

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ASPECTOS GERMINATIVOS, MORFOLÓGICOS E GENÉTICOS
DE *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis E SUA RESPOSTA
AO CONTROLE QUÍMICO**

Bruna Ferrari Schedenffeldt

Engenheira Agrônoma e Mestra em Agricultura e Ambiente

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

ASPECTOS GERMINATIVOS, MORFOLÓGICOS E GENÉTICOS
DE *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis E SUA RESPOSTA
AO CONTROLE QUÍMICO

Discente: Me. Bruna Ferrari Schedenffeldt

Orientador: Prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves

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

FICHA CATALOGRÁFICA

S315a	Schedenffeldt, Bruna Ferrari Aspectos germinativos, morfológicos e genéticos de <i>Cissus verticillata</i> (L.) Nicolson & Jarvis e sua resposta ao controle químico / Bruna Ferrari Schedenffeldt. -- Jaboticabal, 2025 82 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Pedro Luís da Costa Aguiar Alves 1. Biologia. 2. Genética. 3. Taxonomia. 4. Morfologia. I. Título.
-------	---



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ASPECTOS GERMINATIVOS, MORFOLÓGICOS E GENÉTICOS DE *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis E SUA RESPOSTA AO CONTROLE QUÍMICO

AUTORA: BRUNA FERRARI SCHEDENFFELDT

ORIENTADOR: PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES (Participação Presencial)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal

Professor Adjunto ROQUE DE CARVALHO DIAS (Participação Presencial)
Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) / Iturama/MG

Prof. Dr. PAULO VINICIUS DA SILVA (Participação Presencial)
Departamento de Produção Vegetal / ESALQ USP Piracicaba/SP

Prof. Dr. DANILO MASSUIA ROCHA (Participação Presencial)
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



Prof. Dr. LEONARDO BIANCO DE CARVALHO (Participação Presencial)
Departamento de Fitossanidade / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 06 de outubro de 2025

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Bruna Ferrari Schedenffeldt, nascida em 06 de novembro de 1997, em Piracicaba, SP, graduou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Centro de Ciências Agrárias, campus de Araras, entre março de 2016 e março de 2021. Durante a graduação, desenvolveu trabalhos de iniciação científica com financiamento da FAPESP, na área de plantas daninhas e herbicidas. No ano de 2021 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente (PPGAA/UFSCar), onde realizou sua dissertação de mestrado sobre o comportamento de herbicidas no ambiente e seus efeitos em organismos não-alvo, concluída em dezembro de 2023 com apoio da FAPESP. Em 2023 ingressou no doutorado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), campus de Jaboticabal, desenvolvendo o presente trabalho sobre a biologia e o manejo de *Cissus verticillata* (insulina-vegetal), nova espécie de planta daninha em lavouras de citros, também com financiamento da FAPESP.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu avô, Paulo Ferrari (*in memoriam*), que com sabedoria e amor me mostrou que a educação é a chave para transformar vidas e abrir caminhos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido, Paulo Henrique, e à minha filha, Luiza, por estarem sempre ao meu lado, sendo minha constante fonte de motivação, apoio e inspiração.

Aos meus pais, Patricia e Hamilton, pelo incentivo constante, confiança em meu potencial e apoio incondicional ao longo de toda minha trajetória acadêmica e pessoal. E aos meus avós, Neuza e Paulo (*in memoriam*), pela presença em minha vida, pelo carinho, suporte e conselhos, que foram importantes para que eu chegasse até aqui.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves, pela orientação, conselhos e paciência, fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Paulo Vinicius da Silva (UFGD), pela amizade e parceria ao longo dos anos.

À Professora Saura e ao Professor Vitor Miranda, pelo auxílio e apoio nas análises filogenéticas.

Ao Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA) e, em especial, aos meus grandes amigos Karmen, Heytor, Andrey, Josiel e Arthur, pelo suporte, amizade e parceria.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), pelo espaço e estrutura disponibilizados.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa (Processo: 2023/13479-4).

A todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, meu sincero agradecimento.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Aspectos botânicos <i>Cissus verticillata</i>	3
2.2. Distribuição geográfica e habitat	4
2.3. Usos de <i>Cissus verticillata</i>	5
2.4. <i>Cissus verticillata</i> como invasora	6
3. MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1. Descrição geral	7
3.2. Material vegetal	8
3.3. Caracterização morfológica e da superfície foliar	9
3.4. Análises morfológicas	9
3.5. Análises da superfície foliar – Microscopia eletrônica de varredura	9
3.6. Análise genética	10
3.7. Extração de DNA, PCR e sequenciamento	10
3.8. Análises filogenéticas	11
3.9. Distância genética par a par	14
3.10. Quantificação de cera	14
3.11. Aspectos germinativos de <i>Cissus verticillata</i>	15
3.12. Influência da temperatura na germinação	16
3.13. Influência da qualidade da luz incidente na germinação	16
3.14. Influência da profundidade de semeadura na germinação e emergência	18
3.15. Controle em pós-emergência	18
3.16. Análises estatísticas	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1. Análises morfológicas	22
4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura	29
4.3. Análises filogenéticas e distância par a par	36
4.4. Quantificação de cera nas folhas	42
4.5. Aspectos germinativos	44
4.6. Controle em pós-emergência inicial	54
5. CONCLUSÕES	68
6. REFERÊNCIAS	69
APÊNDICES	80

ASPECTOS GERMINATIVOS, MORFOLÓGICOS E GENÉTICOS DE *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis E SUA RESPOSTA AO CONTROLE QUÍMICO

RESUMO – A ocorrência de *Cissus verticillata* em pomares de citros tem gerado preocupação entre produtores do Noroeste paulista. avaliar características morfológicas, genéticas e de estabelecimento de acessos de *C. verticillata*, bem como identificar estratégias eficazes para seu manejo em citros. Para isso, foram definidos os seguintes objetivos específicos: a) Comparar diferenças morfológicas e na superfície foliar entre acessos; b) Avaliar a similaridade genética dos acessos e inferir relações filogenéticas com plantas previamente sequenciadas e identificadas do gênero *Cissus* no GenBank; c) Quantificar a produção de cera por plantas dos diferentes acessos; d) Determinar condições ambientais que favorecem a germinação e estabelecimento da espécie, incluindo temperatura, qualidade de luz e profundidade de semeadura; e) Avaliar a eficácia de herbicidas pós-emergentes registrados na cultura de citros para o controle em estágios iniciais da planta. Foram estudados quatro acessos: (1) Olímpia – Fazenda Rio Cortado, (2) Getulina – Fazenda Tangará, (3) Jaboticabal – UNESP/FCAV e (4) Olímpia – Fazenda Bela Vista. Realizaram-se descrições morfológicas e análises da superfície foliar por microscopia eletrônica de varredura (MEV), considerando densidade estomática, tricomas e padrões epidérmicos. O sequenciamento genético foi conduzido com marcadores cloroplastidiais (*rps16*, *trnL-F*) e nuclear (ITS), seguido de análises filogenéticas Bayesianas e Máxima Verossimilhança e estimativa de distâncias genéticas par a par. A produção de cera epicuticular foi quantificada entre os acessos por meio de extração com clorofórmio, expressa em $\mu\text{g cm}^{-2}$ de área foliar e em gramas por massa fresca das folhas. Ensaio independentes de germinação foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), avaliando temperaturas constantes e alternadas (T1 - 25, T2 - 30, T3 - 30/35 e T4- 35 °C), diferentes qualidades de luz (T1-vermelha (590-630nm), T2-azul (440-450nm), T3-verde (520-530nm), T4-branca (440-495nm) e T5-ausência de luz (0nm)) e profundidades de semeadura (T1 - 1, T2 - 3, T3 - 5, T4 - 7 e T5 -10 cm), todos com cinco repetições. Por fim, testou-se o controle químico da espécie com herbicidas pós-emergentes registrados para citros, em DIC, com oito tratamentos e cinco repetições: saflufenacil (70 g i.a. ha⁻¹), tiafenacil (118,65 g i.a. ha⁻¹), carfentrazone (50 g i.a. ha⁻¹), glifosato (2160 g i.a. ha⁻¹), glufosinato de amônio (400 g i.a. ha⁻¹), diquat (500 g i.a. ha⁻¹), chlorimuron (20 g i.a. ha⁻¹) e testemunha sem aplicação, aplicados em dois estádios fenológicos (4–6 folhas e 26–28 folhas). Dessa forma, os acessos de *C. verticillata* não apresentaram diferenças significativas em características morfológicas, com variáveis como altura, diâmetro do caule e área foliar variando de 153–220 cm, 0,34–0,48 cm e 13,45–22,00 cm². As análises em MEV apresentaram cutícula estriada e estômatos anomocíticos em ambas as faces, caracterizando *C. verticillata* como anfiestomática. O acesso 1 apresentou tricomas tectores nas margens foliares; o acesso 3, tricomas glandulares multicelulares na face adaxial e tectores nas

margens; enquanto os acessos 2 e 4 não exibiram tricomas. A densidade estomática variou de 34,43 a 461,67 estômatos/mm², com o acesso 3 apresentando o maior valor (face abaxial) e o acesso 1 os menores (adaxial e abaxial). Quanto às análises filogenéticas, os marcadores do cloroplasto revelaram alta similaridade genética entre os acessos ($d = 0,0000$), sendo confirmados como pertencentes ao complexo *C. verticillata* nos marcadores *trnL-F* e *rps16*. Apenas o acesso 3 mostrou discreta diferenciação em relação aos demais, indicando diversidade entre populações, enquanto o ITS indicou leve variação intraespecífica ($d = 0,00678-0,02865$). As análises filogenéticas do ITS posicionaram todos os acessos dentro do complexo *C. verticillata*, demonstrando monofilia entre os acessos estudados, mas polifilia dentro do gênero *Cissus*. Na análise de cera foliar, o acesso 3 apresentou a maior concentração (235,29 µg/cm² e 7871,84 µg/g de massa fresca), diferindo significativamente dos demais. Já os acessos 1, 2 e 4 não diferiram entre si, com valores médios variando entre 95 e 128 µg/cm². A germinação de *C. verticillata* foi influenciada pela qualidade da luz, temperatura e profundidade de semeadura. A luz vermelha promoveu maior velocidade de germinação, enquanto a luz branca resultou na maior porcentagem final; a luz azul estimulou o início do processo, mas sem incremento posterior. A germinação também ocorreu no escuro, embora em menor intensidade. Em relação à temperatura, condições de 30/35 °C e 35 °C favoreceram maiores taxas e velocidades de germinação, enquanto 25 °C resultou no menor desempenho. Quanto à profundidade, a emergência foi restrita às camadas superficiais, com melhor resposta a 1 cm, redução a 3 cm e ausência de plântulas em profundidades maiores, indicando limitação do estabelecimento inicial. Por fim, o controle de *C. verticillata* foi mais eficiente em plantas jovens (4–6 folhas), com carfentrazone, tiafenacil e diquat alcançando >80% de eficácia, enquanto glifosato, glufosinato e chlorimuron apresentaram ~50% e saflufenacil <10%. Em plantas mais desenvolvidas (26–28 folhas), apenas diquat e tiafenacil mantiveram controle elevado (90% e 80%, respectivamente), enquanto os demais herbicidas tiveram baixa eficácia, refletindo-se também nos parâmetros biométricos avaliados. Conclui-se que não foram observadas diferenças nas características morfológicas entre os acessos, enquanto as análises filogenéticas revelaram divergências entre eles. A germinação da espécie é favorecida por temperaturas elevadas e camadas superficiais do solo, e o controle químico pós-emergência foi mais eficaz em plantas jovens com carfentrazone, tiafenacil e diquat, sendo que em plantas com 26-28 folhas apenas diquat e tiafenacil mantiveram controle elevado.

Palavras-chave: Biologia, Genética, Insulina-Vegetal, Morfologia, Taxonomia

GERMINATION, MORPHOLOGICAL, AND GENETIC ASPECTS OF *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis AND ITS RESPONSE TO CHEMICAL CONTROL

ABSTRACT - The occurrence of *Cissus verticillata* in citrus orchards has raised concerns among producers in the Northwest region of São Paulo. The study aimed to evaluate the morphological, genetic, and establishment characteristics of *C. verticillata* accessions, as well as to identify effective strategies for their management in citrus. The specific objectives were: a) to compare morphological differences and leaf surface traits among accessions; b) to assess the genetic similarity of the accessions and infer phylogenetic relationships with previously sequenced and identified *Cissus* species in GenBank; c) to quantify wax production by plants from different accessions; d) to determine environmental conditions favoring germination and establishment of the species, including temperature, light quality, and sowing depth; e) to evaluate the efficacy of post-emergent herbicides registered for citrus in controlling the species at early growth stages. Four accessions were studied: (1) Olímpia – Fazenda Rio Cortado, (2) Getulina – Fazenda Tangará, (3) Jaboticabal – UNESP/FCAV, and (4) Olímpia – Fazenda Bela Vista. Morphological descriptions and leaf surface analyses were performed using scanning electron microscopy (SEM), considering stomatal density, trichomes, and epidermal patterns. Genetic sequencing was conducted using chloroplast markers (rps16, trnL-F) and the nuclear marker ITS, followed by Bayesian and Maximum Likelihood phylogenetic analyses and pairwise genetic distance estimation. Epicuticular wax production was quantified among accessions via chloroform extraction, expressed as $\mu\text{g cm}^{-2}$ of leaf area and as μg per gram of fresh leaf mass. Independent germination trials were conducted in a completely randomized design (CRD), evaluating constant and alternating temperatures (T1 - 25, T2 - 30, T3 - 30/35, and T4 - 35 °C), different light qualities (T1 – red (590–630 nm), T2 – blue (440–450 nm), T3 – green (520–530 nm), T4 – white (440–495 nm), and T5 – darkness (0 nm)), and sowing depths (T1 – 1, T2 – 3, T3 – 5, T4 – 7, and T5 – 10 cm), all with five repetitions. Finally, chemical control of the species was tested using post-emergent herbicides registered for citrus in a CRD, with eight treatments and five repetitions: saflufenacil (70 g a.i. ha^{-1}), tiafenacil (118.65 g a.i. ha^{-1}), carfentrazone (50 g a.i. ha^{-1}), glyphosate (2160 g a.i. ha^{-1}), ammonium glufosinate (400 g a.i. ha^{-1}), diquat (500 g a.i. ha^{-1}), chlorimuron (20 g a.i. ha^{-1}), and an untreated control, applied at two phenological stages (4–6 leaves and 26–28 leaves). The *C. verticillata* accessions did not show significant differences in morphological traits, with variables such as height, stem diameter, and leaf area ranging from 153–220 cm, 0.34–0.48 cm, and 13.45–22.00 cm^2 , respectively. SEM analyses revealed striated cuticles and anomocytic stomata on both leaf surfaces, characterizing *C. verticillata* as amphistomatic. Accession 1 exhibited tector trichomes along the leaf margins; accession 3 showed multicellular glandular trichomes on the adaxial surface and tector trichomes on the margins; accessions 2 and 4 did not exhibit trichomes. Stomatal density ranged from 34.43 to 461.67 stomata/ mm^2 , with accession 3 presenting the highest value (abaxial surface) and accession 1 the lowest (both adaxial and abaxial). Phylogenetic analyses using chloroplast markers revealed high genetic similarity among the

