

Mecanismos morfológicos de tolerância de *Borreria verticillata* L. ao glyphosate

Brunna de Carvalho Caetano¹, Karla Guimarães Cabral dos Santos², Pedro Delefrate Neto³, João Guilherme Queiroz Bordignon⁴, Beatriz Alves Welk⁵, Matheus de Freitas Souza⁶

¹Universidade de Rio Verde – UniRV, aluno de iniciação científica – PIBIC.

²Universidade de Rio Verde – UniRV, estudante da faculdade de agronomia.

³Universidade de Rio Verde – UniRV, estudante da faculdade de agronomia.

⁴Universidade de Rio Verde – UniRV, mestrando do curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da UniRV.

⁵Universidade de Rio Verde – UniRV, estudante da faculdade de agronomia.

⁶Universidade de Rio Verde – UniRV, professor da faculdade de agronomia, orientador.

Reitor:

Prof. Dr. Alberto Barella Netto

Pró-Reitor de Pesquisa e Inovação:

Prof. Dr. Carlos César E. de Menezes

Editor Geral:

Prof. Dra. Andrea Sayuri Silveira Dias Terada

Editores de Seção:

Profa. Dra. Ana Paula Fontana

Prof. Dr. Hidelberto Matos Silva

Prof. Dr. Fábio Henrique Baia

Pra. Dra. Muriel Amaral Jacob

Prof. Dr. Matheus de Freitas Souza

Prof. Dr. Warley Augusto Pereira

Fomento:

Programa PIBIC/PIVIC UniRV/CNPq 2023-2024

Resumo: A tolerância de plantas daninhas a herbicidas é um fenômeno causado por diferentes fatores, sejam eles morfológicos, anatômicos, fisiológicos e bioquímicos. Conhecer o mecanismo que tornam as plantas tolerantes aos herbicidas é crucial para a elaboração de estratégias mais eficientes de controle. Assim, partimos da hipótese de que mudanças nas características anatômicas e da cera cuticular ao longo dos estágios fenológicos de *Borreria verticillata* L. (vassourinha-de-botão) ao herbicida glyphosate desempenham um papel crucial na absorção do herbicida. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento experimental inteiramente casualizados, em esquema fatorial 4x2x3+1. O primeiro fator consistiu na aplicação de glyphosate em quatro estádios fenológicos da *B. verticillata*. O segundo fator foram duas doses do glyphosate. O terceiro foi a época de coleta das folhas após a aplicação dos herbicidas. Além disso, um controle adicional sem aplicação de glyphosate foi adicionado. As variáveis avaliadas foram: espessura da folha e epidermes, quantidade de cera cuticular e eficácia de controle. Os resultados evidenciam que a eficácia do glyphosate varia com o estágio fenológico, sendo mais acentuada nas fases iniciais de desenvolvimento. Essas descobertas contribuem para uma compreensão aprofundada das interações planta-herbicida, fornecendo uma base sólida para estratégias integradas e sustentáveis no controle de *B. verticillata*.

Palavras-Chave: Absorção foliar. Ácido aminometilfosfônico. Anatomia foliar. Cera epicuticular. Anatomia foliar.

Morphological mechanisms of tolerance of Borreria verticillata L. to glyphosate

Abstract: Weed tolerance to herbicides is a phenomenon caused by different factors, whether morphological, anatomical, physiological, or biochemical. Understanding the mechanisms that make plants tolerant to herbicides is crucial for developing more efficient control strategies. Thus, we hypothesized that changes in the anatomical characteristics and cuticular wax over the phenological stages of *Borreria verticillata* L. (buttonweed) in response to the herbicide glyphosate play a crucial role in herbicide absorption. The experiment was conducted in a greenhouse in a completely randomized experimental design with a 4x2x3+1 factorial arrangement. The first factor consisted of glyphosate application at four phenological stages of *B. verticillata*. The second factor was two doses of glyphosate. The third was the time of leaf collection after herbicide application. Additionally, a control group without glyphosate application was included. The evaluated variables were: leaf and epidermal thickness, amount of cuticular wax, and control efficacy. The results show that glyphosate efficacy varies with the phenological stage, being more pronounced in the early stages of development. These findings contribute to a deeper understanding of plant-herbicide interactions, providing a solid basis for integrated and sustainable strategies for controlling *B. verticillata*.

