



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E
AMBIENTAL**

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DO EIXO VEGETATIVO AÉREO E
ALTERNATIVAS DE MANEJO PARA O CONTROLE DA ESPÉCIE *Euphorbia hirta***

ANA CAROLINA OLIVEIRA CHAPETA

Sob a Orientação da Professora

Dra. Camila Ferreira de Pinho

&

Coorientação

Dr. Luiz Ricardo dos Santos Tozin

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do título de **Mestra em Engenharia Agrícola e Ambiental**, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental - PGEAAmb, Área de Concentração em Sistemas Agrícolas.

Seropédica, RJ
Abril de 2021

É permitida a cópia parcial ou total desta Dissertação, desde que seja citada a fonte.

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Central de Processamento
Técnico

Ficha catalográfica elaborada com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O 462c Oliveira Chapeta, Ana Carolina, 1994-

Caracterização anatômica do eixo vegetativo aéreo e alternativas de manejo para o controle da espécie *Euphorbia hirta* / Ana Carolina Oliveira Chapeta. - Seropédica, 2021. 83 f.

Orientadora: Camila Ferreira de Pinho. Coorientadora: Luiz Ricardo Dos Santos Tozin
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental, 2021.

1. Controle. 2. Tolerância ao glifosato. 3. Morfoanatomia. I. Ferreira de Pinho, Camila, 1986-, orient. II. Dos Santos Tozin, Luiz Ricardo, 1990-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental. IV. Título.

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

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL

ANA CAROLINA OLIVEIRA CHAPETA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra em Engenharia Agrícola e Ambiental**, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental, Área de Concentração em Sistemas Agrícolas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM
09/04/2021

Camila Ferreira de Pinho. Dr^a. UFRRJ
(Orientadora)

Aroldo Ferreira Lopes Machado. Dr. UFRRJ

Junior Borella. Dr. FURG



Emitido em 09/04/2021

HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 46/2021 - IT (12.28.01.27)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 20/05/2021 12:10)

AROLDO FERREIRA LOPES MACHADO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptFITO (12.28.01.00.00.00.32)

Matrícula: 1905333

(Assinado digitalmente em 20/05/2021 09:01)

CAMILA FERREIRA DE PINHO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptFITO (12.28.01.00.00.00.32)

Matrícula: 2466219

(Assinado digitalmente em 20/05/2021 09:56)

JUNIOR BORELLA

ASSINANTE EXTERNO

CPF:008.888.670-00

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: **46**, ano: **2021**, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, data de emissão: **19/05/2021** e o código de verificação: **73b1683a7a**

DEDICÁTORIA

Dedico este trabalho aos meus pais Juli e Rozemilto como forma de amor e gratidão A minha irmã Maria Luiza e ao meu irmão Guilherme por me apoiarem e acreditarem no meu potencial, em todos os momentos difíceis e sacrifícios.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de alcançar os meus sonhos me abençoando mais do que mereço.

A Professora Camila Pinho, pela orientação, paciência, aprendizado, respeito e por acreditar no meu potencial. Obrigado por todo ensinamento.

Ao Professor Luiz Ricardo Tozin, pela coorientação, conselhos, ajuda, amizade e dedicação durante todo o período do mestrado

Ao Professor Aroldo Machado, pelos ensinamentos, dúvidas, dedicação e aprendizado.

Aos amigos de pesquisa e agora da vida inteira: Jéssica Leal, Ana Cláudia Langaro, Junior Borella, Amanda Souza, Gabriella Oliveira, Rita de Cassia, Gabriela Souza e Fernando Souza. Obrigado por todo ensinamento desde o período do estágio até o final do mestrado, amizade e paciência.

Aos estagiários do grupo de pesquisa em Plantas Daninhas e Pesticidas no Ambiente da UFRRJ, por toda ajuda durante os experimentos, dedicação e amizade.

Aos funcionários do setor de Grandes Culturas, por todo auxílio e apoio durante os experimentos.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental (PGEAAmb) e à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), por toda a oportunidade de ensino gratuito e de qualidade.

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

“Se alguém lhe oferece uma oportunidade incrível, mas você não tem certeza que pode fazer, diga sim e aprenda como fazer depois”.

Richard Branson

RESUMO

CHAPETA, Ana Carolina Oliveira. **Caracterização anatômica do eixo vegetativo aéreo e alternativas de manejo para o controle da espécie *Euphorbia hirta***. 2021. 83p Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola e Ambiental). Instituto de Tecnologia, Departamento de Engenharia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2021.

Objetivou-se nesse trabalho: a) caracterizar a anatomia do eixo vegetativo aéreo (folhas e caule) da espécie *E. hirta*. e b) avaliar a eficácia de controle da espécie *Euphorbia hirta*, através do uso de herbicidas pré e pós emergentes com aplicações isoladas ou em mistura; Foram conduzidos três experimentos (EI, EII e EIII), sendo os experimentos EII e EIII conduzidos em duplicata, com delineamento experimental de casualização por bloco, com quatro repetições em esquema unifatorial. No EI amostras de folhas e caules foram processadas seguindo técnicas de microscopia de luz para padronização anatômica da espécie. No EII foram avaliados sete herbicidas em pré-emergência (S-metalocloro, Imazetapir + Flumioxazina, Sulfentrazone + Diuron, Diclosulam, Flumioxazina, Clomazone, Imazetapir) + testemunha sem aplicação, sendo as variáveis-resposta avaliadas aos 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a emergência das plantas (DAE) avaliação de controle. Aos 42 DAE para avaliação do efeito residual dos tratamentos, a espécie foi ressemeada nos vasos e as variáveis-resposta avaliadas aos 56, 63, 70, 77 e 84 dias após a aplicação (DAA). O EIII foi conduzido em dois estádios fenológicos (8 a 12cm e 20 a 25cm), de forma separada, como sub experimentos. Foram avaliados os herbicidas pós emergentes de contato saflufenacil, carfentrazone, flumioxazina e os herbicidas sistêmicos glifosato, clorimuron, cloransulam, 2,4d, triclopir, dicamba e halauxifen-metil + diclosulam. Às 24 e 48 horas após aplicação (HAA) dos herbicidas foi realizada a detecção de espécies reativas de oxigênio para um grupo de tratamentos selecionados deste experimento. Aos 2, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) dos herbicidas foram realizadas as avaliações visuais de controle e fluorescência da clorofila *a*. Os dados quantitativos dos experimentos foram submetidos à análise da variância ($p \leq 0,05$); e em sendo significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade. As médias de porcentagem de controle foram agrupadas em faixas de controle. Com base na descrição anatômica estudada para a espécie *E. hirta*, foi observada a alta pilosidade nas folhas e caules, presença elevada de antocianina nas células epidérmicas e ainda as folhas jovens apresentam menor espessura na epiderme abaxial, características que podem afetar a absorção de herbicidas pelas folhas. Concluiu-se que todas os herbicidas pré emergentes nas doses avaliadas foram efetivos para o controle da espécie *E. hirta*. Quanto a atividade residual, os herbicidas imazetapir e clomazone apresentaram baixa eficiência de controle para a espécie. Para o manejo em pós-emergência, a utilização dos herbicidas de contato saflufenacil, carfentrazone e flumioxazina misturados aos herbicidas auxínicos e ao herbicida glifosato, independente do estágio fenológico das plantas, foram eficazes para o controle da espécie. Além disso, a utilização do herbicida flumioxazina associado a outro herbicida de contato e o herbicida glifosato é uma opção eficaz de manejo para a espécie. Os herbicidas cloransulam e clorimuron associados ao herbicida glifosato apresentaram controle eficiente.

Palavras chave: Controle; Tolerância ao glifosato; Morfoanatomia; Erva de Santa Luzia.

ABSTRACT

CHAPETA, Ana Carolina Oliveira. **Anatomical characterization of the aerial vegetative axis and management alternatives for the control of the species *Euphorbia hirta***. 2021. 83p Dissertation (Master in Agricultural and Environmental Engineering). Institute of Technology, Engineering Department, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2021.

The objective of this work was: a) to evaluate the control efficacy of the species *Euphorbia hirta*, through the use of post-emergent herbicides with isolated or mixed applications; b) to evaluate the efficacy of pre-emergent herbicides and their residual activity in the control of *E. hirta* species; and c) to characterize the anatomy of the aerial vegetative axis (leaves and stem) of the weed species *E. hirta*. Three experiments were conducted (EI, EII and EIII), with the EI and EII experiments being conducted in duplicate, with a randomized block design, with four repetitions in a single-factor scheme. In the IS, 9 pre-emergence treatments were evaluated (S-metallochlor, Imazetapyr + Flumioxazin, Sulfentrazone + Diuron, Diclosulam, Flumioxazina, Clomazone, Imazetapyr) + control without application, with the response variables evaluated at 14, 21, 28, 35 and 42 days after plant emergence (DAE) control evaluation. At 42 DAE to evaluate the residual effect of treatments, the species was reseeded in the vessels and the response variables were evaluated at 56, 63, 70, 77 and 84 days after application (DAA). The EII was conducted in two phenological stages (8 to 12 cm and 20 to 25 cm), separately, as sub-experiments. 29 post-emergence treatments + control without application were evaluated, with the control response variables and transient chlorophyll fluorescence being evaluated at 2, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days after application (DAA) of the herbicides and at 24h and 48h after application, the formation of reactive oxygen species for the selected treatments of this experiment was evaluated. For EIII the samples were processed following light microscopy techniques for anatomical standardization of the species. The quantitative data of the experiments were submitted to analysis of variance ($p \leq 0.05$); and being significant, the averages were compared using the Skott-Knott test at 5% probability. The control percentage means were grouped into control ranges. It is concluded that all the herbicides pre-emergent in the evaluated doses were effective for the control of the species *E. hirta*. As for the residual activity, the herbicides imazetapyr and clomazone showed low control efficiency for the species. For post-emergence management, the use of saflufenacil, carfentrazone and flumioxazin contact herbicides associated with auxinic herbicides and glyphosate herbicide, regardless of the phenological stage of the plants, were effective in controlling the species. In addition, the use of the herbicide flumioxazin associated with another contact herbicide and the herbicide glyphosate is an effective management option for the species. The herbicides cloransulam and clorimuron associated with the herbicide glyphosate showed efficient control. Based on the anatomical description studied for the species *E. hirta*, high hairiness was observed in the leaves and stems, high presence of anthocyanin in the epidermal cells and even the young leaves have less thickness in the abaxial epidermis.

Keywords: Control; Tolerance to glyphosate; Morphoanatomy; Erva de Santa Luzia

Índice de Figuras

Capítulo 1:

Figura 1. Fotomicrografias da secção transversal do caule primário de *Euphorbia hirta* L.. (A) Secção transversal do caule mostrando epiderme unisseriada, córtex parenquimático, floema e xilema em anel contínuo e medula parenquimática. (B) Detalhe mostrando córtex, laticífero e feixes vasculares. ct: córtex; ep: epiderme; fl: floema; lt: laticífero; mp: medula parenquimática; xi: xilema. Barras de escala: A: 100 µm; B: 50 µm. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 2. Fotomicrografias do limbo foliar de *Euphorbia hirta* L.. (A) Secção transversal do limbo foliar, mostrando epiderme unisseriada com tricoma tector, mesofilo dorsiventral com parênquima paliçádico e lacunoso e feixe vascular com bainha do feixe clorofilada. (B) Clarificação da epiderme na face adaxial, mostrando células comuns, estômatos e impregnações nas paredes anticlinais (seta). (C) Clarificação da epiderme na face abaxial, mostrando células comuns com formato irregular e estômatos. (D) Teste de Sudan III mostrando a marcação da cutícula delgada. (E) Secção transversal de limbo foliar fresco, mostrando epiderme com antocianina e bainha do feixe clorofilada. At: antocianina; bf: bainha do feixe; ct: cutícula; ep: epiderme; es: estômato; pl: parênquima lacunoso; pp: parênquima paliçádico; tr: tricoma. Barras de escala: A: 20 µm; B: 20 µm; C: 20 µm; D: 8 µm; E: 40 µm. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 3. Fotomicrografias do limbo foliar de *Euphorbia hirta* L.. (A) Detalhe do limbo foliar, mostrando a epiderme unisseriada, mesofilo dorsiventral e bainha do feixe grande e clorofilada. (B) Clarificação do limbo foliar, mostrando em visão frontal a bainha do feixe ao longo de todo o sistema condutor. (C) Visão geral da nervura central, mostrando a epiderme com tricomas tectores. (D) Detalhe da nervura central, mostrando feixe vascular com xilema e floema, e bainha do feixe clorofilada. Bf: bainha do feixe; co: córtex; ep: epiderme; pl: parênquima lacunoso; pp: parênquima paliçádico; tr: tricoma; xi: xilema. Barras de escala: A: 60 µm; B: 40 µm; C: 80 µm; D: 20 µm. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 4. Fotomicrografias evidenciando a ocorrência dos laticíferos em caules e folhas de *Euphorbia hirta* L.. (A) Secção longitudinal do caule, mostrando a ocorrência do laticífero próximo ao feixe vascular. (B) Secção transversal do caule, mostrando o laticífero. (C) Clarificação do limbo foliar, mostrando os laticíferos em visão frontal. fl: floema; lt: laticífero; xi: xilema. Barras de escala: A: 150 µm; B: 30 µm; C: 40 µm. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 5. Comparação dos parâmetros morfométricos do limbo foliar em folhas jovens e adultas de *Euphorbia hirta* L. Médias com letras iguais não diferem entre si no mesmo parâmetro pelo teste de SK a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Capítulo 2:

Figura 1: Avaliação de controle para herbicidas pré emergentes aos 14 e 42 dias após a aplicação (DAA) para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta* nos experimentos (A e C) e sua replicata (B e D). UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 2: Atividade residual de herbicidas pré emergentes aos 7 e 42 dias após a semeadura para residual (DASR) para cultura da soja sobre a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta* no experimento (A e C) e sua replicata (B e D). UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 3: Sintoma visual aos 7 dias após a aplicação (DAA) em plantas de *Euphorbia hirta*, nos estádios jovens (1ª estádio) e adultas (2º estádio) submetidas aos tratamentos com herbicidas pós emergentes, representados pelos gráficos A, B, C e D. Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de SK a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 4: Sintoma visual aos 42 dias após a aplicação (DAA) em plantas de *Euphorbia hirta*, nos estádios jovens (1ª Estádio) e adultas (2º Estádio) submetidas aos tratamentos com herbicidas pós emergentes, representados pelos gráficos A, B, C e D. Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de SK a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 5: Sintoma visual aos 7 dias após aplicação, representado pelos gráficos A e B e 42 dias após a aplicação, representados pelos gráficos C e D em plantas de *Euphorbia hirta*, nos estádios jovens (1ª Estádio) e adultas (2º Estádio) submetidas aos tratamentos com herbicidas pós emergentes. Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de SK a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 6: Sintoma visual aos 7 dias após aplicação, representado pelo gráfico A e 42 dias após a aplicação, representado pelo gráfico B em plantas de *Euphorbia hirta*, nos estádios jovens (1ª Estádio) e adultas (2º Estádio) submetidas aos tratamentos com herbicidas pós emergentes. Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de SK a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 7: Massa seca de parte aérea (MSPA), em gramas, das plantas de *Euphorbia hirta* após a coleta, aos 42DAA do experimento com herbicidas pós emergentes, no estádio fenológico jovem (1º estádio) e no estádio fenológico adulta (2º estádio). Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica, 2021.

Figura 8: Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) observada na espécie *E. hirta*, através da densidade integrada onde foi calculada pela diferença entre a intensidade da cor nos discos das folhas tratadas e plantas de controle. Após aplicação de herbicidas pós emergentes inibidores da enzima protóx em mistura ao herbicida glifosato avaliados aos 24 e 48 horas após aplicação (HAA). Médias com letras maiúsculas para comparação entre HAA e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica, 2021.

Figura 9: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 2 dias após aplicação, no estágio fenológico jovem (1º est), representados pelos gráficos A, B, C, D e E. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 10: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 2 dias após aplicação, no estágio fenológico adulta (2º est), representados pelos gráficos A, B, C, D e E. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 11: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 7 dias após aplicação, no estágio fenológico jovem (1º est), representados pelos gráficos A, B, C, D e E. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 12: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 7 dias após aplicação, no estágio fenológico adulta (2º est), representados pelos gráficos A, B, C, D e E. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 13: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 2 e 7 dias após aplicação, no estágio fenológico jovem (1º est), representado pelo gráficos A, C e D e no estágio fenológico adulta (2º est), representado pelo gráfico B. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Figura 14: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 42 dias após aplicação, nos estádios fenológicos jovem (1º est) representado pelo gráfico A e adulta (2º est), representado pelo gráfico B. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Índice de Tabelas

Capítulo 1:

Tabela 1. Análise química de solo utilizado nos experimentos. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Capítulo 2:

Tabela 1. Tratamentos herbicidas a serem utilizados no Experimento EI - pré - emergência - e suas respectivas doses. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Tabela 2. Análise química de solo utilizado nos experimentos. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Tabela 3. Descrição das condições climáticas no momento da aplicação dos herbicidas pré emergentes nos experimentos I e II. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Tabela 4. Tratamentos herbicidas a serem utilizados no Experimento II - pós - emergência - e suas respectivas doses. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Tabela 5. Descrição das condições climáticas no momento da aplicação dos herbicidas nos experimentos I e II. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Tabela 6. Tratamentos utilizados para detecção de espécies reativas de oxigênio (EROS). UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	2
CAPÍTULO 1 – Caracterização anatômica do eixo vegetativo aéreo da espécie	
<i>Euphorbia hirta</i>, uma espécie tolerante ao herbicida glifosato	7
1. Introdução.....	8
2. Material e Métodos	9
3. Resultados e Discussão.....	10
4. Conclusões.....	21
CAPÍTULO 2 – Uso de herbicidas pré e pós emergentes para o controle da espécie	
<i>Euphorbia hirta</i>	16
1. Introdução.....	17
2. Material e Métodos	17
3. Resultados e Discussão.....	23
4. Conclusões.....	48
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
REFERÊNCIAS	49

1. Introdução

Entre as práticas adotadas para o controle de plantas daninhas, o controle químico baseia-se na utilização de produtos químicos conhecidos como herbicidas que agem na fisiologia e bioquímica das plantas daninhas matando ou suprimindo seu desenvolvimento e crescimento. Entretanto, o uso contínuo do mesmo herbicida em uma mesma área de modo sucessivo é considerado a principal causa para seleção de espécies tolerantes e/ou biótipos resistentes e essas moléculas.

A espécie *Euphorbia hirta*, é considerada tolerante aos herbicidas comumente utilizados em pós-emergência no sistema de produção da cultura da soja, entre eles o glifosato. A espécie *E. hirta*, pertence à família Euphorbiaceae, sendo uma espécie dicotiledônea. Plantas dessa espécie produz várias gerações em um único ano e as sementes germinam escalonadamente por longo período, o que dificulta seu controle no campo.

O planejamento e escolha de estratégias de manejo de espécies de plantas daninhas tolerantes ao glifosato devem ser feitos de forma criteriosa. Entre as alternativas de manejo estão a rotação de culturas, rotação de herbicidas de diferentes mecanismos de ação em pré emergência e a mistura do herbicida glifosato com herbicidas de diferentes mecanismos de ação em pós emergência. Além disso, é fundamental o conhecimento das características anatômicas da espécie, como por exemplo, presença de ceras, tricomas e classificação dos estômatos, pois estas podem contribuir para a recomendação de um manejo adequado para o controle da espécie.

Assim, diante da falta de conhecimento das características e alternativas de controle da espécie *E. hirta*, objetivou-se nesse trabalho avaliar alternativas de controle em pré e pós-emergência da espécie *E. hirta*, e ainda caracterizar a anatomia do eixo vegetativo aéreo (folhas e caule) da espécie para entender a relação destas com a absorção e translocação dos herbicidas.

2. Revisão de Literatura

A interferência das plantas daninhas é considerada um dos fatores mais importantes na redução da produtividade das culturas agrícolas, pois, além de ocasionar perdas médias de aproximadamente 15% na produção mundial de grãos, podem ser, essas espécies, hospedeiras de pragas e patógenos (SOARES et al., 2010; AMORIM et al., 2018). De uma forma direta, as plantas daninhas ainda interferem por recursos que mais frequentemente são passíveis de competição como os nutrientes minerais essenciais, luz, água e espaço (PITELLI, 1987).

A espécie *E. hirta*, também conhecida como *Chamaesyce hirta* (sinônimo), pertence à família Euphorbiaceae, apresenta ciclo anual, rastejante ascendente, densamente pilosa, pouco ramificada com altura entre 15-50 cm; o caule é semi-ereto, avermelhado ou arroxeado com pelos amarelos e as folhas são opostas, com 1-4 cm de comprimento por 1-1,5 cm de largura, oblonga-lanceoladas, geralmente avermelhadas, podendo apresentar manchas roxas na superfície superior sendo a face inferior pilosa, base arredondada e desigual, com pecíolo muito curto, estípulas pequenas e lineares; apresentam inflorescências densas, aglomeradas, de 5-10 mm de diâmetro, flores de coloração verde ou rosada com pedúnculos marrom avermelhados; o fruto é uma cápsula tri-lobada, de coloração amarelada, piloso, com dimensões de 1,25-2 x 1,5 mm, sendo as sementes pequenas, oblongas, de 0,57-0,70 mm de comprimento, castanho-

avermelhadas, inicialmente lisas e posteriormente um pouco enrugadas; e a espécie se reproduz através de sementes (PINTO et al., 2014).

A família Euphorbiaceae compreende cerca de 300 gêneros e aproximadamente 6000 espécies, sendo no Brasil, encontrados 65 gêneros e 987 espécies desta família (Barroso et al. 1991). O gênero inteiro é caracterizado pela presença de um tipo único de inflorescência, com apêndices petalóides subtendendo as glândulas ciáticas (STEINMANN E PORTER, 2002; HORN et al., 2012; DORSEY, 2013). Por apresentarem apêndices petalóides foi constituído o subgênero *Chamaesyce*, e juntos eles constituem *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* Raf. (STEINMANN E PORTER, 2002; BRUYNS et al, 2006). Entre os quatro subgêneros de *Euphorbia*, *Euphorbia* subg. *Chamaesyce* é o segundo mais rico em espécies, englobando cerca de 600 espécies em todo o mundo, sendo altamente diversificado em crescimento, formas, incluindo plantas anuais e perenes, arbustos, árvores e suculentas (YANG et al., 2012).

Para o controle das plantas daninhas existem diferentes formas de manejo, sendo eles: Preventivo, cultural, mecânico, físico, químico e/ou biológico. Dentre estes, o controle químico, através do uso de herbicidas, é a forma de manejo mais utilizada, especialmente no manejo de plantas daninhas em grandes culturas (SILVA et al., 2009). Isto ocorre, devido a este método apresentar alta eficiência sobre as plantas daninhas, flexibilização quanto à época de aplicação, menor necessidade de mão de obra e menor custo, quando comparado aos demais métodos.

Os herbicidas podem ser utilizados em pré e pós-semeadura, onde no primeiro caso, as plantas daninhas são eliminadas antes da implantação das culturas, manejo conhecido como dessecação; e em pós-semeadura, quando os herbicidas são aplicados com a cultura já instalada no campo (CONSTANTIN et al., 2009). Outra classificação importante dos herbicidas é em relação ao momento de aplicação sobre o alvo, podendo ser divididos em pré e pós-emergentes.

Os herbicidas pré-emergentes são aqueles utilizados com o objetivo de impedir a germinação ou emergência das plantas daninhas, sendo considerados herbicidas de alto efeito residual com aplicação sobre o solo (REZENDE et al., 2016). Os herbicidas pós-emergentes são herbicidas aplicados sobre o alvo já instalado na área, com o objetivo de controle, antes que estes interfiram no desenvolvimento da cultura. Esses herbicidas podem ser absorvidos pela parte aérea ou pelo sistema radicular, podendo ter ação de contato ou serem sistêmicos, (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2006).

Para o estudo dos tipos de herbicidas, e assim, o seu metabolismo nas plantas, é primordial entender a diferença entre mecanismo e modo de ação. Considera-se que o mecanismo de ação diz respeito ao primeiro ponto do metabolismo da planta onde o herbicida atua (CHRISTOFFOLET et al., 2004). Neste caso, o mecanismo de ação é normalmente o primeiro de uma série de eventos metabólicos que resultam na expressão final do herbicida sobre a planta. O conjunto desses eventos metabólicos, incluindo os sintomas visuais de ação do herbicida sobre a planta daninha, denomina-se modo de ação (OLIVEIRA JR, et al., 2011).

Dentre os herbicidas eficazes para controle de plantas daninhas tolerantes ao herbicida glifosato, destacam-se os herbicidas com mecanismo de ação conhecidos como mimetizadores de auxina, herbicidas de contato inibidores da enzima protoporfirinogênio IX oxidase (PROTOX), herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS), herbicidas inibidores do fotossistema II.

O herbicida glifosato (N(fosfonometil)glicina), é um herbicida do tipo não-seletivo amplamente utilizado na agricultura, aplicado em pós-emergência sobre o alvo, sendo sistêmico onde é absorvido principalmente pelas folhas, a partir das quais consegue se espalhar por toda a planta (AMARANTE JR et al, 2002). É um herbicida utilizado no

controle de plantas daninhas anuais e perenes, e sua ação se dá pela inibição da atividade da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) (SHANER; BRIDGES, 2003). Esta inibição leva a interrupção da produção de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) que são essenciais para a produção da parede celular, defesa da planta a patógenos e insetos e produção de hormônios que são produzidos a partir do corismato (COUTINHO et al., 2005). O glifosato pode ainda afetar diretamente a fotossíntese da planta, reduzindo a atividade da ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO), diminuindo a síntese de clorofila e interferindo na organização do aparelho fotossintético (AHSAN et al., 2008). Como resultado, tem-se um declínio no total de proteínas, cofatores enzimáticos, metabólitos secundários e fotossíntese, acarretando a morte da planta (DUKE; POWLES, 2008). Sua absorção nas plantas é um processo bifásico que envolve uma rápida penetração inicial através da cutícula, seguida por uma absorção simplástica lenta, sendo a duração desse processo dependente de vários fatores, como por exemplo a espécie e estágio da planta daninha, condições ambientais, dose do herbicida, entre outros (MONQUERO, 2004).