accessions ($d = 0.0000$), confirming their membership in the *C. verticillata* complex based on trnL-F and rps16. Only accession 3 showed slight differentiation from the others, indicating population diversity, while ITS analysis indicated minor intraspecific variation ($d = 0.00678\text{--}0.02865$). ITS-based phylogenetic analyses positioned all accessions within the *C. verticillata* complex, demonstrating monophyly among the studied accessions but polyphyly within the genus *Cissus*. In the leaf wax analysis, accession 3 showed the highest concentration ($235.29\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ and $7871.84\text{ }\mu\text{g}/\text{g}$ fresh mass), differing significantly from the others. Accessions 1, 2, and 4 did not differ significantly, with mean values ranging from 95 to $128\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Germination of *C. verticillata* was influenced by light quality, temperature, and sowing depth. Red light promoted faster germination, while white light resulted in the highest final percentage; blue light stimulated germination initiation without subsequent increases. Germination also occurred in darkness, albeit at lower intensity. Regarding temperature, conditions of $30/35\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ favored higher germination rates and speed, whereas $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ resulted in the lowest performance. Emergence was limited to shallow soil layers, with optimal response at 1 cm, reduced emergence at 3 cm, and absence of seedlings at greater depths, indicating limitations for initial establishment. Chemical control of *C. verticillata* was more effective in young plants (4–6 leaves), with carfentrazone, tiafenacil, and diquat achieving $>80\%$ efficacy, whereas glyphosate, glufosinate, and chlorimuron reached $\sim 50\%$, and saflufenacil $<10\%$. In more developed plants (26–28 leaves), only diquat and tiafenacil maintained high control levels (90% and 80%, respectively), while the other herbicides were largely ineffective, which was also reflected in biometric parameters. In conclusion, no significant differences were observed in morphological traits among accessions, while phylogenetic analyses revealed slight divergences. Germination is favored by elevated temperatures and shallow soil layers, and post-emergent chemical control is most effective in young plants using carfentrazone, tiafenacil, and diquat, with only diquat and tiafenacil maintaining high efficacy in plants with 26–28 leaves.

Keywords: Biology, Genetics, Insulin Plant, Morphology, Taxonomy

ASPECTOS GERMINATIVOS, MORFOLÓGICOS E GENÉTICOS DE *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis E SUA RESPOSTA AO CONTROLE QUÍMICO

1. INTRODUÇÃO

Cissus verticillata (L.) Nicholson & C. E. Jarvis é uma planta da família Vitaceae (Rodrigues et al., 2014). As características botânicas desta espécie incluem hábito de crescimento lianescente, presença de gavinhas para sustentação, flores inconspícuas, frutos do tipo baga e sementes de coloração escura (Souza e Lorenzi, 2019).

Cissus verticillata apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo em diversas regiões da América do Norte, Central e do Sul (Moraes et al., 2020). No contexto brasileiro, essa espécie é amplamente disseminada, com registros em todos os domínios ecológicos do território nacional, de Norte a Sul do país (Picanço e Lombardi, 2020). Esse fato se deve a excelente adaptação de *C. verticillata* a diferentes regiões do Brasil, aliada à facilidade de disseminação, através de pássaros e propagação vegetativa, através de estaquia (Lameira et al., 2022).

No Brasil, *C. verticillata* é conhecida popularmente como insulina-vegetal (Martins et al., 2000), devido à sua comprovada atividade hipoglicemiante (Souza e Guarim Neto, 2009). Além disso, a espécie é utilizada em outras práticas medicinais, isoladamente ou em combinação com outras plantas, como no tratamento de sequelas de acidente vascular cerebral (Barbosa et al., 2002). Estudos fitoquímicos identificaram diversos compostos bioativos, incluindo taninos, triterpenos esteroidais, aminoácidos, lipídios e flavonoides (Lizama et al., 2000). Paralelamente, *C. verticillata* também apresenta valor ornamental, sendo empregada em jardinagem e paisagismo (Rojas-Sandoval, 2022).

Embora *C. verticillata* seja amplamente reconhecida por suas propriedades medicinais e pelo uso ornamental, relatos recentes indicam seu comportamento como planta daninha. Nos Estados Unidos, a espécie foi registrada em pomares de laranja na Flórida desde os anos 2000 (Lombardi, 2000) e, mais recentemente, em pomares de limão no México (Leopardi-Verde et al., 2021). No Brasil, produtores de citros das regiões norte e nordeste do estado de São Paulo vêm reportando a presença da espécie desde 2023. Devido

ao seu hábito trepador, a espécie pode atingir o topo do dossel e cobrir completamente a planta hospedeira; mesmo quando cortada ao nível do solo, a parte aérea remanescente é capaz de desenvolver raízes aéreas direcionadas ao solo e se restabelecer, inclusive sob condições de déficit hídrico (Christoffoleti et al., 2023).

O manejo de *C. verticillata*, assim como de qualquer planta daninha, requer estudos detalhados sobre sua biologia, abrangendo aspectos morfológicos, genéticos e germinativos, os quais são fundamentais para compreender sua agressividade em ambientes agrícolas (Santos, 2021; Aguiar et al., 2022). Até o momento, não foram documentados prejuízos substanciais à agricultura brasileira atribuíveis a essa espécie, especialmente em citros, embora sua ocorrência recente indique expansão territorial em áreas agrícolas. Além disso, a inexistência de registros de herbicidas disponíveis para o seu controle nesta cultura (Agrofit, 2025) reforça o desafio do manejo. Por se tratar de uma eudicotiledônea trepadeira, a principal dificuldade consiste em utilizar um herbicida seletivo que consiga controlar a planta sem causar danos à cultura do citros.

Diante desse cenário, o presente trabalho teve como objetivo avaliar características morfológicas, genéticas e de estabelecimento de acessos de *C. verticillata*, bem como identificar estratégias eficazes para seu manejo em citros. Para isso, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- a) Comparar diferenças morfológicas e na superfície foliar entre acessos;
- b) Avaliar a similaridade genética dos acessos e inferir relações filogenéticas com plantas previamente sequenciadas e identificadas do gênero *Cissus* no GenBank;
- c) Quantificar a produção de cera por plantas dos diferentes acessos;
- d) Determinar condições ambientais que favorecem a germinação e estabelecimento da espécie, incluindo temperatura, qualidade de luz e profundidade de semeadura;
- e) Avaliar a eficácia de herbicidas pós-emergentes registrados na cultura de citros para o controle em estágios iniciais da planta.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos botânicos *Cissus verticillata*

Cissus verticillata é uma angiosperma eudicotiledônea pertencente à família Vitaceae, na qual o gênero *Cissus* é o mais representativo, compreendendo cerca de 350 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais (Lombardi, 2015). Na literatura, essa espécie é citada sob diferentes sinônimos taxonômicos, entre os quais *C. sicyoides* L., *C. cordifolia* L., *Viscum verticillatum* L., *Vitis sicyoides* (L.), *C. officinalis* Klotzsch, *C. canescens* Lam., *C. compressicaulis* Ruiz & Pav., *C. latifolia* Descourt., *C. puncticulosa* Rich. e *C. umbrosa* Kunth (Lombardi, 2000). Quatro subespécies são reconhecidas para esse táxon, mas apenas *C. verticillata* subsp. *verticillata* ocorre no Brasil (Souza e Lorenzi, 2019).

Do ponto de vista morfológico, trata-se de uma liana, reconhecida por apresentar folhas simples, pecioladas, inteiras, membranáceas a oblongas, medindo de 4 a 7 cm de comprimento e 2,5 a 4,5 cm de largura, com limbo de formato ovado, margem dentada, ápice agudo e base truncada (Silva et al., 2024). O caule é cilíndrico a elíptico, de coloração verde, tornando-se verde-acinzentado nas regiões mais velhas, sobretudo na base (Oliveira et al., 2012). Outra característica das lianas, também presente em *C. verticillata*, é a presença de gavinhas opostas às folhas, geralmente cilíndricas, verdes e variando entre birramificadas ou simples (Silva et al., 2024). O sistema radicular é composto por raízes primárias, secundárias e terciárias, de formato cilíndrico e coloração que varia do amarelo pálido ao marrom (Oliveira et al., 2012).

Os frutos são carnosos, ovóides ou globosos, medindo cerca de 1 cm de altura, com epiderme roxa a escura, contendo uma ou duas sementes em seu interior (Hanan et al., 2009). Além das características externas, a anatomia também oferece parâmetros importantes para a classificação da espécie. Oliveira et al. (2012), destacaram a presença de glândulas multicelulares denominadas glândulas peroladas, observadas na face abaxial da nervura central da lâmina foliar, sendo estas estruturas, ricas em proteínas, óleos e açúcares.

2.2. Distribuição geográfica e habitat

Cissus verticillata se destaca como espécie neotropical, ocorrendo na América Central e do Sul, da Flórida à Argentina e ao Uruguai (Lombardi, 2000; Rojas-Sandoval, 2022). No Brasil, ocorre em todos os domínios fitogeográficos, Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal, além de suas diferentes fisionomias vegetais (Picanço e Lombardi, 2020) (Figura 1).

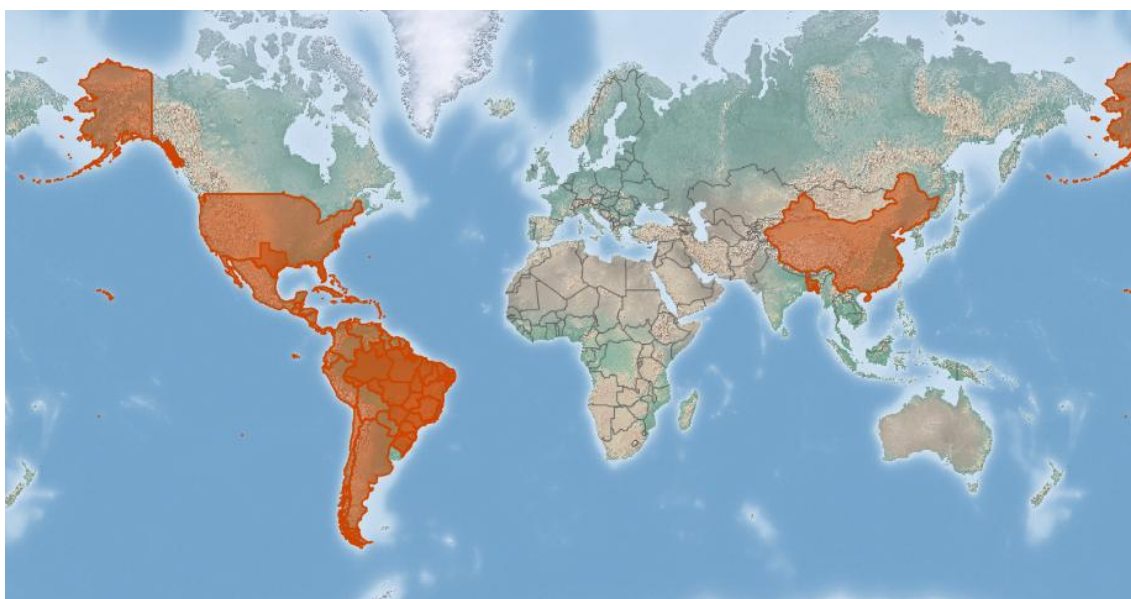


Figura 1. Distribuição de *Cissus verticillata* no mundo. **Fonte:** Rojas-Sandoval, 2022.

As informações disponíveis sobre a época de produção de *Cissus verticillata* mostram que a espécie floresce e frutifica continuamente (Acevedo-Rodríguez, 2005). Em alguns relatos na literatura, como na Cidade do México, foi documentado florescimento de julho a outubro, enquanto a frutificação ocorre de novembro a janeiro (Rojo; Rodríguez, 2002). A espécie apresenta ciclo perene (Lombardi, 2007), o que contribui para sua persistência.

A ocorrência de *C. verticillata* abrange muros e habitats ruderais próximos a assentamentos humanos, além de florestas, cursos d'água e áreas agrícolas (French et al., 2003; Oliveira et al., 2012; Drobnik e De Oliveira, 2015). A dispersão ocorre de forma sexual, por sementes provenientes de frutos carnosos, principalmente dispersos por aves, e de forma vegetativa, pelo enraizamento de fragmentos de caule ou brotos quebrados (Rojas-Sandoval,

2022). A propagação vegetativa é facilitada por estacas de caules primários e secundários, que brotam e enraízam facilmente, garantindo a colonização rápida de novos locais (Oliveira et al., 2012).

A facilidade de adaptação da espécie a diferentes ambientes permite a formação de distintos ecótipos, que variam em formato de folha, grau de pubescência e cor da flor (Lombardi, 2007).

2.3. Usos de *Cissus verticillata*

Cissus verticillata é popularmente conhecida como insulina-vegetal, uva-brava, uva-do-mato ou parreira-brava, sendo amplamente utilizada no tratamento e prevenção de diversas doenças devido às suas características etnofarmacológicas (Franco-Mora et al., 2016). O uso medicinal da espécie remonta ao século XVI, quando suas raízes começaram a ser importadas para a Europa com essa finalidade, sendo mencionada em registros etnofarmacológicos datados de 1582 e 1829 (Drobnik e De Oliveira, 2015).

