diferentes estádios fenológicos. Letras minúsculas diferem as médias referentes aos intervalos de avaliação após a aplicação dentro de cada estágio e dose pelo teste Tukey p-valor $< 0,05$35
- Figura 5- Correlação entre os parâmetros foliares, componentes da cera cuticular, concentração de glyphosate e a porcentagem de controle sobre plantas de *Borreria densiflora* DC. aos 28 dias após a aplicação de 1.440 (A) e 2.880 g e.a ha^{-1} (B).39

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Manejo de Plantas Daninhas	3
2.2. Origem <i>Borreria densiflora</i> DC.	5
2.2.1. Características morfológicas de <i>Borreria densiflora</i> DC.	5
2.2.2. Tolerância x Resistência em <i>Borreria densiflora</i> DC.	7
2.3. Características do herbicida glyphosate	9
2.4. Aspectos morfológicos em <i>Borreria densiflora</i> DC. que interferem no controle químico	11
2.5. Aspectos fisiológicos em <i>Borreria densiflora</i> DC. que interferem na ação do herbicida glyphosate	12
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
4 MATERIAS E MÉTODOS.....	20
4.1 Condições gerais do experimento.....	20
4.2. Aplicação do glyphosate	20
4.3. Variáveis avaliadas	20
4.3.1. Anatomia foliar	21
4.3.2. Extração e composição da cera cuticular	21
4.3.3. Eficácia de controle, extração e quantificação do glyphosate e AMPA.....	22
4.4. Análise estatística	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
5.1. Caracterização anatômica das folhas de <i>Borreria densiflora</i> DC.	24
5.2. Eficácia de controle e concentração de glyphosate e ácido aminometilfosfônico (AMPA) e sua correlação com as características anatômicas da folha	30
6. CONCLUSÕES	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXOS	51

1. INTRODUÇÃO

Com o avanço da agricultura, a abundância e diversidade de plantas daninhas em áreas agrícolas foram transformadas significativamente com a presença de espécies com características que dificultam seu efetivo controle (REDDY; NORSWORTHY, 2010; MONDAL, 2020). Antes mesmo da pressão de seleção, que pode resultar no surgimento de uma espécie resistente ao controle químico, há a dificuldade de controle das espécies consideradas tão somente tolerantes.

Devido ao surgimento de plantas daninhas tolerantes e resistentes ao glifosato, as empresas, buscaram a partir do melhoramento genético de plantas, o desenvolvimento de variedades e cultivares que sejam resistentes a mais de um herbicida (OSIPE et al., 2017).

Com os vários anos de cultivo da soja RR, geneticamente modificada para resistência ao herbicida glyphosate, e consequentes aplicações sucessivas do herbicida, atualmente é constatado na agricultura nacional a presença de biótipos resistentes e de espécies tolerantes ao glyphosate (NETO et al., 2019).

No estado do Mato Grosso, além de casos de plantas daninhas resistentes ao glyphosate como *Amaranthus palmeri*, *Eleusine indica*, *Digitaria insularis*, observamos também a presença de algumas espécies tolerantes ao glyphosate como erva-quente (*Spermacoce latifolia*), poaia-branca (*Richardia brasiliensis*), corda-de-viola (*Ipomoea spp*), etc., e mais recentemente, encontra-se disseminada em várias áreas de produção a vassourinha-de-botão (*Borreria densiflora* DC.) (IKEDA e CAVALIERI, 2019). Segundo dados atualizados, no Brasil há 58 espécies de plantas daninhas resistentes, sendo 11 delas resistentes ao glyphosate (HEAP, 2025).

Embora o uso do glyphosate tenha nos últimos anos sido alvo de críticas em diversos setores da sociedade e diante da ineficiência no controle de algumas espécies, não temos até o momento uma molécula com características técnicas e ambientais semelhantes que o substitua à altura, ao ponto de abrir mão de seu uso. O mecanismo de ação do glyphosate é único, agindo como inibidor da 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs). Atua na rota metabólica do ácido chiquímico interrompendo a síntese dos aminoácidos aromáticos triptofano, tirosina e fenilalanina (LANDRIGAN; BELPOGGI, 2019).

É evidente que a tolerância de espécies de plantas daninhas e o uso contínuo de determinados herbicidas é o primeiro passo para a ocorrência da pressão de seleção e consequentemente o surgimento de espécies resistentes (POWLES, 2008; POWLES; HOLTUM, 2018; LEGUIZAMON et al., 2019). A tolerância de plantas daninhas a herbicidas é um problema multifacetado que influencia os meios de subsistência da atividade agrícola e ameaça a segurança alimentar (EDWARDS, 2020).

Para se combater o problema das plantas daninhas tolerantes e resistentes, bem como reduzir o uso excessivo de herbicidas, são sugeridas estratégias alternativas de manejo em áreas agrícolas (FARTYAL et al., 2018). Entretanto, para se traçar alternativas de manejo em sistemas agrícolas é fundamental o conhecimento dos mecanismos envolvidos que impulsionam o processo de tolerância de uma espécie.

No caso vertente, é importante discutir os processos que envolvem a tolerância de vassourinha-de-botão ao herbicida glyphosate. Visualizamos na literatura, sobretudo no Brasil, uma lacuna ainda a ser preenchida com estudos que possam elucidar os mecanismos envolvidos no processo de tolerância de vassourinha-de-botão ao glyphosate. Diante disso, algumas questões precisam ser respondidas: seria esse mecanismo fisiológico ou morfológico? Ou ambos?

A fim de contemplar todos esses aspectos, o objetivo principal desta pesquisa foi avaliar o mecanismo de tolerância da planta daninha *Borreria densiflora* DC. sobre diferentes doses do herbicida glyphosate.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Manejo de Plantas Daninhas

Os termos "plantas invasoras", "plantas daninhas" e "ervas daninhas" têm sido utilizados de maneira congruente na literatura brasileira. Essas plantas também são denominadas como "plantas ruderais", "plantas silvestres", "mato" ou "inço". No entanto, todos esses conceitos estão fundamentados na indesejabilidade dessas plantas em áreas de interesse humano e cause prejuízos nas atividades de interesse econômico, ao acesso e trafegabilidade e ao meio ambiente (BLANCO, 1972).

Com relação à exploração agrícola, os prejuízos causados pelas plantas daninhas para as culturas de interesse incluem redução da produtividade, perda da qualidade do produto, redução no valor da terra e aumento do custo no manejo agrícola (FRIED et al., 2017). As plantas daninhas competem por recursos como água, luz, nutrientes, CO₂ e espaço com as culturas agrícolas (ALMEIDA et al., 2015). Também, podem afetar a cultura por meio da liberação de substâncias aleloquímicas, impedindo e/ou dificultando processos como a germinação de sementes, crescimento e o desenvolvimento da cultura. O efeito integrado dos fatores supracitados é chamado interferência, ou seja, o conjunto de ações que recebe uma determinada cultura em decorrência da presença da comunidade infestante em um determinado local (PITELLI, 1985).

O manejo de plantas daninhas visa à redução da comunidade infestante presente na lavoura de forma a minimizar sua interferência, sem necessariamente eliminá-las completamente ou erradicá-las (AGOSTINETTO et al., 2004; BUENO et al., 2013). Contudo, um dos fatores limitantes no manejo de plantas daninhas é o conhecimento sobre a biologia das espécies que se deseja controlar. Assim, conhecer a biologia e o manejo de plantas daninhas é essencial para o desenvolvimento de técnicas adequadas de manejo visando ao controle eficaz (ORZARI et al., 2013).

Dentre as práticas de controle conhecidas, o controle preventivo é um conjunto de medidas e de métodos que impede a introdução e a disseminação de plantas daninhas a partir de um foco inicial dentro da propriedade agrícola. Já a supressão ou a estabilização de populações de plantas daninhas por meio do controle biológico baseia-se na utilização de determinados organismos que dependem dessas plantas

para a sua sobrevivência, sem prejuízos para a cultura ou atividade de interesse (NETO, 2019).

Diferentes estratégias podem ser adotadas como ferramentas de controle cultural, seja pelos aspectos fenológicos da própria cultura para supressão da matocompetição, baseado em diferentes espécies forrageiras, produção de matéria seca e efeito alelopático sobre a germinação e emergência das plantas daninhas (CASTILHO; FORTI; MONQUERO, 2021). Também, utiliza condições que promova o crescimento da cultura, como cultivares mais competitivas, menor espaçamento, maior densidade de semeadura, cobertura verde ou uso de rotação de culturas (CARVALHO, 2013).

O controle mecânico utiliza equipamentos que eliminam as plantas daninhas de forma física, no uso de instrumentos de corte ou arranque de plantas daninhas, sendo aderido principalmente nas pequenas propriedades, onde a falta de equipamentos e a topografia do terreno limitam a utilização de outros métodos de controle. Ainda, a palhada na superfície do solo, o uso de filme plástico ou qualquer outro material que exerça efeito físico, pode contribuir para reduzir o desenvolvimento de plantas daninhas e consequentemente diminuir o uso de herbicidas (VINCENT-CABOUD et al., 2019).

Dentre as práticas utilizadas, o controle químico, através do uso de herbicidas, é o método mais utilizado. Sua maior adoção pode ser explicada devido à praticidade de aplicação, principalmente em grandes áreas de cultivo, economia e eficiência, quando comparado aos outros métodos de controle (KARAM et al., 2018).

O sucesso na utilização de herbicidas, entre muitos fatores, está relacionado com a dose de aplicação e o estágio das plantas, os quais podem alterar a eficácia dos herbicidas (MACHINESKI et al., 2019). Aplicações de herbicidas realizadas em estágios iniciais de desenvolvimento resultam em maior eficácia de controle, porém plantas que se encontram em estágios de desenvolvimento mais avançado são menos susceptíveis à ação dos herbicidas, reduzindo a eficiência desses produtos (MARQUES; RODELLA; MARTINS, 2012).

Em contra partida, o uso intensivo de herbicidas promove desequilíbrios nos agroecossistemas, principalmente quando utilizados de forma inadequada, o que pode acarretar na contaminação de corpos d'água e solo (TAKANO et al., 2016). Além disso, sucessivas aplicações de um mesmo mecanismo de ação acabam aumentando a pressão de seleção de espécies tolerantes e biótipos resistentes a herbicidas

(CHRISTOFFOLETI; VICTORIA FILHO; SILVA, 1994). Neste contexto, o manejo eficiente das plantas daninhas promove maior economia ao produtor, minimizando os efeitos negativos das plantas daninhas, com menor risco ambiental.

2.2. Origem *Borreria densiflora* DC.

Borreria densiflora DC. é conhecida popularmente como vassourinha-de-botão, vassourinha, cordão-de-frade, erva-botão, falsa-poaia, perpétua-do-mato, poaia-comprida, poaia-preta, poaia-rosário (MOREIRA; BRAGANÇA, 2011). É uma dicotiledônea, tendo como uso principal o medicinal, possuindo 29 compostos isolados até o momento (IZUOGU et al., 2020).

A *B. densiflora* DC. pertence à família Rubiaceae, assim como *Spermacoce latifolia* Aubl. (erva-quente), *Spermacoce densiflora* (DC.) e *Richardia brasiliensis* (poaia-branca) (MOREIRA E BRAGANÇA, 2011) o gênero, que possui mais de 150 espécies, com grande plasticidade fenotípica entre as plantas, assim, favorecendo o desenvolvimento de resistência aos herbicidas comumente utilizados (VIVIAN et al., 2013).

A vassourinha-de-botão é uma planta daninha nativa da América Tropical, mais especificamente do Brasil (NEPOMUCENO et al., 2018). Ocorre desde o sul dos Estados Unidos até a parte meridional da América do Sul (CHIQUEIRI; DI MAIO; PEIXOTO, 2004). No Brasil, tem ampla distribuição, infestando áreas de pastagem, abandonadas e perenes, e agrícolas, estando presente, principalmente na fronteira agrícola conhecida como MATOPIBA (Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia), também nos estados do Mato Grosso, Goiás (SANTOS et al., 2018) e nas regiões Norte e Centro Oeste (PACHECO et al., 2016; LOURENÇO, 2018).

2.2.1. Características morfológicas de *Borreria densiflora* DC.

Borreria densiflora DC. é uma espécie de ampla distribuição geográfica, ocorre desde o México, América Central, América do Sul, até o centro da Argentina. Essa diversidade de ambientes onde vive pode explicar a razão pela qual esta espécie apresenta características muito variáveis (MARTINS, 2008). Desenvolvem-se em solos ácidos ou alcalinos, mesmo que pobres em nutrientes. Ademais, suas sementes

são fotoblástica neutra, com capacidade de germinar na presença ou ausência de luz (CASTILHO; FORTI; MONQUERO, 2021).

B. densiflora DC. é uma espécie herbácea, perene, monocárpica, de habitat terrestre, com hábito semi-prostrado ou ereto, podendo atingir de 30 a 100 cm de altura (NEPOMUCENO et al., 2018). Seu desenvolvimento inicial é lento, com período de 20 a 25 dias entre a germinação e o estágio fenológico de dois pares de folhas completamente expandidas. A raiz é do tipo pivotante, com rápida formação do seu sistema radicular. O caule é cilíndrico na parte basal e possui muitas ramificações, dando aparência cespitosa, com pilosidade curta e abundante (NEPOMUCENO et al., 2018).

As folhas são simples, sem pecíolo, pseudoverticiladas, lisas e glabras de coloração verde intensa, dispostas de forma verticilada nos vários nós. As flores em geral são brancas, com lobos do cálice linear-espatalados, cápsulas de até 2,5 mm comprimento e glabras, com florescimento de fevereiro a agosto (JUNIOR, 2020), exibe de 1 a 3 glomérulos globosos por ramos (NEPOMUCENO et al. 2018).

A reprodução é exclusiva por sementes, com elevada produção (cerca de 90.000 sementes por planta), pequeníssimas (1,0 a 1,5 mm de comprimento), que são dispersas pelo vento, com formas oblongas a elipsoides (NEPOMUCENO et al., 2018). As sementes germinam preferencialmente no nível do solo, com os maiores níveis de germinação ocorrendo nas temperaturas entre 20 e 30°C (CASTILHO; FORTI; MONQUERO, 2021).

As sementes são tolerantes à seca, suportando os meses mais secos e iniciando a germinação somente no momento em que há o retorno das precipitações, correspondendo ao mês de setembro e intensificando-se nos meses de outubro a dezembro (DOS REIS et al., 2020). Estas características aliadas aos mecanismos como dormência e longevidade, podem garantir a ocorrência de enormes bancos de sementes desta planta daninha no solo.

Nos últimos anos, sua ocorrência vem aumentando consideravelmente, principalmente em áreas com cultivo de soja, devido a sua característica de tolerância ao herbicida glyphosate (MINOZZI, 2022). A germinação de *B. densiflora* DC. coincide com a semeadura da soja, além disso, novos fluxos de germinação e emergência ocorrem também no estágio reprodutivo da soja, devido maior volume pluviométrico e frequência de distribuição ao longo do tempo (ZHANG et al., 2021).

O controle de *B. densiflora* DC. torna-se mais difícil em estádios mais avançados de desenvolvimento das plantas, em estádios de desenvolvimento a partir de 4-6 folhas apresentam menos estômatos e mais tricomas nas superfícies adaxiais das folhas, o que pode resultar em uma menor absorção de herbicidas (FADIN et al., 2019)

A redução na produtividade causada pela competição de *B. densiflora* DC. com a cultura podem ser expressivas. A infestação de uma planta de *Borreria densiflora* DC. por m² na cultura da soja é capaz de reduzir a produtividade em 1,3 a 4,2% (LOURENÇO, 2018). Já na cultura do sorgo, essa mesma infestação pode acarretar na redução de até 29% da produção de grãos (CAMPOS, 2022).