O uso do herbicida glifosato cresceu nos últimos anos devido à crescente adoção de culturas transgênicas tolerantes a este herbicida e a facilidade de manejo, pois este apresenta baixa toxicidade, baixo custo, amplo espectro de controle e rápida adsorção no solo (VELINI et al., 2009). Entretanto, a alta frequência de uso do herbicida glifosato, tanto na dessecação como em pós-semeadura das culturas, aumentou a pressão de seleção em biótipos resistentes ou espécies tolerantes a este herbicida nas áreas de produção. A resistência de plantas daninhas aos herbicidas é definida como a capacidade natural e herdável de determinados biótipos, dentro de uma população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição às doses que seriam letais aos indivíduos normais (suscetíveis) da mesma espécie (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2006).

Os herbicidas classificados como mimetizadores de auxina, são amplamente utilizados e indicados para o controle de plantas daninhas, principalmente dicotiledôneas, em pós emergência das culturas e/ou em dessecação, visando o controle de plantas daninhas resistentes e tolerantes ao glifosato (VIEIRA et al., 1999), podendo ser aplicados, em mistura, com o glifosato ou de forma individual (SOARES et al., 2012). A sintomatologia dos herbicidas auxínicos pode variar entre a clorose dos brotos terminais, “encarquilhamento” ou enrugamento das folhas do dossel e epinastia das folhas ou caule (SCHWARTZ-LAZARO et al., 2017).

Dentre os herbicidas eficazes para controle de plantas daninhas tolerantes ao herbicida glifosato, destacam-se alguns inibidores da enzima protoporfirinogênio IX oxidase (PROTOX), como o carfentrazone-ethyl e o saflufenacil (LORENZI 2014). A enzima PROTOX está localizada nos cloroplastos e mitocôndrias (Watanabe et al., 2001) e atua na rota de síntese de porfirinas, sendo a responsável pela oxidação de protoporfirinogênio IX, transformando-o em protoporfirina IX (LEHNEN et al., 1990). A peroxidação de lipídios representa a última etapa e a ação física propriamente dita dos herbicidas relacionados direta ou indiretamente à fotossíntese. Aproximadamente 90% da membrana plasmática é composta de ácidos graxos insaturados, principalmente, ácido linolênico e ácido linoléico (MEROTTO JR. & VIDAL, 2001).

Herbicidas inibidores do fotossistema II, são herbicidas essenciais para o alto rendimento das culturas e para apresentar uma agricultura sustentável, sendo recomendado para soja, algodão, fruteiras, hortaliças e sorgo (RODRIGUES & ALMEIDA, 2011). A inibição da fotossíntese acontece pela ligação dos herbicidas deste grupo ao sítio de ligação da QB, na proteína D1 do fotossistema II, o qual se localiza na membrana dos tilacóides dos cloroplastos, causando, o bloqueio do transporte de elétrons

da Q_A para Q_B . Isso interrompe a fixação do CO_2 e a produção de ATP e $NADPH_2$ (OLIVEIRA JR, et al., 2011).

Em pós-emergência, ou seja, após a planta daninha emergir na área, uma das principais alternativas de manejo das espécies tolerantes é a mistura do herbicida glifosato com outros herbicidas sistêmicos e/ou de contato para aumentar o espectro de controle sobre o alvo. A mistura em tanque consiste na associação de herbicidas e afins no tanque do equipamento aplicador, realizada imediatamente antes da pulverização (GAZZIERO, 2015).

Para o controle de plantas daninhas de folhas largas tolerantes ao glifosato, como a *E. hirta*, é possível o uso de misturas deste herbicida com auxinas sintéticas, inibidores de ALS, inibidores de PROTOX, inibidores FSII, inibidores da parte aérea, entre outros. A mistura de glifosato com carfentrazone-ethyl melhora a eficácia de controle sobre diferentes alvos (CORRÊA; BORGES, 2000; OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2000; WERLANG; SILVA, 2002; RAMIRES et al., 2010), dentre outros motivos, por aumentar a velocidade de controle das plantas daninhas (WERLANG; SILVA, 2002). No caso das misturas de glifosato com saflufenacil, alguns trabalhos evidenciam o aumento na eficácia de controle de plantas daninhas tolerantes ao glifosato (CONSTANTIN et al., 2011; COSTA, 2014).

A interação de herbicidas em combinação é descrita como antagonismo se o controle obtido for menor do que o controle esperado; como sinergismo, se o controle obtido for maior do que o esperado; e como aditiva quando o controle das plantas daninhas pela mistura é equivalente ao controle esperado para os produtos aplicados isoladamente (LICH et al., 1997). Devido a isto, existe a necessidade de estudos sobre o comportamento de misturas de herbicidas para o controle de determinada espécie antes da recomendação para uso em campo.

Os herbicidas pré-emergentes são excelentes alternativas químicas para o manejo de plantas daninhas de difícil controle, visto que funcionam como preventivos, reduzindo a infestação das áreas cultivadas. Estes herbicidas, além do efeito residual prolongado no período crítico de estabelecimento da cultura, também auxiliam no impedimento de um novo fluxo de emergência das plantas daninhas, por atuarem sobre o banco de sementes do solo (SANCHOTENE et al., 2017). Desta maneira, com o término do efeito residual, quando um novo fluxo de plantas daninhas poderá ocorrer, o manejo em pós-emergência será mais facilitado, por esse agir em um grupo de plantas uniforme e em estágio inicial de desenvolvimento (MONQUERO et al., 2008).

Atualmente não existem herbicidas pré-emergentes com registro para o controle de *E. hirta*, sendo necessário avaliar a eficácia dos produtos já registrados para a cultura da soja, sobre esta espécie. Entre os herbicidas que possuem registro para a cultura da soja em pré-emergência estão: Diclosulam, Flumioxazina, S-Matalocloro, Sulfentrazone + Diuron, Imazetapir + Flumioxazina, Imazetapir e Clomazone

Tolerância de plantas daninhas a herbicidas é a capacidade natural da espécie em se desenvolver e reproduzir após a aplicação do herbicida em dose recomendada por bula, à qual seria letal para outras espécies (CHRISTOFFOLETI et al., 2003). A tolerância de plantas daninhas a herbicidas aplicados em pós-emergência pode estar relacionada com a afinidade enzimática das moléculas; com a absorção, translocação ou exclusão diferencial dos herbicidas pela espécie alvo (MOREIRA et al., 2007). Além disso, o nível de insensibilidade de uma espécie a determinado herbicida pode ser influenciado por muitos fatores, como por exemplo o estágio de desenvolvimento das plantas daninhas e as condições climáticas no momento da aplicação, fatores estes que interagem com os mecanismos de tolerância já presentes nas plantas daninhas (KALSING et al., 2020).

Dessa forma, diversas espécies de plantas daninhas vêm sendo relatadas por agricultores como um grande problema em áreas agrícolas no país, pois vêm se observando dificuldade no manejo devido à resistência ou tolerância ao herbicida glifosato. Entre as espécies tolerantes ao herbicida glifosato, pode-se citar: *Euphorbia hirta*, *Commelina benghalensis* e *Spermacoce latifolia* (NEVES et al., 2010). Estudos tem relatado o aumento da infestação da planta daninha *E. hirta*, também conhecida popularmente como erva-andorinha, erva-de-santa-luzia, folha-de-leite ou eufórbia (PINTO et al., 2014), principalmente na região norte do estado do Mato Grosso (NEVES et al., 2010) e em outras regiões do Centro-Oeste.

Devido à escassez de informações e a dificuldade no manejo de espécies tolerantes ao glifosato, como a *E. hirta*, estudos mais aprofundados sobre a resposta da espécie a herbicidas e as alternativas de manejo são necessários, em especial com foco na cultura da soja. Para GAZZIERO et al. (2007) a adoção de técnicas de manejo na entressafra da soja, poderá facilitar o controle de plantas daninhas, mesmo na cultura da soja transgênica, pois na medida em que o produtor organiza a ocupação do espaço, dificulta o estabelecimento das plantas daninhas. Os erros e as consequências do uso continuado de um mesmo herbicida já são conhecidos no Brasil e devem ser considerados para que os riscos inerentes aos programas, como o da soja transgênica, sejam evitados ou minimizados (GAZZIERO et al., 2001). Entre as alternativas de manejo que podem ser avaliadas está a rotação de mecanismos de ação de herbicidas, que pode ser através do uso de herbicidas pré-emergentes ou pós-emergentes associados ou não ao herbicida glifosato na dessecação ou em pós-semeadura da cultura.

A análise da fluorescência da clorofila *a* vem sendo utilizada para melhorar o entendimento dos mecanismos da fotossíntese e na avaliação da capacidade fotossintética alterada por estresses bióticos ou abióticos pelos quais as plantas possam sofrer, como herbicidas (IRELAND; PERCIVAL; BAKER, 1986; CATUNDA et al., 2005) que interferem na biossíntese de clorofila, resultando em perda deste pigmento, e nos cloroplastos, alterando-os funcionalmente (FAYEZ, 2000). Esses compostos, além de interferirem na síntese de clorofila, também podem afetar a formação de outros pigmentos, como xantofilas (VÁRADI et al., 2000) e carotenóides (KIM et al., 2004), causando interferência no fluxo de elétrons (WAKABAYASHI & BÖGER, 2004) e redução na produção de ATP por inibição da atividade da ATP-sintase no processo de fotofosforilação (WAKABAYASHI & BÖGER, 1995). Além disso, recomenda-se a análise da fluorescência da clorofila *a* principalmente no estudo de fotossíntese por ser um método que, além de não destrutivo, permite analisar qualitativa e quantitativamente a absorção e o aproveitamento da energia luminosa através do fotossistema II e as possíveis relações com a capacidade fotossintética (TORRES NETTO et al., 2005; FERRAZ et al., 2014).

A absorção de herbicidas pode ocorrer nas plantas pelos órgãos aéreos (como folhas, caules, flores e frutos), pelos órgãos subterrâneos (rizomas e tubérculos), pelas sementes ou durante a germinação e emergência, pela radícula e pelo caulículo (SILVA et al., 2007). No entanto, são as folhas o principal órgão das plantas daninhas envolvido na absorção de herbicidas aplicados em pós-emergência (PROCÓPIO et al., 2003).

Após a aplicação, a eficácia de um herbicida pós-emergente pode ser influenciada pela absorção inicial e consequente translocação de quantidades suficientes da molécula para atingir o sítio de ação (FERREIRA et al., 2006), sendo a absorção diretamente relacionada com a morfologia da folha (PROCÓPIO et al., 2003) e características físico-químicas das moléculas. A absorção de herbicidas pela planta inicia-se com a penetração desse pela cutícula da folha, epiderme, parênquima, até atingir os vasos condutores, onde serão translocados através das rotas simplásticas e apoplásticas (KRUSE, 2001). Estes

processos são dependentes da espécie envolvida, do estágio da planta daninha, das condições ambientais e da concentração do herbicida aplicado (SILVA et al., 2007). Após a absorção, para os herbicidas sistêmicos, é necessária a translocação do herbicida através dos tecidos vasculares até o sítio de ação da molécula, onde este vai exercer sua atividade (SATICHIVI et al., 2000).

A composição química do revestimento cuticular é variada, sendo a cutina e a cera seus principais componentes. A cutina é um biopoliéster insolúvel, de elevado grau de entrecruzamento entre os ácidos graxos hidroxilados de cadeia longa que a compõem, enquanto a cera apresenta-se embebida nesse polímero ou depositada no exterior da cutícula (epicuticular) (FERREIRA et al., 2005). A cera epicuticular pode ser depositada em uma variedade de formas físicas, como por exemplo em camadas finas ou formando placas ou cristais de diferentes tamanhos e formas (FERREIRA et al., 2005). A cera também se destaca como a principal barreira protetora contra a perda de água por transpiração excessiva, a ação de patógenos, as radiações solares e a entrada de produtos químicos e contaminantes nas folhas (HEREDIA et al., 1998). Este fato é devido à sua composição química, refletida no grau de cristalinidade, e à possibilidade de constituir na superfície da membrana cuticular uma película que atua como interfase entre a célula vegetal e o meio (HEREDIA et al., 1998).

Dependendo da composição e da polaridade da cera e do herbicida, a cera epicuticular pode se tornar uma barreira à absorção de herbicidas. A quantidade e a composição da cera epicuticular podem variar com a espécie, com a cultivar e até mesmo dentro da mesma população de plantas, dependendo da condição ambiental ao qual a espécie está exposta. A cera epicuticular é uma mistura complexa de diferentes compostos alifáticos, que normalmente contêm séries homólogas de alcanos, álcoois (primários e secundários), aldeídos, ácidos, cetonas, β -dicetonas e ésteres (BIANCHI & BIANCHI, 1990).

Os processos de absorção e translocação de herbicidas dependem também das características apresentadas pelos mesmos, sendo importantes no entendimento de suas propriedades. A principal característica é constituída pelas propriedades lipofílicas e hidrofílicas dos herbicidas, as quais podem ser medidas através do coeficiente de partição octanol-água (Kow) (SILVA et al., 2013). Esta propriedade indica a afinidade que a molécula do herbicida tem em relação à fase polar (representada pela água) e apolar (representada pelo octanol). Herbicidas que diferem em estrutura e polaridade atravessam com maior ou menor dificuldade a cutícula (SILVA et al., 2013).

O mecanismo exato de absorção ainda não é conhecido para todos os herbicidas, mas admite-se que os compostos apolares seguem a rota lipofílica, enquanto os compostos polares seguem a rota hidrofílica (SILVA et al., 2000). De acordo com os mesmos autores, supõe-se que os herbicidas lipofílicos se solubilizem nos componentes lipofílicos da cutícula e se difundam através desta; enquanto para os herbicidas hidrofílicos, admite-se que a cutícula tenha uma estrutura porosa, que se mantém hidratada, sendo essa água de hidratação da cutícula a rota de penetração desses herbicidas (PROCÓPIO et al., 2003).

As diferenças na suscetibilidade de espécies de plantas daninhas a herbicidas têm sido atribuídas ao estágio de desenvolvimento da planta, à diferença na morfologia (área e forma do limbo, ângulos ou orientação das folhas em relação ao jato de pulverização), à anatomia foliar (presença de estômatos e pelos, espessura e composição da camada cuticular) e às diferenças na absorção, translocação, compartimentalização e no metabolismo da molécula herbicida (DALL'ARMELLINA & ZIMDAHL, 1989; WESTWOOD et al., 1997; VARGAS et al., 1999; TUFFI SANTOS et al., 2004). A

elucidação da dinâmica das interações entre o produto e a planta tem grande importância na prática, pois servirá de base para a orientação do uso correto e seguro dos herbicidas.

Capítulo 1: Caracterização anatômica do eixo vegetativo aéreo de *Euphorbia hirta* L., uma espécie tolerante ao herbicida glifosato

Resumo

O objetivo desse trabalho foi caracterizar a anatomia do eixo vegetativo aéreo (folhas e caule) da espécie *Euphorbia hirta* L., visando subsidiar o estabelecimento de estratégias para o melhor controle desta espécie com herbicidas. O ensaio experimental foi montado em casa de vegetação nas condições de água, luz e temperatura controladas. No momento em que as plantas atingiram tamanhos entre 8 a 12 cm foram coletadas amostras para realizar a análise de microscopia de luz. Sendo as amostras de caules (n = 4), localizados entre o segundo e terceiro nós, folhas jovens (n = 4), localizadas no primeiro entrenó, e adultas (n =4) localizadas no terceiro entrenó. Imediatamente após a coleta, as amostras foram fixadas em solução contendo formaldeído, ácido acético e etanol 50%; 1:1:18 vol/vol e armazenadas em etanol 70% para serem levadas até o laboratório e processadas através de técnicas usuais em microscopia de luz. As análises microscópicas para caracterização anatômica das plantas foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Anatomia Vegetal (LaPAV), do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ. Em secção transversal, o caule de *E. hirta* apresenta formato circular. A epiderme é unisseriada composta por células isodiamétrica com arranjo compactado e com tricomas multicelulares. A cutícula depositada sob a epiderme é espessa. O limbo foliar possui epiderme composta por células com formato regular de diferentes tamanhos e as células da face abaxial possuem contorno sinuoso, com maior densidade de complexos estomáticos anisocíticos e paracíticos. Com base nas características anatômicas observadas na espécie *E. hirta* as principais barreiras que podem atuar na absorção e translocação dos herbicidas são a alta pilosidade encontrada nas folhas e caules, e o alto teor de antocianina nas células epidérmicas. Considerando os parâmetros morfométricos avaliados entre as folhas jovens e adultas, as folhas jovens apresentam menor espessura na epiderme abaxial. Por outro lado, não há diferenças entre as demais variáveis morfométricas analisadas para a espécie caracterizada com tolerante ao herbicida glifosato.

Palavras-chave: Euphorbiacea; Absorção de herbicidas; Anatomia; Erva-de-Santa-Luzia.

1. Introdução

No sistema de produção da cultura da soja, uma das plantas daninhas que vem ganhando destaque é a espécie *Euphorbia hirta*, especialmente na região norte do estado do Mato Grosso (NEVES et al., 2010) e em outras áreas do Centro-Oeste. Esta espécie apresenta tolerância ao herbicida glifosato, amplamente utilizado no sistema de produção para o controle de plantas daninhas.

A espécie *E. hirta* pertence à família Euphorbiaceae. Esta espécie possui ciclo anual, rastejante ascendente, densamente pilosa, pouco ramificada com altura entre 15-50 cm; as folhas são opostas, com 1-4 cm de comprimento por 1-1,5 cm de largura, oblonga-lanceoladas, geralmente avermelhadas, podendo apresentar manchas roxas na superfície superior sendo a face inferior pilosa, base arredondada e desigual, com pecíolo muito curto, estípulas pequenas e lineares (PINTO et al., 2014). O caule é semi-ereto, avermelhado ou arroxado com pelos amarelos, composto por ramificações até o topo da planta, e há a presença de células laticíferas. A inflorescência está na forma de cachos terminais ou axilares de flores chamados ciátio (PINTO et al., 2014).

O conhecimento dos mecanismos de absorção dos herbicidas nos tecidos vegetais é fundamental para o sucesso do controle químico das plantas daninhas. Os herbicidas podem ser absorvidos nas plantas através de suas estruturas aéreas (folhas, caules, flores e frutos) e subterrâneas (rizomas, estolões, tubérculos, etc.), de estruturas jovens (radículas e caulículos) e, também através das sementes (SILVA et al., 2000). Contudo, a folha é o principal órgão das plantas daninhas envolvido na absorção de herbicidas aplicados em pós-emergência (PROCÓPIO et al., 2003).

Uma vez aplicados nas folhas, os herbicidas precisam penetrar a cutícula (barreira primária à absorção) ou outras células especializadas na superfície foliar. A cutícula é uma camada formada por cutina, substância altamente hidrofóbica, depositada acima da parede periclinal externa (EVERT, 2006; HARTZLER, 2018a); sob ela pode haver depósito de ceras epi ou intracuticulares, conferindo maior impermeabilidade a esta camada (EVERT 2006). Dessa maneira, nem todas as células presente na epiderme da folha absorvem os herbicidas (DEVINE et al., 1992; ROGGENBUCK et al., 1994). As células-guarda dos estômatos, as células envolvendo tricomas e as células sobre nervuras são os responsáveis primários pela absorção de herbicidas. No mesofilo, os herbicidas sistêmicos movem-se de célula a célula ou até chegarem aos tecidos vasculares (DUNCAN, 2018).

Em algumas espécies já foi demonstrada a relação entre as características das folhas e a absorção dos herbicidas. Foi constatado por MACHADO et al. (2008), que plantas de *D. insularis*, apresentam maior índice estomático em ambas as faces das folhas. Além disso, BUKOVAC et al. (1990) verificaram que, nestas plantas, a cutícula tem maior espessura e atua como interface entre o corpo da planta e o ambiente, e contribui na proteção mecânica e na prevenção da perda de água dos tecidos vegetais. A cutícula funciona também como importante barreira à entrada de herbicidas. Além disso, as rotas de absorção e translocação de herbicidas pelas plantas parecem estar muito relacionadas às características físico-químicas dos herbicidas (OLIVEIRA JR.; BACARIN, 2011). Entretanto, esse processo parece ser determinado prioritariamente pela lipofiliabilidade dos herbicidas do que por qualquer propriedade específica da molécula, como a sua forma ou a presença de algum grupo funcional (BROMILOW; CHAMBERLAIN, 1991).

As antocianinas são pigmentos característicos desta espécie, solúveis em água, derivados dos flavonoides através da via do ácido chiquímico, e são reconhecidas por desempenhar importante papel sob diferentes estresses ambientais, especialmente a fotoproteção (DEGASPARI; WASZCZYNSKY, 2004). A atenuação do excesso de luz é uma das funções aceitas como primárias deste pigmento, porém elas podem também estar

vinculadas a eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROS). Apesar das diferentes localizações subcelulares das antocianinas e EROS, células contendo antocianinas na folha demonstram maior capacidade para remover H₂O₂ do que as células que não possuem estes compostos (KOVINICH et al., 2014).

Com base no exposto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a anatomia do eixo vegetativo aéreo (folhas e caule) da espécie *E. hirta*, a fim de melhor compreender as barreiras impostas à absorção dos herbicidas aplicados em pós-emergência, visando subsidiar o estabelecimento de estratégias para o melhor controle desta espécie no campo.

2. Material e métodos

2.1 Material vegetal

O ensaio experimental foi montado em casa de vegetação nas condições de água, luz e temperatura controladas. As unidades experimentais foram compostas por vasos de 1L, preenchidos com uma mistura de solo argiloso e arenoso na proporção 1:1 (Tabela 1). Aproximadamente 0,0314g de sementes da espécie *E. hirta* foram semeadas em cada vaso onde as plantas foram adubadas semanalmente com adubo NPK 5-20-20 e ureia para suprir as necessidades nutricionais e as irrigações foram realizadas diariamente mantendo o solo próximo a capacidade de campo.

Tabela 1. Análise química de solo utilizado nos experimentos. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Prof (cm)	Na	Ca	Mg	K	H+Al	Al	S	T	V	m	n	pHágua	Corg	P	K
	Cmolc / dm ³										1:2,5	%	mg/L		
0-40	0,046	2,9	1,4	0,12	3,9	0	4,466	8,366	53	0	0,549844609	5,7	0,78	42	46

No momento em que as plantas atingiram tamanhos entre 8 a 12 cm (aproximadamente 5 meses após a semeadura), foram coletadas amostras para realizar a análise ao microscópio de luz. As análises microscópicas foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Anatomia Vegetal (LaPAV), do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFRRJ.

2.2. Caracterização anatômica - Microscopia de luz

Para o estudo das características anatômicas do caule e da folha de *E. hirta* amostras de caules (n = 4), localizados entre o segundo e terceiro nós, folhas jovens (n = 4), localizadas no primeiro entrenó, e adultas (n = 4) localizadas no terceiro entrenó, foram coletadas, fixadas em FAA 50 (Formaldeído, ácido acético e etanol 50%; 1:1:18 vol/vol) e armazenadas em etanol 70% (JOHANSEN 1940). Em laboratório, as amostras foram seccionadas com auxílio de micrótomo de Ranvier e as secções com cerca de 10 µm de espessura foram coradas Azul de Astra e Safranina (JOHANSEN 1940). Para mensuração dos dados morfométricos, amostras foram desidratadas em série etílica e embebidas em resina metacrilato (GERRITS 1991). Secções transversais com cerca de 4 µm de espessura obtidas em micrótomo rotativo, coradas com Azul de toluidina O 0,05%, pH 4,3 (O'Brien 1964) e lâminas permanentes foram montadas com Entellan (GERLACH 1969). O material será descrito e os seguintes parâmetros morfométricos foram mensurados: (a) espessura cutícula, (b) espessura cutícula + parede pectocelular externa, (c) espessura da epiderme adaxial, (d) espessura da epiderme abaxial, (e) espessura do mesofilo, (f) espessura do parênquima clorofiliano paliádico, (g) espessura do

parênquima clorofiliano lacunoso, e (h) espessura bainha do feixe. O laminário foi analisado ao microscópio de luz, e as características relevantes serão fotodocumentadas por meio do sistema de captura de imagens.

2.3. Análise morfométrica

Para as análises de comparação dos parâmetros morfométricos, os dados foram submetidos a análise de variância ANOVA ($p \leq 0,05$), sendo F significativo, submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3. Resultados e Discussões

Em secção transversal, o caule de *E. hirta* apresenta formato circular. A epiderme é unisseriada composta por células isodiamétrica com arranjo compactado e com tricomas multicelulares (Figura. 1A). A cutícula depositada sob a epiderme é espessa. O córtex é composto por nove camadas de parênquima clorofiliano regular, e bainha amilífera (Figs. 1A-B). Da mesma forma, essas características foram relatadas anteriormente na espécie por SEREENA et al., (2015). O cilindro central é formado pelo periciclo parenquimático, e floema e xilema primários opostos formando um anel contínuo envolvendo a medula parenquimática (Figs. 1A-B). A estrutura anatômica na seção transversal do caule estava de acordo com as características gerais da família Euphorbeceae (SEREENA et al., 2015).

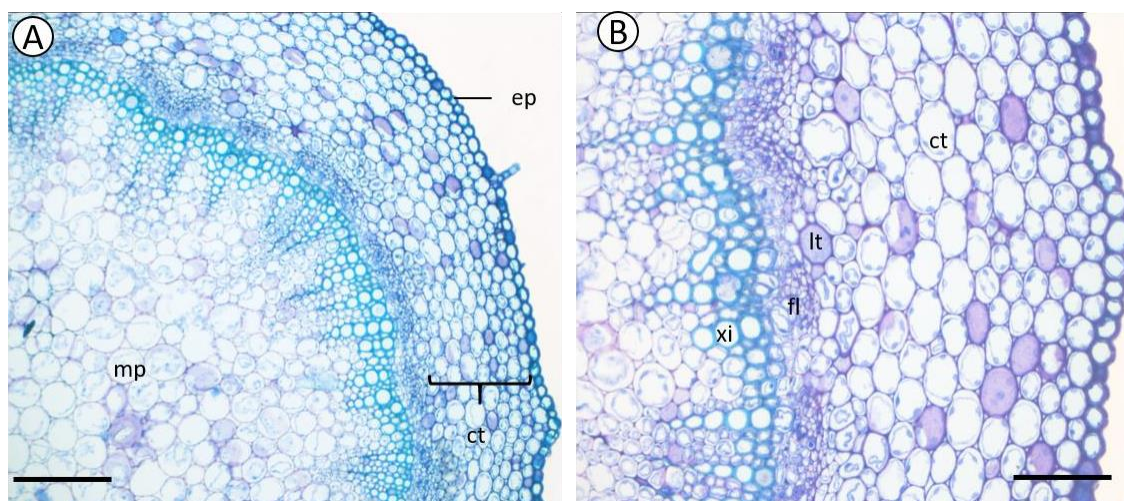


Figura 1. Fotomicrografias da secção transversal do caule primário de *Euphorbia hirta* L.. (A) Secção transversal do caule mostrando epiderme unisseriada, córtex parenquimático, floema e xilema em anel contínuo e medula parenquimática. (B) Detalhe mostrando córtex, laticífero e feixes vasculares. ct: córtex; ep: epiderme; fl: floema; lt: laticífero; mp: medula parenquimática; xi: xilema. Barras de escala: A: 100 μ m; B: 50 μ m. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

O limbo foliar de *E. hirta* possui epiderme composta por células com formato regular de diferentes tamanhos (Figura. 2A). Em visão frontal, as células epidérmicas da face adaxial possuem formato regular, com impregnações nas paredes anticlinais (Fig. 2B), e as células da face abaxial possuem contorno sinuoso, com maior densidade de complexos estomáticos anisocíticos e paracíticos (Fig. 2C). METCALFE E CHALK, (1950) demonstraram a ocorrência folhas anfiestomáticas em algumas espécies de *Euphorbia*. Em secção transversal, a epiderme é unisseriada constituída por células

alongadas, justapostas, com paredes anticlinais delgadas (Fig. 2A) e recoberta por fina camada de cutícula, evidenciada pelo Sudan III (Fig. 2D).