Destaca-se o uso de *Cissus verticillata* no controle do diabetes tipo 2, em razão de sua ação hipoglicemiante, geralmente administrada na forma de chás obtidos por decocção ou infusão das folhas (Acosta-Recalde et al., 2018; Moraes et al., 2020). Além disso, a espécie é empregada no tratamento de doenças cardíacas, taquicardia, hidropsia, tremores, e apresenta efeitos anti-inflamatórios, antiepilépticos, anti-hipertensivos, antitérmicos e antirreumáticos (Lombardi, 2000; Berg, 2010).

Essas atividades farmacológicas estão relacionadas à presença de compostos secundários, como alcaloides, flavonoides, esteroides, saponinas, mucilagens, compostos redutores, taninos, triterpenos, aminoácidos, ácidos graxos, antocianinas e vitamina E (Feitosa et al., 2021; Lameira et al., 2022). Tais metabólitos estão distribuídos por toda a planta, com maior concentração na parte aérea (Oliveira et al., 2024). Idioblastos presentes no corpo vegetativo secretam compostos fenólicos (especialmente taninos), óleos essenciais e polissacarídeos, sendo estruturas-chave para as atividades farmacológicas da espécie (Oliveira et al., 2012).

Além do uso medicinal, *C. verticillata* tem se destacado em estudos de alelopatia devido à alta produção de metabólitos secundários, com potencial

para formulação de bioherbicidas (Oliveira et al., 2024). Linh et al. (2024) demonstraram efeito inibitório dos extratos aquoso e etanólico das folhas sobre *Allium cepa*, afetando germinação, índice de velocidade de germinação e crescimento radicular, especialmente no extrato etanólico. Os autores constataram através do rastreamento fitoquímico a presença de flavonoides, polifenóis, taninos e açúcares, associados à atividade fitotóxica observada.

Por fim, espécies do gênero *Cissus* também possuem importância ornamental (Fernandes e Banu, 2012), incluindo a insulina-vegetal, amplamente cultivada pela sua facilidade em recobrir muros e jardins (Lucena et al., 2024).

2.4. *Cissus verticillata* como invasora

Cissus verticillata tem sido relatada como espécie invasora em diferentes ambientes, tanto agrícolas quanto naturais, dentro e fora de sua área de distribuição nativa (Rojas-Sandoval, 2022). É uma trepadeira de crescimento acelerado que se apoia e envolve arbustos e árvores, podendo gerar impactos negativos ao restringir o desenvolvimento das espécies suportes (French et al., 2003; Smith, 2010; Salamah et al., 2025). De forma geral, plantas invasoras podem modificar a composição do solo, interromper processos ecológicos naturais e degradar habitats, resultando na redução da biodiversidade e da resiliência dos ecossistemas (Vilà et al., 2011; Bellard et al., 2016).

Nos Estados Unidos, *C. verticillata* (anteriormente denominada *C. sicyoides*) foi registrada em 2003 no Texas, em pomares de citros, onde ocorreram floração e frutificação (French et al., 2003). Os autores destacaram que, nessas condições, a semelhança da folhagem verde-escura da espécie com o dossel dos citros dificultava significativamente seu manejo. Na Costa Rica, a espécie também foi reportada como invasora em áreas de cultivo de abacaxi (Brenes-Prendas e Agüero-Alvarado, 2007).

Além dos sistemas agrícolas, *C. verticillata* também apresenta registros em ecossistemas naturais. No México, por exemplo, é registrada como planta daninha em parques urbanos (Salamah et al., 2025) e em áreas de manguezal, onde tem provocado alterações na estrutura da vegetação (Valderrama et al., 2025). Nessas formações, a espécie recobre copas e caules quase integralmente, reduzindo a penetração de luz solar e comprometendo processos

vitais como fotossíntese, crescimento e sobrevivência das plantas utilizadas como suporte (Valderrama et al., 2025). Como consequência, observa-se maior mortalidade de indivíduos e dificuldades no estabelecimento de plântulas, além da intensa competição por água e nutrientes, que limita o desenvolvimento da vegetação local, podendo culminar na morte por asfixia (Millán-Aguilar et al., 2025).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Descrição geral

Os experimentos foram conduzidos nas instalações do Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA) do Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP, localizada em Jaboticabal (21°14'34.2"S 48°17'35.4"W).

Plantas e frutos maduros de *C. verticillata* foram coletados em propriedades produtoras de citros localizadas nas cidades de Jaboticabal, Olímpia e Getulina, no período de fevereiro a abril de 2024, época correspondente ao pico de frutificação nas áreas estudadas. As propriedades foram selecionadas com base no histórico de infestação da espécie, conforme ilustrado na Figura 2. Todas as coletas foram georreferenciadas (Tabela 1), e o material-testemunho encontra-se depositado no Herbário JABU da Unesp/FCAV.

Tabela 1. Cidades, propriedades, coordenadas geográficas e códigos do Herbário JABU das coletas de *Cissus verticillata*.

Acesso	Cidade	Propriedade	Localização	Código Herbário
1	Olímpia, SP	Fazenda Rio Cortado	20°52'10.3"S 48°48'27.7"W	JABU000014 28
2	Getulina, SP	Fazenda Tangará	21°46'13.3"S 50°08'59.7"W	JABU000014 27
3	Jaboticabal, SP	Unesp - FCAV	21°14'38.8"S 48°17'06.3"W	JABU000014 29
4	Olímpia, SP	Fazendo Bela Vista	20°44'35.5"S 48°50'55.0"W	JABU000013 28

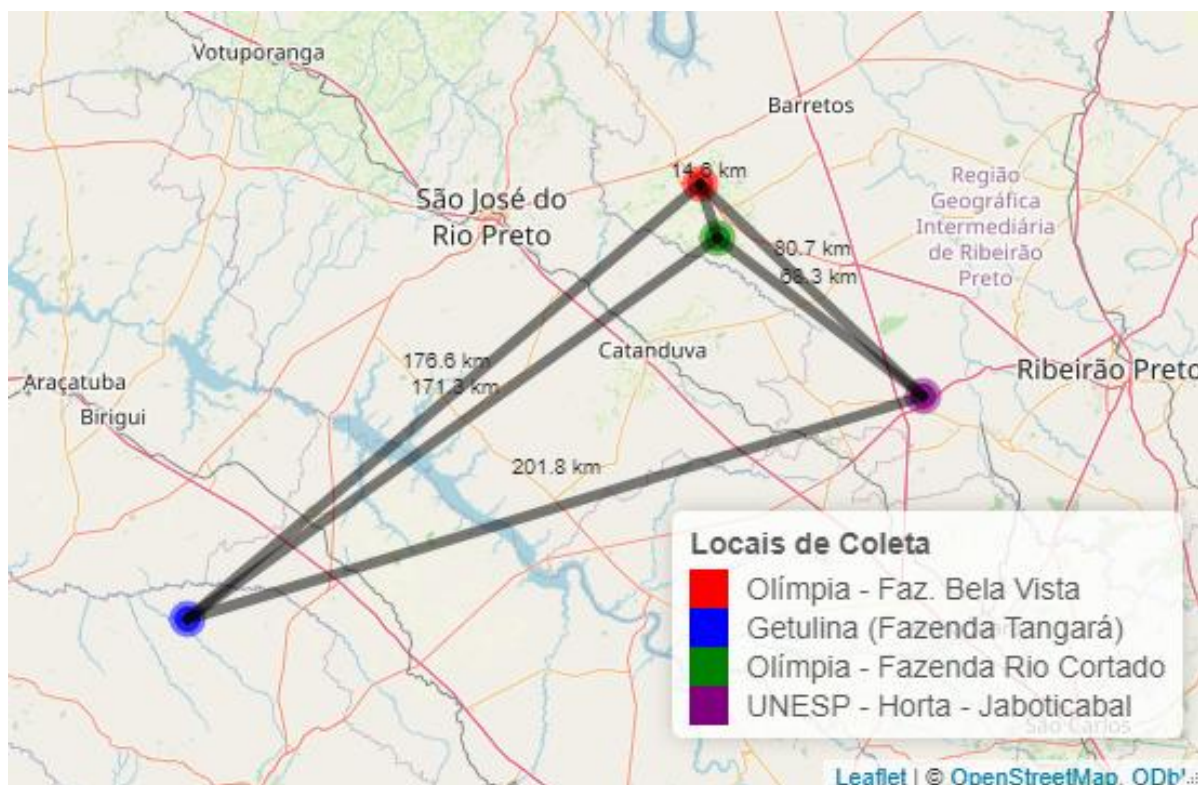


Figura 2. Distância e localização geográfica entre os acessos utilizados neste estudo.

3.2. Material vegetal

Os frutos maduros foram acondicionados em sacos de papel devidamente identificados, enquanto as estacas provenientes do caule herbáceo (reprodução vegetativa) foram transportadas ao LAPDA. No laboratório, os frutos foram processados para a extração das sementes, de forma semelhante ao procedimento utilizado para uvas. Em seguida, as sementes foram limpas, separadas e armazenadas em câmara fria, a uma temperatura de 10–13 °C, até o momento de sua utilização nos diferentes ensaios.

As estacas coletadas no campo foram colocadas para enraizamento em bandejas de mudas, cujas células estavam preenchidas com areia, e mantidas em casa de vegetação sob irrigação. Após o enraizamento, as estacas foram transplantadas para vasos com capacidade de 15 L, preenchidos com solo. As plantas foram mantidas em uma área externa anexa ao LAPDA, expostas às condições ambientais, obtendo-se, em média, 20 vasos com estacas por acesso.

3.3. Caracterização morfológica e da superfície foliar

3.4. Análises morfológicas

Após 120 dias do transplante das estacas para os vasos, conforme descrito no item 3.2. foram avaliadas as seguintes características biométricas morfológicas de cada: altura da planta (cm), diâmetro do caule principal (cm) e número de folhas. Registros fotográficos foram realizados para auxiliar na caracterização e diferenciação dos acessos.

3.5. Análises da superfície foliar – Microscopia eletrônica de varredura

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica da UNESP – FCAV, Jaboticabal. Para tanto, em 29/11/2024, foram selecionadas folhas completamente expandidas, correspondentes ao terceiro par a partir do ápice, expostas à luz solar. As amostras foram coletadas de plantas adultas em estágio vegetativo (média de 20–25 folhas por acesso), conforme descrito no item 3.2, considerando todos os acessos estudados, com duas repetições.

Após a coleta, fragmentos foliares de aproximadamente 1 cm² foram retirados da região central, adjacente à nervura principal, e da margem das folhas de cada acesso. O material coletado foi imediatamente fixado em uma solução de glutaraldeído a 3%, preparada em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,2), e mantido a 4 °C por 72 horas.

Posteriormente, o material foi lavado em solução tampão por três vezes para a completa remoção do glutaraldeído. Em seguida, foi adicionado tetróxido de ósmio a 1% por aproximadamente 16 horas. Após esse período, a solução foi removida, e o material foi desidratado em série alcoólica progressiva nas concentrações de 30%, 50% e 70%, com cerca de 15 minutos em cada concentração. O procedimento foi repetido com as concentrações de 80%, 90% e 100%, sendo esta última realizada três vezes.

Na etapa seguinte, o material foi submetido à secagem por ponto crítico. As amostras foram então metalizadas com ouro em uma espessura de 30 nm (Dentor Vacuum - DESK II). Após a preparação dos stubs, foram capturadas

imagens da superfície adaxial, abaxial e da margem das folhas dos acessos, com o objetivo de visualizar a topografia da lâmina foliar, estômatos (densidade estomática), bordas e tricomas. As análises foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura EVO MA 10 (Zeiss), operando a 15 kV, e as imagens foram registradas com aumentos de 200x, 400x, 700x e 3000x.

As imagens foram posteriormente analisadas com o auxílio do software ImageJ, por meio do qual se realizou a quantificação da densidade estomática em ambas as superfícies foliares (1 mm²). Os resultados foram expressos em valores médios, representados em número/mm².

3.6. Análise genética

3.7. Extração de DNA, PCR e sequenciamento

Foram coletadas cinco folhas jovens de *C. verticillata* de cada acesso das plantas descritas no item 3.2, priorizando-se, em geral, a quarta folha completamente expandida. O DNA foi extraído com o kit Qiagen DNeasy Plant Mini, conforme instruções do fabricante. A integridade do DNA foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1% (p/v) em tampão TBE 1X, corado com agente não mutagênico a 90 V por 90 min.

As regiões *rps16* (íntron), *trnL-F* (espaçador intergênico) e região ITS foram amplificadas com os seguintes primers: *rpsF* e *rpsR2* (Oxelman et al., 1997), *c* e *f* (Taberlet et al., 1991) e *CY1* e *CY3* (WRIGHT et al., 2006), respectivamente. As reações de PCR foram preparadas com 25 µL de Ultramix PCR Bio, 10 pmol de cada primer, 50 ng de DNA e água até 50 µL.

O programa no termociclador GeneAmp PCR System 9600 (Thermo Fisher Scientific) foi: desnaturação inicial a 94°C por 5 min; 35 ciclos de 94 °C por 1 min; 54°C por 1 min; 72 °C por 2 min; e extensão final de 72°C por 10 min. Os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit DNA Clean & Concentrator™ (Zymo Research).

O sequenciamento foi realizado na plataforma ABI 3130xl, seguindo o protocolo do kit BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing.

3.8. Análises filogenéticas

Sequências adicionais foram obtidas no NCBI (National Center for Biotechnology Information) e organizadas em uma matriz filogenética. Espécies do gênero *Leea* foram utilizadas como grupo externo. As sequências dos acessos avaliados foram depositadas no GenBank (Tabela 2).

Tabela 2. Acessos obtidos do GenBank e acessos avaliados neste estudo para os genes ITS, *rps16* e *trnL-F*. O travessão (–) indica ausência de sequência.