2.2.2. Tolerância x Resistência em *Borreria densiflora* DC.

O efeito de tolerância de plantas daninhas aos herbicidas pode ser definido como a capacidade que uma espécie possui de sobreviver e se reproduzir após ser tratada com a molécula de herbicida (WEED TECHNOLOGY, 1998). Já a resistência de plantas daninhas a herbicidas é a capacidade herdada de uma planta individual de sobreviver a uma aplicação de herbicida, que em uma população normal ocasionaria a morte (WA, 2020). Cabe aqui ressaltar que, a proporção de indivíduos resistentes a herbicidas irá aumentar devido à pressão de seleção em situações onde um grupo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação é aplicado regularmente (WA, 2020).

As plantas daninhas podem ocasionar perdas consideráveis ao rendimento da cultura quando não controladas (SALOMÃO; FERRO; RUAS, 2020). Oscilações ambientais, variabilidade genética, estágio de crescimento e adoção de estratégias de formas errôneas, exercem elevada pressão de seleção de biótipos resistentes a moléculas de herbicidas dentro de uma população de plantas daninhas (PEREIRA et al. 2021).

O controle químico de *Borreria densiflora* DC. torna-se complexo devido aos diferentes estádios de desenvolvimento da referida planta e as interações com o ambiente, sendo necessário a adoção do manejo integrado visando ao seu controle eficaz. A espécie tem se tornado um entrave à atividade agrícola, devido à rápida disseminação e a elevada dificuldade de controle (PACHECO et al., 2016; MILÉO et al., 2016).

O manejo atual de *B. densiflora* DC. na cultura da soja contempla o uso de herbicidas em pré-semeadura, pós-emergência inicial (estádios iniciais de desenvolvimento, até três pares de folhas) e pós-emergência (plantas já estabelecidas), assim promovendo o controle da infestação e a redução de novos fluxos germinativos, evitando a reinfestação (MARTINS e CHRISTOFFOLETI, 2014; ALBRECHT et al., 2020; ALBRECHT et al., 2021; da SILVA et al., 2021).

A tolerância de uma espécie a herbicidas é a capacidade de sobreviver e se reproduzir mesmo após a aplicação, podendo eventualmente sofrer algum nível de injúria na dose recomendada (OLIVEIRA JR, 2011). Dentre as formas de tolerância pode-se citar a redução na absorção de herbicidas. A baixa absorção de herbicidas, uma das principais causas da tolerância, se deve pelas diferenças físicas e/ou químicas da membrana cuticular.

Os principais aspectos que interferem na eficácia de controle proporcionado pelos herbicidas é a suscetibilidade da planta alvo ao ingrediente ativo utilizado. A utilização do glyphosate é uma alternativa para o controle de *B. densiflora* DC. (BENBROOK, 2016; MACHINESKI et al., 2019).

A ineficiência do controle com glyphosate ocorre principalmente em casos quando a aplicação ocorre em estádios tardios de desenvolvimento (FADIN et al. 2018). Fadin e Monquero (2019) avaliaram a morfologia de *B. densiflora* DC. em diferentes estádios de desenvolvimento, onde observaram diferenças de espessura da epiderme, número de estômatos e tricomas. Os referidos autores concluíram que plantas de *B. densiflora* DC. em estádios mais avançados de desenvolvimento, como em florescimento, apresentaram número reduzido de estômatos, menor espessura da folha e mais tricomas, quando comparadas com as em estádios iniciais de desenvolvimento, fato este que explica a maior tolerância dessa espécie à aplicação de herbicidas quando em aplicações tardias.

As diferenças entre a suscetibilidade de plantas de *B. densiflora* DC. ao glyphosate estão relacionadas com as diferenças de absorção e/ou translocação do herbicida. Segundo FADIN et al. (2018), plantas de *B. densiflora* DC. com 4-6 folhas apresentaram menor absorção e translocação do herbicida para regiões meristemáticas foliares/radiculares se comparadas com plantas em início do seu desenvolvimento com 2 a 4 folhas. Em contrapartida, plantas em pleno florescimento apresentaram menor translocação de glyphosate para os meristemas radiculares, por

isso sua aplicação em estádios iniciais do desenvolvimento apresenta resultados satisfatórios de controle.

2.3. Características do herbicida glyphosate

O herbicida glyphosate, com o nome IUPAC N-(fosfonometil) glicina, é um composto fosforado análogo da glicina, um sólido branco, de fórmula $C_3H_8NO_5P$, com massa molar de 169,1 g/mol (SINGH et al., 2020). É o ingrediente ativo pesticida mais utilizado no mundo, principalmente após a introdução de plantas geneticamente modificadas com característica de resistência a esse herbicida, sendo pioneiras as cultivares de soja e milho Roundup Ready® (RR®) (GREEN, 2018).

Em 1950, o químico Henri Martin, sintetizou pela primeira vez o glyphosate. Em 1970, a molécula chegou até à Monsanto no âmbito de uma investigação para o desenvolvimento de agentes amaciadores de água, e John Franz identificou pela primeira vez seu uso como herbicida (XU et al., 2019). Após resultados promissores, o glyphosate foi introduzido no mercado em 1974 como princípio ativo do herbicida Roundup® (XU et al., 2019). Inúmeras formulações/s à base de glyphosate são disponíveis no mercado. No Brasil, existem 165 produtos comerciais à base de glyphosate registrados, detentivos por mais de 50 empresas (AGROFIT, 2024). Apesar da eficácia de controle, esse herbicida apresenta riscos de contaminação, principalmente quando utilizado de forma indiscriminada (BENBROOK, 2016).

O glyphosate é um herbicida sistêmico, não seletivo, com baixa volatilidade e solúvel em água e quase insolúveis em solventes orgânicos comuns (BAER & MARCEL, 2014; XU et al., 2019). É classificado como classe IV, pouco tóxico (ANVISA, 2018).

O mecanismo de ação ocorre pela inibição da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), enzima responsável pela síntese dos aminoácidos triptofano, fenilalanina e tirosina (XU et al., 2019). A inibição da EPSPs resulta em rápido acúmulo de 3PS endógeno, que é armazenado no protoplasto da célula e posteriormente desfosforilado a ácido chiquímico pela fosforilase vacuolar. O acúmulo de ácido chiquímico é um conhecido marcador de inibição de EPSPs em populações com sensibilidade ao glyphosate (DILLON et al. 2017).

A via do ácido chiquímico é a rota metabólica para a biossíntese de aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina e triptofano (LANDRIGAN; BELPOGGI,

2018), por meio da conversão de precursores de carboidratos, derivados da glicólise e das vias da pentose fosfato, em corismato (ZABALZA et al., 2017). A quantificação do ácido chiquímico após aplicação do glyphosate é uma metodologia utilizada para identificação de biótipos resistentes e suscetíveis, por indicar a sensibilidade da enzima EPSPs, contribuindo para a análise de quanto produto foi capaz de atingir o sítio de ação (NDOU et al., 2021). É possível associar a concentração de ácido chiquímico com a eficácia do glyphosate após a sua aplicação em plantas com maior suscetibilidade.

O glyphosate não é considerado persistente como a maioria dos herbicidas, pois possui meia vida no solo relativamente baixa, podendo ser degradado rapidamente por microrganismos, por meio de duas rotas catabólicas, tendo como principal metabólito o ácido aminometilfosfônico (AMPA) e como intermediário, a sarcosina (DUKE, 2020). O coeficiente de partição Kow de $-\log 0,17 \times 10^{-2}$, indica que o glyphosate apresenta uma grande adsorção ao solo (PPDB, 2021).

A degradação do glifosato para AMPA em plantas ainda é pouco conhecido (DUKE et al., 2003). O glifosato tem sido metabolizado por plantas via duas rotas semelhantes e presentes em microorganismos. Uma destas rotas envolve a divisão oxidativa da união carbono-nitrogênio (C-N) para produção de AMPA e a outra, quebra a união do (C-P) por uma C-P liase para gerar sarcosina (REDDY et al., 2004). o glyphosate também pode ser metabolizado por algumas plantas em sarcosina e fosfato inorgânico (DUKE, 2011). Por isso, a quantidade de AMPA encontrada em algumas espécies de plantas após a aplicação de glyphosate indica que essa degradação pode contribuir para a tolerância natural ao herbicida (REDDY et al., 2008).

A aplicação do glyphosate se dá majoritariamente em pós-emergência das plantas daninhas, aplicado sobre as folhas das plantas, onde há absorção e transporte pelo floema. A absorção do glyphosate é um processo bifásico que envolve rápida penetração pela cutícula e membrana plasmática dos tecidos fotossintetizantes, seguida de absorção simplástica lenta, através de tecidos vasculares, para os sítios-alvo do herbicida. Após a internalização, o herbicida acumula-se nos tecidos com maior taxa de crescimento e atividade metabólica, ou seja, em meristemas apicais e raízes, promovendo a morte dos tecidos meristemáticos (DUKE, 2018) e promovendo a morte das plantas suscetíveis.

2.4. Aspectos morfológicos em *Borreria densiflora* DC. que interferem no controle químico

Na aplicação de glyphosate sobre as plantas de *B. densiflora* DC., independente da dose, a translocação ocorre predominantemente via floema para o sistema radicular, pois está diretamente relacionado ao transporte de açúcares (TAIZ et al., 2015). Após a aplicação, os primeiros sintomas são inibição do crescimento, amarelecimento dos meristemas e das folhas jovens, progredindo para necrose generalizada, bem como deformações morfológicas nas folhas e danos nas raízes e rizoma, culminando na morte das plantas em um período entre 4 a 19 dias, dependendo da dose, da espécie e do estágio de desenvolvimento (SZEKACS & DARVAS, 2012).

Plantas mais jovens de *B. densiflora* DC. são mais facilmente controladas em comparação aquelas em estágio de desenvolvimento mais avançado, por apresentarem menor espessamento da cutícula, principal barreira à penetração de herbicidas, maiores atividades fotossintéticas e consequentemente maior translocação (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Alterações morfológicas nas plantas devido aos diferentes estádios de desenvolvimento e interações com o ambiente podem influenciar no controle da planta daninha (MINOZZI, 2022). Plantas de *B. densiflora* DC. adultas apresentam em sua morfologia grande quantidade de folhas sobrepostas, produzindo efeito guarda-chuva e menor contato do produto com as plantas pela falta de deposição de gotas do produto na superfície foliar (OLIVEIRA JÚNIOR, 2011). Além disso, plantas mais velhas apresentam, geralmente, maior tolerância a herbicidas aplicados em pós-emergência (MARTINS; CHRISTOFFOLETI, 2014).

Segundo Andrade Junior (2020), o glyphosate aplicado na dose de 1.440 g e.a. ha⁻¹ foi eficiente no controle de *Borreria densiflora* DC. em estágio de 2 a 4 folhas, porém, plantas com 5 a 8 folhas e em florescimento a eficiência diminuiu proporcionalmente. Fadin et al. (2018) e Lima et al. (2019) também constataram que a dose 1.440 g e.a. ha⁻¹ do glyphosate foi menos eficaz no controle de plantas em estádios avançados de desenvolvimento. Ainda, *B. densiflora* DC. possui capacidade de rebrota, principalmente em plantas já em estágio avançado de desenvolvimento (FERREIRA et al., 2006; PIER, 2016).

2.5. Aspectos fisiológicos em *Borreria densiflora* DC. que interferem na ação do herbicida glyphosate

A fisiologia da planta influencia a passagem do herbicida após sua aplicação, ou seja, sua translocação e absorção (HALL; BECKIE; WOLF, 1999). Porém, cada espécie de planta pode se adaptar, ou não, desenvolvendo mecanismos distintos de tolerância e resistência. O acúmulo de 3PS endógeno, devido a inibição da EPSPs, é um comportamento fisiológico e causa maior acúmulo de ácido chiquímico mediante a aplicação do herbicida glyphosate. As enzimas são os principais sítios de ação dos herbicidas, podendo ser interrompida sua ligação se houver alguma alteração na estrutura da molécula (GAINES et al., 2020)

O uso de glyphosate causa inibição na produção de aminoácidos aromáticos, fundamentais para a produção da parede celular e para a produção de hormônios essenciais, além de afetar diretamente a fotossíntese da planta, reduz a síntese de clorofila e interfere na organização do aparelho fotossintético levando ao declínio no total de proteínas, cofatores enzimáticos, metabólitos secundários e fotossíntese resultando na morte da planta (DUKE & POWLES, 2008).

Sabe-se que a espessura da folha é inversamente proporcional à área foliar e proporcional a densidade estomática. Assim, o aumento na área foliar e a diminuição da densidade estomática com o avanço da idade da planta estão relacionados aos mecanismos que aumentam a transpiração (BOEGER; WISNIEWSKI, 2003).

A translocação é um processo de várias etapas, inicialmente necessita transpor a cutícula das folhas, depois parede celular da epiderme, apoplasto, mesófilo, até atingir o floema e então ser translocado para os pontos de crescimento (GE et al., 2014). O movimento do glyphosate pelo floema segue a mesma rota dos produtos da fotossíntese, ocorrendo das folhas fotossinteticamente ativas em direção às partes das plantas que utilizam esses açúcares. A quantidade de açúcar translocada para cada parte muda durante o ciclo de vida da planta, influenciando o movimento do herbicida (DELLACIOPPA et al., 1986).

Não há, até o momento, estudos aprofundados dos processos fisiológicos de *B. densiflora* DC., porém acredita-se que a retenção, absorção e, principalmente, a translocação do glyphosate sejam comprometidas em estádios de desenvolvimentos mais avançados. Por isso, o entendimento da biologia e da fisiologia de *B. densiflora*

é fundamental visando ao controle eficaz desta espécie daninha, evitando a propagação e a seleção de biótipos resistentes a herbicidas.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. (2024). **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Consulta de Ingrediente Ativo 2024. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.

ALBRECHT, A. J. P. Control of Conyza spp. with sequential application of glufosinate in soybean pre-sowing. **Ciência Rural**, v.50, n.1, p.1-9, 2020.

ALBRECHT, A. J. P. Pre-sowing application of combinations of burndown and preemergent herbicides for Conyza spp. control in soybean. **Agronomía Colombiana**. v.39, n.18-25, 2021.

ALMEIDA M.O. Interação entre volume de vaso e competição com plantas daninhas sobre o crescimento da soja. **Revista Ceres**, v.62, n.6, p.507-509, 2015.

ANDRADE JUNIOR, E. J. **Controle químico de *Spermacoce verticillata* em pré-semeadura de soja**. Dissertação (Mestrado em Bioenergia e Grãos) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, 2020.

ANVISA. (2018). **Nota Técnica nº 23/2018/SEI/CREAV/GEMAR/GGTOX/DIRE3/ANVISA**. Apresenta a Nota Técnica Preliminar sobre as conclusões da reavaliação do Glifosato com as respectivas recomendações e proposta de minuta de RDC a ser submetida à consulta pública.

BAER, K. N., MARCEL, B. J. Glyphosate. In: P. Wexler (Ed.). (2014). **Encyclopedia of Toxicology. Academic Press**, v.3, p.767-769.

BENBROOK, C. M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. **Environmental Sciences Europe**, v.28, n.1, p.1-15, 2016.

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.

BLANCO, H. G. A importância dos estudos ecológicos nos programas de controle das plantas daninhas. **O biológico**, v.38, n.10, p.343-50, 1972.