Keywords: Aminomethylphosphonic acid. Epicuticular wax. Leaf anatomy. Foliar absorption

Introdução

A vassourinha de botão é uma planta daninha que pertence à família Rubiaceae sendo nativa da América tropical. Desenvolve-se em solos ácidos e pobres em nutrientes e infesta lavouras de soja, milho, algodão e pastagens. Ao longo dos tempos, a mesma vem apresentando desafios quanto ao controle, principalmente a aplicações de herbicidas, incluindo o glyphosate.

O sucesso no controle das plantas indesejadas através do uso de herbicidas pode ser influenciado tanto pela quantidade de produto aplicado quanto pelo estágio de crescimento das plantas. O estágio de crescimento das plantas pode afetar a eficácia dos herbicidas. O herbicida glyphosate atua por meio da inibição da enzima enolpiruvil-shiquimato-fosfato sintase (EPSPs), que desempenha um papel importante na síntese dos aminoácidos triptofano, fenilalanina e tirosina.

Desta maneira, levantamos a seguinte questão: seria o metabolismo diferencial do herbicida o mecanismo responsável pela maior tolerância da *Borreria verticillata* L. ao glyphosate? Ainda, o avanço do estágio fenológico elevaria a tolerância da planta ao herbicida? A fim de contemplar todos esses aspectos, o objetivo principal desta pesquisa foi avaliar o mecanismo de tolerância da planta daninha *Borreria verticillata* L. sobre diferentes doses do herbicida glyphosate.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido em casa de vegetação da Universidade de Rio Verde. A espécie vegetal que foi utilizada no presente estudo foi cultivada em vasos plásticos preenchidos com solo. O experimento foi conduzido em casa de vegetação em delineamento experimental inteiramente casualizados, em esquema fatorial 4x2x3+1. O primeiro fator foi composto pelos estágios de desenvolvimento da *B. verticillata* (2 pares de folhas, 4 pares de folhas, 6-8 pares de folhas e pleno florescimento). O segundo fator foi composto por duas doses do herbicida glyphosate (1440 e 2800 ia. ha⁻¹). O terceiro fator foram as épocas de coletas da parte aérea das plantas de *B. verticillata* 24, 48 e 72 horas após a aplicação do glyphosate. Além disso, um controle adicional foi adicionado. As variáveis avaliadas foram: espessura da folha e epidermes, quantidade de cera cuticular, composição química da cera cuticular, eficácia de controle e o teor de glyphosate e ácido aminometilfosfônico (AMPA) na parte aérea. A porcentagem de controle de *B. verticillata* foi realizada considerando a escala visual com notas percentuais, onde 0% significa ausência de sintomas e 100% morte total das plantas. Estas avaliações foram realizadas aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação (DAA). A análise dos dados foi realizada por meio da utilização do software SISVAR. Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de probabilidade e quando constatado efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p-valor < 0,05).