Espécie	ITS	<i>rps16</i>	<i>trnL-F</i>
Acesso 1	PV828335	PV848043	PV848047
Acesso 2	PV828336	PV848044	PV848048
Acesso 3	PV828337	PV848045	PV848048
Acesso 4	PV828338	PV848046	PV848050
<i>Cissus adnata</i>	KT344592.1	JQ182640.1	KF591420.1
<i>Cissus albiporcata</i>	–	JQ182597.1	JF437304.1
<i>Cissus amazônica</i>	KT344593.1	JX476549.1	JX476859.1
<i>Cissus anisophylla</i>	–	JX476550.1	AB235010.1
<i>Cissus antarctica</i>	–	JX476551.1	EF179079.1
<i>Cissus apendiculata</i>	JX313377.1	JX313407.1	JX313413.1
<i>Cissus aphyllantha</i>	–	JX476553.1	JX476862.1
<i>Cissus araguainensis</i>	JX313351.1	JX313383.1	JX313415.1
<i>Cissus aralioides</i>	–	JQ182610.1	JQ182554.1
<i>Cissus assamica</i>	KF544863.1	JX476558.1	KF591418.1
<i>Cissus auricoma</i>	–	JX476561.1	JX476866.1
<i>Cissus bahiensis</i>	JX313352.1	JX313384.1	JX313416.1
<i>Cissus barbeyana</i>	–	–	KX131178.1
<i>Cissus biformifolia</i>	–	JX476562.1	–
<i>Cissus blanchetiana</i>	JX313353.1	JX313385.1	JX313417.1
<i>Cissus bosseri</i>	–	KX131172.1	KX131174.1
<i>Cissus cactiformis</i>	–	JX476563.1	JX476868.1
<i>Cissus campestris</i>	JX313354.1	JX313386.1	JX313418.1
<i>Cissus cardiophylla</i>	AY037902.1	JX476564.1	EF179080.1
<i>Cissus cornifolia</i>	KT344595.1	JX476566.1	JF437308.1
<i>Cissus decidua</i>	JX313357.1	JX313389.1	JX313419.1
<i>Cissus descoingsii</i>	JX313356.1	JX313388.1	JX313420.1
<i>Cissus diffusa</i>	–	JX476569.1	JX476871.1
<i>Cissus diffusiflora</i>	KT344596.1	JX476570.1	JX476872.1
<i>Cissus discolor</i>	MW583104.1	JX476572.1	AB235011.1
<i>Cissus duarteana</i>	JX313358.1	JX313390.1	JX313421.1
<i>Cissus elongata</i>	KF544860.1	JX476573.1	KF591415.1
<i>Cissus erosa</i>	JX313355.1	JX313387.1	JF437310.1

<i>Cissus faucicola</i>	—	JX476576.1	JX476874.1
<i>Cissus floribunda</i>	—	JX476577.1	JX476875.1
<i>Cissus gongylodes</i>	JX313359.1	JX313391.1	JX476877.1
<i>Cissus granulosa</i>	—	JQ182590.1	JX476878.1
<i>Cissus hastata</i>	AY037903.1	AB234955.1	AB235012.1
<i>Cissus heyneana</i>	—	HQ214212.1	KF591419.1
<i>Cissus hypoglauca</i>	—	JX476583.1	JX476881.1
<i>Cissus incisa</i>	KX951348.1	AB234956.1	AB235014.1
<i>Cissus integrifolia</i>	KT344600.1	JQ182600.1	JQ182551.1
<i>Cissus javana</i>	—	JQ182641.1	JQ182580.1
<i>Cissus lanea</i>	—	JX476586.1	JX476884.1
<i>Cissus leucophlea</i>	—	JX476587.1	JX476885.1
<i>Cissus madecassa</i>	—	JX476588.1	JX476886.1
<i>Cissus microcarpa</i>	MW583103.1	JX476590.1	JX476887.1
<i>Cissus microdonta</i>	—	JX476591.1	JX476889.1
<i>Cissus modeccoides</i>	—	—	OR142765.1
<i>Cissus neei</i>	JX313360.1	JX313392.1	JX313424.1
<i>Cissus nodosa</i>	—	HQ214205.1	HQ214226.1
<i>Cissus novemfolia</i>	KF544882.1	—	—
<i>Cissus obliqua</i>	JX313382.1	JX313412.1	JX476890.1
<i>Cissus oblonga</i>	AY037904.1	—	EF179083.1
<i>Cissus obovata</i>	MN511174.1	—	—
<i>Cissus oliveri</i>	—	JX476594.1	JX476891.1
<i>Cissus paraensis</i>	JX313361.1	JX313393.1	JX313427.1
<i>Cissus paullinifolia</i>	JX313362.1	JX313394.1	JX313426.1
<i>Cissus penninervis</i>	AF365982.1	—	—
<i>Cissus pentaclada</i>	AY037914.1	—	EF179084.1
<i>Cissus petiolata</i>	—	—	KX131175.1
<i>Cissus phymatocarpa</i>	—	JQ182607.1	JF437311.1
<i>Cissus pileata</i>	—	JQ182613.1	JQ182557.1
<i>Cissus pinnatifolia</i>	JX313379.1	JX313409.1	JX313433.1
<i>Cissus polita</i>	—	JX476598.1	JX476895.1
<i>Cissus polyantha</i>	—	—	KX131176.1
<i>Cissus producta</i>	KT344601.1	JQ182602.1	JF437312.1
<i>Cissus pseudoguierkeana</i>	—	JX476601.1	JX476896.1
<i>Cissus pseudoverticillata</i>	JX313363.1	JX313395.1	JX476897.1
<i>Cissus pulcherrima</i>	JX313364.1	JX313396.1	JX313429.1
<i>Cissus quadrangularis</i>	MW583102.1	JX313408.1	KF591423.1
<i>Cissus quarrei</i>	—	—	JX476899.1
<i>Cissus reniformis</i>	AY037923.1	—	EF179086.1
<i>Cissus repanda</i>	KF544867.1	HQ214198.1	AB235015.1
<i>Cissus repens</i>	KF544865.1	HM585806.1	EF179087.1

<i>Cissus rhodotricha</i>	—	JX476609.1	JX476903.1
<i>Cissus rhombifolia</i>	—	JX476613.1	JX476905.1
<i>Cissus rondoensis</i>	—	KX131170.1	-
<i>Cissus rostrata</i>	—	AB234957.1	AB235016.1
<i>Cissus rotundifolia</i>	KF544869.1	JX476614.1	KF591422.1
<i>Cissus rubiginosa</i>	—	JX476616.1	JX476907.1
<i>Cissus sagittifera</i>	—	JX476617.1	JX476908.1
<i>Cissus sciaphila</i>	—	JX476619.1	JF437316.1
<i>Cissus serroniana</i>	JX313365.1	JX313397.1	JX313430.1
<i>Cissus simsiana</i>	—	JX313398.1	JX476910.1
<i>Cissus smithiana</i>	—	—	KX131177.1
<i>Cissus spinosa</i>	JX313367.1	JX313399.1	JX313435.1
<i>Cissus sterculiifolia</i>	AF365983.1	—	EF179088.1
<i>Cissus stipulata</i>	JX313368.1	—	JX313436.1
<i>Cissus striata</i>	—	JQ182582.1	JF437319.1
<i>Cissus subtetragona</i>	OR199565.1	HM585807.1	HM585947.1
<i>Cissus sulcicaulis</i>	JX313370.1	JX313401.1	JX313438.1
<i>Cissus surinamensis</i>	JX313371.1	JX313402.1	JX313439.1
<i>Cissus sylvicola</i>	—	JX476636.1	JX476924.1
<i>Cissus tiliacea</i>	JX313381.1	JX313411.1	JX313440.1
<i>Cissus tiliifolia</i>	—	KX131171.1	KX131173.1
<i>Cissus tinctoria</i>	JX313372.1	JX313403.1	JX313414.1
<i>Cissus trianae</i>	JX313373.1	JX476637.1	JX476925.1
<i>Cissus trifoliata</i>	MW583101.1	JX476638.1	JX476926.1
<i>Cissus trothae</i>	—	JX476640.1	JF437318.1
<i>Cissus tuberosa</i>	MW583100.1	JX476641.1	JX476927.1
<i>Cissus tweediana</i>	AY998779.1	—	EF179089.1
<i>Cissus ulmifolia</i>	JX313374.1	JX313404.1	JX476928.1
<i>Cissus verticillata 1</i>	KT344608.1	JX4766501	JQ182542.1
<i>Cissus verticillata 2</i>	JX313375.1	JQ1825891	JX476933.1
<i>Cissus verticillata 3</i>	—	JX4766491	JX476932.1
<i>Cissus verticillata 4</i>	—	JX4766481	HM585948.1
<i>Cissus verticillata 5</i>	—	JX4766441	JF437317.1
<i>Cissus verticillata 6</i>	—	JX3134051	JX476931.1
<i>Cissus verticillata 7</i>	—	JX4766471	JX476930.1
<i>Cissus verticillata 8</i>	—	JX4766461	JX313443.1
<i>Cissus verticillata 9</i>	—	JX4766451	—
<i>Cissus verticillata 10</i>	—	JX4766431	—
<i>Cissus verticillata 11</i>	—	HM5858081	—
<i>Cissus vinosa</i>	AY037905.1	—	EF179090.1
<i>Cissus welwitschii</i>	—	JX476651.1	JX476934.1
<i>Cissus wenshanensis</i>	—	HM585809.1	HM585949.1
<i>Cissus woodrowii</i>	—	—	KF591425.1
<i>Leea indica</i>	F544876.1	JF437334.1	HM585813.1

<i>Leea aculeata</i>	JN160911.1	AB235087.1	AB234978.1
<i>Leea guineensis</i>	MW583087.1	JQ182549.1	JX476657.1

Alinhamentos de cada gene foram feitos no MAFFT v.7.53 (Katoh e Standley, 2013) com parâmetros padrão. As regiões cloroplastídias de *rps16* e *trnL-F* foram concatenadas no software MEGA4 (Tamura et al., 2007) e analisadas em conjunto. O gene ITS foi analisado separadamente por ser nuclear.

As análises filogenéticas foram conduzidas utilizando os métodos de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (BI). Para ML, foi utilizado o IQ-Tree 2 (Trifinopoulos et al., 2016) com *Ultrafast bootstrapping* (1.000 pseudoréplicas) (Hoang et al., 2018). A BI foi realizada no MrBayes v.3.2.6 (Ronquist et al., 2012) utilizando MCMCMC: árvores iniciais aleatórias, $\sim 5 \times 10^9$ gerações, amostragem a cada 100 árvores, duas execuções com quatro cadeias cada. As árvores foram consideradas apenas com *stationary* ($<0,01$), descartando 25% das árvores iniciais (*burn-in*). O modelo GTR + G + I foi selecionado pelo Critério de Informação de Akaike (AIC) (mrmodeltest; Nylander, 2004). As árvores foram editadas no iTOL v.4.0 (Letunic e Bork, 2019).

3.9. Distância genética par a par

A matriz de distância genética foi construída no PAUP* (*Phylogenetic Analysis Using Parsimony*) a partir das sequências cloroplastídias (*rps16* e *trnL-F*) e nucleares (ITS) dos acessos de *C. verticillata* e espécies relacionadas. Os alinhamentos de cada gene foram feitos no MAFFT v.7.53 (KATO; STANDLEY, 2013) e convertidos para o formato NEXUS no ALTER (*Alignment Transformation Environment*) (Glez-Peña et al., 2010).

A matriz utilizou o modelo de dois parâmetros de Kimura (K2P), sendo os valores analisados para estimar a proximidade genética entre os acessos, modelo o qual mais se ajustou aos dados.

3.10. Quantificação de cera

A quantificação da cera foi realizada em oito folhas por acesso, coletadas de plantas descritas no item 3.2, sendo a extração conduzida na folha inteira. A

área foliar de cada folha foi determinada previamente à extração da cera, utilizando o medidor de área foliar LI-COR, modelo LI-3100, e a massa fresca destas foi obtida em balança analítica com até quatro casas decimais. As análises foram iniciadas 30 minutos após a coleta das folhas.

A extração da cera epicuticular seguiu a metodologia descrita por Hamilton (1995), com adaptações propostas por Wertz (1996). As folhas foram destacadas das plantas e imersas por 30 segundos em 100 mL de clorofórmio, em béqueres, com agitação suave para evitar danos às células foliares. Em seguida, a solução contendo clorofórmio e ceras foi transferida para frascos de 80 mL de massa previamente conhecida e deixada em temperatura ambiente até completa evaporação do solvente.

Os frascos foram então pesados em balança analítica com precisão de 0,0001 g, e a quantidade de cera foi expressa em microgramas por centímetro quadrado de área foliar ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e em $\mu\text{g}/\text{massa fresca (g)}$ das folhas.

3.11. Aspectos germinativos de *Cissus verticillata*

Considerando a infestação e disponibilidade de material vegetal para coleta, foi padronizado um único acesso para os ensaios subsequentes de germinação e controle. Para isso, optou-se pelo acesso 4, proveniente da Fazenda Bela Vista, localizado no município de Olímpia (SP).

Previamente aos testes de germinação, foram realizadas análises biométricas das sementes de *C. verticillata* coletadas, como a medição do diâmetro com o auxílio de um paquímetro (mm), utilizando uma amostra de 50 sementes. As sementes foram separadas aleatoriamente a partir de uma amostra composta e utilizadas para a determinação da massa de mil sementes (MMS), com base em dez subamostras de 100 sementes. A partir dessas, alíquotas de 50 sementes foram utilizadas por repetição dos testes, conforme os procedimentos descritos por Brasil (2009). A média do MMS obtida foi de 28,4 g.

Por fim, foram registradas todas as fases do processo germinativo com o auxílio de uma lupa, desde a ruptura do tegumento até a formação dos dois primeiros cotilédones.

3.12. Influência da temperatura na germinação

O ensaio seguiu um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (T1-25 °C, T2- 30 °C, T3- 35 °C diurno/30 °C noturno e T4- 35°C) e cinco repetições. As unidades experimentais consistiram em uma caixa plástica gerbox (11x11x3,5 cm), sendo que em cada gerbox foi semeada 25 sementes. As sementes foram colocadas sobre uma camada areia umedecida com água destilada e comprimidas contra a superfície da mesma. O experimento foi conduzido em incubadoras do tipo CDG (Câmara de Germinação) reguladas para fotoperíodo de 16/8 h de luz/escuro, respectivamente, com irradiância de $\pm 52 \mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, seguindo procedimento descrito para uva (também Vitaceae) por Val et al. (2010) e para *C. verticillata* (Silva et al., 2007), uma vez que não existe protocolo padrão descrito nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) para esta espécie.