BUENO, A. et al. (2013). Tecnologias de produção de soja: Região Central do Brasil. **Embrapa Soja**, Londrina.

CARVALHO, L. B (2013). **Plantas Daninhas**. Lages/SC:e-ISBN, p.94.

CASTILHO, J.; FORTI, V.A.; MONQUERO, P.A. Biology and non-chemical management of *Spermacoce verticillata* and *Spermacoce densiflora*. **Renew Agric. Food System**, 2021.

CHRISTOFFOLETI, P. J., VICTORIA FILHO, R., SILVA, C. D. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v.12, n.1, p.13-20, 1994.

DELLACIOPPA, G. Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants in vitro. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.83, p.6973-6877, 1986.

DILLON, A. Physical mapping of amplified copies of the 5-Enolpyruvylshikimate-3-Phosphate synthase gene in Glyphosate-Resistant *Amaranthus Tuberculatus*. **Plant Physiology**, v.173, p.1226-1234, 2017.

DUKE, S.O.; POWLES, S.B. Glifosato: Um herbicida de uma vez em um século. **Pest Management Science**, v.64, p.319-325, 2008.

DUKE, S.O. The history and current status of glyphosate. **Pest Management Science**, v.74, n.5, p.1027-1034, 2018.

DUKE, S. O. Glyphosate degradation in glyphosate-resistant and -susceptible crops and weeds. **Journal Agricultural Food Chemical**, 59:5835–5841, 2011.

DUKE, S.O. Glyphosate: environmental fate and impact. **Weed Science**, v.68, n.3, p.201-207, 2020.

DUKE, S. O.; RIMANDO, A. M.; PACE, P. F.; REDDY, K. N.; SMEDA, R. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid, levels in seed of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal Agricultural Food chemical**, California, v.51, n.1, p.340-344, 2003.

FADIN, D. A. Absorção e translocação de glyphosate em *Spermacoce verticillata* controle alternativo de herbicidas. **Weed Research**, v.58, n.5, p.389-396, 2018.

FADIN, D. A. e MONQUERO, P. A. Leaf characterization of *Spermacoce verticillata* at three stages of development. **Australian Journal of Crop Science**, v.13, n.5, p.792-797, 2019.

FERREIRA, E. A., SANTOS, J. B., SILVA, A. A., OLIVEIRA, J. A., VARGAS, A. Translocação do glyphosate em biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta Daninha**, v.24, p. 365-370, 2006.

FRIED, G. Decreases in crop production by nonnative weeds, pests, and pathogens. **Impact of biological invasions on ecosystem services**, v.1, n.1, p.83-101, 2017.

GAINES, T. A. Mechanisms of evolved herbicide resistance. **The Journal of Biological Chemistry**, v.295, n.30, p.10307-10330, 2020.

GE, X.. In vivo ³¹P-nuclear magnetic resonance studies of glyphosate uptake, vacuolar sequestration, and tonoplast pump activity in glyphosate-resistant horseweed. **Plant Physiology**, v.166, p.1255-1268, 2014.

HEREKHLOO, J. Pro-106-Ser mutation and EPSPS overexpression acting together simultaneously in glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica*). **Scientific Reports**, v.1, n.7, p.6702, 2017.

GREEN, J. M. The rise and future of glyphosate and glyphosate-resistant crops. **Pest Management Science**, v.74, n.5, p.1035-1039, 2018.

HEAP, I. **The International Herbicide-Resistant Weed**. Database Online. Disponível em: www.weedscience.org. Acesso em: 12/12/2023

HEAP, I. **The International Herbicide-Resistant Weed**. Database Online. Disponível em: www.weedscience.org. Acesso em: 30/06/2024.

KARAM, D. Situação atual da resistência de plantas daninhas a herbicidas nos sistemas agrícolas. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 32., 2018, Lavras. **Soluções integradas para os sistemas de produção de milho e sorgo no Brasil: livro de palestras. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo**. Cap.31, p.901-932, 2018.

LANDRIGAN, P. J.; BELPOGGI, F. A necessidade de pesquisas independentes sobre os efeitos dos herbicidas à base de glyphosate na saúde. **Environmental Health**, v.17, n.1, p.51, 2018.

LIMA, C. C. Estágios fenológicos associados ao controle químico no manejo de *Spermacoce densiflora* originada de sementes e rebrota. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.18, n.3, p.686-1-7, 2019.

LOURENÇO, M. F. C. **Manejo Químico de Vassourinha de Botão (*Spermacoce sp.*) na Cultura da soja**. Dissertação de Mestrado Profissional em Proteção de Plantas, Instituto Federal Goiano, Urutaí. 57p, 2018.

MACHINESKI, G. S. Viabilidade técnica e econômica da adição de inibidores da accase e da als ao glyphosate no controle de plantas daninhas e no rendimento de grãos da soja. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.18, n.3, p.674-1-10, 2019.

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

MARTINS, B. A. B.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Herbicide efficacy on *Borreria densiflora* control in pre- and post-emergence conditions. **Planta Daninha**, v.32, n.4, p.817-825, 2014.

MARTINS, B. A. B. **Biologia e manejo da planta daninha *Borreria densiflora* DC.** Piracicaba, 2008.

MILÉO L. J. Phytosociology of weeds in cultivation of two varieties of cassava1. **Planta Daninha**, v.34, p.267-76, 2016.

MONDAL, B.; MONDAL, C. K.; MONDAL, P. **Weed and Its Management in Cucurbitaceous Vegetables. In: Stresses of Cucurbits: Current Status and Management. Springer**, Cingapura, 2020.

NEPOMUCENO, F. Á. A. O gênero *Borreria* (Spermacoceae, Rubiaceae) no estado do Ceará, Brasil. **Rodriguésia**, v.69, n.2, p.715-731, 2018.

NETO, A. L. N. **Embrapa Agrossilvipastoril: primeiras contribuições para o desenvolvimento de uma Agropecuária Sustentável**, Brasília, DF: Embrapa, p. 319 2019.

NETO, J. R. C. Desenvolvimento de formulações para potencializar a ação de metabólitos de *Phoma dimorpha* no controle biológico de plantas daninhas. 2019. 190 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – **Universidade Federal de Santa Maria**.

NEVE, P. Expandindo o contexto ecoevolutivo da pesquisa de resistência a herbicidas. **Pest Management Science**, v.70, p.1385-1393, 2014.

NDOU V. Mechanism (S) of glyphosate resistance in a selected *Plantago lanceolata* (L.) r biotype. **Agronomy**, v.11, n.5, 2021.

OLIVEIRA JÚNIOR R.S. Mecanismos de ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUEM. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, p.141-192, 2021.

ORZARI, I. Germinação de espécies da família Convolvulaceae sob diferentes condições de luz, temperatura e profundidade de semeadura. **Planta daninha**, v.31, n.1, p.53-61, 2013.

OSIPE, J. B.; OLIVEIRA Jr, R.S.; CONSTANTIN, J.; TAKANO, H. K.; BIFFE, D. F. **Spectrum of weed control with 2, 4- d and dicamba herbicides associated to glyphosate or not. Planta Daninha**, 2017, 35, e017160815.

PACHECO L. P. Sistemas de produção no controle de plantas daninhas em culturas anuais no Cerrado Piauiense. **Revista Ciência Agronômica**, v.47, p.500-508, 2016.

PEREIRA, F. (2011). Controle de plantas daninhas em pastagens. **Embrapa Gado de Corte-Documentos (INFOTECA-E)**.

PIER. Pacific Island Ecosystems at Risk. Honolulu, USA: HEAR, **University of Hawaii**, 2016.

PITELLI, R.A. Interferência de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Inf. Agropec., Belo Horizonte**, v.11, n.129, p.16-27, 1985.

PPDB. (2023). **Pesticide Properties**. DataBase. Available. Disponível em:< <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/> >. Acesso em: 04 jul.

Dos REIS, L. C. (2020). Analysis of Climate Extreme Indices in the MATOPIBA Region, Brazil. **Pure Appl Geophys**, v.177, p.4457-4478.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O.; NANDULA, V. K. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 56:2125–2130, 2008.

REDDY, K. N.; NORSWORTHY, J. K. **Sistemas de produção de culturas resistentes ao glyphosate: Impacto nas mudanças de espécies de ervas daninhas. Em resistência ao glyphosate em culturas e ervas daninhas: história, desenvolvimento e gestão; John Wiley and Sons: Hoboken, NJ, EUA**, p. 165–184, 2010.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, California, v.52, n. 16, p.5139-5143, 2004.

SALOMÃO, P. E. A.; FERRO, A. M. S.; RUAS, W. F. Herbicides in Brazil: a brief review. **Research, Society and Development**, v.9, n.2, p.e32921990, 2020.

SANTOS, W. F. Fitossociologia de plantas daninhas na região sudoeste de Goiás. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.40, p.1-11, 2018.

Da SILVA, P. V. Estratégias de controle de Conyza spp. em pré-plantio da soja: aplicações únicas ou sequenciais? **Research, Society and Development**, v.10, p.1-9, 2021.

SINGH, S. Herbicide Glyphosate: Toxicity and Microbial Degradation. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.17, n.20, p.7519, 2020.

SZEKACS, A., & DARVAS, B. Forty Years with Glyphosate. Herbicides - Properties, **Synthesis and Control of Weeds**, n.1, v.1, p.247–284, 2012.

TAKANO H. K. Multiple resistance to atrazine and imazethapyr in hairy beggarticks (Bidens pilosa). **Ciência e Agrotecnologia**, v.40, n.1, p.547-54, 2016.

VINCENT-CABOUD, L. Using mulch from cover crops to facilitate organic no-till soybean and maize production. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.39, n.5, p.45, 2019.

TAIZ, L. ET al. (2015). **Plant Physiology and Development**, 6th ed.; Sinauer Associates Incorporated: Sunderland, MA, USA, p.761.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 918p, 2013.

XU, J. Glyphosate contamination in grains and foods: An overview. **Food Control**, v.106, n.1, p.106710, 2019.

ZABALZA, A. The pattern of shikimate pathway and phenylpropanoids after inhibition by glyphosate or quinate feeding in pea roots. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.141, n.1, p.96102, 2017.

4 MATERIAS E MÉTODOS

4.1 Condições gerais do experimento

O estudo foi conduzido em casa de vegetação na Universidade de Rio Verde. As condições climáticas da casa de vegetação durante a condução do experimento foram: $30/22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ de temperatura diurna/noturna, 80% de umidade relativa e irrigação diária, visando a manutenção da umidade satisfatória do solo.

A espécie vegetal que foi utilizada no presente estudo foi cultivada em vasos plásticos, capacidade volumétrica de 5 dm^3 , preenchidos com solo. As sementes de *B. densiflora* DC. foram coletadas na estação experimental da empresa “Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.” de Lucas do Rio Verde-MT e semeadas separadamente nos vasos, sendo conduzidas três plantas por vaso durante os experimentos. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento experimental inteiramente casualizados, em esquema fatorial $4 \times 2 \times 3 + 1$. O primeiro fator foi composto pelos estádios de desenvolvimento da *B. densiflora* DC. (2 pares de folhas, 4 pares de folhas, 6-8 pares de folhas e pleno florescimento). O segundo fator foi composto por duas doses do herbicida glyphosate (1440 e 2800 g e.a. ha^{-1}). O terceiro fator foram as épocas de coletas das partes aéreas das plantas de *B. densiflora* DC. 24, 48 e 72 horas após a aplicação do glyphosate.

4.2. Aplicação do glyphosate

As aplicações do glyphosate, nas doses propostas pelos tratamentos, foram realizadas por um pulverizador costal portátil pressurizado por CO_2 , equipado com uma barra contendo 6 pontas de pulverização do tipo leque, com espaçamento de 0,45 m entre elas. A pressão estabelecida foi de 40 PSI, calibrado para fornecer um volume de calda equivalente a 150 L/ha. As condições climáticas durante as aplicações dos tratamentos foram consideradas favoráveis, com umidade relativa do ar igual a $78.0 \pm 5\%$, temperatura atmosférica igual a $28.0 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e velocidade do vento abaixo de 4 km h^{-1} .

4.3. Variáveis avaliadas

4.3.1. Anatomia foliar

As variáveis anatômicas das plantas avaliadas foram: a espessura foliar, espessura do parênquima, espessura da epiderme adaxial, espessura da epiderme abaxial e a relação quantidade de cera/área foliar. Para avaliação anatômica, as folhas foram coletadas momentos antes da aplicação do herbicida, e fixadas em FAA50 (Johansen, 1940), para posteriormente serem conservadas em etanol 70%. A partir do material obtido, foram retirados 02 fragmentos de aproximadamente 0,5 cm² de cada repetição na porção mediana da folha, desidratados em série etílica. Lâminas foram confeccionadas obtendo secções transversais dos fragmentos selecionados, utilizando o azul-de-toluidina pH 4,4 (O'Brien e McCully, 1981) como corante das secções foliares. A observação e documentação fotográfica foi feita usando microscópio de luz modelo Primo Star, Zeiss® acoplado a câmera digital (AxioCam ERc5s), obtendo-se três imagens por lâmina. As análises de espessura foram obtidas utilizando o aplicativo ImageJ® Versão 1.54.

4.3.2. Extração e composição da cera cuticular

As ceras epicuticulares foram retiradas de 8 plantas de *Borreria densiflora* DC. nos estágios de desenvolvimento proposto pelo primeiro fator. Essas plantas foram cultivadas simultaneamente com as demais plantas usadas para aplicação dos tratamentos, utilizando uma unidade experimental com mesma dimensão e característica comparada a aquelas usadas para os tratamentos. As folhas de cada espécie foram individualmente colocadas em placas contendo clorofórmio e metanol (90:10 mL) por 30 segundos, agitando suavemente. Esse procedimento foi realizado com cuidado para evitar danos às folhas, evitando a liberação de clorofila e outros compostos. Os extratos resultantes foram filtrados e deixados evaporar sobre uma placa a 55 °C até reduzir o volume para cerca de 15 mL. A solução resultante (clorofórmio + ceras) foi transferida para frascos de 25 mL de peso conhecido. O clorofórmio foi evaporado à temperatura ambiente, e os frascos foram mantidos para pesagem dois e quatro dias após a obtenção do resíduo sólido (ceras). A quantificação das ceras foi expressa como quantidade de ceras por unidade de área foliar ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$). Para isso, a área das folhas de cada espécie, usada para a extração das ceras, foi medida usando o aparelho fotoelétrico de medição de área foliar LICOR-3100.

A análise da composição química das ceras seguiu o protocolo proposto por Raiser et al. (2020). Para cada período analisado, 0,5 mL de Hidróxido de Potássio (KOH – 0,5 M) preparado em metanol (P.A.) foi adicionado aos resíduos sólidos obtidos. A solução resultante foi agitada manualmente e submetida a um banho Maria a 70 °C por 10 minutos. Após esse intervalo, 400 microlitros (µL) da solução HCl:Metanol (preparada na proporção 1:4) foram adicionados às amostras, as quais foram agitadas previamente e novamente submetidas a um banho Maria a 70 °C por 20 minutos. Em seguida, 1 mL de hexano foi adicionado às amostras. Posteriormente, 100 µL da solução obtida de cada amostra, além de 900 µL adicionais de hexano, foram pipetados para novos vials.