Em ambas as faces da folha foi observado a presença de tricomas tectores, de 4 a 6 células no ápice (Fig 2A). Os tricomas são estruturas importantes, pois mantêm uma atmosfera saturada em vapor de água em torno da folha, reduzindo assim, a transpiração, além de regular a temperatura e a reflexão da radiação solar que atinge a superfície das plantas (LARCHER, 2004). Além da importância fisiológica citada acima, os tricomas presentes na superfície foliar podem interceptar gotas pulverizadas, impedindo que estas alcancem a epiderme propriamente dita (PROCÓPIO et al., 2003b). Em trabalho realizado por FERREIRA et al. (2002), estudando *Nicandra physoloides* constataram que o maior obstáculo foliar a penetração do herbicida é a alta densidade de tricomas, ceras e espessura da cutícula.

Embora a cutícula da espécie *E. hirta* seja delgada, tricomas longos são encontrados ao longo de todos os órgãos aéreos, e para essa espécie pode representar a principal barreira para a penetração de herbicidas. A eficiência da absorção de herbicidas pelos tricomas e a sua translocação para as células epidérmicas ainda são parcialmente desconhecidas (HESS & FALK, 1990).

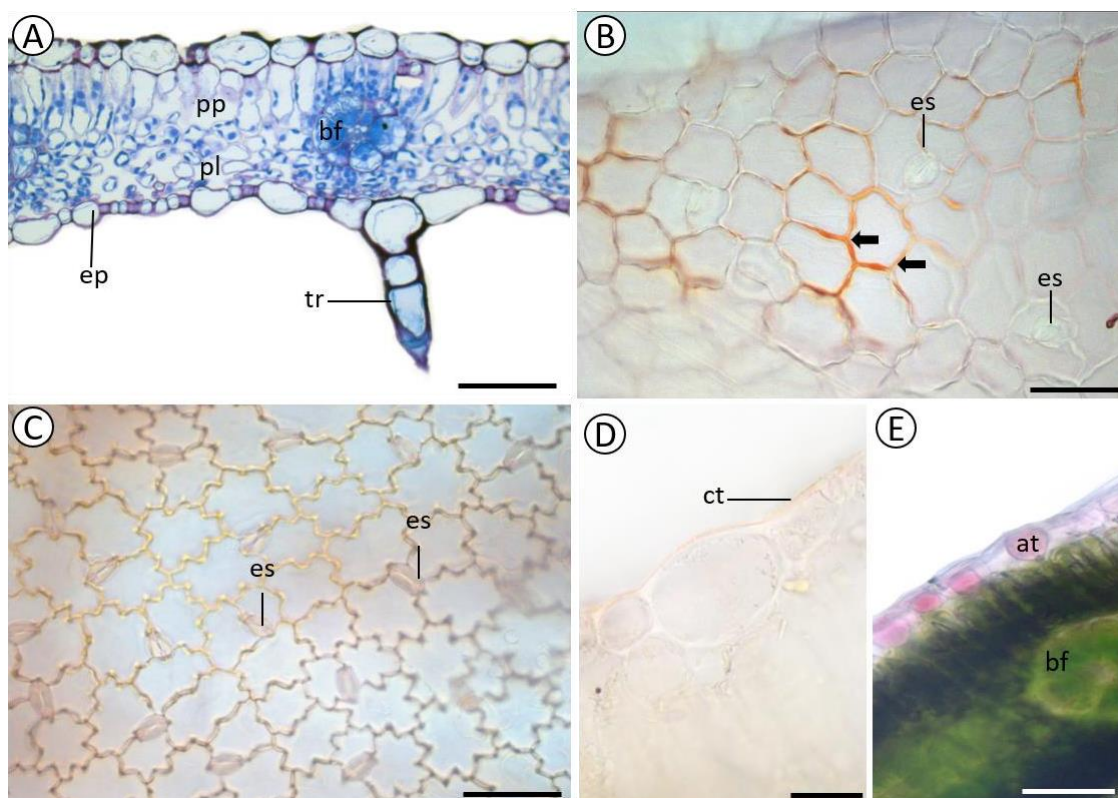


Figura 2. Fotomicrografias do limbo foliar de *Euphorbia hirta* L.. (A) Secção transversal do limbo foliar, mostrando epiderme unisseriada com tricoma tector, mesofilo dorsiventral com parênquima paliçádico e lacunoso e feixe vascular com bainha do feixe clorofilada. (B) Clarificação da epiderme na face adaxial, mostrando células comuns, estômatos e impregnações nas paredes anticlinais (seta). (C) Clarificação da epiderme na face abaxial, mostrando células comuns com formato irregular e estômatos. (D) Teste de Sudan III mostrando a marcação da cutícula delgada. (E) Secção transversal de limbo foliar fresco, mostrando epiderme com antocianina e bainha do feixe clorofilada. At: antocianina; bf: bainha do feixe; ct: cutícula; ep: epiderme; es: estômato; pl: parênquima lacunoso; pp: parênquima paliçádico; tr: tricoma. Barras de escala: A: 20 µm; B: 20 µm; C: 20 µm; D: 8 µm; E: 40 µm. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Em material fresco, foi observada a presença de antocianina na região adaxial da epiderme dentro dos vacúolos (Fig. 2E). Antocianinas são responsáveis pela tolerância a vários fatores de estresse, como seca ou resistência a patógenos e são conhecidas como poderosas antioxidantes que seu acúmulo ocorre quando a planta é exposta a vários tipos de estresses (HIPSKIND et al., 1996). Reiss (1983) observou que os níveis de atividade da enzima PAL, e o conseqüente acúmulo de antocianinas, foram aumentados consideravelmente pelo tratamento com herbicida inibidor da síntese dos carotenoides em plântulas de mostarda (*Sinapis alba* L.) cultivadas sob luz branca. LEE et al. (2003) também obtiveram aumento da atividade desta enzima para a espécie *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.), testando os herbicidas inibidores do fotossistema II, concluindo que as EROs podem atuar como sinalizadoras para uma maior expressão enzimática.

O mesofilo é dorsiventral, com uma camada de parênquima clorofiliano paliçádico na face adaxial e três camadas de parênquima clorofiliano lacunoso na face abaxial (Fig. 3A). A última camada do mesofilo é composta pela bainha do feixe que é bastante desenvolvida e clorofilada (Fig. 3A-B). Algumas espécies vegetais desenvolveram estratégias para minimizar os prejuízos causados pela fotorrespiração. Como é o caso da espécie *E. hirta*, uma espécie que realiza o ciclo fotossintético C4. HATCH & SLACK, (1966) observaram algumas características marcantes em plantas do ciclo C4 que apresentam esse mecanismo fotossintético, como, por exemplo, a ocorrência de uma anatomia particular, com separação espacial entre as células do mesofilo e as células da bainha dos feixes vasculares.

A principal característica do ciclo C4 é o mecanismo de concentração de carbono nas células da bainha, o que faz com que a RUBISCO atue quase exclusivamente como carboxilase, eliminando, na prática, a fotorrespiração (VALENTE et al, 2011). Descoberto em plantas tropicais, tanto em eudicotiledôneas quanto em monocotiledôneas pertencentes a famílias, como por exemplo Euphorbiaceae e Poaceae. Os feixes vasculares são constituídos por xilema voltado para a face adaxial e floema para a face abaxial. A nervura central possui córtex constituído por uma camada de colênquima e sete camadas de parênquima fundamental (Fig. 3D).

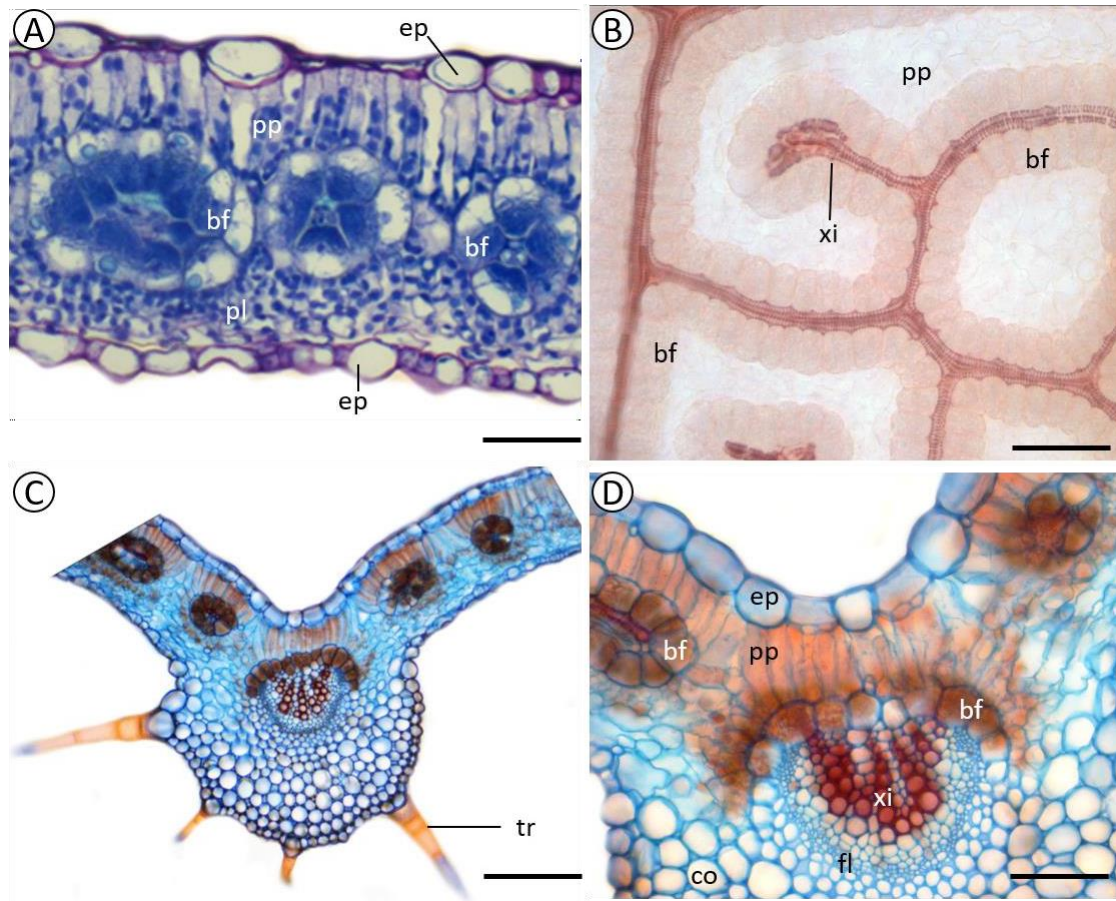


Figura 3. Fotomicrografias do limbo foliar de *Euphorbia hirta* L.. (A) Detalhe do limbo foliar, mostrando a epiderme unisseriada, mesófilo dorsiventral e bainha do feixe grande e clorofilada. (B) Clarificação do limbo foliar, mostrando em visão frontal a bainha do feixe ao longo de todo o sistema condutor. (C) Visão geral da nervura central, mostrando a epiderme com tricomas tectores. (D) Detalhe da nervura central, mostrando feixe vascular com xilema e floema, e bainha do feixe clorofilada. Bf: bainha do feixe; co: córtex; ep: epiderme; pl: parênquima lacunoso; pp: parênquima paliçádico; tr: tricoma; xi: xilema. Barras de escala: A: 60 μ m; B: 40 μ m; C: 80 μ m; D: 20 μ m. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

A presença de laticíferos foi observada em caules (Figs. 4A-B) e folhas, com ampla distribuição por todo o mesófilo entre o parênquima clorofiliano paliçádico e lacunoso (Fig. 4C), e também na região do córtex da nervura. Em vista frontal, foi observado que os laticíferos formam um sistema de rede ramificado (Fig. 4C). Os laticíferos não-articulados presentes nos órgãos vegetativos de *E. hirta* distinguem-se dos demais tecidos devido a suas paredes espessas, forma alongada e conteúdo interno (látex) (OLIVEIRA et al., 2019). FERREIRA et al., 2003 relataram como possíveis principais barreiras foliares à penetração de herbicidas em *Euphorbia heterophylla* o alto teor de cera epicuticular, a elevada densidade de laticíferos e a grande espessura da cutícula da face adaxial. Cabe ressaltar que os laticíferos formam um sistema de ductos ramificados ao longo de todo o corpo do vegetal, e se essas estruturas podem atuar na distribuição dos herbicidas absorvidos deve ser investigado.

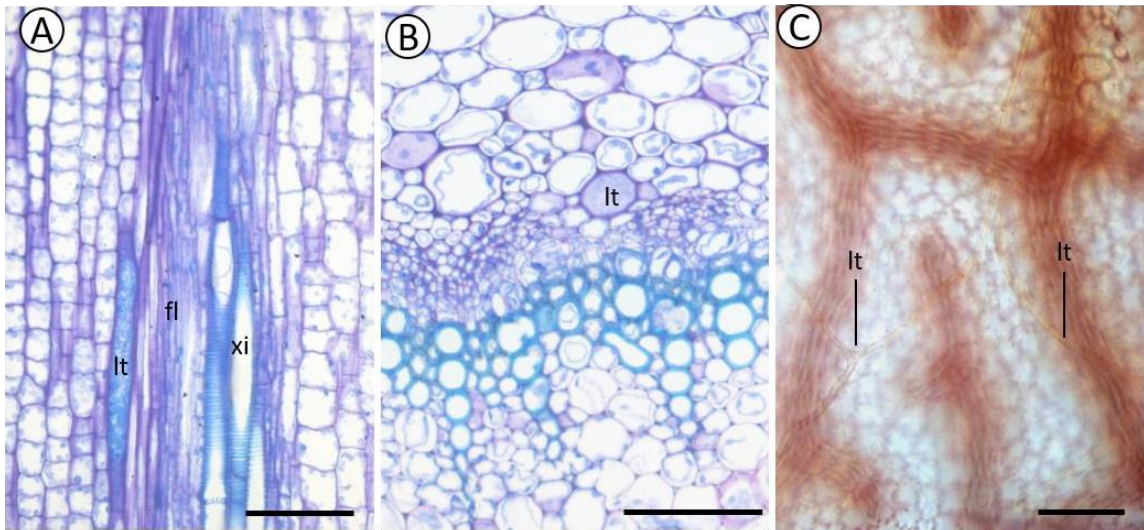


Figura 4. Fotomicrografias evidenciando a ocorrência dos laticíferos em caules e folhas de *Euphorbia hirta* L.. (A) Secção longitudinal do caule, mostrando a ocorrência do laticífero próximo ao feixe vascular. (B) Secção transversal do caule, mostrando o laticífero. (C) Clarificação do limbo foliar, mostrando os laticíferos em visão frontal. fl: floema; lt: laticífero; xi: xilema. Barras de escala: A: 150 µm; B: 30 µm; C: 40 µm. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Os resultados analisados quanto aos parâmetros morfométricos serão apresentados a seguir. Quando comparado folhas jovens e adultas da espécie *E. hirta*, as folhas jovens apresentaram menor valor para o parâmetro morfométrico espessura da epiderme abaxial quando comprado com as folhas adultas (Fig. 5A). Enquanto os outros parâmetros avaliados não foram apresentados diferenças significativas. Depois de iniciado o processo de absorção do herbicida, a primeira camada celular encontrada são as células da epiderme. Assim, a importância da espessura desta gama de células pode afetar o processo de absorção e translocação dos herbicidas.

Parâmetros morfométricos
do limbo foliar da espécie *E. hirta*

A

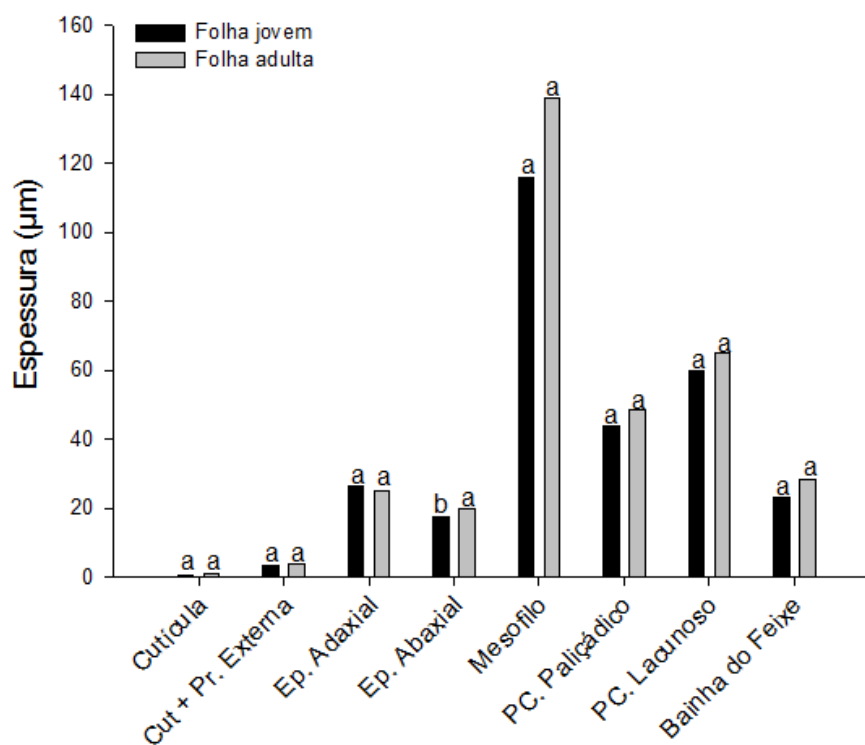


Figura 5. Comparação dos parâmetros morfométricos do limbo foliar em folhas jovens e adultas de *Euphorbia hirta* L. Médias com letras iguais não diferem entre si no mesmo parâmetro pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Quando ocorrida a absorção, pelas células da epiderme, quanto mais lento for o processo do herbicida chegar até outras células e, posteriormente, aos feixes vasculares, processos de metabolização a outros compostos e até a ativação ou inativação podem estar ocorrendo nas células da epiderme (VELINI et al., 2009). Desta forma, este trabalho apresenta a primeira investigação da espessura da epiderme em relação a espécie *E. hirta* tolerante ao glifosato.

Herbicidas que movem-se no interior da planta seguindo a rota dos fotoassimilados pelo floema, permite inferir que quanto maior o diâmetro dos feixes vasculares, maior a translocação do herbicida na folha para as demais partes da planta (DUKE & POWLES, 2008). Para o melhor desempenho desses herbicidas, é necessário primeiramente excelente absorção e translocação até pontos de crescimento, pois a metabolização ou degradação e reduzida translocação, podem resultar em redução da sua eficácia. (DUKE & POWLES, 2008).

As anotações anatômicas são de grande importância nas avaliações e apreciações, uso dos caracteres como uma ferramenta eficaz na interpretação de avaliações filéticas e delineamentos sistemáticos. No entanto, para complementar os estudos anatômicos, torna-se evidente a necessidade da realização de trabalhos integrando as áreas de fisiologia e genética molecular, uma vez que resultados relacionados ao estudo da espécie *E. hirta* possivelmente possuem interações fisiológicas e genéticas relacionados com a tolerância ao herbicida glifosato.

4. Conclusões

Com base nas características anatômicas observadas na espécie *Euphorbia hirta* as principais barreiras que podem atuar na absorção e translocação dos herbicidas são a alta pilosidade encontrada nas folhas e caules, e o alto teor de antocianina nas células epidérmicas. Se a grande quantidade de laticíferos presentes no vegetal atua como barreira, ou pode facilitar a translocação de herbicidas precisa ser melhor investigado.

Considerando os parâmetros morfométricos avaliados entre as folhas jovens e adultas, as folhas jovens apresentam menor espessura na epiderme abaxial. Por outro lado, não há diferenças entre as demais variáveis morfométricas analisadas para a espécie caracterizada com tolerante ao herbicida glifosato, indicando que com a idade a folha não possui alterações significativas em suas estruturas que possam favorecer ou dificultar o processo de absorção e translocação.

Capítulo 2: Uso de herbicidas pré e pós emergentes para o controle da espécie *Euphorbia hirta*

Resumo: O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia de controle da espécie *Euphorbia hirta*, através do uso de herbicidas pré e pós emergentes no controle de *E. hirta*. Foram conduzidos dois experimentos (EII e EIII), em duplicata em que os tratamentos foram dispostos em delineamento experimental de casualização por bloco, com quatro repetições. No EII foram avaliados sete herbicidas em pré-emergência + testemunha sem herbicidas. Os herbicidas avaliados foram: diclosulam, flumioxazina, S-matalocloro, sulfentrazone + diuron, imazetapir + flumioxazina, imazetapir e clomazone. As avaliações de controle foram realizadas aos 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a emergência (DAE) das testemunhas. Aos 42 DAE foi avaliado o efeito residual dos herbicidas, através da ressemeadura da espécie nos vasos. O EIII foi conduzido em dois estádios fenológicos (8 a 12cm e 20 a 25cm), de forma separada, como sub experimentos. Foram avaliados os herbicidas pós emergentes de contato saflufenacil, carfentrazone, flumioxazina e os herbicidas sistêmicos glifosato, clorimuron, cloransulam, 2,4d, triclopir, dicamba e halauxifen-metil + diclosulam. Às 24 e 48 horas após aplicação (HAA) dos herbicidas foi realizada a detecção de espécies reativas de oxigênio para um grupo de tratamentos selecionados deste experimento. Aos 2, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA) dos herbicidas foram realizadas as avaliações visuais de controle e fluorescência da clorofila *a*. No EII, todos os herbicidas pré-emergentes avaliados foram eficazes no controle da espécie *E. hirta*. Quanto a atividade residual, os herbicidas imazetapir e clomazone apresentaram eficiência de controle para a espécie inferior a 42 DAE. No EIII, Em 24 e 48 HAA o tratamento contendo os herbicidas flumioxazina e carfentrazone associado ao herbicida glifosato apresentou maiores teores de peróxido de hidrogênio, o que indica a não metabolização dos herbicidas de contato na espécie sendo estes eficazes para o controle. A utilização dos herbicidas de contato saflufenacil, carfentrazone e flumioxazina associados aos herbicidas auxínicos e ao herbicida glifosato, independente do estágio fenológico das plantas, foram eficazes para o controle espécie *E. hirta*. Os herbicidas cloransulam e clorimuron associados ao herbicida glifosato apresentaram controle eficiente.

Palavras chaves: Alternativas de manejo; Associação de herbicidas; Estresse oxidativo; Erva de Santa Luzia.

1. Introdução

Algumas espécies de plantas daninhas apresentam tolerância a ação do herbicida glifosato necessitando de doses maiores ou ainda outros herbicidas para alcance de controle satisfatório. No Brasil, a espécie *Euphorbia hirta*, vem sendo identificada como uma espécie tolerante ao herbicida glifosato (PROCÓPIO et al., 2007; TAKANO et al., 2013; GIANCOTTI et al., 2012; PEREIRA et al., 2011; FOLONI et al., 2005), sendo considerada uma espécie de difícil controle em diversas regiões do país. Dessa forma, a busca por alternativas de manejo eficientes é fundamental para estas espécies consideradas tolerantes.

Os herbicidas pré-emergentes têm por finalidade o controle das plantas daninhas durante a germinação ou emergência, além de apresentarem atividade residual sobre o alvo, suprimindo novos fluxos de emergência. Atualmente não existem herbicidas pré-emergentes com registro para o controle de *E. hirta*, sendo necessário avaliar a eficácia dos produtos já registrados para a cultura da soja, sobre esta espécie.

O manejo em pós-emergência deve ser priorizado durante a operação de dessecação, devido a maior flexibilidade no uso de herbicidas. A dessecação é uma das etapas mais importantes para qualquer cultura, pois a aplicação de herbicidas não-seletivos na eliminação da cobertura vegetal assegura a perfeita emergência da cultura, permitindo o crescimento inicial sem interferência de plantas daninhas (CHRISTOFFOLETI et al., 2007). Como alternativas que podem ser eficientes na dessecação, está a mistura de herbicidas sistêmicos e herbicidas de contato, associados ao herbicida glifosato. Ainda assim, estudos devem ser mais aprofundados quanto a eficiência destas misturas sobre a espécie *E. hirta*.

O controle eficiente de plantas daninhas com o uso de herbicidas em pós-emergência depende, entre outros fatores, do estágio de desenvolvimento das plantas-alvo (ASKEW; SHAW, 2000; JOHNSON; HOVERSTAD, 2002; FLECK et al., 2008). Sendo assim, para aplicação de herbicida em pós-emergência das plantas daninhas, é importante avaliar o estágio fenológico das plantas no momento da aplicação, evitando controle ineficiente e conseqüente aumento nos custos de produção (GALON, 2013).

Diante da falta de informações sobre alternativas de controle para a espécie *E. hirta*, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de controle da espécie *E. hirta*, através do uso de herbicidas pré-emergentes recomendados para a cultura da soja e sua atividade residual no controle da espécie *E. hirta*; e ainda avaliar a eficácia de herbicidas pós-emergentes com aplicações isoladas ou em mistura (sistêmicos e contato).

2. Material e métodos

Foram conduzidos dois experimentos na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) – Seropédica/RJ (-22°45'39" S, -43°42'00" N), na área experimental e laboratórios do Grupo de Pesquisa de Plantas Daninhas e Pesticidas no Ambiente (PDPA/UFRRJ), pertencentes ao Departamento de Fitotecnia, durante o período de maio de 2020 a janeiro de 2021.