O número de sementes germinadas foi registrado diariamente, sendo encerrado o experimento após o estabelecimento de uma semana sem nenhuma semente germinada. As sementes foram consideradas germinadas quando apresentaram a emissão de no mínimo 2 mm de radícula (Lima et al., 1993). As sementes que não germinaram foram submetidas ao teste de tetrazólio (Brasil, 2009).

Foram avaliados o percentual de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) (Brasil, 2009). Para o cálculo do índice de velocidade de germinação foi utilizado a metodologia de Maguire (1962), Equação (I):

$$(I) \quad IVG = N_1/D_1 + N_2/D_2 + \dots + N_n/D_n$$

Onde: IVG = índice de velocidade de emergência;

N = números de plântulas verificadas no dia da contagem;

D = números de dias após a semeadura em que será realizada a contagem.

3.13. Influência da qualidade da luz incidente na germinação

Para este ensaio, foi padronizada a temperatura ótima para germinação mais rápida, obtida no ensaio anterior através do maior IVG e %G, equivalente a 35°C. Dessa forma, o ensaio seguiu um DIC composto por cinco tratamentos (T1-vermelha (590-630nm), T2-azul (440-450nm), T3-verde (520-530nm), T4-

branca (440-495nm) e T5-ausência de luz (0nm)) e cinco repetições. As unidades experimentais consistiram em uma caixa plástica gerbox (11x11x3,5 cm), sendo que em cada gerbox foi semeada 25 sementes.

Os filtros foram preparados com papel celofane de diferentes cores, correspondentes aos tratamentos, sendo utilizado papel celofane transparente (luz branca) como testemunha. Cada filtro foi fixado hermeticamente sobre caixas plásticas do tipo gerbox, assegurando isolamento óptico das sementes em germinação. A caracterização espectral da luz transmitida por cada filtro foi realizada com auxílio de um espectrorradiômetro SpectraPen (modelo SP), obtendo-se os valores de densidade de fluxo de fótons, irradiância e iluminância por faixa de comprimento de onda (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros espectrais registrados pelo espectrorradiômetro para os diferentes tratamentos, com base nos comprimentos de onda adotados.

Tratamento	Faixa (nm)	Fluxo de fótons ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Irradiância (W m^{-2})	Iluminância (lux)
Vermelho	590–630	4,2	0,80	184,6
Azul	440–450	2,1	0,49	143,9
Verde	520–530	2,8	0,63	262,4
Branca	440-595	12,7	2,69	924,4
Escura	—	—	—	—

As sementes foram dispostas sobre areia umedecida com água destilada 2,5 vezes a massa das sementes. O experimento foi realizado em uma incubadora do tipo CDG.

Os registros de germinação foram realizados diariamente, contando-se o número de sementes germinadas, com o propósito de determinar a taxa de germinação ao longo da duração do experimento. As sementes que não germinaram foram submetidas ao teste de tetrazólio (Brasil, 2009).

3.14. Influência da profundidade de semeadura na germinação e emergência

O ensaio seguiu um delineamento inteiramente casualizado (DIC) composto por cinco tratamentos correspondendo a profundidades de deposição das sementes de *C. verticillata* (T1-1; T2-3; T3-5; T4-7; T5-10 cm) e cinco repetições. As unidades experimentais foram compostas por vasos de 3 litros que foram preenchidos com solo peneirado e retirado da camada arável (0-20 cm) de um Latossolo Vermelho Escuro em mistura com areia na proporção de 2:1 (v:v) (Tabela 4).

Tabela 4. Análise química de uma amostra do solo utilizado no experimento.

pH	M.O.	P	S	Ca	Mg	K	Al	H+Al	Soma Bases	CTC	V%	m%
								SMP	S.B.			
CaCl ₂	g dm ⁻³	---	mg dm ⁻³ --	-----mmol _c dm ⁻³ -----								
6,0	12	21	13	21	10	2,3	0	18	32,8	51	64	0

Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação, com irrigação controlada para manter a umidade do solo e assegurar o processo de germinação das sementes. Após a semeadura nas diferentes profundidades, foi realizada a irrigação para que a superfície do solo fosse homogeneizada e pressionada, visando melhorar o contato das sementes com o solo.

A emergência da planta daninha foi avaliada diariamente até o 95º dia após o plantio (DAP). Foram avaliados o percentual de emergência (%E) e índice de velocidade de emergência (IVE) (Brasil, 2009). O cálculo para IVE é semelhante ao demonstrado no item 2.5.1. (Equação I). Nessa ocasião, procurou-se recuperar as sementes não germinadas, que foram submetidas ao teste de tetrazólio (Brasil, 2009).

3.15. Controle em pós-emergência

Para este experimento, foram utilizadas exclusivamente sementes do acesso 4 (Olímpia, São Paulo), devido à [disponibilidade de material vegetal para coleta.

Dessa forma, o experimento de controle químico foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com oito tratamentos e cinco repetições, sendo aplicados em dois estádios fenológicos, conforme descrito na Tabela 5.

Tabela 5. Descrição dos tratamentos com herbicidas pós-emergentes.

Tratamentos	Ingrediente Ativo (i.a.)	Nome Comercial	Dose (g i.a. ha ⁻¹)*
T1	Saflufenacil	Heat	70
T2	Tiafenacil	ConfianteBR	118,65
T3	Carfentrazone	Aurora	50
T4	Glifosato	Zapp QI 620	2160
T5	Glufosinato de amônio	Finale	400
T6	Diquat	Reglone	500
T7	Chlorimuron	Classic	20
T8	Testemunha	-	-

*Adição de 0,5% de óleo Assist na calda de pulverização, conforme necessidade. Todas as doses utilizadas foram baseadas na recomendação do controle de plantas daninhas eudicotiledôneas na cultura dos citros, conforme recomendação do fabricante (Agrofit, 2025).

As unidades experimentais foram constituídas de vasos de polietileno com capacidade para 3 L que foram preenchidos com substrato comercial da marca Bioplant ® (composto por turfa de *Sphagnum*, fibra de coco, casca de arroz, casca de Pinus, vermiculita, gesso agrícola, carbonato de cálcio, magnésio, termofosfato magnesiano (Yoorin) e aditivos (fertilizantes)). As sementes foram semeadas a uma profundidade de 3 cm e quando atingiram uma média de 4-6 folhas/planta e 26-28 folhas/planta foram realizadas as aplicações dos tratamentos descritos na Tabela 5. Em seguida, os vasos foram mantidos na área anexa do laboratório, exposto as condições climáticas ambientais, sendo os dados meteorológicos extraídos do acervo da área de Agrometeorologia do Departamento de Ciências Exatas da UNESP/FCAV (Figura 3).

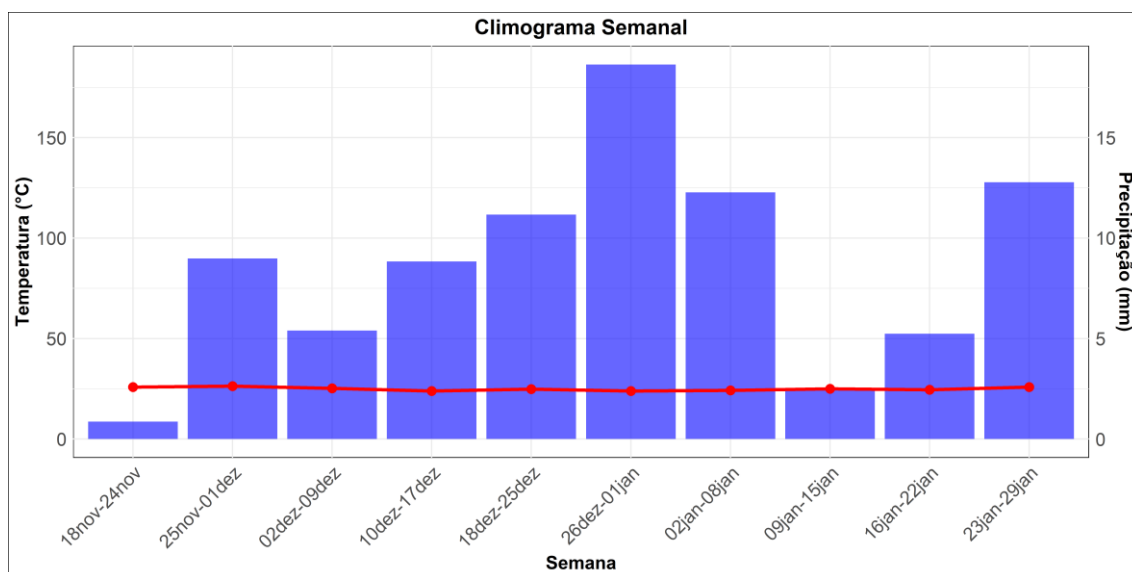


Figura 3. Médias semanais de temperatura e precipitação para o ensaio de controle em pós-emergência no período de 18 de novembro de 2024 a 29 de janeiro de 2025. **Fonte:** Estação Agroclimatológica da FCAV (2025).

Os tratamentos foram aplicados com um pulverizador costal pressurizado com CO₂, provido de barra de pulverização contendo dois bicos tipo leque Teejet 110.02 e com volume de aplicação de 200 L ha⁻¹. As condições ambientais durante a aplicação, temperatura, umidade relativa do ar e velocidade do vento foram registradas com auxílio de um termo-higroanemômetro, sendo: 26,6 °C, 55% UR e 0 m s⁻¹, respectivamente.

Foram realizadas avaliações aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias após a aplicação (DAA) da porcentagem de controle por meio de notas visuais, baseadas nos critérios da ALAM (1974), que utiliza uma escala percentual em que 0 corresponde à ausência de controle e 100% à morte das plantas. Aos 56 dias, as plantas remanescentes foram avaliadas quanto à altura (cm) e ao número de folhas. Em seguida, foram cortadas rente ao solo e levadas a uma estufa com circulação de ar forçado a 65°C por 96 horas, para obtenção da massa seca da parte aérea.

3.16. Análises estatísticas

Todos os dados obtidos nos experimentos de morfologia, germinação e controle foram inicialmente submetidos à verificação da normalidade pelo teste

de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) e da homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett ($p > 0,05$). Após a confirmação desses pressupostos, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste F, utilizando o software R (R Core Team, 2021).

Os dados de morfologia, incluindo altura das plantas (cm), diâmetro do caule principal (cm), área foliar (cm²) e densidade estomática obtida por microscopia eletrônica de varredura (número de estômatos/mm²), foram comparados pelo teste de tukey ao nível de 5% de significância.

Os dados do índice de velocidade de germinação (IVG), nos ensaios de temperatura e qualidade de luz, e do índice de velocidade de emergência (IVE), nos ensaios de profundidade, foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando constatado efeito significativo, ajustaram-se curvas de regressão ao modelo logístico não linear proposto por Streibig (1988), conforme a Equação II, utilizando o software SigmaPlot:

$$(II): y = \frac{1}{1 + \exp\left(-\frac{x-b}{c}\right)} \cdot a$$

Em que y é a variável resposta, x é o número de dias acumulados, a representa a amplitude entre os valores máximo e mínimo da variável, b é o ponto de inflexão da curva correspondente ao número de dias necessários para atingir 50% da resposta, e c é a declividade da curva ao redor de b.

A porcentagem de germinação (%G) foi analisada por comparação de médias pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, quando os tratamentos foram qualitativos (temperatura e qualidade de luz), e por regressão quando quantitativos (profundidade de semeadura).

Para o experimento de controle, a porcentagem (%) de controle foi analisada pelo modelo fatorial dias × tratamento, enquanto os parâmetros biométricos (altura da planta (cm), número de folhas e massa seca da parte aérea (g)) foram comparados apenas entre os tratamentos. Quando apropriado, as médias foram comparadas pelo teste de tukey ao nível de 5% de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análises morfológicas

A caracterização morfológica dos acessos de *Cissus verticillata* não apresentou diferenças significativas entre os caracteres analisados, abrangendo aspectos macroscópicos, como tipo de folha, flores, frutos e estruturas de fixação, como gavinhas (Figuras 4, 5, 6 e 7), conforme descrito previamente na literatura (Lombardi, 2000; Rzedowski, 2001; Rzedowski, 2005; Oliveira et al., 2012; Souza e Lorenzi, 2019).

Todos os espécimes analisados apresentaram hábito lianescente (Figuras 4a, 5a, 6a e 7a), com gavinhas de coloração verde, dispostas em posição oposta às folhas e atuando como estruturas de fixação (Figuras 4a, 5c, 6c e 7c). As folhas são simples, pecioladas, de limbo cordiforme, com ápice acuminado e base cordada, margens dentadas e lâmina inteira, localizadas alternas (Figuras 4b, 5b, 6b e 7c). Em alguns acessos (2 e 3), observou-se a emissão de raízes aéreas (Figuras 5d e 6d), característica que, em condições de campo, confere agressividade à espécie em função da dificuldade na retirada manual das plantas.

A inflorescência é classificada como corimbiforme, composta por flores pequenas, pouco vistosas e de coloração brancas a amarelas, encontrando-se localizadas opostas as folhas (Figuras 4c, 5e, 6f e 7d). Os frutos são do tipo baga, inicialmente verdes e medindo em média 4 mm (Figuras 3d, 4f e 5e). Quando maduros, tornam-se carnosos, com cerca de 5 mm de diâmetro, coloração roxo-enegrecida e apresentam uma única semente no interior (Figuras 4d e 7e).