As amostras foram então analisadas em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa (Shimatzu QP2010 Ultra) com as seguintes condições: volume de injeção de 1 µL; coluna HP5-MS; temperatura de injeção a 230 °C; temperatura inicial da coluna a 140 °C; gradiente de temperatura variando de 140 °C por 2 minutos, aumentando 4 °C por minuto até atingir 180 °C, mantendo essa temperatura por 5 minutos, e posteriormente aumentando 0,5 °C por minuto até atingir 250 °C, mantendo por 20 minutos; tempo total de corrida de 87 minutos. A identificação dos ácidos graxos foi baseada no tempo de retenção do padrão (Lipid Standards Sigma-Aldrich: FAMES mixtures C8:0 – C22:0), o qual foi injetado nas mesmas condições.

4.3.3. Eficácia de controle, extração e quantificação do glyphosate e AMPA

A porcentagem de controle de *Borreria densiflora* DC. foi realizada considerando a escala visual com notas percentuais, onde 0% significa ausência de sintomas e 100% morte total das plantas (SBPCPD, 1995). Estas avaliações foram realizadas aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação (DAA).

As amostras da parte aérea das plantas de *B. densiflora* DC. foram coletadas 24, 48 e 72 horas após a aplicação do glyphosate, conforme o tratamento proposto anteriormente. As amostras passaram por três lavagens com 50 mL de água destilada para remover o resíduo da aplicação depositado nas folhas e não absorvido. Após esse procedimento, o material coletado foi submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 45 °C por 72 horas. Posteriormente, as amostras foram

maceradas, sendo então pesados 100 mg e colocados em tubos de centrifugação de 25 mL.

Em seguida, foram adicionados 10 mL da solução de extração de água acidificada (pH 2,5) (MATALLO et al., 2011) nas amostras. É relevante destacar que o ácido clorídrico (HCl) foi empregado para acidificar a solução de extração das amostras de glyphosate e AMPA. No caso das amostras de ácido quínico e ácido chiquímico, a solução de extração foi acidificada com ácido trifluoroacético (TFA). Cada amostra foi replicada três vezes.

Na etapa subsequente, as amostras foram expostas a um banho ultrassônico com frequência de 42 kHz por 30 minutos. Após essa etapa, as amostras foram centrifugadas a 4.000 g por 10 minutos a 20 °C. O sobrenadante foi coletado, filtrado através de um filtro Millex HV 0,45 µm com membrana Durapore 13 mm, e acondicionado em frascos vials para posterior quantificação.

A quantificação de glyphosate e AMPA foi conduzida através do Cromatógrafo de íons Dionex ICS-2100, utilizando as seguintes condições de análise: o método empregado foi a cromatografia de íons (IC); o eluente utilizado foi água ultra pura, com um fluxo de 0,3 mL/min; o sistema gerador de eluente foi EGC KOH; a supressora auto-regenerativa operou a 52 mA; o gradiente analítico variou de 55-75 mM no intervalo de 0 a 8 minutos, sendo mantido nessa condição por mais 1 minuto; a coluna cromatográfica utilizada foi a IonPac AS19 (Thermo Scientific) com dimensões de 2x250 mm; a temperatura da coluna foi mantida a 35 °C; o tempo médio de retenção foi de 18,5 minutos para o glyphosate e de 14,1 minutos para o AMPA.

Para as análises, uma curva analítica foi preparada no intervalo de 0,5 a 10 ppm, e o limite de quantificação estabelecido foi de 0,1 ppm. As concentrações nas amostras foram utilizadas para determinar o teor de cada composto extraído do tecido vegetal seco. Os padrões analíticos das moléculas de glyphosate [N-(Phosphonomethyl)glycine] e AMPA (ácido aminometilfosfônico) foram adquiridos da Sigma-Aldrich Ltda (Brasil), com grau de pureza analítica de 96% e 99%, respectivamente.

4.4. Análise estatística

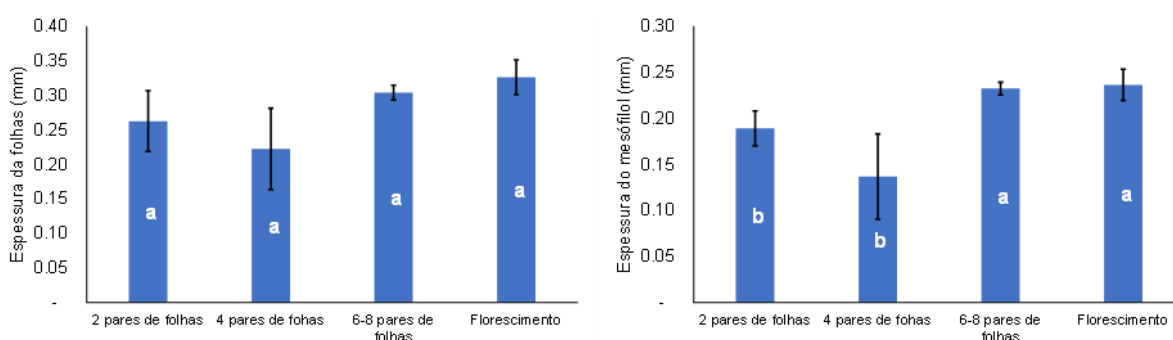
A análise dos dados foi realizada por meio da utilização do software SISVAR (FERREIRA, 2019). Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise

de variância pelo teste F a 5% de probabilidade e quando constatado efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p -valor $< 0,05$). Uma análise de Correlação de Pearson entre as variáveis anatômicas, os constituintes da cera cuticular, a porcentagem de controle e o teor de glyphosate quantificado na parte aérea foi realizada para identificar possíveis relações de causa-efeito entre esses parâmetros.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Caracterização anatômica das folhas de *Borreria densiflora* DC.

Não houve diferenças significativas para a espessura de folhas de *Borreria densiflora* DC. avaliadas nos diferentes estádios de desenvolvimento da planta (Figura 1A). O tratamento com 2, 4, 6-8 e florescimento demonstraram um valor de espessura médio igual a 0,26; 0,22; 0,30 e 0,33 mm, respectivamente. Para a espessura do mesófilo foliar, existem diferenças quanto ao estágio fenológico das plantas de *B. densiflora* DC. Plantas com 2 e 4 pares de folhas exibiram uma menor espessura do mesófilo (0,19 e 0,14 mm) comparado a plantas com 6-8 pares de folhas (0,23 mm) e no florescimento (0,24 mm) (Figura 1B). A espessura da epiderme adaxial também variou conforme o estágio fenológico. Plantas de *B. densiflora* DC. no florescimento (0,054 mm) demonstraram maior espessura dessa epiderme comparado aos demais estádios, que não exibiram diferenças entre eles (Figura 1C). A epiderme abaxial das plantas de *B. densiflora* DC. também foram mais espessas para aquelas no estágio de florescimento (0,06), seguido pelo estágio de 4 (0,04 mm) e 6-8 (0,05 mm) pares de folhas e 2 pares de folhas (0,03 mm) (Figura 1D).



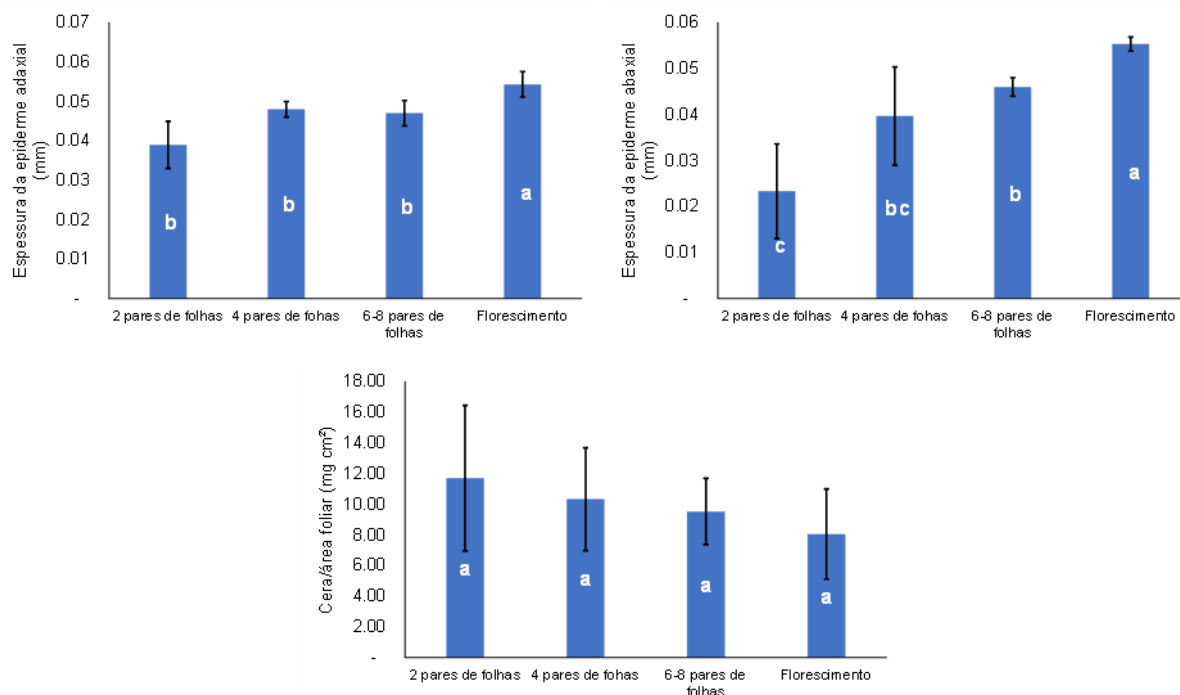


Figura 1- Espessura da folha (mm), espessura do parênquima (mm), espessura da epiderme adaxial (mm), espessura da epiderme abaxial (mm) e relação quantidade de cera/área foliar ($\mu\text{g cm}^2$) obtidas para a *Borreria densiflora* em 4 estádios de desenvolvimento diferentes. Letras minúsculas diferem as médias dos tratamentos pelo teste Tukey $p\text{-valor} < 0,05$.

Os resultados obtidos na avaliação da espessura das folhas de *B. densiflora* DC. revelaram aspectos importantes relacionados ao desenvolvimento fenológico da planta. Notavelmente, a espessura das folhas não apresentou diferenças significativas nos diferentes estádios de desenvolvimento, indicando uma estabilidade nesse parâmetro morfológico ao longo do ciclo de vida da planta. Fadin et al. (2019) também não observou alterações na espessura da folha de outro biótipo de *B. densiflora* DC. devido a mudança nos estádios fenológicos da planta. Contudo, ao analisar a espessura do mesófilo foliar, observou-se uma variação significativa em relação ao estágio fenológico das plantas, indicando um aumento nessa espessura à medida que a planta avança o seu estágio fenológico. Plantas geralmente podem aumentar a atividade fotossintética através do espessamento do mesófilo foliar a fim de fornecer mais espaço para os cloroplastos, contribuindo para uma maior eficiência fotossintética (TOSENS et al., 20212; FERNANDEZ et al., 2014). Essa adaptação pode ser observada em alguns estádios fenológicos, como floração, devido a maior demanda por fotoassimilados para alocarem nas estruturas reprodutivas (MARCHI et al., 2008; CARRIQUÍ et al., 2021). Consequentemente, o aumento na espessura do

mesofilo foliar do biótipo de *B. densiflora* DC. estudado durante o florescimento pode ser uma estratégia para elevar sua eficiência fotossintética para atender à maior demanda energética.

A espessura da epiderme adaxial e abaxial demonstraram ser sensível ao estágio fenológico, aumentando significativamente sua espessura no florescimento em comparação com os demais estádios. Essa observação pode estar relacionada a adaptações fisiológicas associadas ao processo de regulação da perda de água da planta ao longo do seu desenvolvimento (BACCIN et al., 2019). Algumas plantas mostram uma estreita relação entre a espessura da epiderme adaxial e abaxial e reduções na perda de água pela transição em condições de limitações hídricas (BOEGER; WISNIEWSKI, 2003; OLIVEIRA et al., 2018). Por exemplo, folhas de tangerinas Fremont e Murcott apresentam maior espessura na epiderme, o que reduziu a transpiração e otimizou o uso da alta radiação incidente em condições xéricas comparado a outros genótipos. Outro estudo demonstrou que o estresse hídrico resultou em um aumento significativo na espessura da epiderme foliar plantas de aveia (*Avena sativa* L.), sugerindo uma possível adaptação das plantas a condição de restrição hídrica (SHEHZADI et al., 2019). Apesar das plantas de *B. densiflora* DC. estarem submetidas a irrigação constante, alguns eventos de limitação hídrica, desencadeados pela maior demanda na fase de florescimento, podem ter estimulado o espessamento das epidermes durante a fase de florescimento, limitando a perda de água por transpiração.

A relação quantidade de cera cuticular/área foliar também foi determinada nas plantas de *B. densiflora* DC. nos diferentes estádios. No entanto, não houve diferenças para essa relação nos diferentes estádios de desenvolvimento da *B. densiflora* DC. (Figura 1E). Comportamento similar também foi observado por Fadin et al. (2019) ao avaliar a espessura da cutícula de plantas de *B. densiflora* DC. em diferentes estádios fenológicos. A quantidade de cera cuticular acumulada nas folhas é um parâmetro altamente dependente das condições às quais a planta é submetida. Por exemplo, o estresse hídrico é um fator capaz de elevar a quantidade de cera nas folhas a fim de reduzir as perdas de água pela epiderme foliar, permitindo as plantas maior tolerância à condição de baixa disponibilidade hídrica no solo (HATTERMAN-VALENTI et al., 2006). No entanto, algumas plantas podem acumular mais cera nas folhas devido ao avanço do estágio de desenvolvimento, tais como observado para *Camellia sinensis* (CHEN et al., 2021) e trigo (CASTORINA et al., 2020). Para as plantas de *B. densiflora*

DC., o estágio de desenvolvimento não foi um fator capaz de alterar a quantidade de cera acumulada nas folhas. Plantas de *Cenostigma pyramidale* também não tiveram a quantidade de cera devido ao avanço de seu estágio fenológico (RIBEIRO et al., 2021). A ausência de condições de estresse durante a condução do experimento pode não ter afetado a síntese e acúmulo de cera nas folhas, uma vez que, condições de estresse são o principal fator associado ao acúmulo de cera cuticular nas folhas das plantas (LEWANDOWSKA et al., 2020; ZHANG et al., 2023; YAO et al., 2023).

A composição da cera cuticular das folhas de *B. densiflora* DC. apresentaram uma maior frequência de ácidos graxos saturados e apenas um composto fenólico (Tabela 1). Além disso, a análise da composição da cera cuticular de *B. densiflora* DC. ao longo dos estágios fenológicos revelou alterações significativas na proporção e tipos dos compostos identificados. Nos estágios de 2, 4 e 6-8 pares de folhas foram identificados cinco compostos, enquanto que no florescimento foi observado a presença de sete compostos (Tabela 1). No estágio inicial de "2 pares de folhas", o composto majoritário foi o phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) (42,83%), seguido por hexadecanoico (28,58%). Os compostos tricosano e heptacosano também foram identificados, representando 2,83% e 1,18%, respectivamente, do total extraído, enquanto decosano não foi detectado nesse estágio.

Tabela 1. Composição química de ceras epicuticulares de *Borreria densiflora* DC. em diferentes estádios de desenvolvimento.