2.1 Material experimental

As sementes de *E. hirta* utilizadas nos experimentos foram adquiridas da empresa Agro Cosmos, localizada no município de Engenheiro Coelho/SP. Previamente a condução dos experimentos, foi realizado no laboratório do PDPA/UFRRJ, um teste de germinação com as sementes da espécie, onde, para desinfestação, as sementes foram imersas em

hipoclorito de sódio a 1% por um minuto e posteriormente lavadas em água destilada. Após o processo de desinfestação, foi montado o esquema com quatro repetições de 25 sementes colocadas em caixas plásticas do tipo gerbox esterilizadas com duas folhas de papel germitest, umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. A luz foi contínua e a temperatura do germinador mantida a 25°C. As sementes foram consideradas germinadas quando apresentaram a emissão de no mínimo 2 mm de radícula, durante o período de emergência sendo equivalente entre 7 a 14 dias para a espécie (Lima e Borges & Rena, 1993).

2.2 Experimento 2 (EII) - Herbicidas pré-emergentes

Foram avaliados nove tratamentos com herbicidas pré emergentes mais uma testemunha sem aplicação (Tabela 1). O experimento foi realizado em duplicata (durante o período de maio e julho de 2020), em delineamento experimental de casualização por bloco, com quatro repetições. A unidade experimental foi composta por vasos de 5L, preenchidos com uma mistura de solo argiloso e arenoso na proporção 1:1 (Tabela 2). Aproximadamente 0,0314g de sementes da espécie *E. hirta* foram semeadas em cada unidade experimental e em seguida foi realizada a aplicação dos tratamentos. As irrigações foram realizadas diariamente mantendo o solo próximo a capacidade de campo.

Tabela 1. Tratamentos herbicidas a serem utilizados no Experimento EI - pré - emergência - e suas respectivas doses. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021

Tratamentos	Ingrediente Ativo	Produto Comercial	Dose (pc ha ⁻¹)
T1	-	-	-
T2	Diclosulam	Spider [®]	41,7 g
T3	Flumioxazina	Flumizin [®]	50 g
T4	Flumioxazina	Flumizin [®]	100 g
T5	S- Metalocloro	Dual Gold [®]	2000 mL
T6	Sulfentrazone + Diuron	Stone [®]	1400 mL
T7	Imazetapir + Flumioxazina	Zethamaxx [®]	500 mL
T8	Imazetapir + Flumioxazina	Zethamaxx [®]	600 mL
T9	Imazetapir	Zaphir [®]	1000 mL
T10	Clomazone	Gamit [®]	1600 mL

Tabela 2. Análise química de solo utilizado nos experimentos. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Prof (cm)	Na	Ca	Mg	K	H+Al	Al	S	T	V	m	n	pHágua	Corg	P	K
	Cmolc / dm ³											%	%	mg/L	
0-40	0,046	2,9	1,4	0,12	3,9	0	4,466	8,366	53	0	0,549844609	5,7	0,78	42	46

Para as aplicações foi utilizado um pulverizador costal pressurizado a CO₂ equipado operando na pressão de 2,8 bar, equipado com uma barra de quatro pontas de pulverização do tipo XR 110 015, espaçadas em 50 cm, aplicando 150 L ha⁻¹ volume de calda. As condições climáticas no momento das aplicações estão descritas (Tabela 3).

Tabela 3. Descrição das condições climáticas no momento da aplicação dos herbicidas pré emergentes. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Variáveis	Experimento (EI)	Replicata (EI)
Temperatura (°C)	19	22
UR (%)	69,3	74,6
Vento (Km.h ⁻¹)	1,1	1,4

As variáveis-reposta avaliados foram controle (número de plantas emergidas), aos 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a emergência (DAE). Aos 42 DAE, as plantas foram coletadas para avaliação da massa seca da parte aérea (MSPA).

Aos 42 DAE, após a coleta dos experimentos foi realizada uma nova semeadura da espécie *E. hirta* nos vasos para verificação da atividade residual dos herbicidas avaliados. Foram realizadas avaliações de controle aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a semeadura para residual (DASR).

2.3 Experimento 3 (EIII) - Herbicidas pós-emergentes:

Foram avaliados 29 tratamentos com herbicidas mais uma testemunha sem aplicação (Tabela 4). O experimento foi realizado em duplicata (durante o período de maio e julho de 2020), em delineamento experimental de casualização por bloco, com quatro repetições em esquema unifatorial. A unidade experimental foi composta por vasos de 1L, preenchidos com uma mistura de solo argiloso e arenoso na proporção 1:1 (Tabela 1). Aproximadamente 0,0314g de sementes da espécie *E. hirta* foram semeadas em cada unidade experimental. As plantas foram adubadas semanalmente com adubo NPK 5-20-20 e ureia para suprir as necessidades nutricionais e as irrigações foram realizadas diariamente mantendo o solo próximo a capacidade de campo.

O experimento foi realizado em dois estádios fenológicos, onde no primeiro estádio as plantas de *E. hirta* apresentavam tamanhos entre 8 a 12 cm e no segundo estádio as plantas apresentavam 20 a 25cm. Foram feitos dois ensaios, de forma separada, como sub-experimentos para cada estádio fenológico. Quando as plantas atingiram os tamanhos necessários para cada estádio, executou-se os desbastes para selecionar as plantas de maior vigor, mantendo uma planta por vaso as quais foram conduzidas as unidades experimentais.

Tabela 4. Tratamentos herbicidas a serem utilizados no Experimento II - pós - emergência - e suas respectivas doses. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Tratamentos	Ingrediente Ativo	Produto Comercial	Doses (pc ha ⁻¹)
T1	-	-	-
T2	Glifosato	Roundup [®]	2000 mL
T3	Glifosato + Clorimuron	Roundup [®] + Classic [®]	2000 mL + 80 g
T4	Glifosato + Cloransulam	Roundup [®] + Pacto [®]	2000 mL + 47,6 g
T5	Glifosato + Saflufenacil	Roundup [®] + Heat [®]	2000 mL + 50 g
T6	Glifosato + Carfentrazone	Roundup [®] + Aurora [®]	2000 mL + 75 mL
T7	Dicamba	Atectra [®]	1500 mL
T8	Glifosato + Dicamba	Roundup [®] + Atectra [®]	2000 mL + 1500 mL
T9	Glifosato + Dicamba + Saflufenacil	Roundup [®] + Atectra [®] + Heat [®]	2000 mL + 1500 mL + 50 g
T10	Glifosato + Dicamba + Carfentrazone	Roundup [®] + Atectra [®] + Aurora [®]	2000 mL + 1500 mL + 75 mL
T11	2,4d	DMA [®]	1500 mL
T12	Glifosato + 2,4d	Roundup [®] + DMA [®]	2000 mL + 1500 mL
T13	Glifosato + 2,4d + Saflufenacil	Roundup [®] + DMA [®] + Heat [®]	2000 mL + 1500 mL + 50 g
T14	Glifosato + 2,4d + Carfentrazone	Roundup [®] + DMA [®] + Aurora [®]	2000 mL + 1500 mL + 75 mL
T15	Halauxifen-metil + diclosulam	Paxeo [®]	44 g
T16	Glifosato + Halauxifen-metil + diclosulam	Roundup [®] + Paxeo [®]	2000 mL + 44 g
T17	Glifosato + Halauxifen-metil + diclosulam + Saflufenacil	Roundup [®] + Paxeo [®] + Heat [®]	2000 mL + 44 g + 50 g
T18	Glifosato + Halauxifen-metil + diclosulam + Carfentrazone	Roundup [®] + Paxeo [®] + Aurora [®]	2000 mL + 44 g + 75 mL
T19	Triclopyr	Triclon [®]	1500 mL
T20	Glifosato + Triclopyr	Roundup [®] + Triclon [®]	2000 mL + 1500 mL
T21	Glifosato + Triclopyr + Saflufenacil	Roundup [®] + Triclon [®] + Heat [®]	2000 mL + 1500 mL + 50 g
T22	Glifosato + Triclopyr + Carfentrazone	Roundup [®] + Triclon [®] + Aurora [®]	2000 mL + 1500 mL + 75 mL
T23	Flumioxazina	Flumizin [®]	100g
T24	Glifosato + Flumioxazina	Roundup [®] + Flumizin [®]	2000 mL + 100g
T25	Glifosato + Flumioxazina + Saflufenacil	Roundup [®] + Flumizin [®] + Heat [®]	2000 mL + 100g + 50 g
T26	Glifosato + Flumioxazina + Carfentrazone	Roundup [®] + Flumizin [®] + Aurora [®]	2000 mL + 100g + 75 mL
T27	Glifosato + Flumioxazina + Dicamba	Roundup [®] + Flumizin [®] + Atectra [®]	2000 mL + 100g + 1500 mL
T28	Glifosato + Flumioxazina + 2,4d	Roundup [®] + Flumizin [®] + DMA [®]	2000 mL + 100g + 1500 mL
T29	Glifosato + Flumioxazina + Halauxifen-metil + diclosulam	Roundup [®] + Flumizin [®] + Paxeo [®]	2000 mL + 100g + 44 g
T30	Glifosato + Flumioxazina + Triclopyr	Roundup [®] + Flumizin [®] + Triclon [®]	2000 mL + 100g + 1500 mL

Para as aplicações foi utilizado um pulverizador costal pressurizado a CO₂ equipado operando na pressão de 2,8 bar, equipado com uma barra de quatro pontas de pulverização do tipo XR 110 015, espaçadas em 50 cm, aplicando 150 L ha⁻¹ volume de calda. As condições climáticas no momento das aplicações estão descritas (Tabela 5).

Tabela 5. Descrição das condições climáticas no momento da aplicação dos herbicidas nos experimentos I e II. UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Variáveis	Exp 1º Estádio	Exp 2º Estádio
Temperatura (°C)	21	23
UR (%)	70	74,6
Vento (Km.h ⁻¹)	1,6	1,2

Foram realizadas avaliações de controle e fluorescência transiente da clorofila *a* aos 2, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAA). Aos 42 DAA foi feita a coleta dos experimentos para a variável massa seca de parte aérea (MSPA).

Ainda, para os tratamentos (Tabela 6), foram selecionados a partir do mecanismo de ação dos herbicidas (herbicidas inibidores da enzima Prottox), foram coletados discos foliares onde as plantas apresentavam maiores danos causados pelos herbicidas. Os discos foram coletados nos tempos de 24h e 48h após a aplicação dos herbicidas, para avaliação do teor de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) formado nas folhas.

Tabela 6. Tratamentos utilizados para detecção de espécies reativas de oxigênio (EROS). UFRRJ, Seropédica/ RJ, 2021.

Tratamentos	Ingrediente Ativo	Produto Comercial	Doses (pc ha ⁻¹)
T1	Testemunha	-	-
T2	Glifosato	Roundup [®]	2000 mL
T3	Glifosato + Saflufenacil	Roundup [®] + Heat [®]	2000 mL + 50 g
T4	Glifosato + Carfentrazone	Roundup [®] + Aurora [®]	2000 mL + 75 mL
T5	Flumioxazina	Flumizin [®]	100g
T6	Glifosato + Flumioxazina	Roundup [®] + Flumizin [®]	2000 mL + 100g
T7	Glifosato + Flumioxazina + Saflufenacil	Roundup [®] + Flumizin [®] + Heat [®]	2000 mL + 100g + 50 g
T8	Glifosato + Flumioxazina + Carfentrazone	Roundup [®] + Flumizin [®] + Aurora [®]	2000 mL + 100g + 75 mL

2.4 Variáveis–resposta avaliadas

2.4.1 Avaliação de Controle

As avaliações de controle da espécie *E. hirta* nos tratamentos em que foram aplicados herbicidas pré emergentes, foram feitas com base na porcentagem de germinação das plantas em comparação com o tratamento sem aplicação (testemunha).

As avaliações de porcentagem de controle da espécie *E.hirta* após aplicações dos herbicidas pós-emergentes foram realizadas através de escala visual de injúria das plantas daninhas, que variavam de 0 a 100%, onde 0% representa a ausência de sintomas e 100% a morte da planta (FRANS, 1986).

2.4.2 Avaliação da fluorescência da clorofila *a*

A fluorescência transiente da clorofila *a* foram medida utilizando-se um fluorômetro portátil (HandyPEA, Hanstech, King's Lynn, Norkfolk, UK). Os cliques utilizados para estas medições foram colocados no terço médio de folhas jovens completamente expandidas, no período da manhã, e as medições foram realizados 20 minutos após a adaptação das folhas ao escuro. A emissão de fluorescência foi induzida em uma área de 4 mm de diâmetro da folha pela exposição da amostra a um pulso de luz saturante numa intensidade de 3.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A partir da curva de emissão de fluorescência transiente obtida após o pulso, as intensidades determinadas a 50 μs (fluorescência inicial - F0), 100, 300 μs , 2 (FJ) e 30 (FI) ms e FM (fluorescência máxima), foram utilizadas para o cálculo dos parâmetros estabelecidos pelo Teste JIP (STRASSER e STRASSER, 1995).

2.4.3 Detecção de espécies reativas de oxigênio (EROS)

A produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi medida por coloração de discos foliares em solução contendo 3,3'-diaminobendizina (DAB) (Thordal-Christensen et al., 1997). Três discos foliares de cada tratamento (Tabela 6) foram acondicionados em tubos de vidro de 20 mL contendo cada solução de coloração contendo 0,1g de DAB solubilizado em 200 mL de água com pH 3,8. Após a coleta as amostras foram agitadas sob vácuo de 20 Hg por 1 h. Os discos foliares foram lavados em água destilada e fervidos em solução de etanol a 70% (v/v), sendo a solução substituída a cada 20 minutos por quatro ciclos. Após isso foram armazenados em solução de etanol a 70% (v/v) por 12 h e digitalizados. Os níveis de peróxido de hidrogênio foram quantificados usando o Photoshop (Adobe Systems), medindo a intensidade da cor em cada disco foliar, removendo os níveis de fundo. Os dados foram representados como intensidade relativa das amostras tratadas em comparação com as amostras controle e os tratamentos entre si (intensidade controle -intensidade tratada).

2.5 Análise estatística

Os dados de porcentagem de controle, fluorescência transiente da clorofila *a* e de massa seca da parte aérea foram submetidos a análise de variância ANOVA ($p \leq 0,05$), sendo *F* significativo, foram submetidos ao teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Para os dados referentes a fluorescência transiente da clorofila *a*, previamente foram calculados os parâmetros estabelecidos pelo Teste JIP (STRASSER e STRASSER, 1995; YUSUF et al., 2010). Os níveis de peróxido de hidrogênio foram quantificados usando o Photoshop (Adobe Systems), medindo a intensidade da cor em cada disco foliar, removendo os níveis de fundo. Os dados foram representados como

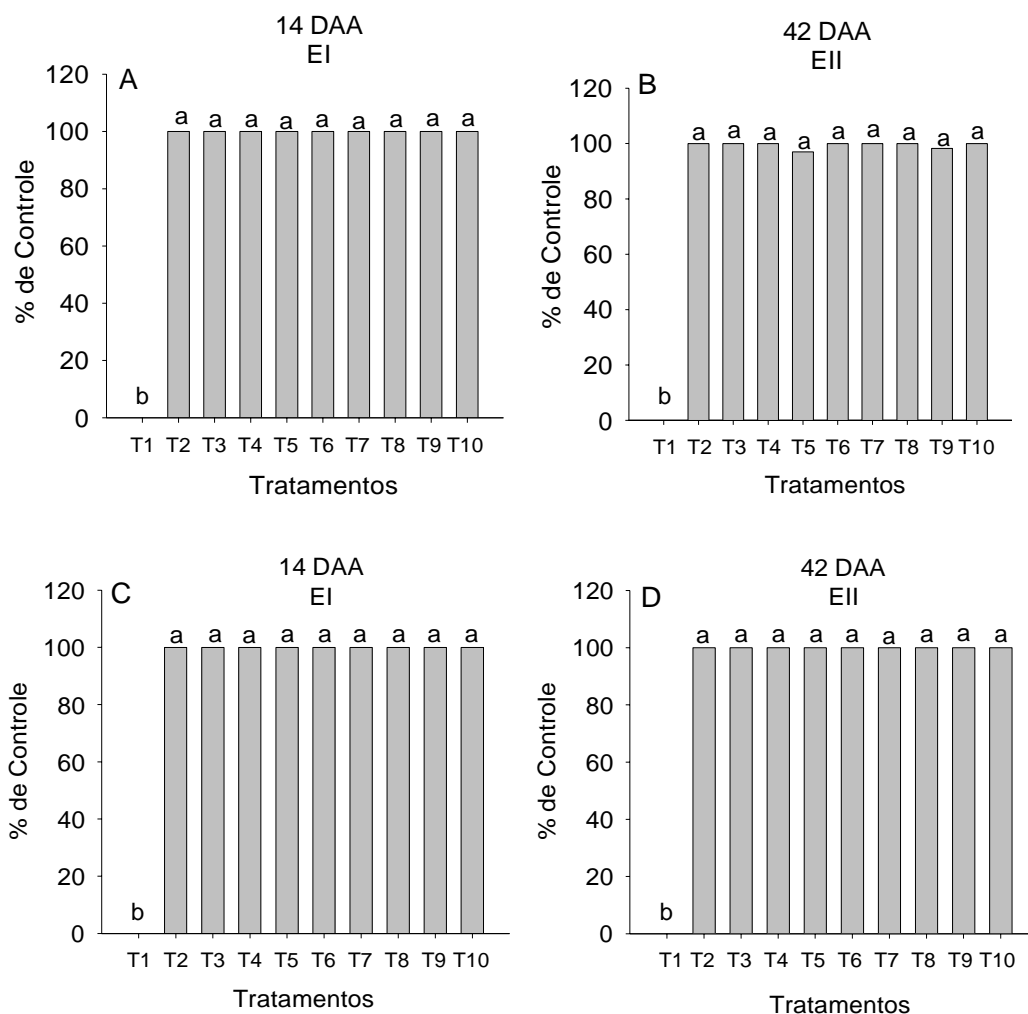
densidade integrada e comparados estatisticamente através do teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3. Resultados e Discussão

3.1 Herbicidas Pré Emergentes

Todos os tratamentos avaliados em pré-emergência proporcionaram controle de 100% da espécie *E. hirta* (Figura 13A, 13B, 13C e 13D). Esses resultados demonstram a importância do uso desta modalidade de herbicidas como alternativa de controle para a espécie.

Na cultura da soja durante a fase vegetativa se estabelecem as relações de competição que mais afetam a produtividade dos grãos, havendo necessidade de manter a cultura no limpo logo após a germinação. Com isso, o uso de herbicidas pré-emergentes é fundamental para a manutenção da produtividade da cultura. A utilização de herbicidas pré-emergentes com efeito residual prolongado é um dos fatores que determinam grande eficiência no controle de plantas daninhas durante o período crítico de competição. Com essa alternativa, torna-se possível a execução de planos para controle efetivo de plantas infestantes na lavoura (MILLER et al., 1995). O sucesso da dessecação pré-semeadura é importantíssimo para o estabelecimento inicial da cultura da soja, onde esta encontrará condições propícias para o seu desenvolvimento (FREITAS et al., 2006).



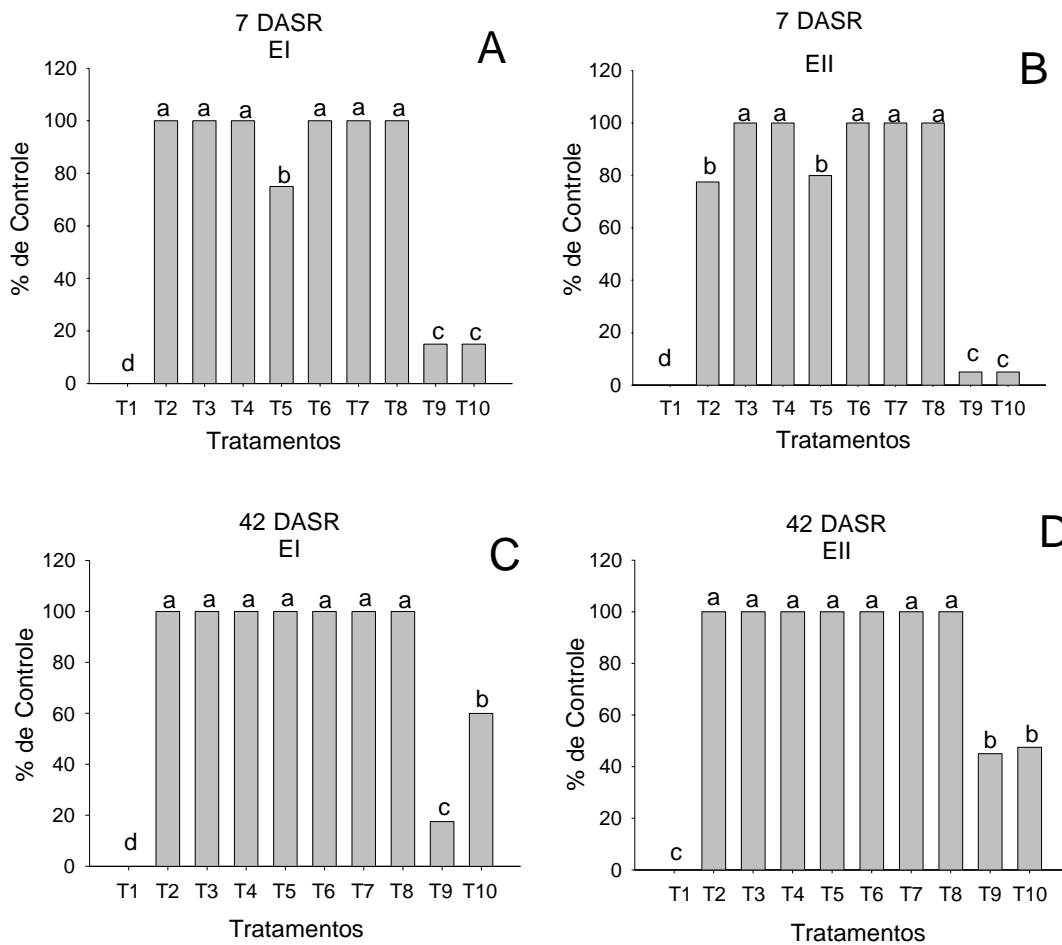
Legenda: T1 Testemunha; T2 S-metalocloro; T3 Imazetapir + Flumioxazina (0,6g); T4 Sulfentrazone + Diuron; T5 Diclosulan; T6 Flumioxazina (50g); T7 Flumioxazina (100g); T8 Imazetapir + Flumioxazina (0,5g); T9 Clomazone; T10 Imazetapir

Figura 1: Avaliação de controle para herbicidas pré emergentes aos 14 e 42 dias após a aplicação (DAA) para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta* nos experimentos (A e C) e sua replicata (B e D). UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021

Os resultados das avaliações do efeito residual dos herbicidas pré emergentes para o controle da espécie *E. hirta* serão apresentados a seguir (Figura 14A, 14B, 14C e 14D). Na avaliação de 7 dias após sementeira das plantas para avaliação de residual (DASR), os tratamentos T2 S-metalocloro, T3 Imazetapir + Flumioxazina (0,6g), T4 Sulfentrazone + Diuron, T6 Flumioxazina (50g), T7 Flumioxazina (100g) e T8 Imazetapir + Flumioxazina (0,5g) demonstraram 100% de controle. O tratamento com o herbicida Diclosulam apresentou taxa de controle da espécie *E. hirta* de aproximadamente 78% (Figura 14A e 14B) nesta avaliação. Entretanto, na avaliação de 42DASR (Figura 14C e 14D), é possível observar 100% de controle para este herbicida. Esta diferença entre as duas avaliações se deve ao fato do diclosulam ser um herbicida que impede a emergência das plantas daninhas sensíveis. Sendo assim, na primeira avaliação foram observadas algumas plantas germinadas, porém as mesmas não se desenvolveram.

Após a germinação da semente e durante a emergência, as plântulas absorvem o herbicida através da radícula e caulículo, sendo este translocado para os meristemas apicais. Muitas plantas são controladas antes da emergência, porém algumas chegam a emergir, mas rapidamente passam a apresentar sintomas como necrose no meristemas onde o herbicida se acumula, impedindo-as de concorrer com a cultura (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).

Os herbicidas clomazone e imazetapir, apresentaram taxa de controle inferior a 20% aos 7DASR (Figura 14A e 14B). Aos 42 DASR, o herbicida clomazone apresentou controle inferior a 40% e o herbicida imazetapir, inferior a 60%, quando comparados ao tratamento da testemunha (Figura 14C e 14D). Apesar de as plantas emergidas relacionadas a esses tratamentos apresentarem fitotoxicidade observada de forma visual como por exemplo, redução de crescimento, e despigmentação foliar, seu desenvolvimento foi contínuo de forma lenta.



Legenda: T1 Testemunha; T2 S-metalocloro; T3 Imazetapir + Flumioxazina (0,6g); T4 Sulfentrazone + Diuron; T5 Diclosulan; T6 Flumioxazina (50g); T7 Flumioxazina (100g); T8 Imazetapir + Flumioxazina (0,5g); T9 Clomazone; T10 Imazetapir

Figura 2: Atividade residual de herbicidas pré emergentes aos 7 e 42 dias após a semeadura para residual (DASR) para cultura da soja sobre a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta* no experimento (A e C) e sua replicata (B e D). UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Herbicidas que apresentam persistência no solo por longos períodos, como os herbicidas pré-emergentes, são insumos importantes para a garantia da produtividade das culturas comerciais, principalmente para aquelas que precisam prevenir o desenvolvimento das plantas daninhas de uma determinada áreas por um extenso período de tempo (MADALÃO et al., 2013), reduzindo com isso o número de aplicações. Porém, existe uma série de fatores que influenciam no processo de absorção e destino dos herbicidas no ambiente. Sendo estes, relacionados com as propriedades físico-químicas dos solos e das moléculas dos herbicidas, com as condições climáticas, com o manejo das culturas e com o sistema de cultivo utilizado (MANCUSO et al., 2011).

3.2 Herbicidas pós emergentes

O tratamento em que foi aplicado o herbicida glifosato de forma isolado, não foi suficiente para o controle da espécie *E. hirta*, mesmo nos estádios iniciais de desenvolvimento. Esse resultado comprova a tolerância da espécie para este herbicida. Os resultados da avaliação de controle aos 7 dias após aplicação (DAA), serão apresentados nos gráficos a seguir (Figura 1A, 1B, 1C e 1D).