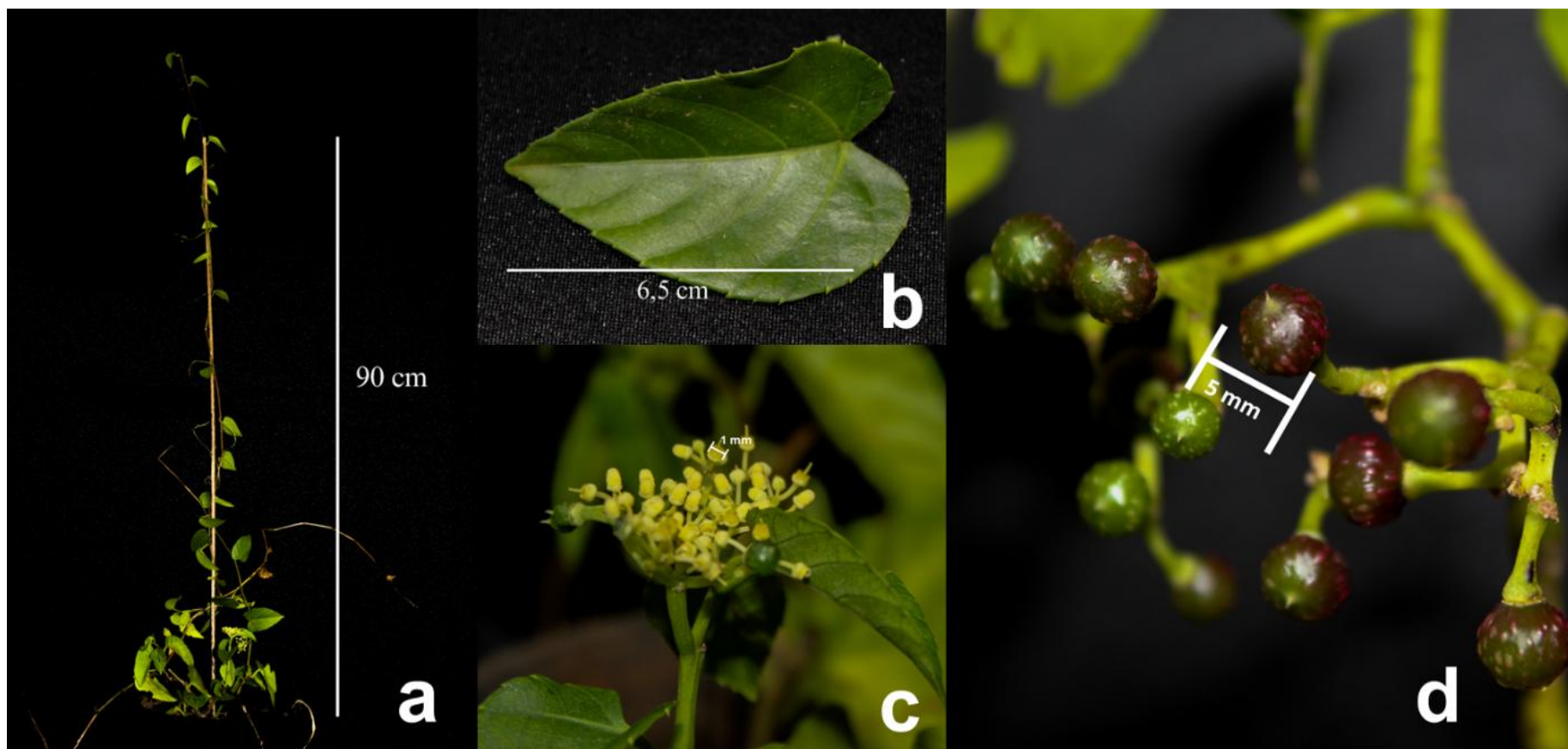


Figura 4. Registros fotográficos do acesso 1 de *Cissus verticillata* – localização: Fazenda Rio Cortado. a) planta inteira; b) detalhes da folha e suas margens dentadas; c) inflorescência; d) frutos imaturos e em início de maturação. **Fonte:** autoria própria.

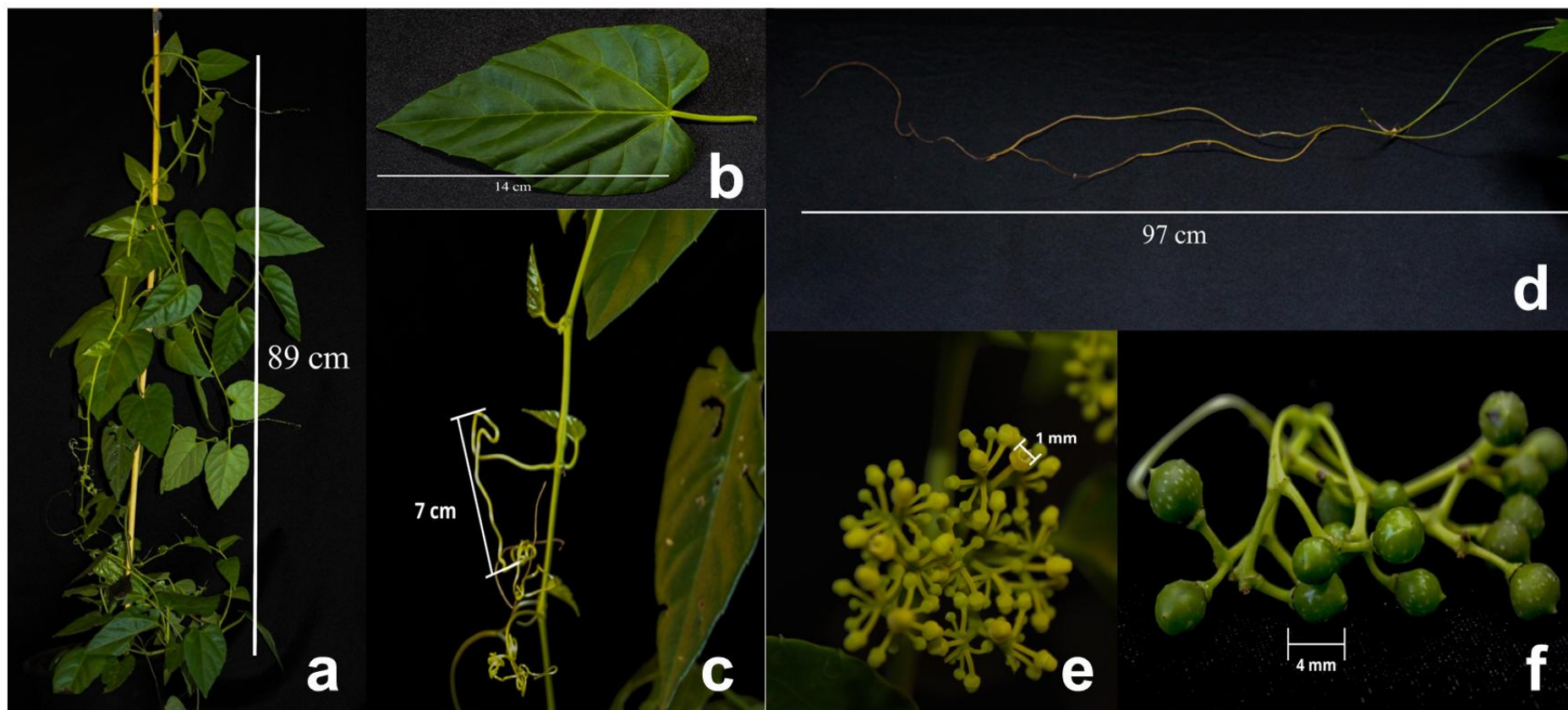


Figura 5. Registros fotográficos do acesso 2 de *Cissus verticillata* – localização: Getulina. a) planta inteira; b) detalhe da folha e suas margens dentadas; c) presença de gavinhas; d) raízes aéreas; e) inflorescência; f) frutos imaturos. **Fonte:** autoria própria.

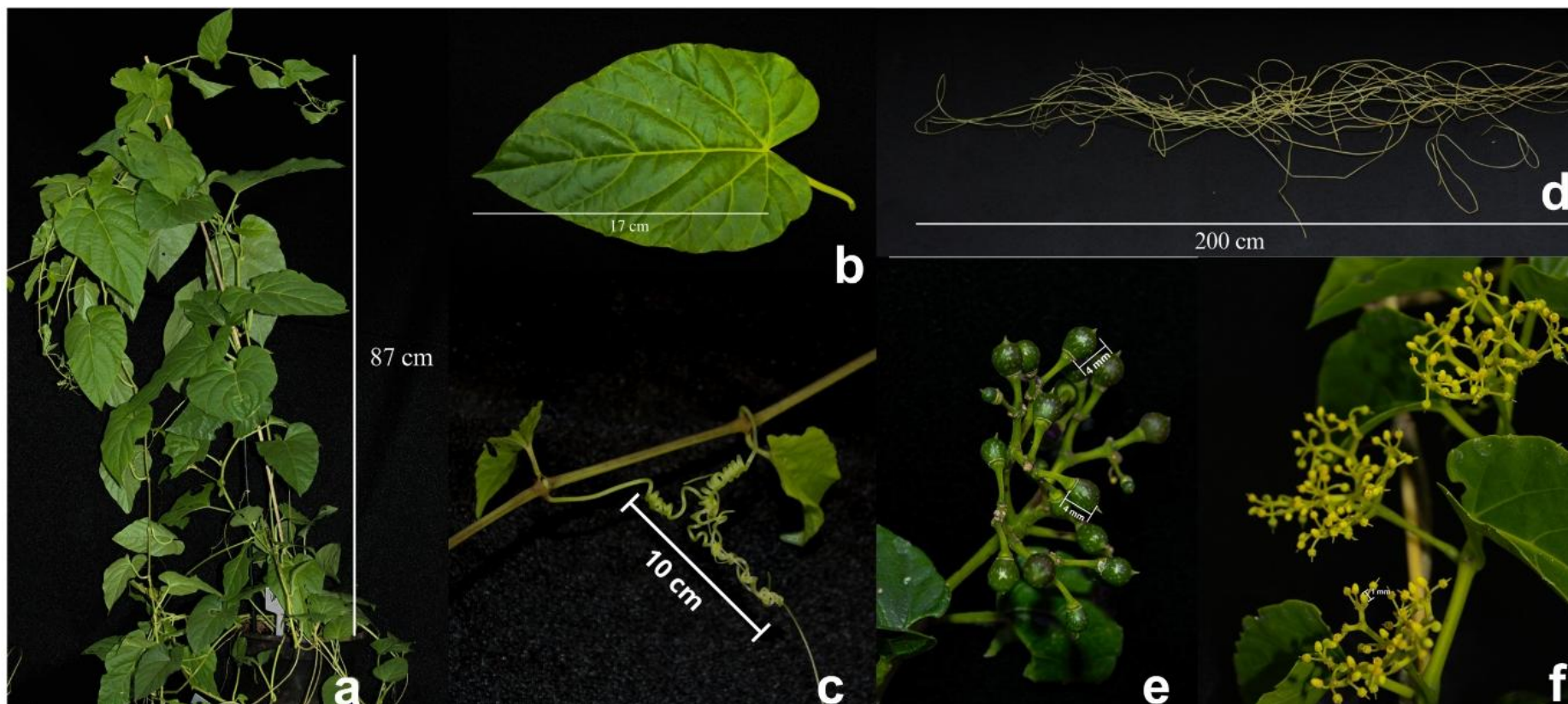


Figura 6. Registros fotográficos do acesso 3 de *Cissus verticillata* – localização: Jaboticabal, UNESP. a) planta inteira; b) detalhe da folha e suas margens denteadas; c) presença de gavinhas; d) raízes aéreas; e) frutos imaturos; f) inflorescência. **Fonte:** autoria própria.

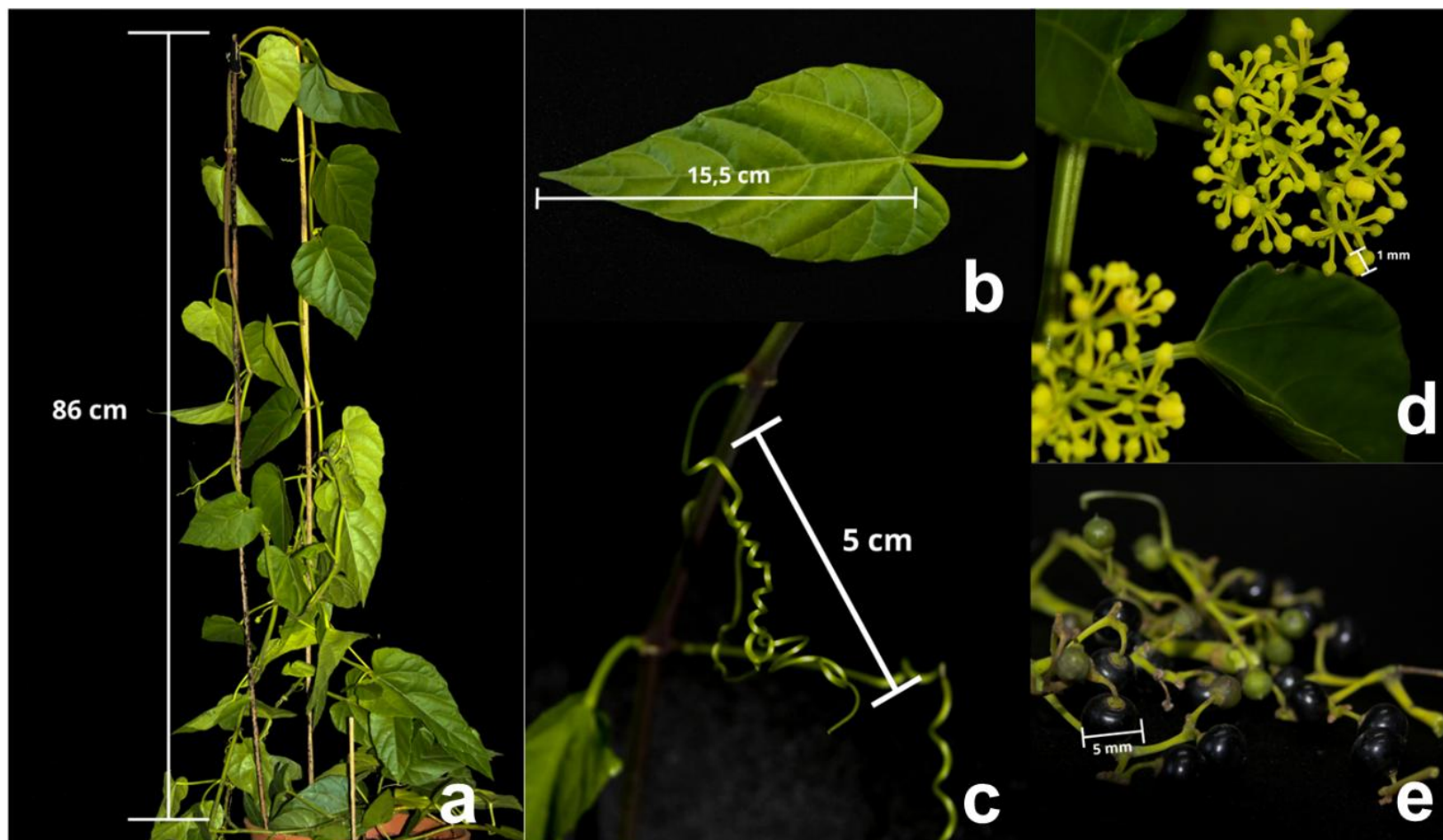


Figura 7. Registros fotográficos do acesso 4 de *Cissus verticillata*– localização: Olímpia, Fazenda Bela Vista. a) planta inteira; b) detalhes da folha e suas margens dentadas; c) presença das gavinhas; c) inflorescência; d) inflorescência; e) frutos maduros. **Fonte:** autoria própria.