Composto ¹	Fórmula química	Tempo retenção (min.)	Composição cera epicuticular de <i>Borreria densiflora</i> DC. (%)			
			Estádio fenológico			
			2 pares de folhas	4 pares de folhas	6-8 pares de folhas	Florescimento
Hexadecanoico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	16,08	28,58	27,50	23,53	17,84
Decosano	C ₂₂ H ₄₆		-	1,00	4,03	5,20
Phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	C ₁₇ H ₃₀ O		42,83	43,47	51,69	54,70
Tricosano	C ₂₃ H ₄₈ O ₂		2,83	-	-	-
Heptacosano	C ₂₇ H ₅₆ O ₂		1,18	-	-	-
Octadecanoico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂		24,58	26,56	19,55	17,85

Eicosano	C ₂₀ H ₄₂	-	-	-	2,19
Heneicosano	C ₂₁ H ₄₄	-	1,47	1,20	1,14
Heptadecano	C ₁₇ H ₃₆	-	-	-	1,08
Total		≈100	≈100	≈100	≈100
N.º Compostos identificados		05	05	05	07

¹Foram considerados apenas compostos com mais de 1% na composição químicas das ceras epicuticulares.

No estágio de 4 pares de folhas, o hexadecanoico reduziu para 27,5%, enquanto o phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) manteve como composto predominante, aumentando para 43,47%. O decosano e heneicosano foram detectados nesse estágio, com 1,00 e 1,47% do total extraído. O octadecanoico continuou com uma contribuição notável equivalente a 26,56%. Quando as plantas de *B. densiflora* alcançaram 6-8 pares de folhas, a quantidade phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) e decosano aumentou para 51,69% e 4,03%, respectivamente, em relação ao total dos compostos extraídos na cera. Por outro lado, o hexadecanoico e octadecanoico reduziram para 23,53 e 19,55%. O composto heneicosano não demonstrou significativas alterações nesse estágio em relação ao anterior (Tabela 1).

Durante o florescimento, hexadecanoico e octadecanoico demonstraram uma nova redução para 17,84 e 17,85%, enquanto que o phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) e decosano continuaram aumentando sua participação na composição da cera, alcançando 54,7 e 5,2% respectivamente (Tabela 1). Novamente, o composto heneicosano não mostrou alterações significativas em relação ao estágio anterior. No entanto, no florescimento foram detectados dois novos compostos ainda não evidenciados nos estágios anteriores, o heicosano e heptadecano, com 2,19 e 1,08% do total de compostos extraídos a partir da cera cuticular de *B. densiflora* DC.

Apesar das condições ambientais e estresses bióticos serem comumente reportados na literatura como fatores chaves para mudança da composição da cera cuticular nas folhas (BUSCHHAUS e JETTER et al., 2011; BATSALE et al., 2021), as mudanças no estágio fenológico da planta também podem influenciar essa composição. Para *B. densiflora* DC., a mudança nos estágios também promoveu alterações na composição da cera. As plantas de *B. densiflora* DC. ao alcançarem a fase de florescimento exibiram uma maior variação de compostos com proporção

acima de 1% da composição, superando as fases vegetativas que demonstraram apenas cinco. Essas mudanças devidas as alterações no estágio fenológico já foram observadas em outras espécies de plantas. Por exemplo, em *Clusia rosea*, a cera cuticular é renovada durante a ontogenia foliar, com diferenças na composição da cera entre os lados das folhas e uma preferência por alcanos de cadeia mais longa no lado abaxial (JIŘÍ et al., 2022). Nas folhas de *Arabidopsis thaliana*, a composição da cera muda da dominância de ácidos graxos para a dominância de alcanos à medida que as folhas se desenvolvem, mediada pela expressão da enzima elongase CER6 (BUSTA et al., 2017).

Entre as alterações da composição da cera de *B. densiflora* DC. ao alcançar o florescimento, o aumento dos teores de decosano, detecção dos compostos eicosano e heptadecano e a redução nos teores de hexadecanoico e octadecanoico foram as mais significativas. Essas alterações sugerem uma adaptação da planta para reduzir a perda de água via transpiração. O aumento nos teores de alcanos na cera cuticular das folhas é uma estratégia frequentemente correlacionada a capacidade das plantas em perder menos água a atmosfera (BOURDENX et al., 2011; LI et al., 2020; RAHMAN et al., 2020). Por exemplo, plantas do deserto, como *Z. xanthoxylum* e *Ammopiptanthus mongolicus*, acumulam grandes quantidades de cera cuticular, particularmente o alcano C31, que ajuda a reduzir a permeabilidade cuticular e a resistir aos estressores abióticos (HU et al., 2023). No tabaco arbóreo, os alcanos são essenciais durante as respostas à seca, pois permitem que as plantas selem sua cutícula após o fechamento estomático, reduzindo a morte das folhas e facilitando uma rápida recuperação (BOAZ et al., 2022). Algumas gramíneas C3 demonstraram a capacidade de acumular n-alcanos na cera cuticular, mesmo após a maturação completa das folhas (GAMARRA et al., 2017), indicando que esse processo pode estar presente também em *B. densiflora* DC. Provavelmente, o aumento na quantidade de alcanos na cera cuticular das folhas de *B. densiflora* DC. é um caminho para que a planta reduza a quantidade de água transpirada decorrente da maior área foliar no florescimento comparado aos demais estádios.

O phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) foi o principal componente da cera cuticular das folhas de *B. densiflora* DC. em todas as etapas fenológicas da planta, aumentando substancialmente sua quantidade relativa durante o florescimento. Esse fenol é um composto encontrado em vários organismos, incluindo bactérias, fungos, plantas e animais. É um metabólito secundário comum com potente toxicidade

contra organismos testadores, incluindo os próprios produtores a depender de sua concentração (ZHAO et al., 2020). Nas plantas, o fenol, 2,4-bis (1,1-dimetiletil) tem múltiplas funções reportadas na literatura. Por exemplo, esse composto exibiu uma atividade antifúngica ao inibir o crescimento de fitopatógenos fúngicos, como *Pithomyces atro-olivaceous* (Thangarasu et al 2021) e *Phytophthora cinnamomi* (Romero-Correa et al., 2014). Além disso, o fenol, 2,4-bis (1,1-dimetiletil) demonstrou ter propriedades herbicidas, reduzindo o peso fresco do broto de ervas daninhas gramíneas e de folha larga (Tse et al., 2015; Halim et al., 2017). O mecanismo de ação exato do fenol, 2,4-bis (1,1-dimetiletil) nas plantas não é totalmente compreendido e nenhuma correlação entre os estágios fenológicos das plantas e seu papel na cera cuticular, tal como observado nesse estudo, tem sido reportado na literatura.

5.2. Eficácia de controle e concentração de glyphosate e ácido aminometilfosfônico (AMPA) e sua correlação com as características anatômicas da folha

Os sintomas causados pela aplicação de glyphosate as plantas de *B. densiflora* DC. em diferentes estádios fenológicos são mostrados na Figura 2. A eficácia de controle do glyphosate para o biótipo de *B. densiflora* DC. variou conforme a dose aplicada e o estágio fenológico (Tabela 2). Para plantas com 2 pares de folhas, a dose de 1.440 g e.a. ha⁻¹ proporcionou 21,7% de controle aos 7 dias, aumentando para 56,7% aos 14 dias e 71,7% aos 28 dias. Na dose de 2.880 g e.a. ha⁻¹, observou-se um aumento significativo no controle, alcançando 86,7% aos 14 dias e atingindo o máximo de 100% aos 28 dias. Com 4 pares de folhas, a dose de 1.440 g e.a. ha⁻¹ proporcionou um controle igual a 26,7, 36,7 e 63,3% aos 7, 14 e 28 dias, respectivamente.

Tabela 2. Porcentagem de controle sobre *B. densiflora* DC. em diferentes estádios de desenvolvimento aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação de glyphosate nas doses de 1.440 e 2.880 g e.a ha⁻¹

Estádio	Dias após a aplicação		Dias após a aplicação		Dias após a aplicação	
	7		14		28	
	Dose de glyphosate (g de e.a ha ⁻¹)		Dose de glyphosate (g de e.a ha ⁻¹)		Dose de glyphosate (g de e.a ha ⁻¹)	
	1.440	2.880	1.440	2.880	1.440	2.880
2 pares de folhas	21,7 Aa	15,0 Ab	56,7 Ba	86,7 Aab	71,7 Ba	100,0 Aa
4 pares de folhas	26,7 Aa	18,3 Ab	36,7 Ab	83,3 Ab	63,3 Ba	95,0 Aa
6-8 pares de folhas	10,0 Bb	40,0 Aa	28,3 Bb	96,7 Aa	21,7Aab	85,0 Aa
Florescimento	2,5 Ac	0,8 Ac	3,3 Ac	0,7 Ac	2,8 Ac	1,7 Ab
CV (%)	8.53		15.78		12.57	

CV= coeficiente de variação; e.a.= equivalente ácido. Letras minúsculas (na coluna) e maiúsculas (na linha) diferem as médias dos tratamentos pelo teste Tukey p-valor < 0,05.

A aplicação da dose de 2.880 g e.a. ha⁻¹ para o estágio de 4 pares de folhas aumentou o controle, atingindo 18,3, 83,3 e 95,0% nos mesmos períodos. Para plantas de *B. densiflora* DC. com 6-8 pares de folhas, a dose de 1.440 g e.a. ha⁻¹ resultou em 10,0% de controle aos 7 dias, aumentando para 28,3% aos 14 dias. Aos 28 dias, a eficácia de controle reduziu para 21,7%. A dose de 2.880 g e.a. ha⁻¹ permitiu maior eficácia de controle comparado a menor dose, com 40,0% de controle aos 7 dias, 96,7% aos 14 dias e 85,0% aos 28 dias. No florescimento, a dose de 1.440 g e.a. ha⁻¹ permitiu o controle apenas em níveis de 2,5%, 3,3 e 2,83% aos 7, 14 e 28 dias, respectivamente. Na dose de 2.880 g e.a. ha⁻¹, o controle foi pouco alterado, sem diferenças significativas com a menor dose, alcançando 0,8%, 0,7% e 1,7% nos mesmos períodos.

De maneira geral, a aplicação de glyphosate na dose equivalente a 2.880 g e.a. ha⁻¹ foi eficiente para o controle de *B. densiflora* DC. nos estádios iniciais de desenvolvimento, proporcionando uma eficácia acima de 80% para plantas com até 6-8 pares de folhas. No entanto, no florescimento, as plantas de *B. densiflora* DC. demonstraram alta tolerância ao glyphosate, independente da dose, não exibindo nenhum sintoma visível devido a aplicação do herbicida (Figura 2).

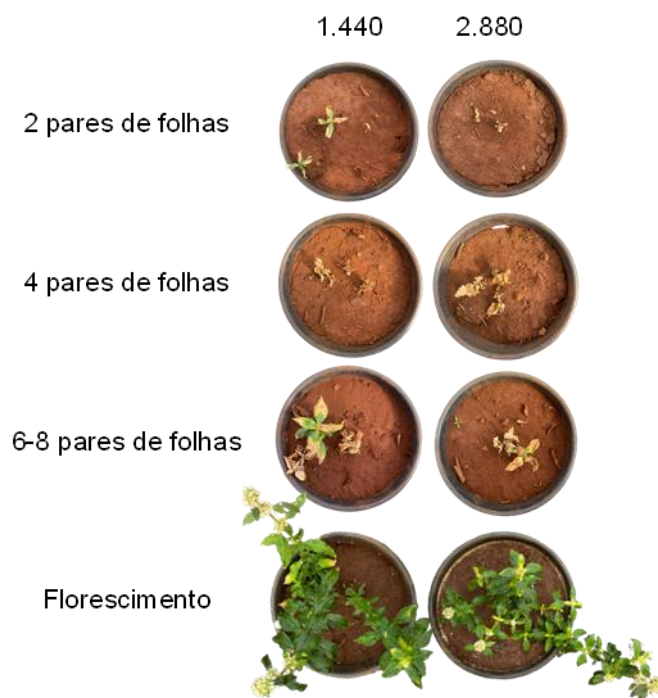


Figura 2- Intoxicação de *B. densiflora* DC. em diferentes estádios de desenvolvimento aos 28 dias após a aplicação de glyphosate após a aplicação de glyphosate nas doses de 1.440 e 2.880 g e.a. ha⁻¹.

Esse resultado sugere que o glyphosate demonstrou ser eficaz no controle de *B. densiflora* DC., mas a eficácia pode variar dependendo do estágio de crescimento.

Para estádios de desenvolvimento mais avançados, o uso de glyphosate misturado com outros herbicidas, como carfentrazona, flumioxazina e saflufenacil, permitiu um controle eficaz de *B. densiflora* DC. (ALBRECHT et al., 2023). Uma questão importante para o manejo de *B. densiflora* DC. pode ser a associação de outros métodos não-químicos de controle, como por exemplo a presença de palha oriunda de plantas de cobertura. Segundo Castilho et al. (2021), a presença de cobertura morta de plantas de cobertura, independente da espécie, afetou negativamente o surgimento plântulas de *B. densiflora* DC., retardando e até impedindo que a germinação dessa espécie. Estratégias que inibam ou retardam a germinação de plantas de *B. densiflora* DC. podem auxiliar durante o manejo dessa espécie por dois caminhos. Primeiro, a planta daninha tem sua habilidade competitiva reduzida comparado a cultura, favorecendo o controle cultural. Em segundo, a germinação mais lenta das plantas de *B. densiflora* DC. pode favorecer o controle químico, uma vez que, como observado nesse trabalho, os estágios fenológicos

iniciais dessa espécie são mais susceptíveis ao herbicida glyphosate comparado à estádios mais avançados.

O AMPA não foi quantificado nas amostras. Alguns fatos já evidenciados na literatura podem explicar esse resultado. O AMPA, o principal metabólito do glifosato, não é detectado nos tecidos vegetais em algumas situações devido a vários fatores, incluindo a persistência e mobilidade do glifosato, as condições ambientais e as espécies vegetais específicas envolvidas. A formação de complexos insolúveis com íons metálicos pode reduzir a conversão do glifosato em AMPA em certas condições (Botten et al., 2021), limitando a concentração de AMPA nos tecidos. Além disso, plantas daninhas já demonstraram a capacidade de converter o AMPA em compostos menos tóxicos através de enzimas específicas, reduzindo sua persistência (Duke, 2021). Além disso, o AMPA pode ser translocado para as raízes, onde se acumula, dificultando sua detecção em outras partes da planta (Pan et al., 2019). A conjugação também detoxifica o AMPA, formando conjugados menos tóxicos que são armazenados nas células (Gaines et al., 2019). Finalmente, a exsudação radicular libera AMPA no solo, onde é degradado por microrganismos (Viti et al., 2019).

Para o glyphosate, os resultados da análise da concentração de glyphosate por peso de parte aérea ($\mu\text{g kg}^{-1}$) em diferentes estágios fenológicos da *B. densiflora* DC. submetidos a duas doses distintas do herbicida, revelam padrões distintos de absorção e redistribuição do herbicida ao longo das épocas de avaliação (Figura 3).