Aos 7DAA, comparando os estádios entre si, os herbicidas auxínicos (2,4d, dicamba e halauxifen-metil + diclosulam) aplicados isoladamente, apresentaram maiores taxas de controle para as plantas do primeiro estágio. Para os tratamentos desses herbicidas em associação ao herbicida glifosato com os herbicidas de contato carfentrazone e saflufenacil e para o tratamento do herbicida triclopir isolado, a espécie obteve maiores taxas de controle no primeiro estágio (Figura 1A, 1B, 1C e 1D). Em estágio de desenvolvimento mais avançado, de forma geral, as plantas apresentam maior tolerância aos herbicidas aplicados em pós-emergência (MARTINS; CHRISTOFFOLETI, 2014).

DIAS et al., 2013 observaram que o estágio de desenvolvimento de trapoeraba (*Commelina benghalensis*) contribui significativamente para o grau de tolerância da espécie ao herbicida glifosato, de modo que, comparativamente ao capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*), plantas de trapoeraba tornam-se quatro vezes mais tolerantes ao glifosato a cada dez unidades de desenvolvimento fenológico na escala BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie).

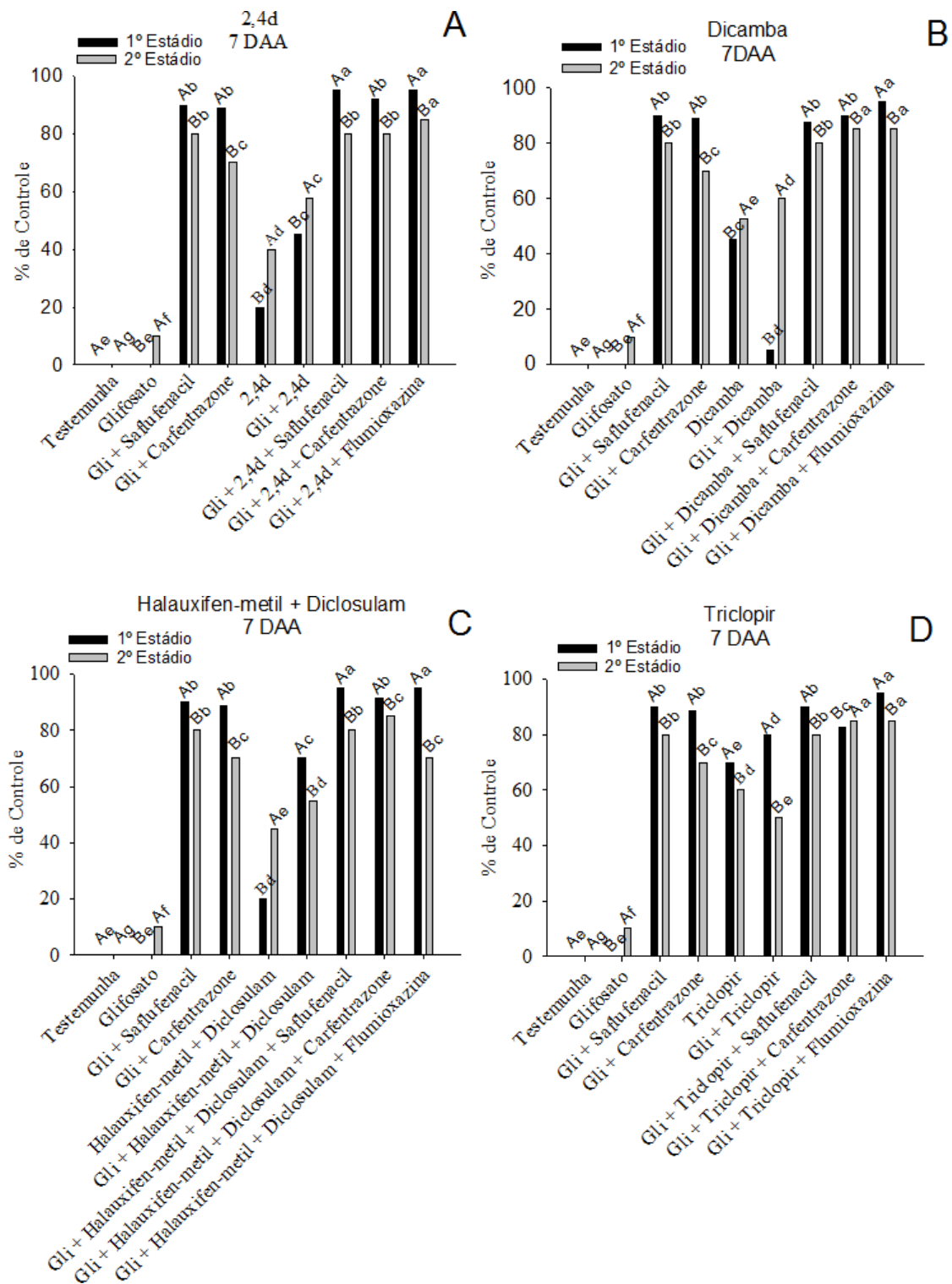


Figura 3: Sintoma visual aos 7 dias após a aplicação (DAA) em plantas de *Euphorbia hirta*, nos estádios jovens (1ª estágio) e adultas (2º estágio) submetidas aos tratamentos com herbicidas pós emergentes, representados pelos gráficos A, B, C e D. Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de SK a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021

Quando comparado nos tratamentos o efeito dos herbicidas entre si, aos 7 dias após aplicação, os tratamentos que possuem herbicidas mimetizadores de auxina (2,4d, dicamba, halauxifen-methyl + diclosulam, triclopyr) de forma isolada, apresentaram taxas de controle entre 41 a 60%, (Figura 1 A, B, C, e D). Quando os herbicidas auxínicos foram misturados aos herbicidas glifosato e inibidores da enzima PROTOX (saflufenacil, carfentrazone e flumioxazina), as taxas de controle foram maiores, entre 70 e 85%.

Os resultados obtidos nessa pesquisa se assemelham aos obtidos por OSIPE et al. (2016), onde trabalhando com a aplicação de 2,4d e dicamba associado ou não com glifosato, para o controle de *Commelina benghalensis*, *Richardia brasiliensis*, *Conyza* sp.

e *Ipomea nil.*, observaram que a associação de glifosato aos herbicidas auxínicos contribuiu para a redução da diferença de controle entre as espécies quando os mesmos são aplicados de formas isoladas. Isto pode ser resultado de efeito aditivo ou sinérgico entre as moléculas, mostrando também que quando se compara doses equivalentes de 2,4d e dicamba as espécies infestantes podem apresentar efeito diferenciado de controle.

Na aplicação associada de herbicidas, o sinergismo consiste na soma de efeitos que ampliam o espectro de controle de plantas daninhas sem que ocorra fitotoxicidade sobre a cultura (KRUSE, 2002). A aditividade resultante da aplicação associada de herbicidas produz efeitos de seletividade (para a cultura) e controle (das plantas daninhas) semelhantes quando comparados aos efeitos desses herbicidas aplicados em isolado (KRUSE, 2002).

Aos 7 DAA, os tratamentos contendo os herbicidas auxínicos (halauxifen-methyl + diclosulam, 2,4d e dicamba) apresentaram comportamentos semelhantes quanto ao controle da espécie *E. hirta* (Figura 1A, 1B, 1C e 1D). O tratamento contendo o herbicida auxínico triclopir isolado ou associado ao herbicida glifosato apresentou maiores taxas de controle quando comparado aos demais herbicidas auxínicos (Figura 1D).

Em condições de campo são relatados resultados satisfatórios no controle de *Spermacoce* sp. com aplicações de herbicidas que atuam na enzima PROTOX, a exemplo do flumioxazin, saflufenacil e carfentrazone (LIMA et al, 2019). A mistura de herbicidas de contato que atuam na enzima PROTOX combinados com o herbicida sistêmico glifosato que age na EPSPS têm apresentado elevado controle da espécie (LIMA et al, 2019).

O efeito supressor da espécie *E. hirta* nos tratamentos em que foram realizados a associação do herbicida glifosato com os herbicidas de contato (saflufenacil, carfentrazone e flumioxazina) é explicado, pelas propriedades dos herbicidas de contato que chegam de forma mais rápida até o sítio alvo na planta e ainda previne o rebrote das plantas (DALAZEN et al., 2015). AGOSTINETO et al. (2016) constataram ação parecida de carfentrazone e saflufenacil devido à similaridade no mecanismo de ação e demonstraram que a mistura desses herbicidas com glifosato proporciona aumento na eficácia de controle de *Ipomoea hederifolia*.

Quando aplicados isolados, os herbicidas auxínicos (2,4d, dicamba e halauxifen-metil + diclosulam) apresentaram menores taxas de controle aos 7 dias após aplicação (Figura 1). Este resultado pode ser explicado pelo fato de serem herbicidas sistêmicos e com isso atingem seu sítio de ação de forma mais lenta nas plantas. No entanto, nos tratamentos em que apresentavam a mistura tripla entre os herbicidas auxínicos + glifosato + herbicida de contato (carfentrazone e saflufenacil) as taxas de controle foram maiores (acima de 80%) (Figura 1).

Podemos relacionar também a metabolização dos herbicidas auxínicos com o estágio de desenvolvimento das plantas. A possibilidade seria da redução da velocidade de translocação dos herbicidas auxínicos nas plantas mais novas. DAVIS & LINSKOTT

(1986) relacionaram a suscetibilidade diferencial de espécies de plantas ao 2,4d à variação da taxa de metabolização do herbicida. Já para os tratamentos em que foram aplicados os herbicidas auxínicos associados ao herbicida glifosato, a taxa de controle foram maiores. Este resultado pode ser explicado pelo sinergismo causado pela mistura entre os herbicidas de diferentes mecanismos de ação.

Para os tratamentos em que consistiam a mistura tripla entre os herbicidas auxínicos+glifosato+herbicida de contato (carfentrazone e saflufenacil) aos 7 dias após aplicação, as plantas apresentavam taxas de controle acima de 80%. Estes resultados corroboram com os de BARBIERI et al., 2018 avaliando a aplicação de saflufenacil em mistura ao 2,4d e glifosato em plantas de buva (*Conyza spp.*) comprovou que a mistura tripla promoveu maiores taxas de controle para a espécie.

A associação de herbicidas inibidores da EPSPs com herbicidas de mecanismos de ação alternativos destaca-se como ferramenta eficiente para o controle de plantas daninhas na operação de dessecação em pré-semeadura. Somado a isso, deve-se dar preferência para controle de plantas daninhas em estádios iniciais de desenvolvimento, por se encontrar em período de maior sensibilidade aos herbicidas e com menor capacidade de rebrote (MOREIRA et al., 2010).

Aos 42 dias após a aplicação, os tratamentos com as associações dos herbicidas auxínicos (2,4d, dicamba, halauxifen-methyl + diclosulam ou triclopir), inibidores da enzima protox (saflufenacil, carfentrazone ou flumixazina) e glifosato, apresentaram 100% de controle da espécie *E. hirta*, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos assim como entre os estádios fenológicos avaliados (Figura 2 A, B, C e D).

Com base nos resultados obtidos, é possível afirmar que a associação dos herbicidas auxínicos + herbicidas de contato + glifosato proporcionou alta taxa de controle para a espécie *E. hirta* tolerante ao herbicida glifosato, não sendo observado rebrote das plantas até 42 DAA. E ainda, cabe ressaltar que para a espécie *E. hirta* não há necessidade da mistura de herbicidas auxínicos na associação do herbicida glifosato com herbicidas de contato, visto que em todos os tratamentos onde havia apenas os herbicidas de contato avaliados em mistura com glifosato foi obtido 100% de controle. Porém, em condições de campo, destaca-se a importância dos herbicidas auxínicos para as demais plantas daninhas de folhas largas de difícil controle presentes na área, como por exemplo a trapoeraba, sendo assim a mistura tripla recomendada (MONQUERO et al., 2001; NORSWORTHY e GREY, 2004; MACIEL et al., 2011).

Este resultado é consistente com pesquisas anteriores que observaram aumento na eficácia com combinações em tanque de herbicidas auxínicos com glifosato em comparação com a auxina isolada para controlar espécies de plantas daninhas (BYKER et al. 2013; SPAUNHORST E BRADLEY 2013). Além da combinação aditiva ou sinérgica dessas misturas, uma vantagem adicional da inclusão do glifosato nestas aplicações é o espectro mais amplo de controle das espécies de plantas daninhas.

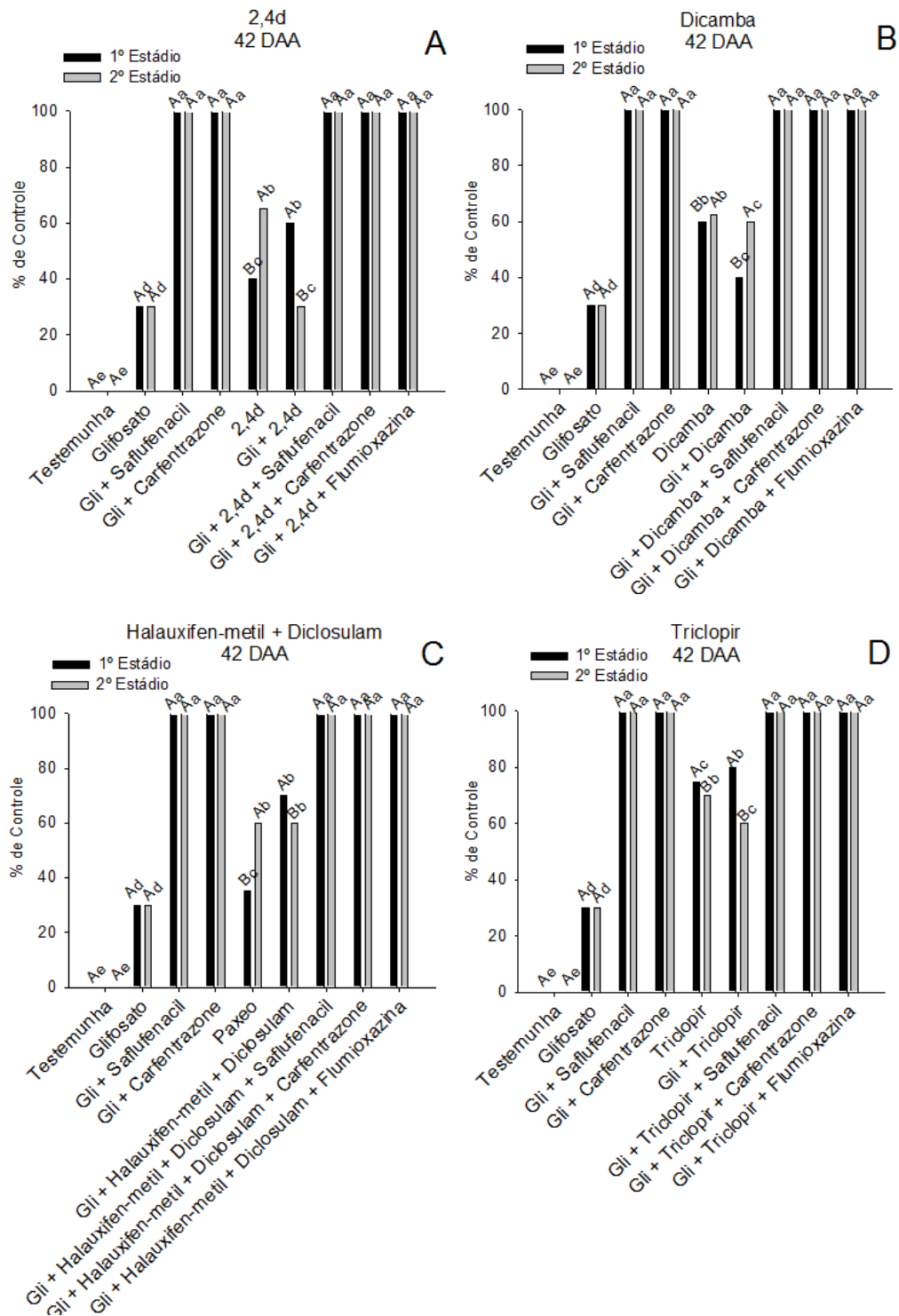


Figura 4: Sintoma visual aos 42 dias após a aplicação (DAA) em plantas de *Euphorbia hirta*, nos estádios jovens (1ª Estádio) e adultos (2º Estádio) submetidas aos tratamentos com herbicidas pós emergentes, representados pelos gráficos A, B, C e D. Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de SK a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Assim como a dessecação pré-semeadura, o manejo de plantas daninhas em pós-emergência é uma ferramenta que assegura a produtividade da soja contra os danos ocasionados pela competição com as plantas daninhas. Devido a isto, foram avaliados nesta pesquisa os herbicidas sistêmicos, cloransulam e clorimuron, amplamente utilizados para o controle de folhas largas em pós-emergência da cultura da soja.

A eficiência de controle do herbicida glifosato aplicado de forma isolada, não foi suficiente para o controle da espécie avaliada, porém, quando adicionado os herbicidas clorimuron ou cloransulam, as plantas apresentaram taxas de controle superiores a 80% aos 7 DAA (Figura 3A e 3B). Quando avaliadas aos 42 DAA, as plantas apresentaram 100% de controle para estes herbicidas, comparado a testemunha, independente do estágio fenológico das plantas (Figura 3C e 3D).

Outras pesquisas demonstraram que a associação de glifosato + clorimuron proporcionou um excelente nível de controle da buva em plantas em estágio de 4-6 folhas (BRESSANIN et al., 2014)

O clorimuron-etílico é um herbicida sistêmico do grupo químico das sulfoniluréias amplamente utilizados para o controle de plantas daninhas de folhas largas e gramíneas anuais em pré e pós-emergência (ACEBAL et al., 2014). Estes herbicidas atuam inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS), bloqueando a síntese dos aminoácidos de cadeia ramificada, causando distúrbios na divisão celular (FLORES; CÓRDOVA; DÍAZ, 2009).

Entre as alternativas para incrementar a eficiência no controle de espécies que apresentam certa tolerância ao glifosato, especialmente em áreas com altas infestações, destaca-se o herbicida cloransulam que, além de complementar a eficiência do glifosato, também apresenta relativa atividade residual no solo (VALENTE E CAVAZZANA, 2000; CARVALHO et al., 2003; ROMAN, 2002).

RAMIRES et al., 2010 ao estudarem o controle de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia* com a utilização de glifosato isolado ou em associação com outros herbicidas pós emergente (cloransulam e clorimuron) na cultura da soja RR[®], verificaram aumentos na eficácia de controle em relação ao glifosato aplicado isoladamente.

Desta forma, com base nos resultados desta pesquisa, controle satisfatório de plantas da espécie *E. hirta* em lavouras de soja podem ser obtidos através da mistura do herbicida glifosato associado aos herbicidas pós-emergentes cloransulam ou clorimuron.

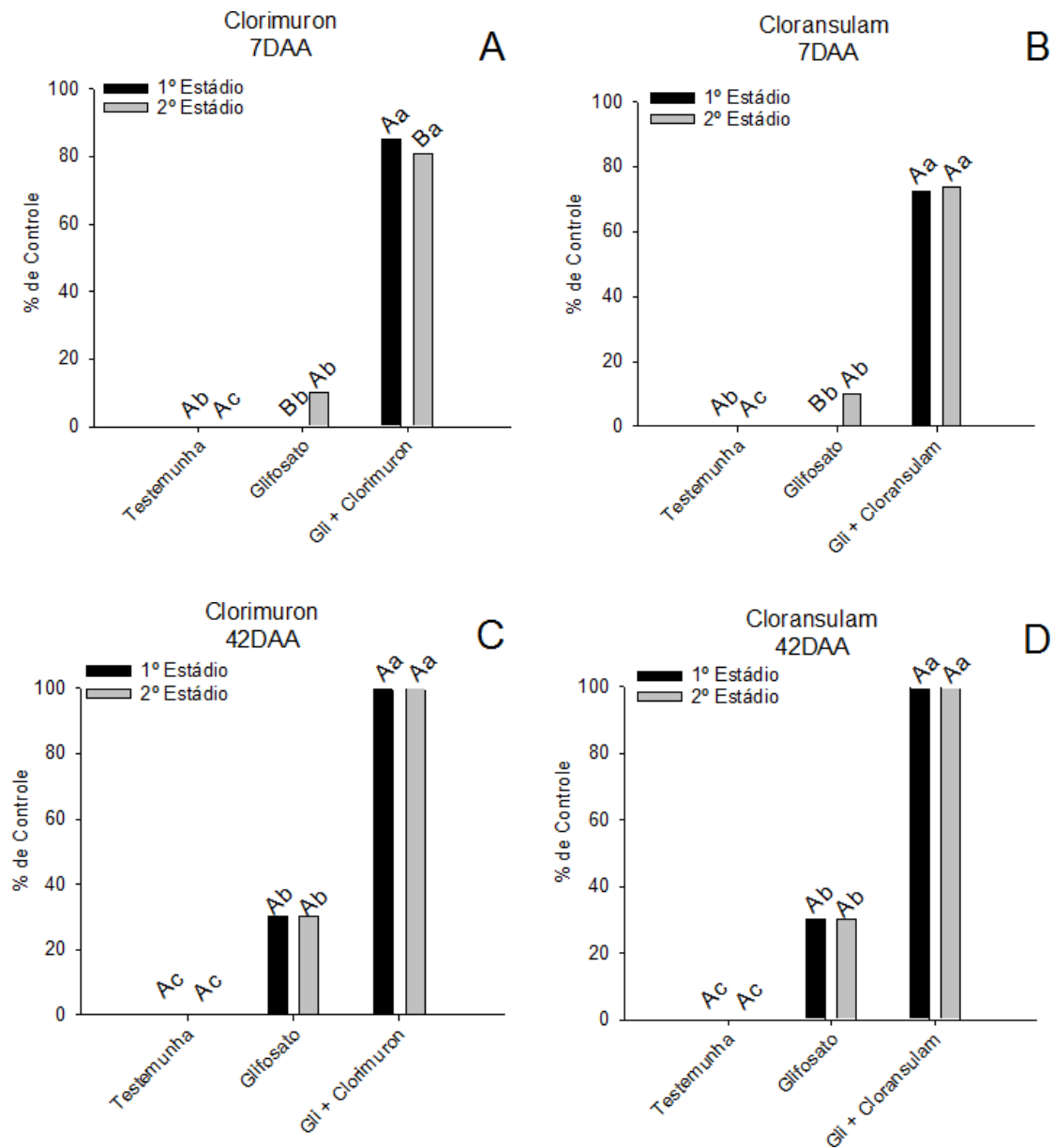


Figura 5: Sintoma visual aos 7 dias após aplicação, representado pelos gráficos A e B e 42 dias após a aplicação, representados pelos gráficos C e D em plantas de *Euphorbia hirta*, nos estádios jovens (1ª Estádio) e adultos (2º Estádio) submetidas aos tratamentos com herbicidas pós emergentes. Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de SK a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Os resultados da avaliação de controle para os tratamentos em que consistiam os herbicidas de contato inibidores da enzima PROTOX, estão apresentados na Figura 4. Aos 7 e 42 dias após aplicação, podemos observar que quando comparadas entre os estádios fenológicos as plantas do primeiro estágio apresentaram maiores taxas de controle para os tratamentos avaliados (Figura 4A e B). Trabalhos comprovam a maior suscetibilidade de diversas plantas a herbicidas quando estas se encontram em fases iniciais de desenvolvimento (COMES; KELLEY, 1989; SILVA; MARTINS, 2004; RUAS et al., 2005), sendo este fato atribuído, principalmente, a menor espessura da cutícula e de cerosidade nas folhas nesses estádios.

Quando comparados os efeitos dos herbicidas, observa-se que aos 7 dias após aplicação, os tratamentos com os herbicidas saflufenacil e carfentrazone apresentaram maiores porcentagens de controle, porém, maiores diferenças significativas quanto a eficiência entre os estádios (Figura 4A). Já aos 42 dias após aplicação, os tratamentos em que apresentavam as associações dos herbicidas de contato saflufenacil e carfentrazone com o herbicida flumioxazina e o herbicida glifosato, as plantas apresentam 100% de controle, não havendo diferenças significativas entre os estádios e também entre os tratamentos para os respectivos herbicidas quando comparados a testemunha (Figura 4B).

Estes resultados são semelhantes ao de LIMA et al., 2019 em que avaliaram os tratamentos glifosato + flumioxazina e glifosato + saflufenacil apresentaram controle satisfatório (acima de 96,00%) de *Spermacoce densiflora*. E ainda, para as aplicações nas plantas com estádios mais avançados, os respectivos tratamentos mantiveram elevado controle (acima de 88,00%).

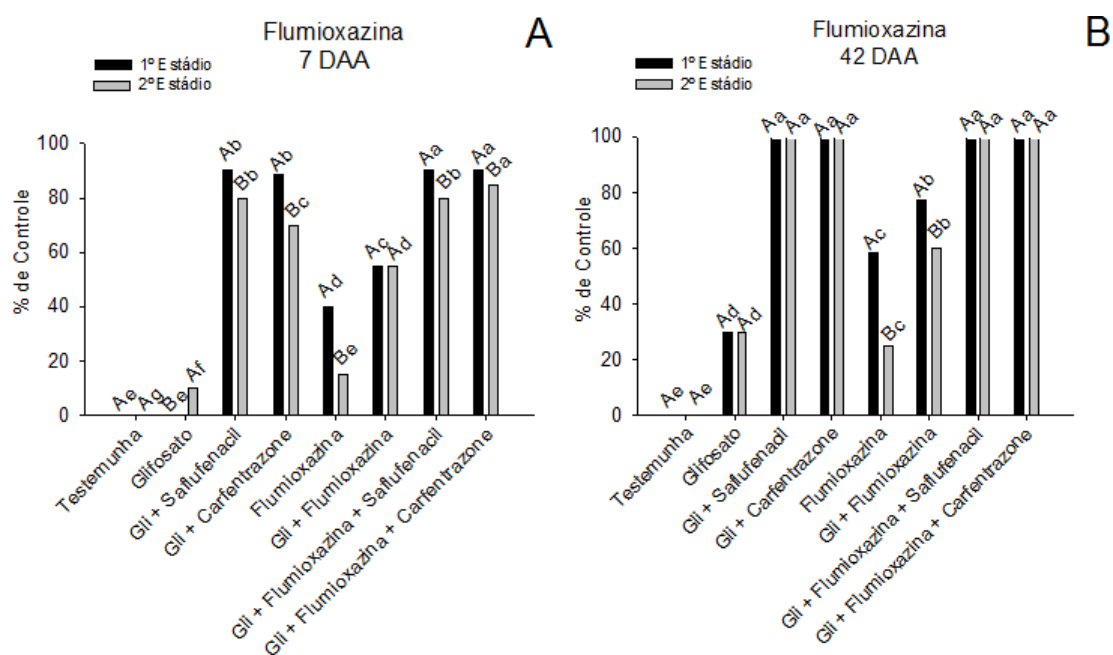


Figura 6: Sintoma visual aos 7 dias após aplicação, representado pelo gráfico A e 42 dias após a aplicação, representado pelo gráfico B em plantas de *Euphorbia hirta*, nos estádios jovens (1ª Estádio) e adultos (2º Estádio) submetidas aos tratamentos com herbicidas pós emergentes. Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de SK a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021

Como alternativa de manejo para o controle de plantas daninhas tolerantes ao herbicida glifosato, pode ser recomendado a rotação de herbicidas de diferentes mecanismos de ação. Dentre os herbicidas mais eficazes, destacam-se os inibidores da enzima protoporfirinogênio IX oxidase, como o carfentrazone e o saflufenacil em dicotiledôneas (LORENZI 2014). A mistura de herbicida pode ser interessante e proporcionar melhor controle de plantas daninhas tolerantes ao herbicida glifosato, conforme observado por CORRÊA & BORGES (2000), OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2000, WERLANG & SILVA (2002), RAMIRES et al., 2010, CONSTANTIN et al., (2011) e PICCININI et al., 2012. GALON et al., 2019 verificaram que em pós-emergência, o herbicida flumioxazina em aplicações isoladas ou associado ao herbicida glifosato controlou as espécies *Brunfelsia latifolia* e *Richardia brasiliensis*, o que corrobora com os resultados do presente trabalho.