Resultados e Discussão

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

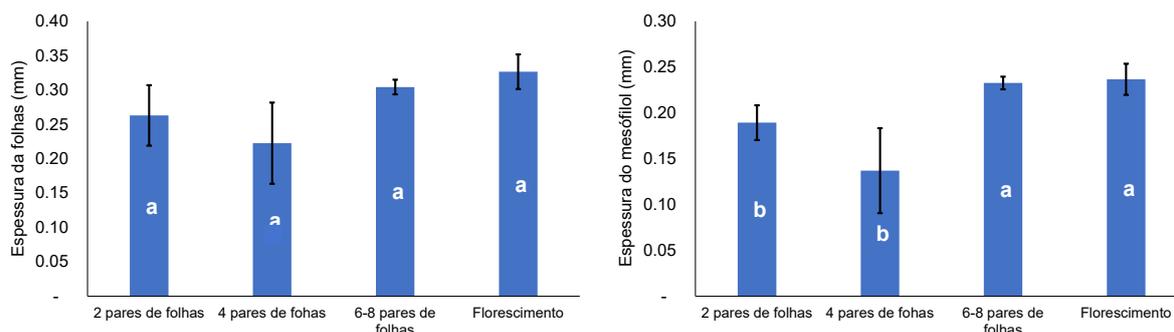
Os resultados obtidos na avaliação da espessura das folhas de *B. verticillata* revelaram aspectos interessantes relacionados ao desenvolvimento fenológico da planta. Notavelmente, a espessura das folhas não apresentou diferenças significativas nos diferentes estádios de desenvolvimento, indicando uma estabilidade nesse parâmetro morfológico ao longo do ciclo de vida da planta. Contudo, ao analisar a espessura do mesófilo foliar, observou-se uma variação significativa em relação ao estágio fenológico das plantas, demonstrando um aumento nessa espessura à medida que a planta avança o seu estágio fenológico. Essa adaptação pode ser observada em alguns estádios fenológicos, como floração, devido a maior demanda por fotoassimilados para alocarem nas estruturas reprodutivas (MARCHI et al., 2008; CARRIQUÍ et al., 2021). Consequentemente, o aumento na espessura do mesófilo foliar do biótipo de *B. verticillata* estudado durante o florescimento pode ser uma estratégia para elevar sua eficiência fotossintética para atender à maior demanda energética.

A espessura da epiderme adaxial e abaxial demonstraram ser sensível ao estágio fenológico, aumentando significativamente sua espessura no florescimento em comparação com os demais estádios. Essa observação pode estar relacionada a adaptações fisiológicas associadas ao processo de regulação da perda de água da planta ao longo do seu desenvolvimento (BACCIN et al, 2019). Algumas plantas mostram uma estreita relação entre a espessura da epiderme adaxial e abaxial e reduções na perda de água pela transição em condições de limitações hídricas.

Apesar das plantas de *B. verticillata* estarem submetidas a irrigação constante, alguns eventos de limitação hídrica, desencadeados pela maior demanda na fase de florescimento, podem ter estimulado o espessamento das epidermes durante a fase de florescimento, limitando a perda de água por transpiração.

A relação quantidade de cera epicuticular/área foliar também foi determinada nas plantas de *B. verticillata* nos diferentes estádios. No entanto, não houve diferenças para essa relação nos diferentes estádios de desenvolvimento da *B. verticillata* (Figura 1E).

A ausência de condições de estresse durante a condução do experimento pode não ter afetado a síntese e acúmulo de cera nas folhas, uma vez que, condições de estresse são o principal fator associado ao acúmulo de cera cuticular nas folhas das plantas (LEWANDOWSKA et al., 2020; ZHANG et al., 2023; YAO et al., 2023).