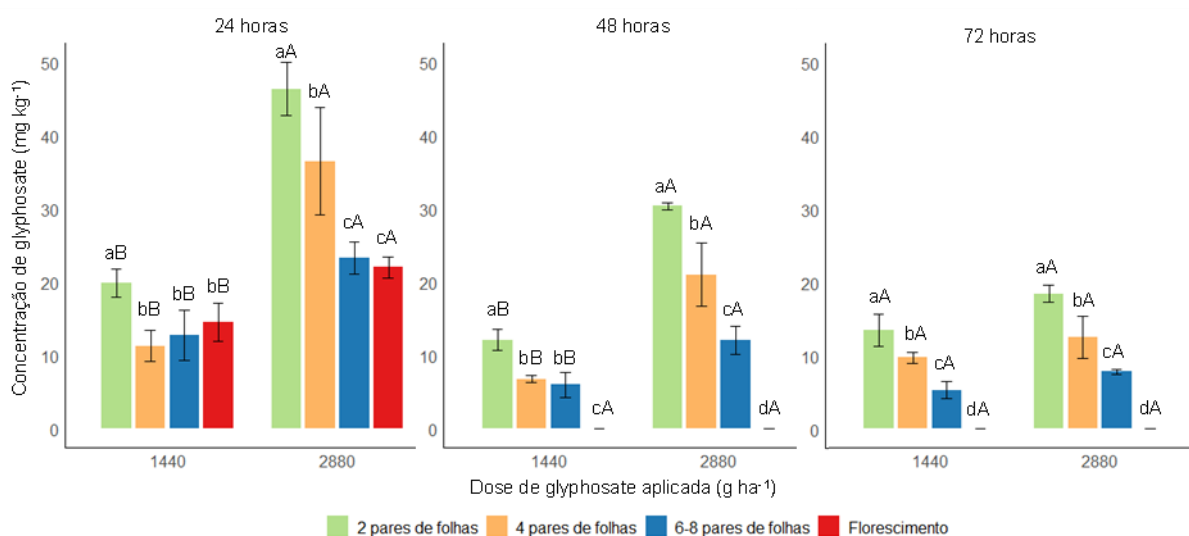


Figura 3- Concentração de glyphosate ($\mu\text{g kg}^{-1}$) na parte aérea de *B. densiflora* DC. em diferentes estádios de desenvolvimento após 24, 48 e 72 horas da aplicação das

doses de 1.440 e 2.880 g de e.a ha⁻¹. Letras minúsculas diferem as médias referentes aos estádios de desenvolvimento e letras maiúsculas diferem as médias referentes a dose aplicada pelo teste Tukey p-valor < 0,05.

Após 24 horas da aplicação (HAP) de 1.440 g e.a. ha⁻¹ glyphosate, as plantas de *B. densiflora* DC. com 2 pares de folhas absorveram uma quantidade significativa de glyphosate, resultando em uma maior concentração de herbicida (19,92 µg kg⁻¹) comparado aos demais estádios. À medida que a planta avançou para o estádio de 4 pares de folhas, uma redução na quantidade absorvida foi observada, proporcionando uma concentração de glyphosate na parte aérea igual a 11,30 µg kg⁻¹. Os estágios subsequentes, 6-8 pares de folhas (12,83 µg kg⁻¹) e florescimento (14,57 µg kg⁻¹), não diferiram do estádio com 4 pares de folhas para concentração de glyphosate mensurada na parte aérea. Na dose mais alta, 2.880 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, a absorção do herbicida 24 HAP foi superior a menor dose para todas os estádios fenológicos da *B. densiflora* DC. O estágio inicial de 2 pares de folhas demonstrou a maior concentração máxima de 46,39 µg kg⁻¹ comparado aos demais estádios. O estágio de 4 pares de folhas (36,50 µg kg⁻¹) mostrou a segunda maior concentração de glyphosate quantificada na parte aérea, seguido pelos estádios de 6-8 pares de folhas (23,29 µg kg⁻¹) e florescimento (22,04 µg kg⁻¹). Nesses dois últimos estádios, não houve diferenças significativas entre eles.

Após 48 e 72 horas da aplicação do glyphosate, um padrão semelhante para a concentração de glyphosate foi observado entre os estádios fenológicos e as doses aplicadas (Figura 3). Primeiramente, após 48 horas da aplicação de 1.440 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, o estádio de 2 pares de folhas exibiu a maior concentração (12,14 µg kg⁻¹). Os estádios de 4 e 6-8 folhas demonstraram a segunda maior concentração de glyphosate na parte aérea (6,83 e 6,07 µg kg⁻¹, respectivamente). Para aplicações de 2.880 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, a maior concentração do herbicida também foi observada no estádio de 2 pares de folhas (30,45 µg kg⁻¹), seguido pelo estádio de 4 pares de folhas (21,06 µg kg⁻¹) e 6-8 pares de folhas (12,10 µg kg⁻¹). No florescimento, independente da dose aplicada, não foram detectadas a presença do glyphosate 48 horas após sua aplicação.

Após 72 horas da aplicação do glyphosate, não houve diferenças para as concentrações de glyphosate devido a dose aplicada do herbicida em nenhum estádio fenológico da *B. densiflora* DC. (Figura 3). Nessa época de avaliação, apenas diferenças significativas entre os estágios foram observadas nas plantas. A maior

concentração de glyphosate na parte aérea foi quantificada no estágio de 2 pares de folhas (13,46 e 18,44 $\mu\text{g kg}^{-1}$, para as doses de 1.440 e 2.880 g e.a. ha^{-1} , respectivamente), seguida pelo estágio de 4 pares de folhas (9,77 e 12,50 $\mu\text{g kg}^{-1}$) e 6-8 pares de folhas (5,27 e 7,83). Novamente, no estágio de florescimento não foram detectadas a presença do glyphosate, similar a observado após 48 horas da aplicação do herbicida.

A concentração de glyphosate na parte aérea das plantas de *B. densiflora* DC. foi reduzida horas após a aplicação do herbicida para todas os estádios fenológicos da *B. densiflora* DC. e dose aplicada. No estágio de florescimento, traços de glyphosate não foram detectados a partir de 48 horas após a aplicação do herbicida (Figura 4). As reduções médias na concentração de glyphosate entre os períodos de 24 à 72 horas foram iguais a 57 e 70% para doses aplicadas de 1440 e 2880 g e.a. ha^{-1} , respectivamente.

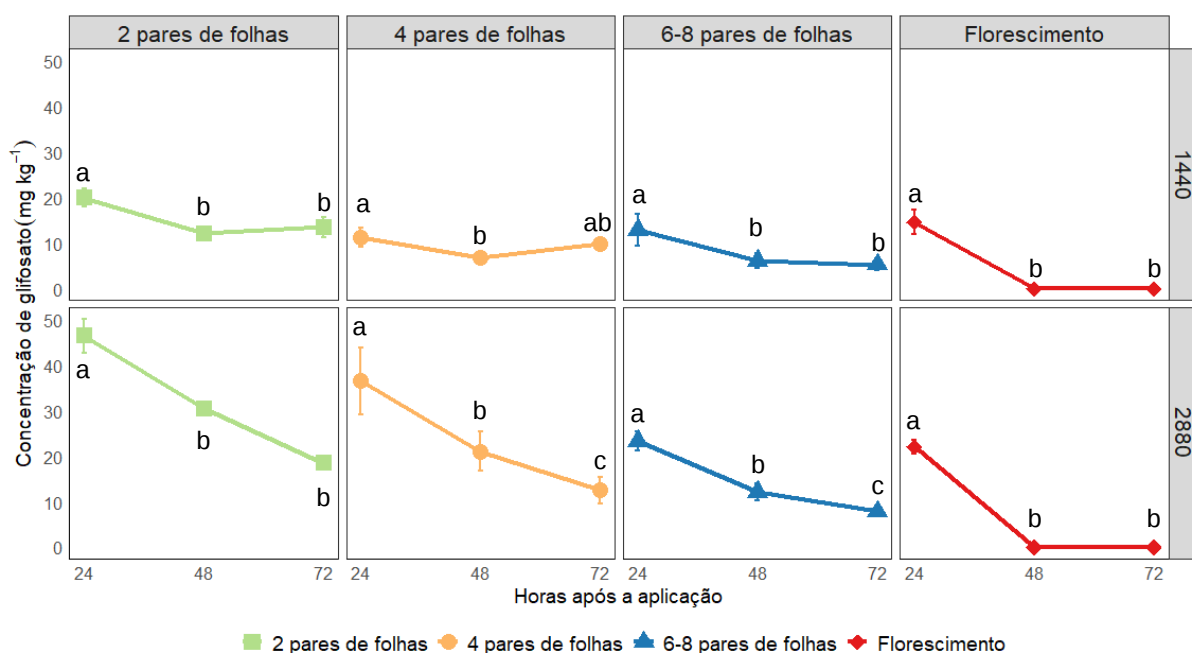


Figura 4- Concentração de glyphosate ($\mu\text{g kg}^{-1}$) na parte aérea de *Borreria densiflora* 24, 48 e 72 horas da aplicação das doses de 1.440 e 2.880 g de e.a. ha^{-1} de glyphosate em plantas com diferentes estádios fenológicos. Letras minúsculas diferem as médias referentes aos intervalos de avaliação após a aplicação dentro de cada estágio e dose pelo teste Tukey $p\text{-valor} < 0,05$.

As diferenças para as concentrações de glyphosate quantificadas na parte aérea das plantas de *B. densiflora* DC. em ambas as doses de herbicida aplicado,

revelam fatos importantes sobre a correlação entre a tolerância dessa espécie ao glyphosate e o estágio de desenvolvimento da planta. A menor concentração de glyphosate quantificada em estágios fenológicos mais avançados sugerem que a *B. densiflora* DC. reduziu a quantidade de herbicida absorvido a partir das folhas. Fadin et al. (2018) observou que um biótipo de *B. densiflora* DC. com baixa eficácia de controle pelo glyphosate demonstrou menor absorção e translocação do herbicida. Porém, esses mesmos autores não obtiveram evidências suficientes para correlacionar o estágio fenológico dessa espécie com a absorção e translocação do glyphosate ou a eficácia de controle. Nossos resultados indicam que essa correlação existe.

A menor absorção do glyphosate nas folhas é, de fato, um mecanismo de tolerância. Vários estudos mostraram que biótipos resistentes ou tolerantes de diferentes espécies de plantas daninhas exibiram absorção reduzida de glyphosate em comparação com biótipos suscetíveis. Por exemplo, no caso de *Bromus catharticus*, a população resistente apresentou menor retenção foliar e absorção reduzida de glifosato em comparação com a população suscetível (Yanniccari et al., 2021). Da mesma forma, no caso do capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*), o biótipo resistente exibiu menor absorção e translocação do glyphosate, o que foi atribuído à menor densidade estomática e a um diâmetro menor do floema (Melo et al., 2019). Além disso, no caso do azevém rígido (*Lolium rigidum*), o biótipo resistente apresentou redução na absorção e translocação do glifosato em comparação com o biótipo suscetível (Ulguim et al., 2017). Para *B. densiflora* DC., a restrição na absorção de glyphosate durante o florescimento também demonstrou ser um mecanismo de tolerância, permitindo que essa espécie tolerasse doses que são letais a ela em estádios iniciais de desenvolvimento.

Além da absorção diferenciada do glyphosate devido ao avanço do estágio fenológico, *B. densiflora* DC. também demonstrou ser capaz de metabolizar parte do herbicida absorvido através das folhas. Esse fato pode ser observado ao verificar a redução da concentração do glyphosate no tecido da parte aérea ao longo das horas após sua aplicação. Esse comportamento é mais evidente na fase de florescimento, onde a planta reduziu a quantidade de glyphosate para níveis não-detectáveis pela cromatografia. No entanto, essa capacidade em reduzir as concentrações de glyphosate horas após a aplicação foi evidenciada em todos os estágios fenológicos.

O mecanismo mais frequentemente observado de resistência ou tolerância de plantas daninhas ao glyphosate em estudos já publicados parece envolver mutações ou superexpressões no gene EPSPs, que é o local alvo primário do herbicida (SAMMONS; GAINES et al., 2014). A mutação confere à planta a capacidade de contornar a inibição causada pelo glyphosate, enquanto a superexpressão permite a planta manter a síntese de aminoácidos em níveis satisfatórios para evitar o colapso da planta. Em ambos os casos, há a sobrevivência e reprodução dos biótipos resistentes mesmo na presença do herbicida (BYKER et al., 2022; PALMA-BAUTISTA ET AL., 2023; DENG et al., 2023). Por outro lado, os estudos que identificaram a capacidade de metabolizar rapidamente o glyphosate como mecanismo de resistência ou tolerância são raros. Um exemplo foi reportado para a *Echinochloa colona*. Nessa espécie, duas aldo-ceto redutases homólogas (AKRs), AKR4C16 e AKR4C17, contribuíram para a resistência da *E. colona* ao glifosato, degradando 70% do glyphosate absorvido (LI et al., 2022). Para *B. densiflora* DC. além da menor absorção do glyphosate no florescimento, a capacidade da espécie em metabolizar rapidamente o herbicida absorvido até 48 horas após sua aplicação resultou na ausência de sintomas visíveis de intoxicação, bem como o baixíssimo índice de controle dessa espécie. Esse comportamento ocorreu independente da dose aplicada, suportando a hipótese que tanto mecanismos anatômicos como metabólicos estão envolvidos na capacidade da *B. densiflora* DC. em tolerar doses de glyphosate recomendadas em bulas de produtos comerciais.

A análise de correlação de Person entre as características anatômicas das folhas, os compostos identificados na cera, a concentração de glyphosate na parte aérea e o nível de controle obtidos nas plantas de *B. densiflora* DC. em diferentes estádios fenológicos demonstrou algumas relações importantes entre alguns desses componentes (Figura 5). A correlação entre a concentração de glyphosate determinada na parte aérea 72 horas após sua aplicação e o controle das plantas foi moderada e positiva para dose de 1440 g e.a. ha⁻¹ (0.67) e forte e positiva para dose de 2880 g e.a. ha⁻¹ (0.88). Esse resultado sugere que a quantidade de glyphosate absorvida pelas folhas de *B. densiflora* DC. determina a eficácia de controle dessa espécie por esse herbicida.

Para dose de 1440 g e.a. ha⁻¹, houve forte correlação negativa entre a concentração de glyphosate determinada na parte aérea 72 horas após a aplicação e a quantidade de decosano (-0,96) e phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) (0,94)

quantificadas na cera das plantas de *B. densiflora* DC.(Figura 5A). Na dose de 2880 g e.a. ha⁻¹, essa correlação se manteve forte e negativa entre a concentração de glyphosate e a quantidade de decosano (-0,94) e phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) (0,92) (Figura 5B).

A cera cuticular das plantas daninhas afeta diretamente a performance de herbicidas aplicados em pós-emergência. A redução na performance dos herbicidas muitas vezes está associada a maior dificuldade do herbicida em penetrar através camada cerosa em condições de maior espessura desse componente, atuando como uma barreira a passagem do herbicida até a epiderme (ARAND et al., 2018, TREZZI et al., 2020). No entanto, para a *B. densiflora* DC. esse mecanismo não demonstrou correlação com a eficácia do glyphosate uma vez que a quantidade de cera nas folhas não foi alterada devido ao estágio fenológico das plantas. Por outro lado, a alteração na composição da cera parece estar envolvida na capacidade da *B. densiflora* DC. em absorver menores concentrações de glyphosate uma vez que houve correlações significativas com alguns compostos detectados na cera cuticular.

Uma das mudanças mais notáveis na composição da cera cuticular da *B. densiflora* DC. entre os estádios fenológicos de 2 pares de folhas ao florescimento foi o aumento na quantidade de alcanos e redução da quantidade de ácidos carboxílicos. Ou seja, a cera cuticular da *B. densiflora* DC. no florescimento tinha maior lipofilicidade em relação aos demais estádios. Essa mudança provavelmente reduziu a penetração do glyphosate através da camada cerosa da cutícula devido a característica hidrofílica desse herbicida e do veículo usado para pulverização, no caso a água. A maior lipofilicidade da superfície foliar repele mais intensamente as gotas pulverizadas sobre a folha, dificultando a chegada do herbicida diluído na gota até a epiderme para completa absorção (HU et al., 2020; da SILVA SANTOS et al., 2021).