Observando os dados de massa seca da parte aérea (Figura 7A) coletada aos 42 DAA, apenas as plantas dos tratamentos com os herbicidas isolados, glifosato, dicamba, 2,4d, halauxifen-methyl + diclosulam, triclopir e flumioxazina apresentaram massa seca da parte aérea no primeiro e no segundo estágio, visto que os demais tratamentos avaliados controlaram 100% a espécie.

Devido ao estágio de desenvolvimento avançado das plantas, as plantas do segundo estágio apresentaram elevado teor de massa seca quando comparado aos tratamentos do primeiro estágio. Além disso, as plantas dos tratamentos dicamba, triclopir e flumioxazina, no segundo estágio avaliado, apresentaram alta taxa de rebrote, não sendo observada diferença significativa quando estes tratamentos foram comparados com a testemunha.

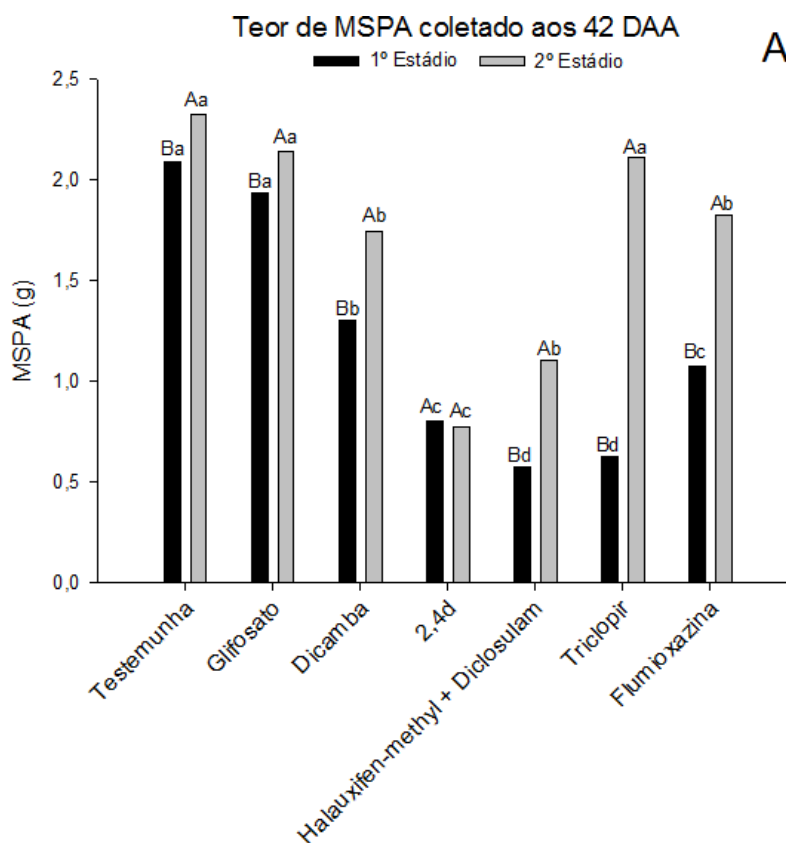


Figura 7: Massa seca de parte aérea (MSPA), em gramas, das plantas de *Euphorbia hirta* após a coleta, aos 42DAA do experimento com herbicidas pós emergentes, no estágio fenológico jovem (1º estágio) e no estágio fenológico adulta (2º estágio). Médias com letras maiúsculas para comparação entre os estádios e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica, 2021.

Os resultados relacionados a concentração de peróxido de hidrogênio serão apresentados a seguir. Podemos observar que em 24 e 48 horas após a aplicação (HAA) o tratamento em que foi aplicado a mistura dos herbicidas glifosato + flumioxazina + carfentrazone apresentou maiores concentrações de H_2O_2 nas folhas da espécie *E. hirta* (Figura 8A) quando comparados a testemunha, desta forma apresentando diferença significativa. Estes dados corroboram com o observado na avaliação de controle visual, onde as plantas deste tratamento apresentaram 85% de controle aos 7 dias após aplicação, apresentando sintomas de desidratação e necrose do tecido vegetal (Figura 6A).

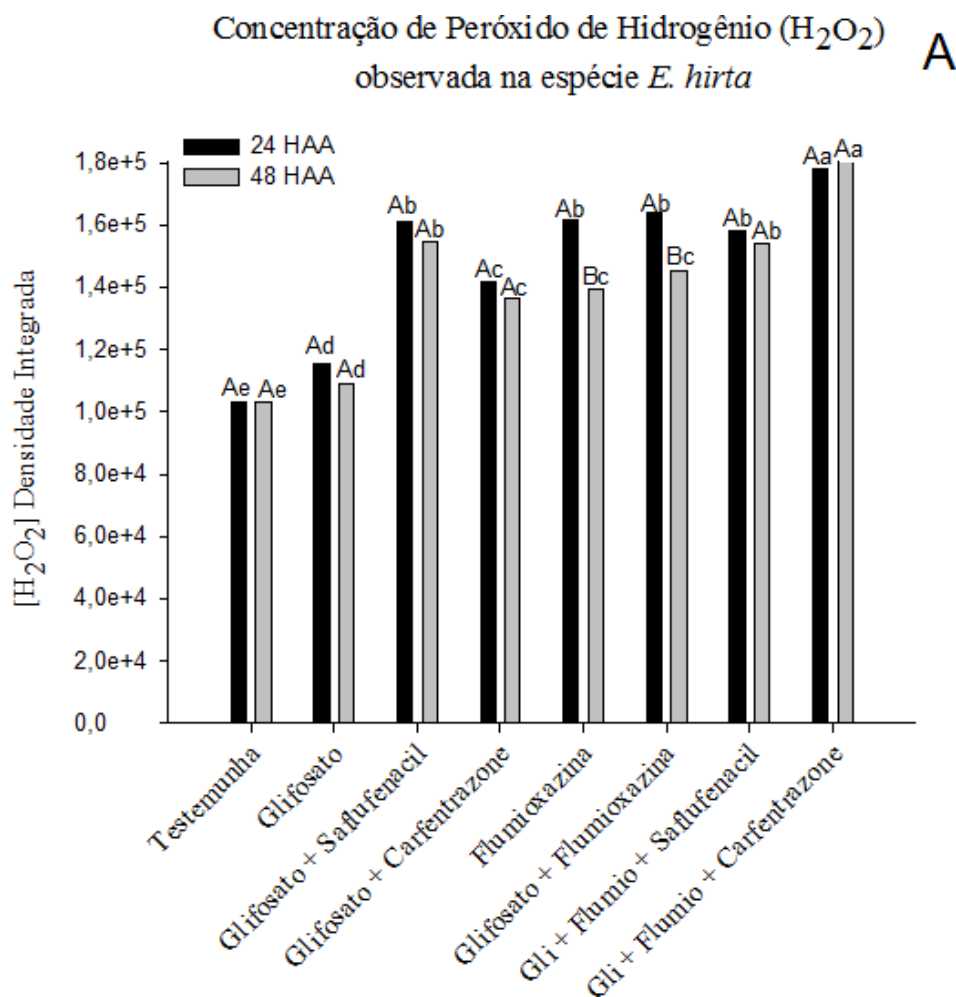


Figura 8: Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) observada na espécie *E. hirta*, através da densidade integrada onde foi calculada pela diferença entre a intensidade da cor nos discos das folhas tratadas e plantas de controle. Após aplicação de herbicidas pós emergentes inibidores da enzima protox em mistura ao herbicida glifosato avaliados as 24 e 48 horas após aplicação (HAA). Médias com letras maiúsculas para comparação entre HAA e minúsculas para comparação entre os tratamentos diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. UFRRJ, Seropédica, 2021.

Duas evidências estão sedimentadas em relação ao efeito dos herbicidas inibidores de PROTOX na peroxidação de lipídios (HESS, 2000). A primeira relaciona-se à produção de gases hidrocarbonetos de cadeia curta (por exemplo etano) e a segunda é a presença de precursores de malondialdeído (MDA) (HESS, 2000). Ambos os compostos, resultantes da ação do herbicida, são conhecidos como resultado da degradação de membranas celulares. Esses indicadores podem ser utilizados para previsão dos efeitos

dos herbicidas inibidores de PROTOX, mesmo antes da sintomatologia visual ser evidenciada e pode ser objeto de estudos futuros (TAKANO et al., 2019).

Dentre os herbicidas utilizados para o controle de plantas daninhas, podemos destacar aqueles que interferem na biossíntese de clorofila, como os herbicidas inibidores da enzima PROTOX, resultando em perda deste pigmento, e nos cloroplastos, alterando-os funcionalmente (FAYEZ, 2000). Esses compostos, além de interferirem na síntese de clorofila, também podem afetar a formação de outros pigmentos, como xantofilas (VÁRADI et al., 2000) e carotenóides (KIM et al., 2004), causando interferência no fluxo de elétrons (WAKABAYASHI & BÖGER, 2004) e redução na produção de ATP por inibição da atividade da ATP-sintase no processo de fotofosforilação (WAKABAYASHI & BÖGER, 1995).

Desta forma, a utilização dos herbicidas de contato que são inibidores da enzima PROTOX, é uma alternativa de manejo eficiente para o controle da espécie *E. hirta* tolerante ao herbicida glifosato. As altas concentrações de peróxido de hidrogênio observadas nas plantas nos tratamentos em que apresentavam estes herbicidas isolados e nos tratamentos em mistura ao glifosato, demonstram que a espécie não metaboliza as moléculas dos herbicidas de contato garantindo a eficiência de controle. E ainda, pelo fato dos sintomas serem apresentados em poucas horas após aplicação para a espécie *E. hirta*, torna-se uma medida de manejo eficaz para o controle desta espécie pois as plantas não suportaram o estresse ocasionado pelos herbicidas de contato saflufenacil e carfentrazone horas após a aplicação.

Fluorescência da clorofila *a*

A seguir os resultados obtidos para a variável fluorescência transiente da clorofila *a* para as plantas de *E. hirta*, no primeiro e no segundo estágio avaliado aos 2 dias após aplicação (DAA). No primeiro estágio (Figura 9A, 9B, 9C, 9D e 9E) nota-se maiores perdas da energia dissipada na forma de calor para os tratamentos em que consistiam a mistura tripla dos herbicidas auxínicos + glifosato + herbicida de contato (carfentrazone e saflufenacil), quando comparadas com as plantas do segundo estágio (Figura 10A, 10B, 10C, 10D e 10E). No segundo estágio podemos observar altas perdas no índice de desempenho fotossintético especialmente nos tratamentos em que consistiam a mistura tripla dos herbicidas flumioxazina + glifosato + herbicidas auxínicos (Figura 10E).

Aos dois dias após aplicação do herbicida glifosato causou aumento na dissipação de energia na forma de calor (DI_0/RC), como consequência, ocorreu decréscimo no desempenho fotossintético (PI_{Total}) (Figura 7A) nas plantas da espécie *E. hirta*. Os herbicidas 2,4d, triclopir, dicamba, halauxifen-methyl + diclosulam e flumioxazin, quando aplicados de forma isolada, apresentaram resultados semelhantes para os parâmetros de fluorescência, causando alterações do desempenho fotossintético (PI_{total}), da medida do complexo antena (ABS/RC) e das taxas de dissipação total de energia na forma de calor (DI_0/RC) das plantas da espécie *E. hirta*. Para o herbicida triclopir foi possível observar um dano mais severo nas plantas aplicadas nos estádios fenológicos iniciais, o que pode ser observado pela maior elevação do parâmetro DI_0/RC e de maiores taxas de energia capturada pelo centro de reação, resultando em uma redução da plastoquinona, representado pelo parâmetro TR_0/RC (Figura 9D). Corroborando com os dados obtidos para o controle, onde este herbicida também apresentou um controle mais elevado na primeira avaliação em comparação as demais auxinas. Para os herbicidas auxínicos em mistura com o herbicida glifosato não foram observados danos mais severos nos parâmetros de fluorescência avaliados, quando comparadas as aplicações isoladas dos herbicidas.

Já para as misturas que apresentavam os herbicidas de contato saflufenacil e carfentrazone foi possível observar completa desorganização no sistema fotossintético das plantas, onde foi observada drástica elevação nos parâmetros: ABS/RC , DI_0/RC e ϕD_0 , associado com redução do rendimento quântico de transporte de elétrons da plastoquinona A(QA^-), representada pelo parâmetro ϕE_0 , redução do rendimento de transporte de elétrons para o aceptor final de elétrons do fotossistema I (FSI), representada pelo parâmetro ϕR_0 . Que ocasionaram praticamente decréscimo total dos índices de performance fotossintético das plantas (Figura 9A, 9B, 9C, 9D e 9E).

De modo geral, o aumento em DI/RC , pode estar relacionado a uma resposta das plantas para evitar que o excesso de energia acumulada no centro de reação não cause a formação de espécies reativas de oxigênio (SZABÓ et al., 2005). O aumento de DI/RC pode estar atrelado ao aumento no tamanho aparente do complexo antena (ABS/RC) e do fluxo de energia capturada (TR_0/RC), o que indica elevação de energia capturada pelo centro de reação (RC) (CASTRO et al., 2011).

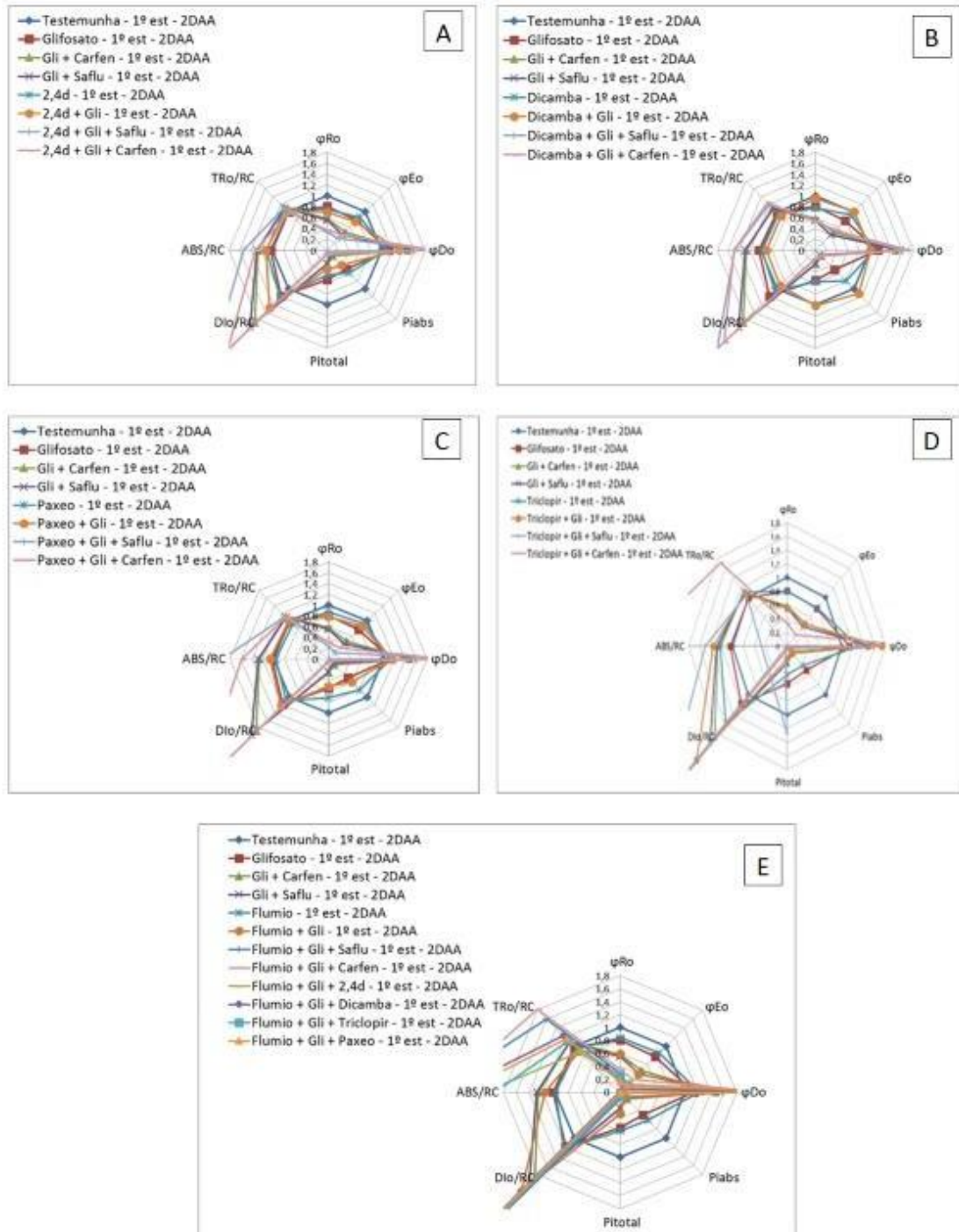


Figura 9: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 2 dias após aplicação, no estágio fenológico jovem (1º est), representados pelos gráficos A, B, C, D e E. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

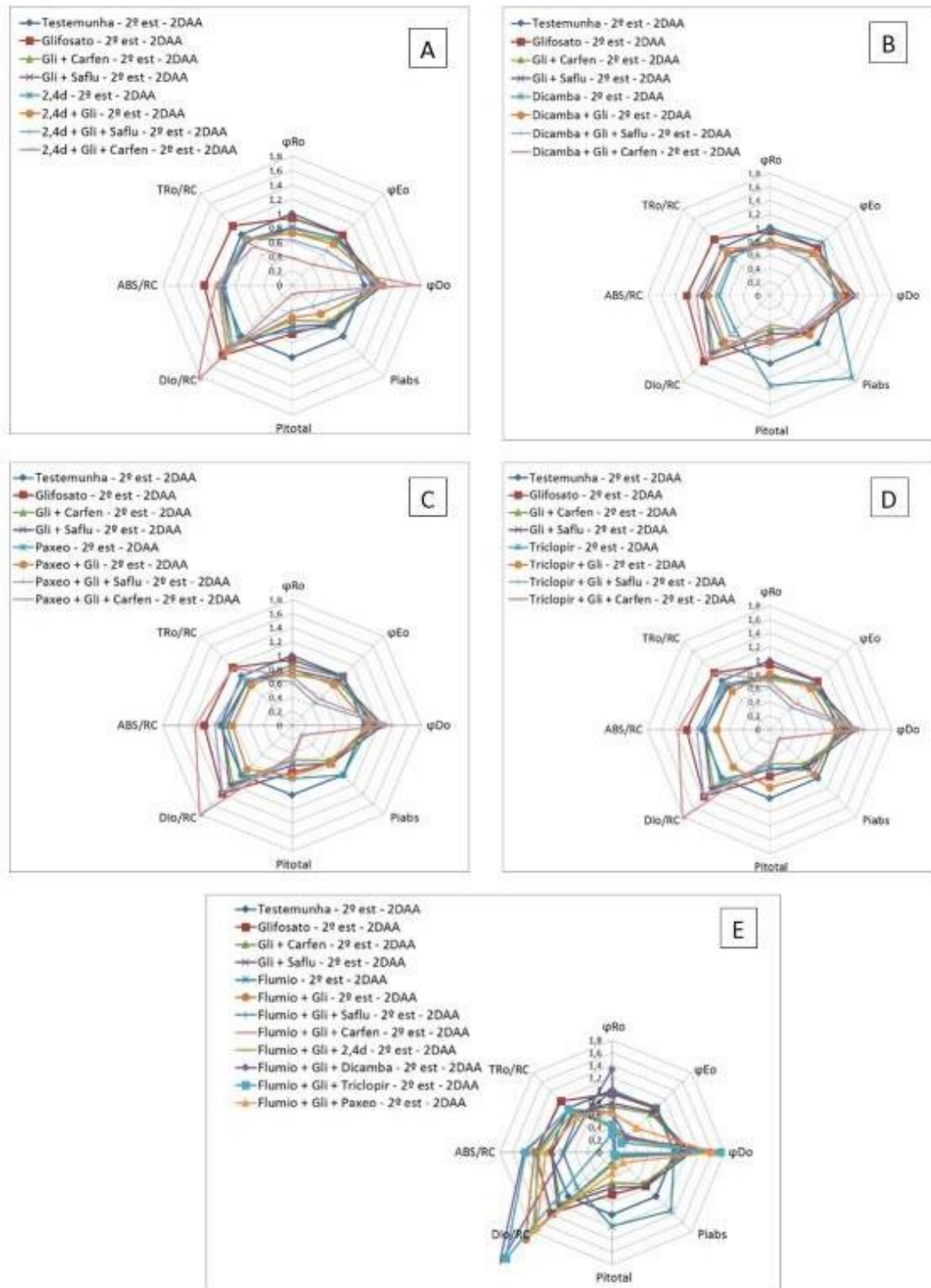


Figura 10: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 2 dias após aplicação, no estágio fenológico adulta (2º est), representados pelos gráficos A, B, C, D e E. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Aos 7 DAA, nos dois estádios fenológicos avaliados, para os tratamentos com as misturas triplas entre dos herbicidas auxínicos, glifosato e os herbicidas inibidores da enzima PROTOX (saflufenacil e carfentrazone) os sintomas de necrose dos tecidos das plantas já eram intensos (superior a 80%), conseqüentemente as plantas não estavam mais realizando o processo da fotossíntese inviabilizando a avaliação de fluorescência da clorofila *a*.

Os danos foram mais severos nas plantas aos 7 DAA em relação aos 2DAA, nos tratamentos em que consistiam os herbicidas auxínicos. Este resultado pode ser explicado pelo fato dos herbicidas auxínicos atingirem o sítio alvo na planta de forma mais lenta. Após a absorção, os herbicidas necessitam atingir os locais de ação para exercer sua atividade. O caminho a ser percorrido pode ser pequeno para herbicidas de contato, ou longo para herbicidas sistêmicos que são translocados pelo apoplasto e simplasto (VIDAL, 2002). A translocação representa um processo essencial para a eficácia do herbicida (WANAMARTA; PENNER, 1989).

Para os tratamentos em que consistiam os herbicidas auxínicos e o herbicida flumioxazina isolados as plantas apresentaram aumento na dissipação de energia na forma de calor (DI_0/RC), como consequência, ocorreu decréscimo no desempenho fotossintético (PI_{Total}), nos dois estádios fenológicos avaliados (Figuras 11A, 11B, 11C, 11D, 11E e 12A, 12B, 12C, 12D e 12E). Para os tratamentos em que consistiam esses herbicidas, com exceção ao herbicida dicamba, em mistura com o glifosato, as plantas apresentaram os mesmos parâmetros avaliados nos herbicidas isolados, porém de forma mais acentuada. Esse resultado pode confirmar o efeito sinérgico causado pela associação dos herbicidas de diferentes mecanismos de ação. Em relação ao herbicida dicamba, pode ter ocorrido o efeito antagônico. Entretanto, pesquisas podem ser mais desenvolvidas relacionadas ao manejo com o herbicida dicamba.

Estudos apontam que os herbicidas mimetizadores de auxinas, quando aplicados em mistura com o glifosato, podem reduzir a taxa limiar de fitotoxicidade do glifosato (antagonismo), no entanto o aumento das taxas de glifosato, acima do nível limite, superam o antagonismo (SOARES et al., 2012; O'SULLIVAN & O'DONOVAN, 1980).

Os herbicidas auxínicos em mistura ao herbicida glifosato são muito utilizados em dessecação de áreas, principalmente quando há espécies de difícil controle como erva-quente (*Spermacoce latifolia*), trapoeraba (*Commelina benghalensis*), poaia (*Richardia brasiliensis*), leiteiro (*Euphorbia heterophylla*), corda-de-viola (*Ipomea grandifolia*) e buva (*Conyza spp.*) (TAKANO et al., 2013).

O alvo primário de herbicidas inibidores da PROTOX é a forma cloroplasmática da protoporfirinogênio oxidase (PROTOX) que catalisa a conversão de protoporfirinogênio a protoporfirina (DUKE; DAYAN, 2011).

Esta enzima é inibida por um grande número de classes de herbicidas, como, difenil éteres, oxadiazoles, triazolinonas e ftalimidas. Este mecanismo de ação envolve o acúmulo não regulado da protoporfirina, pigmento altamente fotodinâmico que induz a rápida peroxidação das membranas após a exposição à luz (DAYAN; ZACCARO, 2012). Normalmente os sintomas causados por estes herbicidas são observados nos primeiros 3 dias após aplicação. As injúrias observadas nas plantas tratadas com os herbicidas de contato saflufenacil e carfentrazone não são devidas a uma inibição direta da fotossíntese, mas sim à destruição do aparelho fotossintético associada com a peroxidação rápida das membranas celulares (DAYAN; DUKE, 1997).