Após 120 do transplantio das estacas, características biométricas dos acessos, como altura da planta, diâmetro do caule e área foliar, também não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os acessos (Figuras 8a, 8b e 8c). Os valores observados variaram de 153 a 220 cm para altura, de 0,34 a 0,48 cm para diâmetro do caule e de 13,45 a 22,00 cm² para área foliar, indicando uniformidade entre os indivíduos analisados.

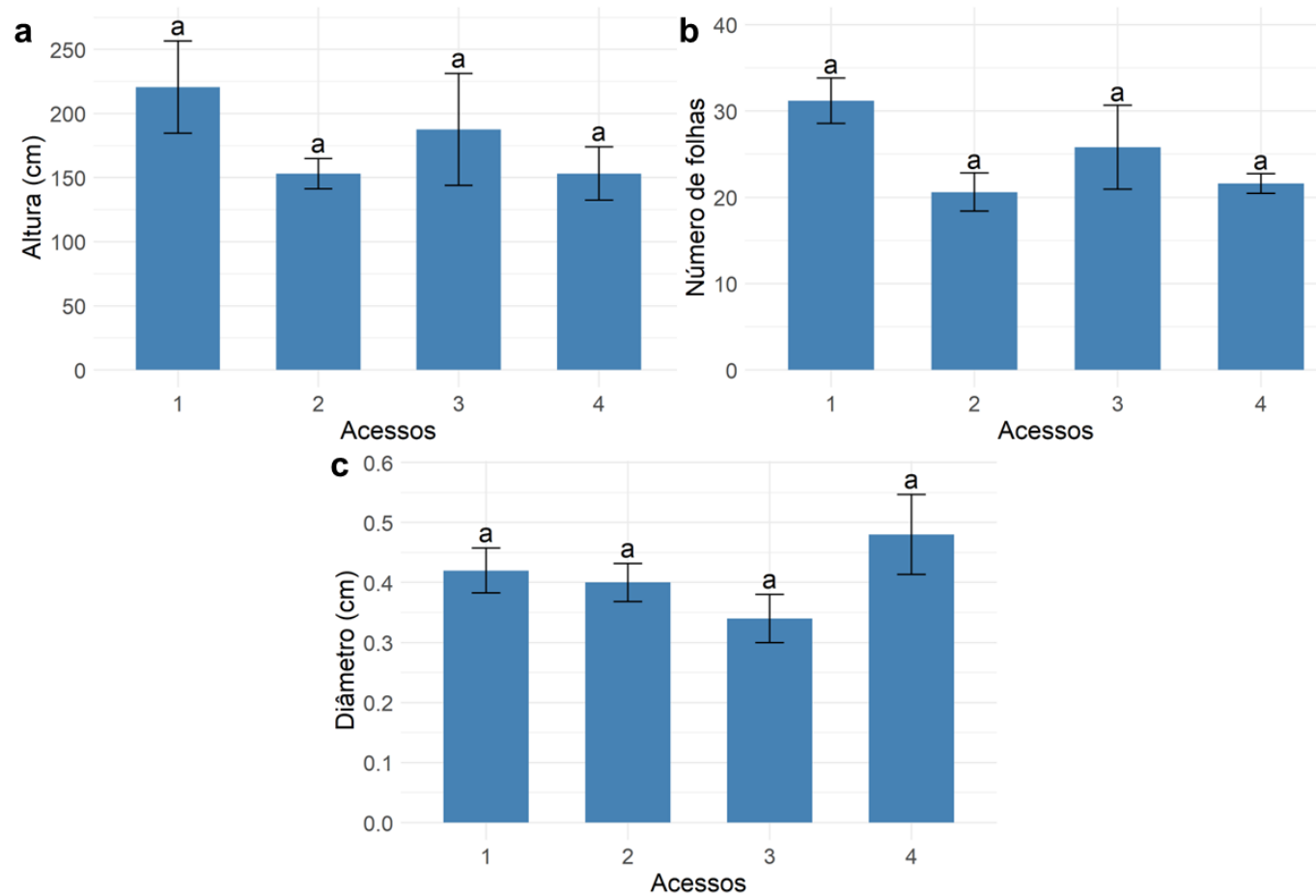


Figura 8. Características biométricas dos acessos de *Cissus verticillata* aos 90 dias após o transplântio: a) altura (cm); b) diâmetro do caule (cm); c) área foliar (cm²). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, segundo o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Portanto, não foram observadas diferenças morfológicas entre os acessos de *C. verticillata* avaliados neste estudo, indicando alta similaridade fenotípica. Entre as características analisadas, destacam-se atributos intrínsecos que contribuem para seu potencial invasivo, especialmente em pomares de citros, como o hábito trepador e a presença de gavinhas, que permitem escalar plantas e estruturas próximas (Acevedo-Rodríguez e Strong, 2012). Destaca-se que essa espécie, dependendo das condições, pode atingir até 10 metros de comprimento (Acevedo-Rodríguez, 2005).

Outro aspecto de importância refere-se à formação de raízes adventícias, pois lianas cortadas no dossel podem emitir raízes em direção ao solo, capazes de se restabelecer (Pettit, 2016), como já reportado para essa espécie aqui no Brasil (Christoffoleti et al., 2023). Em pomares de citros, o rápido crescimento e a alta densidade do dossel promovem sombreamento intenso, prejudicando outras espécies e, em casos extremos, podendo levar à morte das plantas por competição por luz, em função da área fotossintética da cultura e, também, por recursos do meio, como água, nutrientes e espaço (Drobnik e De Oliveira, 2015). Situações semelhantes foram registradas em pomares da Flórida e em ecossistemas ripários, onde *C. verticillata* sufocou espécies como *Quercus virginiana* (carvalho-vivo), *Salix nigra* (salgueiro-negro) e *Carica papaya* (mamão) (French et al., 2003).

4.2. Microscopia Eletrônica de Varredura

As análises em microscopia eletrônica de varredura demonstraram que a epiderme dos quatro acessos de *C. verticillata* é recoberta por uma cutícula ornamentada com estriações, apresentando estômatos em ambas as faces foliares, caracterizando a espécie como anfiestomática, com estômatos do tipo anomocítico (Figuras 9, 10, 11 e 12).

No acesso 1, tricomas tectores foram observados próximo das margens foliares (Figura 8G), além de estômatos próximos a essas regiões e à nervura mediana, bem como deposição de cera epicuticular (Figura 9B, 9C, 9E e 9F). No acesso 2, não foram registrados tricomas na superfície foliar, sendo observados apenas estômatos distribuídos em ambas as faces (Figura 10). No acesso 3, tricomas glandulares multicelulares foram identificados na face adaxial,

associados à região estomática, além da presença de tricomas tectores próximos às margens das folhas (Figuras 11A e 11G). Já no acesso 4, não foram observados tricomas, destacando-se a ocorrência de estômatos distribuídos em toda a superfície foliar (Figuras 12B e 12E).

Quanto à análise da densidade estomática, verificou-se variação entre os acessos de *C. verticillata*. Na face adaxial, o acesso 4 apresentou a maior densidade (140 estômatos/mm²), estatisticamente igual aos acessos 2 (94,60 estômatos/mm²) e 3 (61,66 estômatos/mm²), enquanto o acesso 1 apresentou o menor valor (Figura 13a). Na face abaxial, o acesso 1 manteve a menor densidade (34,43 estômatos/mm²), diferenciando-se dos demais. O acesso 3 destacou-se com o maior número de estômatos (461,67 estômatos/mm²), enquanto os acessos 2 e 4 apresentaram-se estatisticamente iguais (142,75 e 140,01 estômatos/mm², respectivamente) (Figura 13b).

As características morfoanatômicas da superfície foliar de *C. verticillata* já foram reportadas em estudos etnofarmacológicos, nos quais suas folhas foram descritas como anfiestomáticas, apresentando estômatos anomocíticos e cutícula estriada recobrimdo as células estomáticas (Oliveira et al., 2012; Gondim et al., 2019). Essas características conferem particularidades funcionais relacionadas ao controle da transpiração e à proteção da superfície foliar (Taiz e Zeiger, 2021).

Além disso, a presença de tricomas tectores já foi descrita tanto em espécies do gênero *Cissus* (Navarro, 2009) quanto especificamente em *C. verticillata* (Oliveira et al., 2012). Tais estruturas desempenham papel importante na proteção contra fatores externos adversos, incluindo herbivoria, patógenos, excesso de radiação solar, altas temperaturas e perda excessiva de água, atuando como um mecanismo adaptativo (Callow et al., 2000). A presença de tricomas glandulares, conforme observado para o acesso 3 (Figura 11A), está relacionada a uma defesa química através da liberação de substâncias lipofílicas (Valkama et al., 2003).

A adaptação de *C. verticillata* em regiões de clima quente, como a região Noroeste do estado de São Paulo, pode estar diretamente associada aos atributos morfológicos previamente descritos, em combinação com as condições ambientais locais, caracterizadas por temperaturas máximas médias diárias acima de 30 °C, sendo outubro o mês mais quente, e precipitação anual média

em torno de 1.200 mm (Estação Meteorológica/Fcav, 2025). Em particular, o caráter anfiestomático das folhas, com maior densidade estomática na epiderme abaxial, constitui uma estratégia adaptativa de plantas expostas à plena radiação solar (Wall et al., 2022), permitindo otimização da fotossíntese por meio de maior eficiência na troca gasosa e contribuindo simultaneamente para a regulação da perda hídrica (Pan et al., 2022).

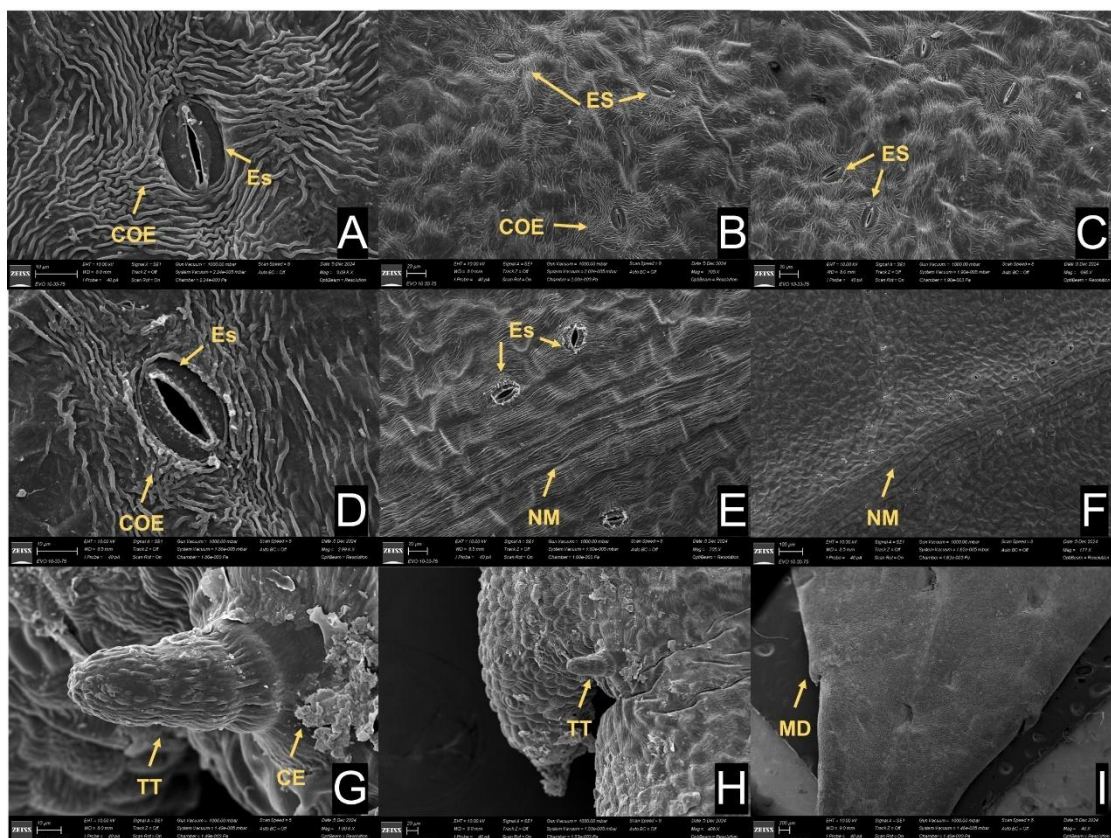


Figura 9. Caracterização foliar de *Cissus verticillata* – acesso 1, localização: Olímpia, SP, Fazenda Rio Cortado. (A–C) Face adaxial; (D–F) Face abaxial; (G–I) Margem foliar. **Legenda:** Es – Estômato; COE – Cutícula ornamentada estriada; TT – Tricomas tectores multicelulares; CE – Cera epicuticular; MD – Margem dentada; NM – Nervura mediana.