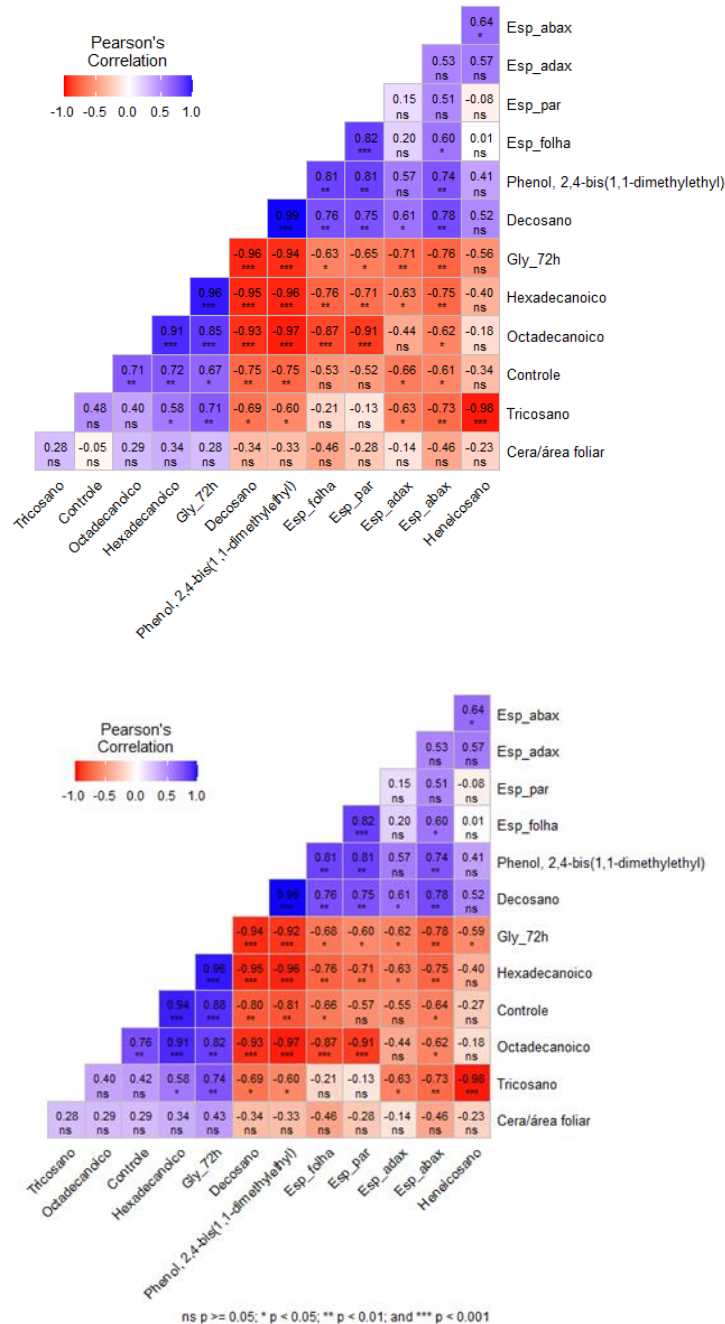


Figura 5- Correlação entre os parâmetros foliares, componentes da cera cuticular, concentração de glyphosate e a porcentagem de controle sobre plantas de *B. densiflora* DC. aos 28 dias após a aplicação de 1.440 (A) e 2.880 g e.a ha⁻¹ (B).

Outra mudança na cera cuticular observada nas plantas de *B. densiflora* DC. durante o florescimento foi a maior quantidade de phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl). Não existem relatos na literatura sobre a ação antagonista desse composto sobre a ação de herbicidas. No entanto, o aumento na quantidade desse composto na cera das plantas de *B. densiflora* DC. durante o florescimento pode ter reduzido a absorção

de glyphosate através da folha. Alguns compostos extraídos de ceras cuticulares de folhas foram capazes de adsorver alguns herbicidas. Por exemplo, a estrutura alifática presente nas ceras fornece domínio de sorção hidrofóbico inespecífico e locais de adsorção específicos para herbicidas pertencente ao grupo das triazinas (SHECHTER et al., 2006). Para o glyphosate, a ligação específica com regiões do phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) pode ser um fato a ser considerado como possível caminho para adsorção desse herbicida na cera da *B. densiflora* DC. Um estudo reportou que a formação de complexos dinucleares de Zn(II) em poliaminofenóis permitiu a adsorção do glyphosate e AMPA por meio de interações iônicas (CONTI et al., 2021). Possivelmente, a região trimetilsilanolato do phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) pode estabelecer interações iônicas com o glyphosate, similar ao observado para os complexos Zn(II)- poliaminofenóis, permitindo sua adsorção a cera.

Outro fenômeno já reportado pela literatura está associado a capacidade de determinados compostos das ceras cuticulares em alterar a taxa de degradação ou transformação de herbicidas. Por exemplo, o isoproturon mostrou uma degradação mais lenta nas superfícies de cutina em comparação com as superfícies de vidro, possivelmente devido ao efeito de extinção do material de cutina (CHOUDHURY, 2017). Por outro lado, a fotoestabilidade da mesotriona foi significativamente afetada pela formulação e pela cera cuticular, com a mesotriona formulada passando por fototransformação em uma taxa mais rápida em filmes de cera (LAVIEILLE et al., 2009). Além disso, a sulcotriona sofreu fotólise acelerada em filmes de cera cuticular, com o fotoproduto sendo um derivado do cromônio (TER HALLE et al., 2006). Diante dessas evidências, é plausível propor que o phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) também pode atuar acelerando a degradação do glyphosate durante o florescimento, fase na qual foi quantificada uma maior quantidade desse fenol.

Na dose de 1440 g e.a. ha⁻¹, também houve fortes correlações negativas entre a concentração de glyphosate determinada na parte aérea 72 horas após a aplicação e a espessura da epiderme adaxial (-0,71) e abaxial (0,76) das folhas de *B. densiflora* DC. (Figura 1A). Correlações negativas moderadas foram observadas nessa dose entre a concentração de glyphosate e a espessura das folhas (-0,63) e parênquima (-0,65) (Figura 5A). Para a dose de 2880 g e.a. ha⁻¹, uma forte correlação negativa foi observada apenas entre a concentração de glyphosate e a espessura da epiderme abaxial (-0,78). Moderadas correlações negativas foram detectadas entre a

concentração de glyphosate e a espessura da folhas (-0,68), parênquima (-0,60) e epiderme adaxial (-0,62) (Figura 5B).

A espessura da epiderme adaxial e abaxial também podem ter proporcionado a menor absorção do glyphosate nas plantas de *B. densiflora* DC. no florescimento, resultado nas correlações negativas observadas entre esses componentes e a concentração desse herbicida no tecido da parte aérea. Diferenças na superfície foliar e na estrutura interna, como a presença de tricomas e a espessura da epiderme, podem influenciar a suscetibilidade das plantas aos herbicidas (CHAPETA et al., 2023). Por exemplo, plantas com maior densidade de tricomas podem impedir que herbicidas atinjam a superfície da folha, resultando em absorção reduzida (BOŽIĆ et al., 2020). Consequentemente, a espessura da epiderme, principalmente a adaxial devido a maior deposição de gotas de pulverização, podem ter oferecido uma maior resistência a difusão da calda contendo glyphosate até o mesofilo das folhas de *B. densiflora* DC., contribuindo para menor penetração desse herbicida em plantas em florescimento.

A análise de correlação destacou a complexidade das interações entre os componentes da cera e parâmetros anatômicos, mostrando que o aumento na lipofilicidade da cera cuticular durante o florescimento e a espessura da epiderme têm impactos significativos na absorção do herbicida. Compreender esses mecanismos específicos é crucial para o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficazes, uma vez que evidenciam a importância crítica dos compostos específicos da cera cuticular na regulação da absorção do glyphosate por *B. densiflora* DC. Essas descobertas fornecem uma base sólida para aprimorar abordagens de controle visando superar a resistência e a capacidade de adaptação dessa planta daninha em diferentes fases de seu ciclo de vida.

Plantas de *B. spinosa*, quando florescidas, demonstraram incapacidade de absorver o glyphosate, destacando um desafio significativo no controle dessa espécie. Adicionalmente, é importante considerar que condições de estresse térmico, luminoso e hídrico, que não foram abordadas no presente estudo, podem agravar ainda mais essa limitação na absorção do herbicida. Sob tais condições adversas, a composição da cera cuticular das plantas pode se tornar ainda mais lipofílica como uma adaptação para evitar a perda de água, o que, consequentemente, dificulta ainda mais a penetração do glyphosate. Essas condições de estresse são frequentemente observadas após a entressafra do milho, período durante o qual plantas de *B. spinosa*

não controladas podem sobreviver e modificar a composição de sua cera cuticular, tornando-se ainda mais resistentes à aplicação do herbicida.

6. CONCLUSÕES

Mudanças anatômicas e na composição da cera cuticular de *B. densiflora* DC. ocorre ao longo de seus estádios fenológicos. Uma maior espessura do mesófilo foliar e variações nas espessuras das epidermes adaxial e abaxial ocorrem no florescimento.

Em relação à eficácia do herbicida glyphosate, ele é eficaz durante os estágios vegetativos com doses de 1.440 e 2.880 g e.a. ha⁻¹, mas a planta mostra alta tolerância ao herbicida durante o florescimento, independentemente da dose aplicada.

O AMPA não foi detectado nos tecidos da parte aérea das plantas em nenhum estágio fenológico. Para o glyphosate, concentrações menores são observadas no tecido da parte aérea da *B. densiflora* DC. quando essa espécie alcança a fase de florescimento em relação aos demais estádios fenológicos.

Além disso, a composição da cera cuticular de *B. densiflora* DC. muda ao longo dos estádios fenológicos, afetando diretamente a absorção do glyphosate. Durante o florescimento, há um aumento de compostos lipofílicos que reduzem a absorção do herbicida, enquanto alguns compostos menos lipofílicos diminuem. A quantidade de phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) na cera cuticular também aumenta, embora sua relação com a eficácia do glyphosate ainda não seja clara sugerindo possíveis mecanismos de adsorção ou metabolização promovidos por esse fenol.

Esses resultados destacam a necessidade de estratégias de manejo diferenciadas para controlar *B. densiflora* DC., considerando suas adaptações específicas em cada estágio fenológico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albrecht, A. J. P., Lorenzetti, J. B., Albrecht, L. P., Danilussi, M. T. Y., Barroso, A. A. M., & Silva, A. F. M. Eficácia de herbicidas no controle *Spermacoce verticillata* e seletividade para as plantas de milho. **Revista Brasileira de Herbicidas**, 2003.

Arand, K., Asmus, E., Popp, C., Schneider, D., & Riederer, M. The Mode of Action of Adjuvants—Relevance of Physicochemical Properties for Effects on the Foliar Application, Cuticular Permeability, and Greenhouse Performance of Pinoxaden. **Journal of agricultural and food chemistry**, 66(23), 5770-5777, 2018.

Baccin, L. C., da Silva Araújo, L., Albrecht, A. J. P., Kitajima, E. W., & Victoria Filho, R. (2019). Caracterização morfológica da superfície foliar de Vassourinha de botão (*Spermacoce verticillata*). **Anais SIMPOHERBI**, 1. Disponível em: <http://fitossanidade.fcav.unesp.br/seer/index.php/simpoherbi/article/view/695>. Acessado em: 02 de Março de 2024.

Batsale, M., Bahammou, D., Fouillen, L., Mongrand, S., Joubès, J., & Domergue, F. Biosynthesis and functions of very-long-chain fatty acids in the responses of plants to abiotic and biotic stresses. **Cells**, 10(6), 1284, 2021.

Beckie, H. J. Herbicide-resistant weed management: focus on glyphosate. **Pest management science**, 67(9), 1037-1048, 2021.

Boaz, Negin., Shelly, Hen-Avivi., Efrat, Almekias-Siegl., Lior, Shachar., Georg, Jander., Asaph, Aharoni. Tree tobacco (*Nicotiana glauca*) cuticular wax composition is essential for leaf retention during drought, facilitating a speedy recovery following rewatering.. **New Phytologist**, doi: 10.1111/nph.18615, 2022.

Božić, D., Rančić, D., Sarić-Krsmanović, M., & Vrbničanin, S. Comparative analysis of leaf micromorphology and anatomy in cultivated and weedy sunflower (*Helianthus annuus*). **Acta herbologica**, 29(1), 43-54, 2020.

Boerboom, C. M. Nonchemical options for delaying weed resistance to herbicides in Midwest cropping systems. **Weed Technology**, 13(3), 636-642, 1999.

BOTTEN, N.; WOOD, L. J.; WERNER, J. R. Glyphosate remains in forest plant tissues for a decade or more. **Forest Ecology and Management**, v. 493, p. 119259, 2021.

Bourdenx, B., Bernard, A., Domergue, F., Pascal, S., Léger, A., Roby, D., Pervent, M., Vile, D., Haslam, R., Napier, J., Lessire, R., & Joubès, J. Overexpression of *Arabidopsis ECERIFERUM1* Promotes Wax Very-Long-Chain Alkane Biosynthesis

and Influences Plant Response to Biotic and Abiotic Stresses¹[W]. **Plant Physiology**, 2011.

Buschhaus, C., & Jetter, R. Composition differences between epicuticular and intracuticular wax substructures: how do plants seal their epidermal surfaces?. **Journal of experimental botany**, 62(3), 841-853, 2011.

Byker, H. P., Soltani, N., Nissen, S. J., Gaines, T. A., Westra, P. E., Martin, S. L., ... & Sikkema, P. H. Mechanisms of glyphosate resistance in common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*): patterns of absorption, translocation, and metabolism. **Weed Science**, 70(2), 151-159, 2022.

Carriquí, M., Nadal, M., & Flexas, J. Acclimation of mesophyll conductance and anatomy to light during leaf aging in *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum**, 172(4), 1894-1907, 2021.

Castorina, G., Domergue, F., Chiara, M., Zilio, M., Persico, M., Ricciardi, V., ... & Consonni, G. Drought-responsive ZmFDL1/MYB94 regulates cuticle biosynthesis and cuticle-dependent leaf permeability. **Plant physiology**, 184(1), 266-282, 2020.

Conti, L., Flore, N., Formica, M., Giorgi, L., Pagliai, M., Mancini, L., ... & Giorgi, C. Glyphosate and AMPA binding by two polyamino-phenolic ligands and their dinuclear Zn (II) complexes. **Inorganica Chimica Acta**, 2021.

Chapeta, A. C. O., Tozin, L. R. D. S., Souza, A. D. S., Costa, M. G., Leal, J. F. L., & Pinho, C. F. D. Leaf and stem anatomical characterization of *Euphorbia hirta* L., a tolerant species to glyphosate. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, 58(3), 203-209, 2023.

Chen, M., Zhang, Y., Kong, X., Du, Z., Zhou, H., Yu, Z., ... & Chen, C. Leaf cuticular transpiration barrier organization in tea tree under normal growth conditions. **Frontiers in Plant Science**, 2021.

Christoffoleti, P. J., & Carvalho, S. J. P. D. Adaptadas, espécies infestantes resistem a herbicidas. **Visão agrícola**, 6(9), 123-125, 2009.

Choudhury, P. P. Leaf cuticle-assisted phototransformation of isoproturon. **Acta Physiologiae Plantarum**, 2017.

Deng, W., Duan, Z., Li, Y., Peng, C., & Yuan, S. Multiple Resistance Mechanisms Involved in Glyphosate Resistance in *Eleusine indica*. **Plants**, 2022.