A fotossíntese é um dos processos de maior importância para as plantas, e um considerável número de moléculas de herbicidas interfere em seu metabolismo de maneira direta ou indireta (por exemplo, os inibidores da acetolactato sintase (SOUSA et al., 2012; EULLAFFROY et al., 2009). Os dois principais alvos dos herbicidas inibidores

da fotossíntese são a interrupção do fluxo de elétrons, através da competição pelo sítio de ligação de QB no FSII; e o desvio de elétrons no FSI, através da captura dos elétrons à partir da ferredoxina (DAYAN; ZACCARO, 2012). Entretanto, diversas moléculas de outros mecanismos de ação, podem interferir indiretamente no metabolismo fotossintético das plantas, como observado nesta pesquisa.

A análise da fluorescência da clorofila *a* vem sendo largamente utilizada no entendimento dos mecanismos da fotossíntese propriamente dito, bem como na avaliação da capacidade fotossintética alterada por estresses bióticos ou abióticos pelos quais as plantas possam passar, como temperatura (OLIVEIRA et al., 2002), radiação (MAZZA et al., 2000), deficiência hídrica (RODEN & BALL, 1996), salinidade (BELKHODJA et al., 1994), presença de insetos (BOWN et al., 2002) ou fungos (PETERSON & AYLOR, 1995), herbicidas (IRELAND et al., 1986) etc.

Uma das vantagens do uso deste método é o fato da medição não ser destrutiva, sendo possível realizar tanto em laboratório quanto em campo. Vários estudos avaliaram a relação da fluorescência das clorofilas com a fotossíntese e o estado fisiológico das plantas (LICHTENTHALER, 1992; FRANKART et al., 2003; YUSUF et al., 2010).

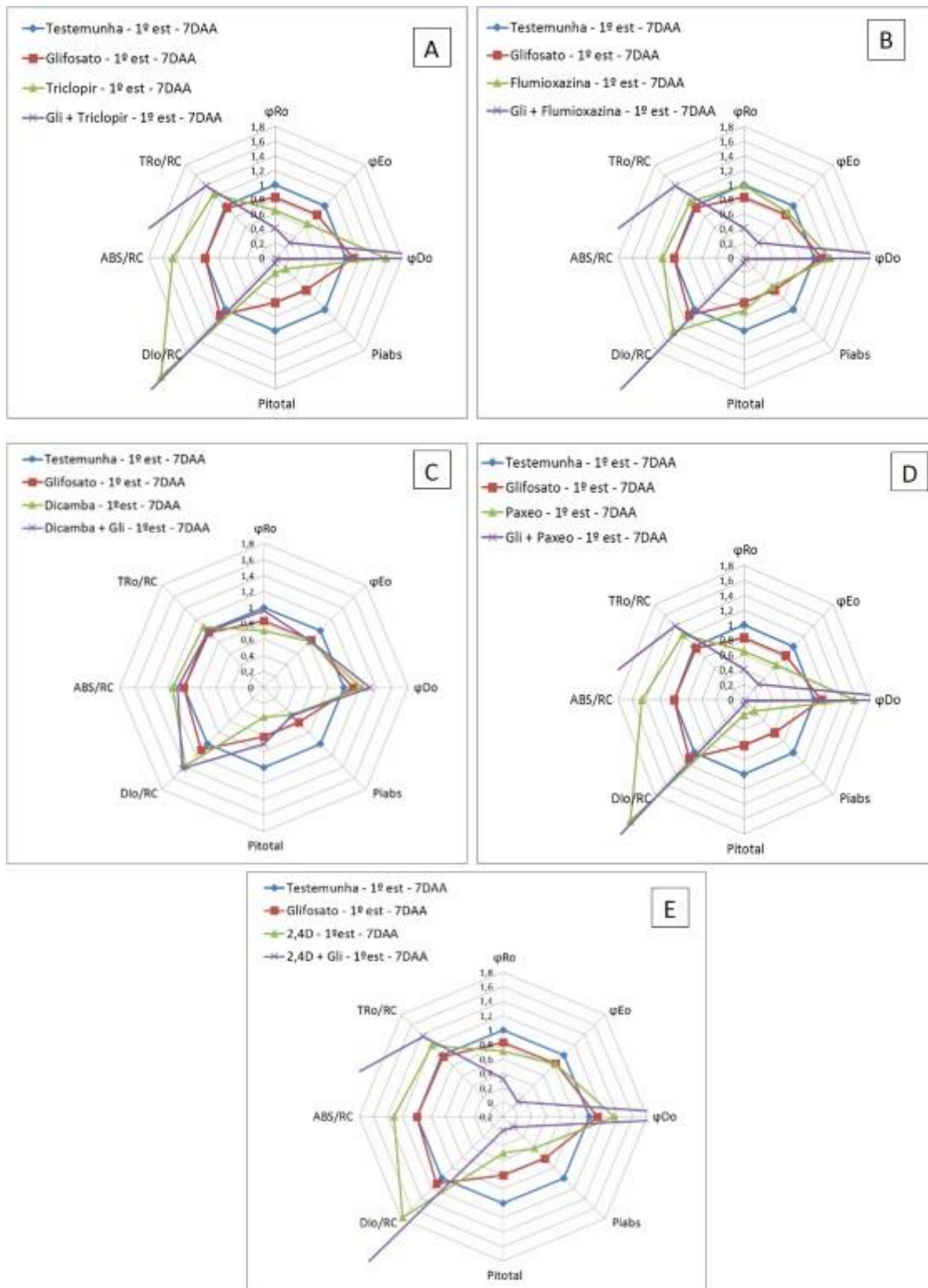


Figura 11: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 7 dias após aplicação, no estágio fenológico jovem (1º est), representados pelos gráficos A, B, C, D e E. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

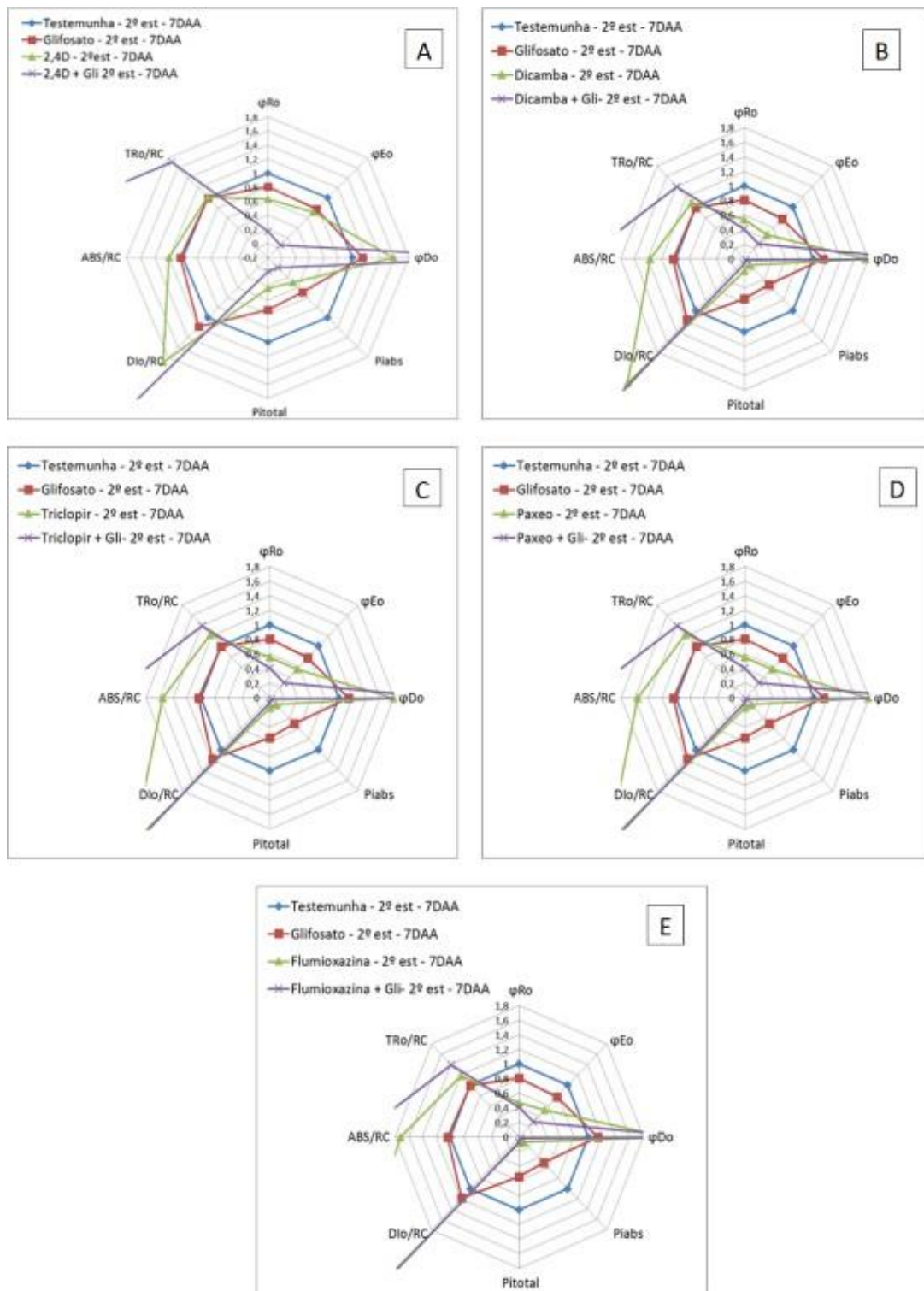


Figura 12: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 7 dias após aplicação, no estágio fenológico adulta (2º est), representados pelos gráficos A, B, C, D e E. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

A seguir serão apresentados os resultados de fluorescência da clorofila *a* para a mistura dos herbicidas glifosato + clorimuron e glifosato + cloransulam avaliados nos estádios fenológicos jovem e adulta da espécie *E. hirta* (Figura 13A, 13B, 13C e 13D). Aos 2 dias após aplicação, para as plantas avaliadas nos estádios jovens e adultas relacionadas aos tratamentos em que foram aplicados os herbicidas clorimuron e cloransulam associados ao herbicida glifosato, apresentaram indícios de estresse fotossintético, com elevações nos parâmetros ABS/RC, DI₀/RC e TR₀/RC e ϕD_0 (Figura 11A e 11B). Esses resultados foram observados para as plantas do segundo estágio que ocorreram de forma mais acentuada quando comparadas com as plantas do primeiro estágio (Figura 11A). O mesmo comportamento observado aos 2DAA (Figura 13A e 13 B) é observado aos 7DAA (Figura 13C e 11D), contudo de forma mais acentuada especialmente nos parâmetros DI₀/RC, e TR₀/RC.

Apesar da enzima ALS não estar diretamente relacionada com a fotossíntese, é a enzima responsável pela catalisação da reação de formação de três importantes aminoácidos nas plantas. A não formação de tais aminoácidos leva a uma interrupção da síntese proteica. O consumo do ATP e NADPH, formados na etapa fotoquímica, está ligado a reações em que a redução do CO₂ a carboidratos é catalisada por diversas enzimas (proteínas) que se encontram no estroma (TAIZ; ZEIGER, 2013). Assim, a interrupção na síntese proteica pode afetar o processo fotossintético, não só as reações de carboxilação, mas também a etapa fotoquímica, que depende do consumo de seus produtos para continuar ocorrendo.

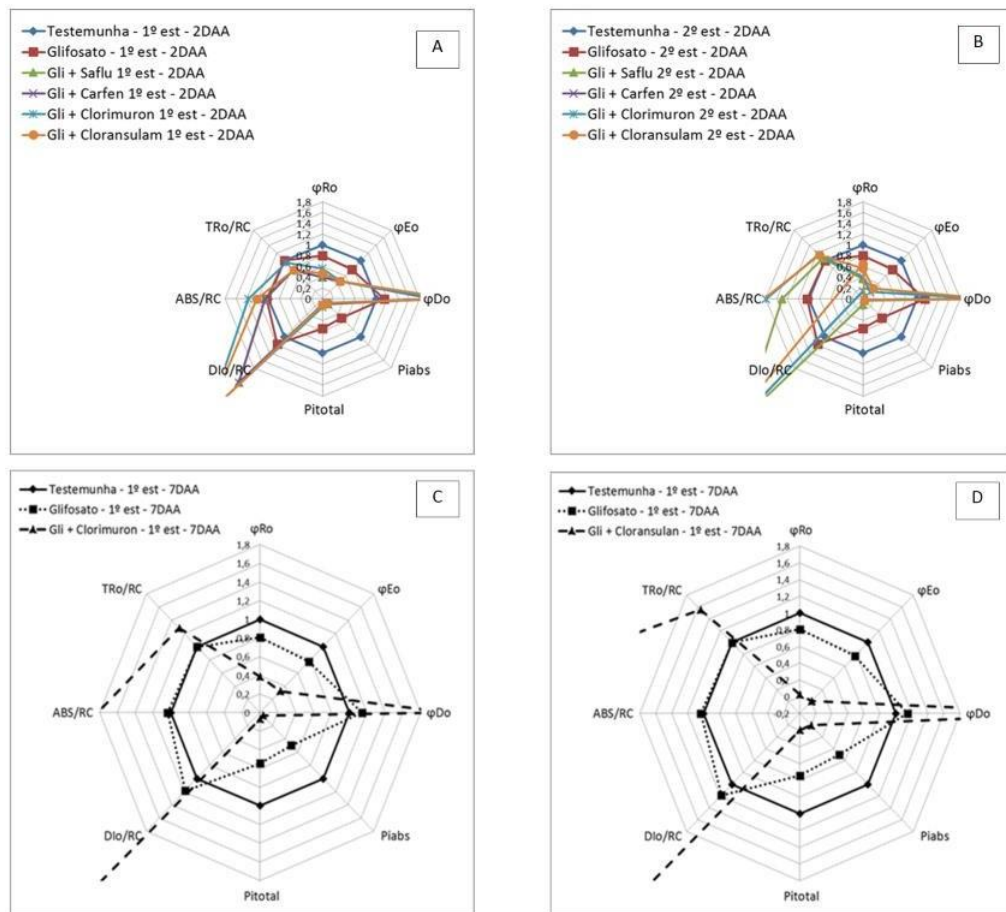


Figura 13: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 2 e 7 dias após aplicação, no estágio fenológico jovem (1º est), representado pelo gráficos A, C e D e no estágio fenológico adulta (2º est), representado pelo gráfico B. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

Aos 42 DAA os tratamentos em que consistiam os herbicidas isolados (glifosato, flumioxazin, 2,4d, dicamba, triclopir e halauxifen-methyl + diclosulam) foram viáveis para leitura da variável fluorescência da clorofila *a* para os dois estádios avaliados na espécie *E. hirta* (Figura 14A e 14B). Nos gráficos, podemos observar que no primeiro estágio as plantas apresentaram decréscimo nos parâmetros PI_{Total} e ϕP_o , pelo fato de ocorrer aumentos na dissipação de energia na forma de calor (DI_o/RC e ϕD_o) (Figura 12A). Esses resultados também foram observados nas plantas avaliadas no segundo estágio, porém de forma mais intensa (Figura 14B).

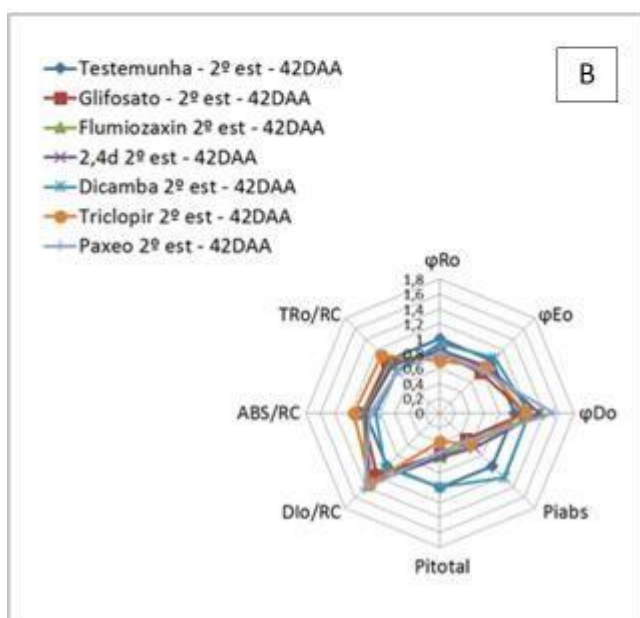
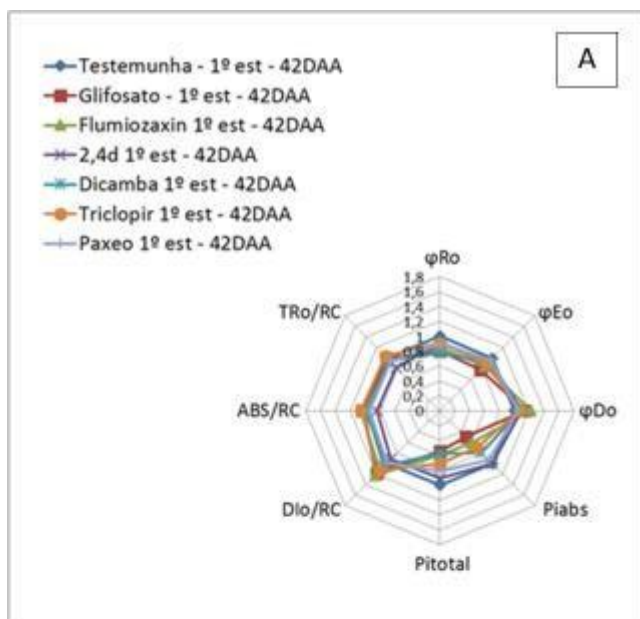


Figura 14: Efeito dos herbicidas pós emergentes sob os parâmetros da fluorescência da clorofila α , em relação ao padrão de comportamento - controle (linha cheia = 1,0), para a espécie de planta daninha *Euphorbia hirta*, aos 42 dias após aplicação, nos estádios fenológicos jovem (1º est) representado pelo gráfico A e adulta (2º est), representado pelo gráfico B. UFRRJ, Seropédica/RJ, 2021.

5. Conclusões

Os herbicidas pré emergentes S-metolocloro, imazetapir + flumioxazina (0,6g), sulfentrazone + diuron, diclosulam, flumioxazina, imazetapir + flumioxazina (0,5g), clomazone e imazetapir são eficazes para o controle da espécie *Euphorbia hirta*. Os herbicidas imazetapir e clomazone possuem efeito residual no solo inferior a 42 dias para o controle da espécie.

Quanto aos herbicidas pós emergentes, a aplicação isolada de glifosato, comprova a tolerância da *E. hirta* para este herbicida. A utilização dos herbicidas de contato saflufenacil, carfentrazone e flumioxazin em mistura com o herbicida glifosato são excelentes alternativas para o controle da espécie *E. hirta*. A associação destes herbicidas aos herbicidas auxínicos 2,4d, triclopir, dicamba e halauxifen-methyl + diclosulam até o estágio fenológico mais avançado de desenvolvimento da espécie, são opções de controle, especialmente em área com infestação mista de outras espécies de plantas de folhas largas de difícil controle. Os herbicidas auxínicos isolados ou somente associados ao herbicida glifosato não garantem o controle da espécie, independente do estágio em que as plantas apresentem. Ainda, os herbicidas auxínicos 2,4d, triclopir, dicamba e halauxifen-methyl + diclosulam associados ou não ao herbicida glifosato, não são eficazes para o controle da *E. hirta*, mesmo em estádios iniciais de desenvolvimento, não devendo ser recomendadas em áreas com infestação desta planta daninha. Os herbicidas cloransulam ou clorimuron, em mistura ao herbicida glifosato, possuem controle eficiente para *E. hirta*, até o estágio mais avançado de desenvolvimento da espécie.

5. Considerações finais

O conhecimento fisiológico aliado aos estudos anatômicos podem ser alternativas viáveis no entendimento de absorção dos herbicidas. A espécie *Euphorbia hirta* possui alta pilosidade nas folhas e caules e também altos teores de antocianina nas células epidérmicas. Considerando os parâmetros morfométricos avaliados entre as folhas jovens e adultas, as folhas jovens apresentam menor espessura na epiderme abaxial. Essas características podem afetar a absorção de herbicidas pelas folhas.

Devido a tendência ao aumento de plantas daninhas tolerantes ao herbicida glifosato torna-se essencial o conhecimento de diferentes formas de controle para essas plantas, como é o caso da espécie estudada *Euphorbia hirta*. Neste sentido, os herbicidas pré emergentes S-metolocloro, imazetapir + flumioxazina, sulfentrazone + diuron, diclosulam, flumioxazina, clomazone e imazetapir são eficazes para o controle da espécie *Euphorbia hirta*.

Quanto ao manejo em pós emergência recomenda-se a utilização dos herbicidas de contato saflufenacil, carfentrazone e flumioxazina em mistura com o herbicida glifosato sendo excelentes alternativas para o controle da espécie *E. hirta*. Os herbicidas cloransulam ou clorimuron, em mistura ao herbicida glifosato, possuem controle eficiente para *E. hirta*, até o estágio mais avançado de desenvolvimento da espécie. A associação destes herbicidas aos herbicidas auxínicos 2,4d, triclopir, dicamba e halauxifen-methyl + diclosulam até o estágio fenológico mais avançado de desenvolvimento da espécie, são opções de controle, especialmente em área com infestação mista de outras folhas largas de difícil controle.

6. Referências Bibliográficas

ACEBAL, C. ET AL. Application of a fully integrated photodegradation-detection flow-batch analysis system with an on-line preconcentration step for the determination of metsulfuron methyl in water samples. *Talanta*, v. 129, p. 233-240, 2014.

AGOSTINETO, M. C.; DE CARVALHO, L. B.; ANSOLIN, H. H.; DE ANDRADE, T. C. G. R.; SCHMIT, R. Sinergismo de misturas de glyphosate e herbicidas inibidores da PROTOX no controle de corda-de-viola. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v. 15, n. 1, p. 8-15, 2016

AHRENS, WH (Ed.). Manual de herbicidas. 7. ed. Champaign: Weed Science Society of America, 1994. 352 p.

AHSAN, N.; LEE, D. G.; LEE, K. W.; ALAM, I.; LEE, S. H.; BAHK, J. D.; LEE, B. H. Glyphosate-induced oxidative stress in Rice leaves revealed by proteomic approach. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 46, n. 12, p. 1062-1070, 2008.

AMARANTE JUNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R.; Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Quím. Nova* vol.25 no.4 São Paulo July 2002

AMORIM, S. D. et al. Caracterização de plantas daninhas em área rotacionada de milho e feijão-caupi em plantio direto. *Scientia Agropecuaria*, Trujillo, v. 9, n. 1, p. 7-15, 2018.

ASKEW, S. D.; SHAW, D. R.; STREET, J. E. Graminicide application timing influences red rice (*Oryza sativa*) control and seed head reduction in soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*, v. 14, n. 1, p. 176-181, 2000.

BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; COSTA, C.G.; ICHASO, C.L.F.; GUIMARÃES, E.F. & LIMA, H.C. 1991. Sistemática de Angiospermas do Brasil. v. II. Viçosa, Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa. 1991.

BEHRENS, M. R.; MUTLU, N.; CHAKRABORTY, S.; DUMITRU, R.; JIANG, W.Z.; VALLEE, B. J.; WEEKS, D. P. Dicamba resistance: enlarging and preserving biotechnology- based weed management strategies. *Science*, 2007, 316, 1185-1188.

BLAINSKI, E; MACIEL, C. D. G. M; ZOBIOLE, L, H, S; RUBIN, R. S; SILVA, A. A. P; KARPINSKI, R, A, K; HELVIG, E. O. Eficiência do cloransulam-metílico no controle em pós-emergência de *Conyza Bonariensis* na cultura da soja RR[®]. *Revista Brasileira de Herbicidas*, v.14, n.3, p.235-242, jul./set.2015

BRESSANIN, FN JAYME NETO, N .; MARTINS, JF; MARTINS, JVF; ALVES, PLCA Controle de biótipos resistentes de *Conyza bonariensis* com glifosato + clorimuron-etílico em função do estágio de desenvolvimento. *Revista Brasileira de Herbicidas*, v.13, n.1, p.68-72, 2014.

BRIGHENTI, A. M. et al. Persistência e fitotoxicidade do herbicida atrazine aplicado na cultura do milho sobre a cultura do girassol em sucessão. *Planta Daninha*, v. 20, n. 2, p. 291-297, 2002.

BRUYNS, P.V., R. J. MAPAYA & T. HEDDERSON. 2006. A new subgeneric classification for Euphorbia (Euphorbiaceae) in Southern Africa based on ITS and psbA-trnH sequence data. *Taxon* 55: 397-420

BUKOVAC MJ, PETRACEK PD, FADER RG, MORSE RD (1990) Sorption of organic compounds by plant cuticles. *Weed Science* 38(3):289-298.

BYKER HP, SOLTANI N, ROBINSON DE, TARDIF FJ, LAWTON MB, SIKKEMA PH (2013) Controle de buva resistente ao glifosato (*Conyza canadensis*) com dicamba aplicado pré-plantio e pós-emergência em soja resistente a dicamba. *Weed Technol* 27: 492 – 496

CARVALHO, F.T. et al. Manejo químico das plantas daninhas *Euphorbia heterophylla* e *Bidens pilosa* em sistema de plantio direto da cultura de soja. *Planta Daninha*, v.21, n.1, p.145-150, 2003.

CASTRO, F. A.; CAMPOSTRINI, E.; TORRES NETTO, A.; VIANA, L. H. Relationship between photochemical efficiency (JIP-Test Parameters) and portable chlorophyll meter readings in papaya plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 23, n. 4, p. 295-304, 2011.

CHRISTOFFOLET, P. J.; OVEREJO, R. F. L.; CARVALHO, J. C. Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas. 2. ed., Campinas: Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas aos Herbicidas, 2004.

CHRISTOFFOLETI, P.J., et. al. Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. *Planta daninha* vol.21 no.3 Viçosa Sept./Dec. 2003.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M. Hora certa. **Revista Cultivar**. 2007. Disponível em: <<http://www.cultivar.inf.br>> Acesso em: 08 de março de 2021.

CONSTANTIN, J. et al. Desempenho de Heat aplicado em dessecação antecedendo a semeadura da cultura do algodoeiro para controle de corda-de-ciola, trapoeraba e leiteiro. In. Congresso Brasileiro de Algodão, 8, 2011, Paraíba. Anais... Campina Grande: Embrapa Algodão, 2011. p.869-874.

CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JÚNIOR, R.S. Misturas de herbicidas contendo glyphosate: situação atual, perspectivas e possibilidades. In.: VELINI, E.D. et al. (Eds.). *Glyphosate*. Botucatu: FEPAF, 2009. p.211-258.