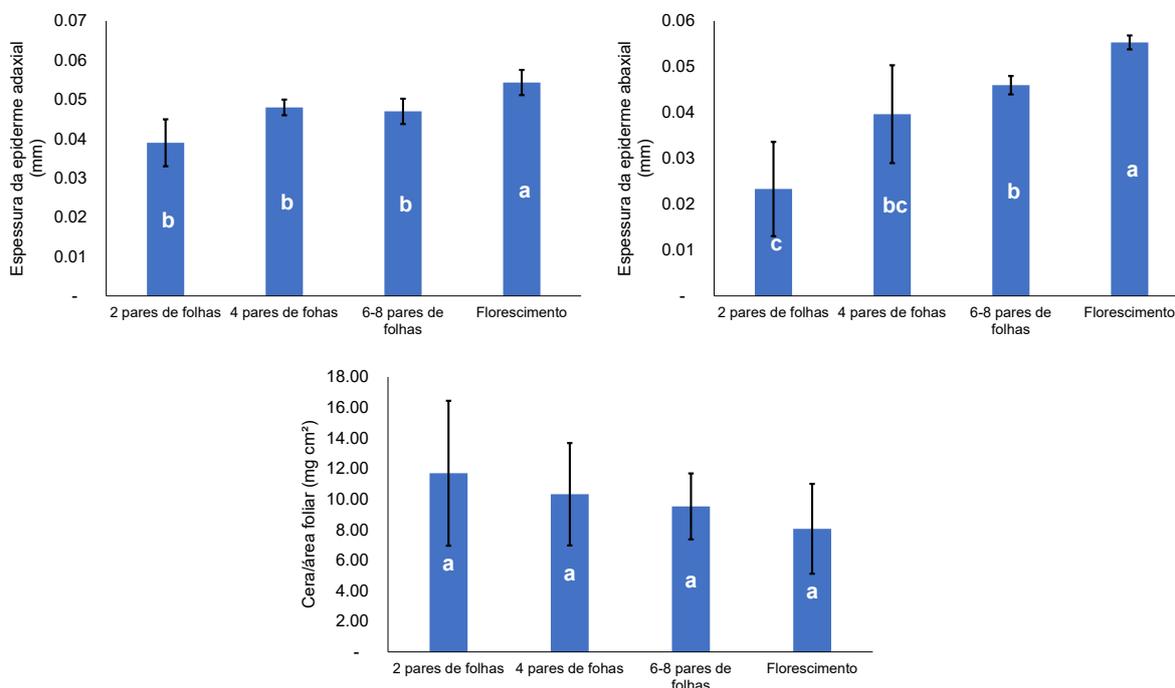


Figura 1 – Espessura da folha (mm), espessura do parênquima (mm), espessura da epiderme adaxial (mm), espessura da epiderme abaxial (mm) e relação quantidade de cera/área foliar (mg cm²) obtidas para a *Borreria verticillata* em 4 estádios de desenvolvimento diferentes. Letras minúsculas diferem as médias dos tratamentos pelo teste Tukey p-valor < 0,05.

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

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

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

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

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

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

Esse resultado sugere que o glyphosate demonstrou ser eficaz no controle de *B. verticillata*, mas a eficácia pode variar dependendo do estágio de crescimento. Esse comportamento também já foi reportado por outro estudo. Segundo Teixeira et al. (2022), doses de glyphosate superiores a 960 g ha⁻¹ foram eficientes no controle de *B. verticillata*, porém apenas para plantas com idade entre 60 e 90 dias após a emergência.

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

Conclusão

Existem mudanças significativas ao longo dos estádios fenológicos de *B. verticillata*. A espessura do mesófilo foliar aumenta notavelmente durante estágios mais avançados, como o florescimento, indicando possíveis adaptações para maior eficiência fotossintética. As espessuras das epidermes adaxial e abaxial também variam, com aumentos durante o florescimento.

A eficácia do glyphosate varia consideravelmente nos diferentes estádios fenológicos. Nas fases vegetativas, até 6 pares de folhas completamente expandidas, doses equivalentes a 1.440 e 2.880 g ha⁻¹ de glyphosate proporcionam controle eficaz, mas durante o florescimento, o biótipo de *B. verticillata* estudado possui alta tolerância ao herbicida, independentemente da dose aplicada.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela bolsa de iniciação científica cedida ao primeiro autor, a Pró-reitora de Pesquisa e Inovação e Pró-reitoria de Pós-Graduação da UniRV pelo suporte financeiro para condução do trabalho.

Referências Bibliográficas

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

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

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

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

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

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

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

Teixeira, A. G. T., Ferreira, J. C. C., Dias, F. F., Nunes, D. M., & Gonçalves, G. S. (2022). Eficiência de Glyphosate no controle de *Borreria verticillata* L. em diferentes estágios de desenvolvimento. **ForScience**, 10(2), e01144-e01144.

Albrecht, A. J. P., Lorenzetti, J. B., Albrecht, L. P., Danilussi, M. T. Y., Barroso, A. A. M., & Silva, A. F. M. (2023). Eficácia de herbicidas no controle *Borreria verticillata* e seletividade para as plantas de milho. **Revista Brasileira de Herbicidas**, 2(1).

Juliana, Castilho., Victor, Augusto, Forti., Patricia, Andrea, Monquero. (2021). Biology and non-chemical management of *Borreria verticillata* and *Borreria densiflora*. **Renewable Agriculture and Food Systems**, doi: 10.1017/S1742170521000375