DUKE, Stephen O. Enhanced Metabolic Degradation: The Last Evolved Glyphosate Resistance Mechanism of Weeds?. **Plant Physiology**, v. 181, n. 4, p. 1401, 2019.

Fadin, D. A., Tornisielo, V. L., Barroso, A. A. M., Ramos, S., Dos Reis, F. C., & Monquero, P. A. Absorption and translocation of glyphosate in *Spermacoce verticillata* and alternative herbicide control. **Weed research**, 58(5), 389-396, 2018.

Fernandez, J. E. Understanding olive adaptation to abiotic stresses as a tool to increase crop performance. **Environmental and Experimental Botany**, 103, 158-179, 2014.

Fuqiang, Zhao., Ping, Wang., Rima, D., Lucardi., Zushang, Su., Shiyu, Li. Natural Sources and Bioactivities of 2,4-Di-Tert-Butylphenol and Its Analogs. **Toxins**, 2020.

GAINES, Todd A.; PATTERSON, Eric L.; NEVE, Paul. Molecular mechanisms of adaptive evolution revealed by global selection for glyphosate resistance. **New Phytologist**, v. 223, n. 4, p. 1770-1775, 2019.

Gamarra, B., & Kahmen, A. Low secondary leaf wax n-alkane synthesis on fully mature leaves of C3 grasses grown at controlled environmental conditions and variable humidity. **Rapid communications in mass spectrometry** : RCM, 31 2, 218-226, 2017.

Gemelli, A., de Oliveira Junior, R. S., Constantin, J., Braz, G. B. P., de Campos Jumes, T. M., de Oliveira Neto, A. M. Aspectos da biologia de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate e implicações para o seu controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**, 11(2), 231-240, 2012.

HEAP, I (2011). **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <https://www.weedscience.org/Pages/Species.aspx>. 2015. Acessado em: 01 de Março de 2024. HEAP, I.A (2019). **Criteria for Confirmation of the Herbicide-Resistant Weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org/Documents/ResistanceCriterion.pdf>. 2019. Acessado em: 01 de Março de 2024.

Hu, X., Pambou, E., Gong, H., Liao, M., Hollowell, P., Liu, H., ... & Lu, J. R. How does substrate hydrophobicity affect the morphological features of reconstituted wax films and their interactions with nonionic surfactant and pesticide?. **Journal of colloid and interface science**, 575, 245-253, 2020.

Huangfu, C., Song, X., & Qiang, S. Morphological disparities in the epidermal and anatomical features of the leaf among wild *Brassica juncea* populations. **Weed Biology and Management**, 9(3), 234-242, 2009.

Hu-Jun-Li., Wan-Peng, Bai., Lin-Bo, Liu., Haicong, Liu., Li, Wei., Timothy, M., Garant., Rebecca, S., Kalinge., Yu-Xuan, Deng., Gai-Ni, Wang., Aike, Bao., Qing, Ma., Owen, Rowland., Suo-Min, Wang. Massive increases in C31 alkane on *Zygophyllum*

xanthoxylum leaves contribute to its excellent abiotic stress tolerance.. **Annals of Botany**, 2023.

Jiří, Kubásek., Tereza, Kalistová., Jitka, Janová., B., N., Askanbayeva., Jan, Bednar., Jiří, Šantrůček. Cuticular wax, but not the cutin matrix, is renewed during the lifespan of *Clusia rosea* leaves ¹³CO₂ labelling and gas exchange study. **bioRxiv**, 2022.

Juliana, Castilho., Victor, Augusto, Forti., Patricia, Andrea, Monquero. Biology and non-chemical management of *Spermacoce verticillata* and *Spermacoce densiflora*. **Renewable Agriculture and Food Systems**, 2021.

Junyan, Zhu., Kelin, Huang., Daojie, Cheng., Caohao, Zhang., Rui, Li., Fang-qing, Liu., Huilin, Wen., Lingling, Tao., Youze, Zhang., Cui-hua, Li., Shengrui, Liu., Chaoling, Wei. Characterization of Cuticular Wax in Tea Plant and Its Modification in Response to Low Temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2022.

Lavieille, D., Ter Halle, A., Bussiere, P. O., & Richard, C. Effect of a spreading adjuvant on mesotrione photolysis on wax films. **Journal of agricultural and food chemistry**, 57(20), 9624-9628, 2009.

Lewandowska, M., Keyl, A., & Feussner, I. Wax biosynthesis in response to danger: its regulation upon abiotic and biotic stress. **New Phytologist**, 227(3), 698-713, 2020.

Li, H., Guo, Y., Cui, Q., Zhang, Z., Yan, X., Ahammed, G., Yang, X., Yang, J., Wei, C., & Zhang, X. Alkanes (C₂₉ and C₃₁)-Mediated Intracuticular Wax Accumulation Contributes to Melatonin- and ABA-Induced Drought Tolerance in Watermelon. **Journal of Plant Growth Regulation**, 2020.

Li, H., Yang, Y., Hu, Y., Chen, C. C., Huang, J. W., Min, J., ... & Guo, R. T. Structural analysis and engineering of aldo-keto reductase from glyphosate-resistant *Echinochloa colona*. **Journal of Hazardous Materials**, 436, 129191, 2022.

López-Ovejero, R. F., Penckowski, L. H., Podolan, M. J., Carvalho, S. J. P., & Christoffoleti, P. J. Alternativas de manejo químico da planta daninha *Digitaria ciliaris* resistente aos herbicidas inibidores da ACCase na cultura de soja. **Planta Daninha**, 24, 407-414, 2006.

Lourenço, M. F. D. C. (2018). **Manejo químico de vassourinha-de-botão (*Spermacoce* sp.) na cultura da soja**. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/304>. Acessado em: 01 de Março de 2024.

Lucas, Busta., Daniela, Hegebarth., Edward, Kroc., Reinhard, Jetter. Changes in cuticular wax coverage and composition on developing *Arabidopsis* leaves are

influenced by wax biosynthesis gene expression levels and trichome density.. **Planta**, 2017.

Marchi, S., Tognetti, R., Minnocci, A., Borghi, M., & Sebastiani, L. Variation in mesophyll anatomy and photosynthetic capacity during leaf development in a deciduous mesophyte fruit tree (*Prunus persica*) and an evergreen sclerophyllous Mediterranean shrub (*Olea europaea*). **Trees**, 22, 559-571, 2008.

Martins, B. A. B., Chamma, H. M. C. P., Dias, C. T. D. S., & Christoffoleti, P. J. Germinação de *Borreria densiflora* var. *latifolia* sob condições controladas de luz e temperatura. **Planta Daninha**, 28, 301-307, 2010.

Matallo, M. B., Almeida, S. D. B., Cerdeira, A. L., Franco, D. A. S., Luchini, L. C., Moura, M. A. M., & Duke, S. O. (2020). Monitoramento do ácido chiquímico no manejo de plantas daninhas com glifosato em pomar comercial de citros. **Arquivos do Instituto Biológico**, 77, 355-358, 2020.

Melo, M. S. C., Rocha, L. J. F. N., Brunharo, C. A. C. G., Nicolai, M., Tornisiello, V. L., Nissen, S. J., & Christoffoleti, P. J. Sourgrass resistance mechanism to the herbicide glyphosate. **Planta Daninha**, 37, 2019.

N.A., Halim., S.B.A., Razak., N., Simbak., C.T., Seng. 2,4-Di-tert-butylphenol-induced leaf physiological and ultrastructural changes in chloroplasts of weedy plants. **South African Journal of Botany**, 2017.

Oliveira, I., Meyer, A., Afonso, S., & Gonçalves, B. Compared leaf anatomy and water relations of commercial and traditional *Prunus dulcis* (Mill.) cultivars under rain-fed conditions. **Scientia Horticulturae**, 229, 226-232, 2018.

Palma-Bautista, C., Belluccini, P., Vázquez-García, J. G., Alcántara-de la Cruz, R., Barro, F., Portugal, J., & De Prado, R. Target-site and non-target-site resistance mechanisms confer multiple resistance to glyphosate and 2, 4-D in *Carduus acanthoides*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 191, 105371, 2023.

PAN, Lang et al. Aldo-keto reductase metabolizes glyphosate and confers glyphosate resistance in *Echinochloa colona*. **Plant physiology**, v. 181, n. 4, p. 1519-1534, 2019.

Rahman, T., Shao, M., Pahari, S., Venglat, P., Soolanayakanahally, R., Qiu, X., Rahman, A., & Tanino, K. Dissecting the Roles of Cuticular Wax in Plant Resistance to Shoot Dehydration and Low-Temperature Stress in *Arabidopsis*. **International Journal of Molecular Sciences**, 2020.

Raiser, A. L., Torres, M. D. P. R., Ribeiro, E. B., & Valladão, D. M. D. S. Characterization of munguba oil obtained by ultrasound. **Ciência Rural**, 2020.

Ribeiro, I. Physical and chemical defenses of *Cenostigma pyramidale* (Fabaceae): a pioneer species in successional caatinga areas. **Revista Caatinga**, v. 34, p. 398-409, 2021.

Romero-Correa, María, Teresa., Villa-Gómez, Rosaura., Castro-Mercado, Elda., García-Pineda, Ernest. The avocado defense compound phenol-2,4-bis (1,1-dimethylethyl) is induced by arachidonic acid and acts via the inhibition of hydrogen peroxide production by pathogens. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 2014.

Sammons, R. D., & Gaines, T. A. Glyphosate resistance: state of knowledge. **Pest management science**, 70(9), 1367-1377, 2014.

Shechter, M., Xing, B., Kopinke, F. D., & Chefetz, B. Competitive sorption– desorption behavior of triazine herbicides with plant cuticular fractions. **Journal of agricultural and food chemistry**, 54(20), 7761-7768, 2006.

SHEHZADI, Anum et al. Exogenously applied glycinebetaine induced alteration in some key physio-biochemical attributes and plant anatomical features in water stressed oat (*Avena sativa* L.) plants. **Journal of Arid Land**, v. 11, p. 292-305, 2019.

Teixeira, A. G. T., Ferreira, J. C. C., Dias, F. F., Nunes, D. M., & Gonçalves, G. S. Eficiência de Glyphosate no controle de *Spermacoce verticillata* L. em diferentes estágios de desenvolvimento. **ForScience**, 2022.

Ter Halle, A., Drncova, D., & Richard, C. (2006). Phototransformation of the herbicide sulcotrione on maize cuticular wax. **Environmental science & technology**, 2006.

Thangarasu, Suganya, Devi., Karuppiah, Vijay., R., M., Vidhyavathi., Ponnuchamy, Kumar., Muthusamy, Govarthanan., Thangavel, Kavitha. Antifungal activity and molecular docking of phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) produced by plant growth-promoting actinobacterium *Kutzneria* sp. strain TSII from mangrove sediments.. **Archives of Microbiology**, 2021.

TOSENS, Tiina et al. Developmental changes in mesophyll diffusion conductance and photosynthetic capacity under different light and water availabilities in *Populus tremula*: how structure constrains function. **Plant, cell & environment**, v. 35, n. 5, p. 839-856, 2012.

Trezzi, M. M., Teixeira, S. D., de Lima, V. A., Scalcon, E. L., Pagnoncelli Junior, F. D. B., & Salomão, H. M. Relationship between the amount and composition of epicuticular wax and tolerance of *Ipomoea* biotypes to glyphosate. **Journal of Environmental Science and Health**, Part B, 55(11), 959-967, 2020.

Tse, Seng, Chuah., M., Z., Norhafizah., B., S., Ismail. Evaluation of the biochemical and physiological activity of the natural compound, 2,4-ditert-butylphenol on weeds. **Crop & Pasture Science**, 2015.

Ulguim, A. R., Franco, J. J., Silva, J. D. G., Agostinetto, D., & Vargas, L. Evaluation of the mechanism responsible for the low-level resistance to glyphosate in goosegrass. **Planta Daninha**, 2017.

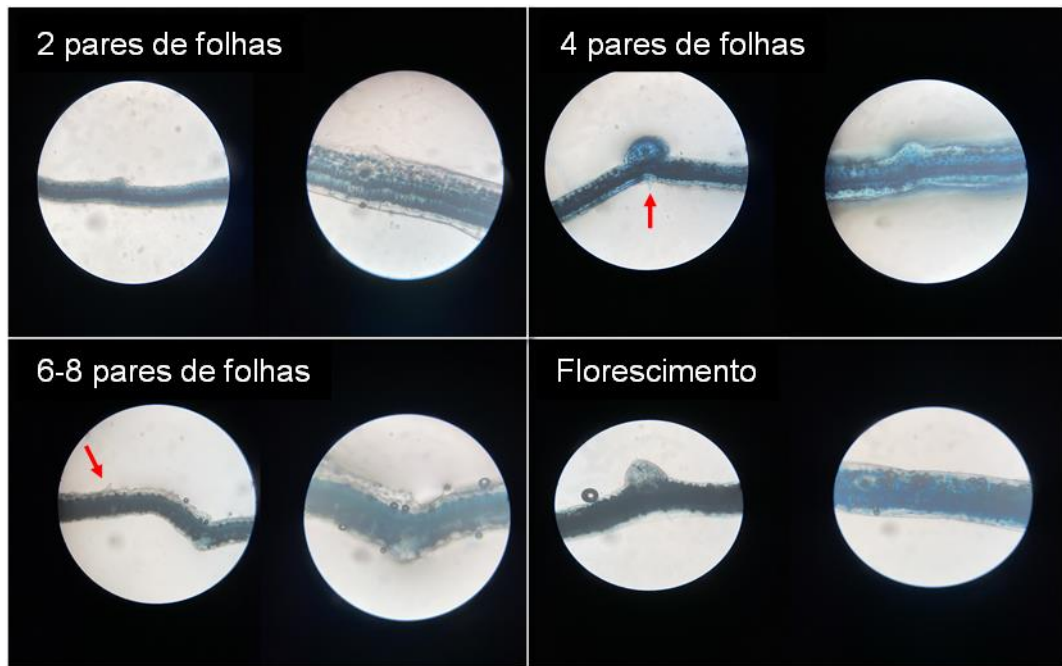
VITI, M. L. et al. Translocation and root exudation of glyphosate by *Urochloa brizantha* and its transport on sugarcane and citrus seedlings. **Planta Daninha**, v. 37, p. e019183334, 2019.

Yanniccari, M., Vázquez-García, J. G., Gómez-Lobato, M. E., Rojano-Delgado, A. M., Alves, P. L. D. C., & De Prado, R. First case of glyphosate resistance in *Bromus catharticus* Vahl.: Examination of endowing resistance mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, 2021.

YAO, Xiao-Cui et al. Changes in the morphology traits, anatomical structure of the leaves and transcriptome in *Lycium barbarum* L. under salt stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1090366, 2023.

Zhang, Y. L., Tian, Y., Man, Y. Y., Zhang, C. L., Wang, Y., You, C. X., & Li, Y. Y. Apple SUMO E3 ligase MdSIZ1 regulates cuticular wax biosynthesis by SUMOylating transcription factor MdMYB30. **Plant Physiology**, 191(3), 1771-1788, 2023.

Zhao, F., Wang, P., Lucardi, R. D., Su, Z., & Li, S. Natural sources and bioactivities of 2, 4-di-tert-butylphenol and its analogs. **Toxins**, 2020.

ANEXOS

Anexo 1. Cortes anatômicos de folhas de *Borreria densiflora* DC. em diferentes estádios de desenvolvimento. *Setas vermelhas indicam a presença de tricomas na epiderme foliar.