CORRÊA LEA & BORGES A. 2000. Glyphosate + carfentrazone no controle de ervas problemáticas. In.: 22 Congresso brasileiro da ciência das plantas daninhas. Anais... Londrina: SBCPD, 2000. p. 463.

COSTA, S.I.A. Avaliação do herbicida saflufenacil no controle de *Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donnell e *Euphorbia heterophylla* L. no sistema de cana crua. 76f. Tese (Doutorado em Agronomia – Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

COUTINHO, C. F. B; MAZO, L. H. Complexos metálicos com o herbicida glifosato: revisão. *Quím. Nova* vol.28 no.6 São Paulo Nov./Dec. 2005

D. M. SANCHOTENE; S. H. BIDEI DORNELLES; T. M. BOLZAN³; H. M. G. VOSS; O. S. ESCOBAR; C. B. LEON; E. N. MULLER⁷; E. P. SHIMÓIA. Desempenho de diferentes herbicidas pré-emergentes para controle de *Euphorbia heterophylla* na cultura da soja. PERSPECTIVA, Erechim. v. 41, n.155, p. 07-15, setembro/2017.

DALL' ARMELLINA, A. A.; ZIMDAHL, R. L. Effect of watering frequency, drought, and glyphosate on growth of field bindweed (*Convolvulus arvensis*). Weed Sci., v. 37, p. 314-318, 1989.

DAYAN, E.D.; DUKE, S.O.; WEETE, J.D. et al. Selectivity and mode of action of carfentrazone – ethyl, a novel phenyl triazolinone herbicide. Pest. Sci., v.57, p.65-73, 1997.

DAYAN, F. E.; ZACCARO, M. L. M. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 102 p. 189–197, 2012.

DEGASPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. Visão Acadêmica, v.5, n.1, p.33-40, 2004.

DEPKA, B.; JAHNS, P.; TREBST, A. â-carotene to zeaxanthin conversion in the rapid turnover of the D1 protein of photosystem II. FEBS Letters, v. 424, n. 3, p. 267-270, 1998.

DIAS, A.C.R.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Fenologia da trapoeraba como indicador para tolerância ao herbicida glyphosate. Planta daninha vol.31 no.1 Viçosa Jan./Mar. 2013

DORSEY, B. L., T. HAEVERMANS, X. AUBRIOT, J. J. MORAWETZ, R. RIINA, V. W. STEINMANN & P. E. BERRY. 2013. Phylogenetics, morphological evolution, and classification of *Euphorbia* subgenus *Euphorbia*. Taxon 62: 291-315.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E. Bioactivity of herbicides. In: MURRAY, M. Y. (Ed.), Comprehensive Biotechnology, New York: Elsevier, 2^o ed., v. 04, p. 23–35, 2011.

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

DUNCAN, C. Factors affecting herbicide performance. Herbicide Information. Techline Invasive Plant News, 2018. Acessado em: 14 de Agosto de 2018.

DURRANT, J. R. et al. Characterisation of tripler states in isolated photosystem II reaction centers: oxygen quenching as a mechanism for photodamage. Bioch. Biophys. Acta., v. 1017, n. 1, p. 167-175, 1990.

EVERT RF. 2006. Esau's Plant Anatomy. 3a. ed. Wiley-Interscience, New Jersey

EWERTON PEREIRA. Técnicas de aplicação de herbicidas pré-emergentes em reflorestamento. Série Técnica IPEF, Piracicaba, v.4, n.12, p.61 – 68, Set.1987

FAHN, A. Secretory tissues in plants. Academic Press, London 1979.

FAYEZ, K. A. Action of photosynthetic diuron herbicide on cell organelles and biochemical constituents of the leaves of two soybean cultivars. *Pestic. Bioch. Physiol.*, v. 66, n. 2, p. 105-115, 2000.

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

FERREIRA, E.A.; DEMUNER, A.J.; SILVA, A.A.; SANTOS, J.B.; VENTRELLA, M.C.; MARQUES, A.E.; PROCÓPIO, S.O. Composição química da cera epicuticular e caracterização da superfície foliar em genótipos de cana-de-açúcar. *Planta daninha* vol.23 no.4 Viçosa Oct./Dec. 2005

Fleck, N. G. et al. Controle de papuã (*Brachiaria plantaginea*) em soja em função da dose e da época de aplicação do herbicida clethodim. *Planta Daninha*, v. 26, n. 2, p. 375-383, 2008.

FLORES, J. L.; CÓRDOVA, M. L. F.; DÍAZ, A. M. Flow-through optosensing device implemented with photochemically induced fluorescence for the rapid and simple screening of metsulfuron methyl in environmental waters. *Journal of Environmental Monitoring*, v. 11, n. 5, p. 1080-1085, 2009.

GALLON, M.; TREZZI, M. M.; PAGNONCELLI, J. R.; PASINI, R.; VIECELLI, M.; CAVALHEIRO, B. M. Manejo Químico de Erva Quente e Poaia-Branca em Diferentes Modalidades de Aplicação. *Planta daninha* [online]. 2019, v. 37, e019185625, 2019.

GALON, L. Glifosato translocation in herbicide tolerant plants. ***Planta Daninha***, v. 31, n. 1, p. 193-201, 2013.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. *Planta Daninha*, v. 33. 2015;

GAZZIERO, D. L. P. Plantas daninhas: manejar é fundamental. *Visão Agrícola* n. 5, 2006, p. 108-111. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va05-fitossanidade08.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2020

GAZZIERO, D. L. P.; ADEGAS, F. S.; VOLI, E; Indicações para o uso de glyphosate em soja transgênica. *Circular Técnica*. Londrina. PR Setembro, 2007.

GAZZIERO, D.L.P. et al. As plantas daninhas e a semeadura direta. *Circular técnica*, 33. Embrapa Soja. Londrina, PR. 2001. 59p.

GERLACH, G. (1969). *Botanische Mikrotechnik, eine Einführung*. Gorg Thieme: Stuttgart.

GERRITS, P. O. (1991). The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles. Department of Anatomy and Embryology State University Groningen, Netherlands.

HARTZLER, B. Absorption of foliar-applied herbicides. *Integrated Crop Management*. Iowa State University – Extension and Outreach. Acessado em: 14 de Agosto de 2020a.

- HARTZLER, B. Absorption of soil-applied herbicides. Integrated Crop Management. Iowa State University – Extension and Outreach. Acessado em: 14 de Agosto de 2020b.
- HESS, F. D.; FALK, R. H. Herbicide deposition on leaf surfaces. **Weed Sci.**, v. 38, n. 3, p. 280-288, 1990.
- HESS, F. D.; WELLER, S. C. Mode of action in photosystem I (paraquat and diquat). In: Herbicide action course, 2000. West Lafayette: Purdue University, 2000b. p. 210-224.
- HESS, F. D.; WELLER, S. C. Mode of action in photosystem II: photosynthesis inhibitors (triazines, ureas, substituted phenols). In: HERBICIDE ACTION COURSE, 2000. West Lafayette: Purdue University, 2000a. p. 168-186.
- HESS, F.D. Review Light – dependent herbicides: an overview. *Weed Sci.*, v.48, n.2, p.160-70, 2000.
- HINZ, C. Description of sorption data with isotherm equations. *Geoderma*, v.99, n.3-4, p.225-243, 2001.
- HIPSKIND J, WOOD K, NICHOLSON RL (1996) Localized stimulation of anthocyanin accumulation and delineation of pathogen ingress in maize genetically resistant to *Bipolaris maydis* race O. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 49(4): 247- 256.
- HORN, J. W., B. W. VAN EE, J. J. MORAWETZ, R. RIINA, V. W. STEINMANN, P. E. BERRY & K. J. WURDACK. 2012. Phylogenetics and the evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 63: 305-326.
- HUDSON K. TAKANO, H. K; BEFFA, R; PRESTON, C; WESTRA, P; FRANCK E. DAYAN, F. E. Reactive oxygen species trigger the fast action of glufosinate. Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019
- HULL, H.M. Leaf structure as related to absorption of pesticides and other compounds. *Residue Rev.*, v. 31, p. 1- 155, 1970.
- JAMIL CONSTANTIN; RUBEM SILVÉRIO DE OLIVEIRA JÚNIOR; MIRIAM HIROKO INOUE; SIDNEY DOUGLAS CAVALIERI; JOÃO GUILHERME Z. DE ARANTES. Sistemas de manejo de plantas daninhas no desenvolvimento e na produtividade da soja. *Bragantia* vol.68 no.1 Campinas 2009.
- JOHANSEN, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- KALSING, A., ROSSI, C., LUCIO, F., MINOZZI, G., GONÇALVES, F., & VALERIANO, R. Eficácia do Controle de Espécies Tolerantes ao Glifosato da Família Rubiaceae Através de Aplicações em Golpe Duplo. *Planta Daninha*, 38, 2020
- KIM, J. S. et al. Death mechanisms caused by carotenoid biosynthesis inhibitors in green and in undeveloped plant tissues. *Pest. Bioch. Physiol.*, v. 78, n. 3, p. 127-139, 2004.
- KOGER CH, REDDY KN (2005) Papel da absorção e translocação no mecanismo de resistência ao glifosato na erva-benta (*Conyza canadensis*). *Weed Sci* 53:84 – 89

- KOVINICH, N. et. al. Not all anthocyanins are born equal: distinct patterns induced by stress in *Arabidopsis*. *Planta*, v. 240, p. 931–940, 2014.
- KRUSE, N. D. Análise da associação dos herbicidas Metribuzin e Cloazone como modelo para o estudo do sinergismo entre herbicidas. 2002.
- KRUSE, N.D. Inibidores da síntese de carotenóides. In: VIDAL, R.A.; MEROTTO Jr., A. (Ed.). *Herbicidologia*. Porto Alegre: Gaúcha, 2001. p.113 - 122.
- LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. RiMa, São Carlos, 2004.
- LAVORENTI, A. et al. Comportamento do diclosulam em amostras de um Latossolo Vermelho distroférico sob plantio direto e convencional. *R. Bras. Ci. Solo*, v. 27, n. 2, p. 183-190, 2003.
- LEE, B. K.; PARK, M. R.; SRINIVAS, B.; CHUN, J. C.; KWON, I. S.; CHUNG, I.M.; YOO, N. H.; CHOI, K. G.; YUN, S. J. Induction of Phenylalanine Ammonia-Lyase Gene Expression by Paraquat and Stress-related Hormones in *Rehmannia glutinosa*. *Mol. Cells*, vol. 16, p. 34-39, 2003.
- LEEGOOD, R.C. C4 photosynthesis: principles of CO2 concentration and prospects for introduction into C3 plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 53, p. 581–590, 2002.
- LEITÃO, C. A. E; R.M.S.A, MOREIRA; A.A, AZEVEDO E J.M, ARAÚJO. Extrafloral Nectary Ontogeny of *Triumfetta semitriloba* (Tiliaceae). *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v.20, n.3, p.343-351, 2002.
- LICH, J.M.; RENNER K.A.; PENNER, D. Interaction of glyphosate with postemergence soybean (*Glycine max*) herbicides. *Weed Sci.*, v.45, p.12-21, 1997.
- LIMA, C. C; SILVA, R. P; JERONIMO, A. V; HIRATAB, A. C. S; MONQUERO, P, A. Estágios fenológicos associados ao controle químico no manejo de *Spermacocea densiflora* originada de sementes e rebrota. *Revista Brasileira de Herbicidas* vol. 18, n. 03, p. 1-7, jul.-set, 2019.
- 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* vol.24 no.2 Viçosa Apr./June 2006
- MACHADO AFL, MEIRA RMS, FERREIRA LR, FERREIRA FA, TUFFI SANTOS LD, FIALHO CMT, MACHADO MS (2008) Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de *Digitaria insularis*. *Planta Daninha* 26(1):1-8.
- MADALÃO, J.C.; PIRES, F. R.; FILHO, A. C.; NASCIMENTO, A. F.; CHAGAS, K.; ARAÚJO, R. S.; PROCÓPIO, S. O.; BONOMO, R. Susceptibilidade de espécies de plantas com potencial de fitorremediação do herbicida sulfentrazone. *Revista Ceres*, Viçosa, . 60, n.1, p. 111-121, 2013.

- MANCUSO, M. A. C.; NEGRISOLI, E.; PERIM, L. Efeito residual de herbicidas no solo (Carryover). *Revista Brasileira de Herbicidas*, v. 10, n. 2, p. 151-164, 2011.
- 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.
- METCALFE CR E CHALK L. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons: Leaves, Stem and Wood in Relation to Taxonomy with Notes on Economic Uses*. Oxford: Oxford Clarendon Press, v. 1. 1500 p.
- MILLER, D. K. et al. Response of non glyphosate resistant cotton to reduced rates of glyphosate. *Weed Sci.*, v. 52, p. 178-182, 2004.
- MILLER, L. C.; RESENDE, L. C. L.; MEDEIROS, A. M. L. Manejo de herbicidas na lavoura de cana-de-açúcar. *STAB*, v. 13, p. 9-13, 1995.
- MONQUERO, P. A.; BINHA, D. P.; SILVA, P. V.; AMARAL, L. R. Eficiência de herbicidas pré-emergentes após períodos de seca. *Planta Daninha*, v. 26, n. 1, 2008.
- MONQUERO, P. A.; CURY, J. C.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Controle pelo glyphosate e caracterização geral da superfície foliar de *Commelina benghalensis*, *Ipomoea hederifolia*, *Richardia brasiliensis* e *Galinsoga parviflora*. *Planta Daninha*, Viçosa. v. 23, n. 1, p. 123- 132, 2005.
- MONQUERO, P.A. et al. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 22, n. 3, p. 445-451, 2004.
- MOREIRA, M.S.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. *Planta daninha* vol.25 no.1 Viçosa Jan./Mar. 2007
- MORENO, N. P. 1984. *Glosario botánico ilustrado*. Continental S. A. de C. V., Xalapa, 300 pp.
- NANDULA, V. K.; VENCILL, W.K. Herbicide Absorption and Translocation in Plants using Radioisotopes. *Weed Science*, Special issue, p. 140-151, 2015.
- NEVES, R; RIBEIRO, P.; ROCHA, J.Q.; PASQUALLI, R.M.; RUBIN, R.S.; TOFOLI, G.R.. FIORINI, M.V. Associação de herbicidas pós-emergentes ao glifosato no manejo de plantas daninhas na soja transgênica. XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas 19 a 23 de julho de 2010 - Centro de Convenções - Ribeirão Preto – SP.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma*. v. 59(2), 368-373
- OLIVEIRA JÚNIOR RS et al. 2000. Carfentrazone: novo herbicida para o manejo de *Ipomoea grandifolia* e *Commelina benghalensis* em áreas de semeadura direta de soja e milho. In: 22 Congresso brasileiro da ciência das plantas daninhas. Resumos... Londrina: SBCPD. p.440.
- OLIVEIRA JR, R.S. Comportamento de herbicidas em solos do Brasil. In: REUNIÃO DE PESQUISADORES EM CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS NOS

CERRADOS, 14, 2002, Goiânia, GO. Anais... Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2001. p.27- 57

OLIVEIRA JR, R.S.; BACARIN, M. A. Absorção e translocação de herbicidas. *In*: OLIVEIRA JR. R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. (Org.). *Biologia e manejo de plantas daninhas*. 1ed.Curitiba, PR: Omnipax Editora Ltda., v. 1, p. 215-242, 2011.

OLIVEIRA JR, R.S.; CONSTANTIN, J. ; INOUE, M. H. *Biologia e manejo de plantas daninhas*. (ed. 1º) Curitiba: Ed. Omnipax, 2011. v. 1. 348p.

OLIVEIRA JR., R. S. Mecanismo de ação de herbicidas: Plantas daninhas e seu manejo. Guaíba: Agropecuária, p. 209-260, 2001.

OLIVEIRA JÚNIOR., R.S.; CONSTANTIN, J.; COSTA, J.M.; CAVALIERI, S.D.; ARANTES, J.G.Z.; ALONSO, D.G.; ROSO, A.C. Interação entre sistemas de manejo e controle de plantas daninhas em pós-emergência afetando o desenvolvimento e a produtividade da soja. *Planta Daninha*, Viçosa, v.24, n.4, p.721-732, 2006.

Oliveira, G. R; Morais, F. A; Almeida, C. S; Avelar, A. C. V; Lopes-Matos, K. L. B. Caracterização anatômica dos laticíferos dos órgãos vegetativos de *Euphorbia hirta* L. (Euforbiaceae). *11ª Jornada Científica e Tecnológica e 8º Simpósio da Pós-Graduação do IFSULDEMINAS, 2019*.

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.

PICCININI F et al. 2012. Aplicações isoladas ou associadas de glifosato e saflufenacil para o controle de *Ipomoea triloba* e *Ipomoea purpurea*. *Encicl. Biosf.* 8: 150-159.

PINTO, M.V.; NOGUEIRA, J.C.M.; TRESVENZOL, L.M.F.; FIUZA, T.S.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Estudo botânico, fitoquímico e fisico-químico de *Euphorbia hirta* L. (Euphorbiaceae). *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.16, n.3, supl. I, p.649-656, 2014.

PINTO, M.V.; NOGUEIRA, J.C.M.; TRESVENZOL, L.M.F.; FIUZA, T.S.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Estudo botânico, fitoquímico e fisico-químico de *Euphorbia hirta* L. (Euphorbiaceae). *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.16, n.3, supl. I, p.649-656, 2014.

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

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

Procópio, S.O.; Ferreira, E.A., Silva, E.A.M.; Silva, A.A.; Rufino, R.J.N.; Santos, J.B. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III - *Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. *Planta daninha* vol.21 no.1 Viçosa Jan./Apr. 2003.

Procópio, S.O.; Ferreira, E.A., Silva, E.A.M.; Silva, A.A.; Rufino, R.J.N.; Santos, J.B. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III - Galinsoga parviflora, Crotalaria incana, Conyza bonariensis e Ipomoea cairica. Planta daninha vol.21 no.1 Viçosa Jan./Apr. 2003

RAMIRES AC et al. 2010. Controle de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia* com a utilização de glyphosate isolado ou em associação com latifolicidas. Planta Daninha. 28: 621-629.

RAMIRES, A.C. et al. Controle de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia* com a utilização de glyphosate isolado ou em associação com latifolicidas. Planta Daninha, v.28, p.621-629, 2010.

REISS, T.; BERGFELD, R.; LINK, G.; THIEN, W.; MOHR, H. Photooxidative destruction of chloroplasts and its consequences for cytosolic enzyme levels and plant development. Planta, v. 159 p. 518-28, 1983.

REZENDE, E. H; SOUSA, N, J; SOUZA, M. D; TETTO, A. F; MALINOVSKI, R. A; NETO, E. F. A. Aplicação de herbicidas pré-emergentes na implantação e reforma de áreas de *Eucalyptus urophylla*. Revista Spacius Vol. 38 (Nº 24). 2017

RICOTTA, J. A.; MASIUNAS, J. B. Relationship of leaf surface characteristics to acifluorfen tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum*) and related species. Weed Sci., v. 38, p. 567-572, 1990.

ROBINSON ANTONIO PITELLI. Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas. Série Técnica IPEF, Piracicaba, v.4, n.12, p.1 – 24, Set.1987

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. Guia de herbicidas. Londrina - PR, 6º ed, 2011, P. 697.

SAGE, R.F. The evolution of C4 photosynthesis. The New Phytologist, v. 161, p. 341–370, 2004.

SANTOS, P. S. J. Estudo da sistemicidade e tenacidade de epoxiconazol, piraclostrobina e fluxapiroxade em plantas de soja e videira. Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Piracicaba, 2016.

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

Sereena K and Shahida TA. 2015. Comparative anatomical and histochemical studies of *Euphorbia hirta* L. and *Euphorbia thymifolia* L. (stem). IJPSR, 6 (2): 772-777.

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

SILVA, A. A. et al. Controle de plantas daninhas. Brasília: ABEAS, 2000. 260 p.

SILVA, F. M. L. et al. Moléculas de herbicidas seletivos à cultura da mandioca. R. Trópica, v. 3, n. 2, p. 61-72, 2009.

SILVA, I. P. S.; JUNIOR, J. F. S.; PUTTI, F. F.; LATORRE, D. O. L.; SCHIMIDT, A. P.; LUDWIG, R. HERBICIDAS INIBIDORES DO FOTOSSISTEMA II – PARTE I. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, 7 (1), 01-11, 2013.

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

Soares, D. J.; Oliveira, W. S.; López-Ovejero, R. F.; Christoffoleti, P. J. Control of glyphosate resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) with dicamba and 2, 4-D. *Planta Daninha*, **2012**, 30, 2, 401-406.

Soares, D. J.; Oliveira, W. S.; López-Ovejero, R. F.; Christoffoleti, P. J. Control of glyphosate resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) with dicamba and 2, 4-D. *Planta Daninha*, 2012, 30, 2, 401-406.

SOARES, I. A. A. et al. Interferência das plantas daninhas sobre a produtividade e qualidade de cenoura. *Planta daninha*, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 247-254, 2010.

SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A.; PINTO, J. J. O.Crescimento de espécies bioindicadoras do residual do herbicida (imazethapyr+imazapic), semeadas em rotação com arroz Clearfield®. *Planta Daninha*, v. 30, p. 105-111, 2012.

SOUZA, V.C., LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia ilustrativo para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704p.

STEINMANN, V.W. & PORTER, J.M. Phylogenetic relationships in Euphorbieae (Euphorbiaceae) based on ITS and ndhF sequence data. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 89: 453–490. 2002

SZABÓ, I.; BERGANTINO, E.; GIACOMETTI, G.M. Light and oxygenic photosynthesis: energy dissipation as a protection mechanism against photo-oxidation. *EMBO reports*, v. 6, n. 7, p. 629-634, 2005.

Takano, H. K.; Oliveira Jr., R. S.; Constantin, C.; Biffe, D. F.; Franchini, L. H. M.; Braz, G. B. P.; Rios, F. A.; Gheno, E. A.; Gemelli, A. Efeito da adição do 2,4-d ao glyphosate para o controle de espécies de plantas daninhas de difícil controle. *R. Bras. Herbic.*, v. 12, n. 1, p. 1-13, 2013.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Características da epiderme foliar de eucalipto e seu envolvimento com a tolerância ao glyphosate. *Planta Daninha*, v. 24, n. 3, p. 513-520, 2006.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Características da epiderme foliar de eucalipto e seu envolvimento com a tolerância ao glyphosate. *Planta Daninha*, v. 24, n. 3, p. 513-520, 2006.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Crescimento e morfoanatomia foliar de eucalipto sob efeito de deriva do glyphosate. *Planta Daninha*, v. 23, n. 1, p. 133-142, 2005.

- TUFFI SANTOS, L. D. et al. Efeito do glyphosate sobre a morfoanatomia das folhas e do caule de *commelina diffusa* e *C. benghalensis*. *Planta Daninha*, v. 22, n. 1, p. 101-108, 2004.
- VARGAS, L. et al. Resistência de plantas daninhas a herbicidas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 131 p.
- TUFFI SANTOS, L. D. et al. Morphological responses of different eucalypt clones submitted to glyphosate drift. *Environ. Exp. Bot.*, v. 59, p.11-20, 2007.
- Valente, T. N. P; Lima, E. S. L; Lara Toledo Henriques, L. T; Neto, O. R. M; 5 Daiany Íris Gomes, D. I; Sampaio, C. B; Costa, V. A. C. Anatomia de plantas forrageiras e a disponibilidade de nutrientes para ruminantes: revisão. *Vet. e Zootec.* 2011
- VALENTE, T.O.; CAVAZZANA, M.A. Efeito residual de chlorimuron-ethyl aplicado em mistura com glyphosate na dessecação de plantas daninhas. *Revista Brasileira de Herbicidas*, v.1, n.2, p.173-178, 2000.
- VÁRADI, G.; DARKÓ, E.; LEHOCZKI, E. Changes in the xanthophyll cycle and fluorescence quenching indicate light dependent early events in the action of paraquat and the mechanism of resistance to paraquat in *Erigeron Canadensis* (L.) *Cronq. Plant Physiol.*, v. 123, n. 4, p. 1459-1469, 2000.
- VELINI, E. D. et al. Modo de ação do glyphosate. In *Glyphosate*, E. D. VELINI. et al. Fundação de Estudos e Pesquisas Florestais. Botucatu-SP, Brasil. p. 113-133, 2009.
- VIEIRA, E. M.; PRADO, A. D.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. D. O Estudo da adsorção/dessorção do ácido 2, 4 diclorofenoxiacético (2, 4-D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. *Química Nova*, 1999, 22, 3, 305-308.
- VIEIRA, R. G. et al. Fitointoxicação por herbicidas em áreas de reflorestamento de teca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., 2006, Brasília, Resumos... Brasília: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2006. p. 450.
- VIEIRA, R. G. et al. Fitointoxicação por herbicidas em áreas de reflorestamento de teca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., 2006, Brasília, Resumos... Brasília: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2006. p. 450.
- WAKABAYASHI, K.; BÖGER, P. Peroxidizing herbicides (II): structure-activity relationship and molecular design. *Z. Naturforsch. C: Biosci.*, v. 50, n. 9-10, p. 591-601, 1995.
- WAKABAYASHI, K.; BÖGER, P. Phytotoxic sites of action for molecular design of modern herbicides (Part 1): the photosynthetic electron transport system. *Weed Biol. Manag.*, v. 4, n. 1, p. 8-18, 2004.
- WERLANG, R.C.; SILVA, A.A. Interação de glyphosate com carfentrazone-ethyl. *Planta Daninha*, v.20, p.93- 102, 2002.
- WESTWOOD, J. H. et al. Absorption and translocation of glyphosate in tolerant and susceptible biotypes of field bindweed (*Convolvulus arvensis*). *Weed Sci.*, v. 45, p. 658-663, 1997.

YAMASHITA, O. M. et al. Resposta de varjão (*Parkia multijuga*) a subdoses de glyphosate. *Planta Daninha*, v. 24, n. 3, p. 527-531, 2006.

YANG, Y., R. RIINA, J. J. MORAWETZ, T. HAEVERMANS, X. AUBRIOT & P. E. BERRY. 2012. Molecular phylogenetics and classification of *Euphorbia* subgenus *Chamaesyce* (Euphorbiaceae). *Taxon* 61: 764-789

ZABALZA, A.; GASTON, S.; SANDALIO, L. M.; DEL RÍO, L. A.; ROYUELA, M. Oxidative stress is not related to the mode of action of herbicides that inhibit acetolactate synthase. *Environmental and Experimental Botany*, v.59 p.150-159, 2007.