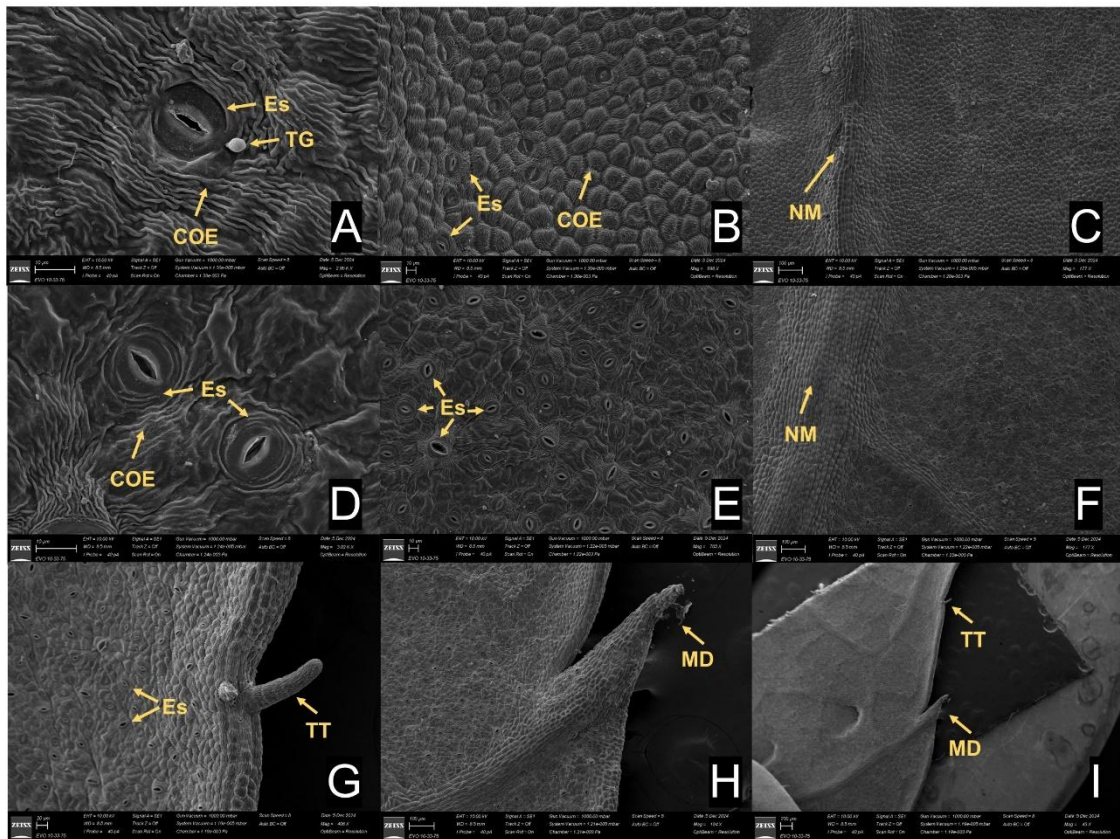


Figura 11. Caracterização foliar de *Cissus verticillata* – acesso 3, localização: Jaboticabal, SP, UNESP. (A–C) Face adaxial; (D–F) Face abaxial; (G–I) Margem foliar. **Legenda:** Es – Estômato; COE – Cutícula ornamentada estriada; TT – Tricomas tectores multicelulares; TG – Tricoma glandular; MD – Margem dentada; NM – Nervura mediana.

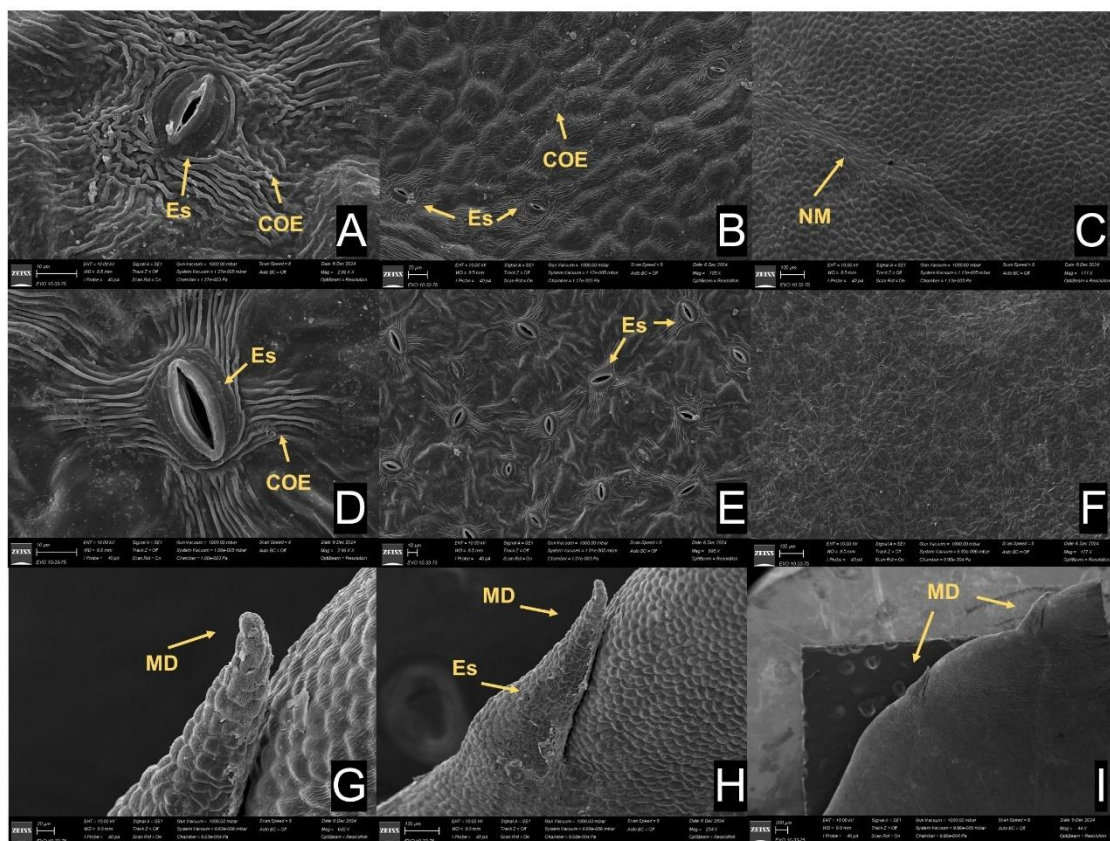


Figura 12. Caracterização foliar de *Cissus verticillata* – acesso 4, localização: Olímpia, SP - Fazenda Bela Vista. (A–C) Face adaxial; (D–F) Face abaxial; (G–I) Margem foliar. **Legenda:** Es – Estômato; COE – Cutícula ornamentada estriada; MD – Margem dentada; NM – Nervura mediana.

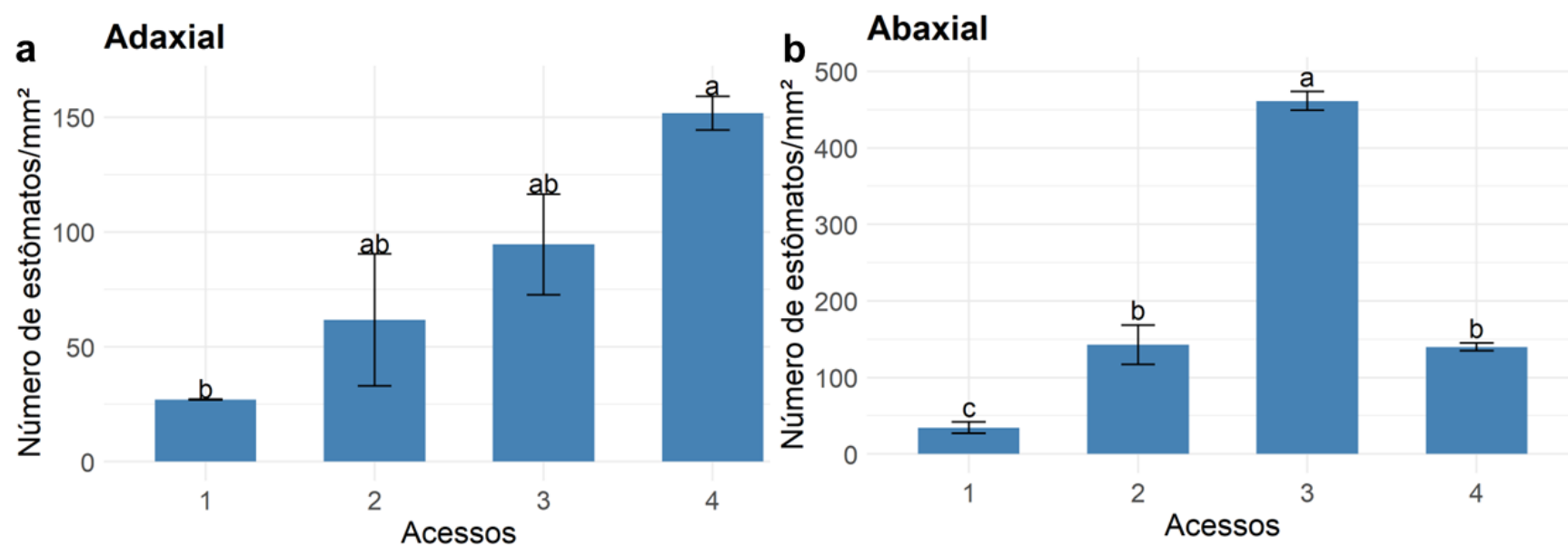


Figura 13. Densidade estomática da superfície adaxial (a) e abaxial (b) para cada acesso de *Cissus verticillata*.

4.3. Análises filogenéticas e distância par a par

As análises filogenéticas baseadas nos marcadores cloroplastidiais (*rps16* e *trnL-F* concatenados) confirmaram que os acessos estudados pertencem ao complexo *C. verticillata*, mas não formaram um grupo monofilético (Figura 14). A inferência bayesiana e a máxima verossimilhança resultaram em uma árvore bem suportada, com elevados valores de probabilidade posterior (PP = 100) e bootstrap ultrarrápido (UF = 99) nos grupos internos. Entre si, os acessos apresentaram um arranjo parafilético. No entanto, ao serem comparados com as sequências de *C. verticillata* depositadas no NCBI (*C. verticillata* 7, 8, 9 e 10), o conjunto passou a configurar uma disposição polifilética (PP=66; UF=57) (Figura 14), sugerindo diversidade genética entre populações de diferentes localidades.

A distância genética na análise do marcador *trnL-F* reforçou essa homogeneidade entre os acessos, uma vez que todos compartilharam sequências idênticas ($d = 0,00000$) (Figura 16a; ver Apêndice I para a matriz completa). Apesar da separação geográfica e da presença do Rio Tietê na região (Figura 2), o marcador *rps16* indicou alta similaridade genética entre os acessos 1, 2 e 4, com distância nula ($d = 0,00000$). Já o acesso 3 apresentou uma pequena diferenciação em relação aos demais, com distâncias variando entre $d = 0,00230$ e $d = 0,00244$ (Figura 16b; ver Apêndice II para a matriz completa).

A análise do marcador nuclear ITS também indicou relação próxima entre os acessos estudados e sequências de *C. verticillata* do GenBank. A árvore filogenética mostrou que os acessos formam entre si um clado monofilético exclusivo (PP = 90; UF = 70), inserido em um agrupamento mais amplo polifilético para o táxon *C. verticillata*, que inclui *C. verticillata* 1 e 2 e outras espécies, como *C. pseudoveticillata*, *C. assamica* e *C. amazonica* (PP = 67; UF = 54) (Figura 15).

A matriz de distância genética para o marcador ITS reforça essa proximidade, com baixa diferenciação entre os acessos ($d = 0,00678$ – $0,02865$) (Figura 16c; ver Apêndice III para a matriz completa). A menor distância genética foi entre os acessos 3 e 4 ($0,00678$), enquanto a maior ocorreu entre os acessos 1 e 4 ($0,02865$).

Embora os indivíduos apresentem elevada similaridade fenotípica, as análises genéticas revelaram variações sutis, observadas pelos agrupamentos

nos cladogramas e pelas distâncias par a par. Tais diferenças podem estar relacionadas a mutações e processos de diferenciação genética, refletindo as suas formas de reprodução. Nas áreas de citros avaliadas, os indivíduos se originaram majoritariamente por reprodução sexuada, em um cenário de ornitocoria favorecida pelos frutos carnosos e atrativos às aves (Smith, 2010). Esse mecanismo não apenas assegura o fluxo gênico, como também sustenta a hipótese de polifilia e a ocorrência de múltiplos ecótipos adaptados a diferentes condições ambientais (Rodrigues et al., 2014; Liu et al., 2013).

Na filogenia, o gênero *Cissus* não é monofilético. Estudos anteriores mostraram polifilia em várias espécies, incluindo *C. antarctica*, *C. hypoglauca* e *C. oblonga* (Rossetto et al., 2002; Soejima e Wen, 2006; Wen et al., 2007; Liu et al., 2013; Rodrigues et al., 2014), possivelmente relacionada à diversidade morfológica e à ampla distribuição geográfica (~350 espécies distribuídas na África, Américas, sul da Ásia, Austrália e Nova Guiné) (Lombardi, 2000; Wen et al., 2018). Nesse contexto, *C. verticillata* se insere no clado central do gênero, corroborando a congruência entre dados moleculares e delimitações clássicas propostas anteriormente (Liu et al., 2013).

Dentro de análises filogenéticas, marcadores cloroplastidiais, como *rps16* e o espaçador intergênico *trnL-F*, são considerados mais conservados e, portanto, adequados para comparações em níveis taxonômicos mais amplos (Senapati et al., 2023). Em contraste, o marcador nuclear ITS apresenta maior variabilidade e tem sido amplamente empregado em discriminações intraespecíficas e estudos populacionais (Yang et al., 2023). Essa discrepância reflete a baixa variação intraespecífica característica dos genomas cloroplastidiais (Islam et al., 2022), em oposição à maior taxa de mutação de regiões nucleares, o que ressalta a necessidade de utilizar múltiplos marcadores para uma avaliação taxonômica mais detalhada.

No presente estudo, os marcadores cloroplastidiais demonstraram elevada similaridade entre os acessos, inclusive com sequências idênticas para *trnL-F*, evidenciando seu caráter conservado e baixa capacidade de discriminação em nível intraespecífico. Por outro lado, o ITS revelou maior variação genética entre os acessos de *C. verticillata*, com distâncias genéticas variando entre $d = 0,00678$ e $d = 0,02865$ (Figura 16c; Apêndice III), o que permitiu identificar padrões de diferenciação populacional não observados pelos

marcadores cloroplastidiais. Além disso, a árvore Bayesiana baseada em ITS evidenciou a formação de um clado monofilético exclusivo para os acessos analisados (Figura 15), ainda que com padrão polifilético em relação a outros representantes do complexo *C. verticillata*. Este fato pode estar associado à formação de agrupamentos em função da origem geográfica ou de populações específicas da espécie, refletindo a diversidade genética intraespecífica (Álvarez e Wendel, 2003).

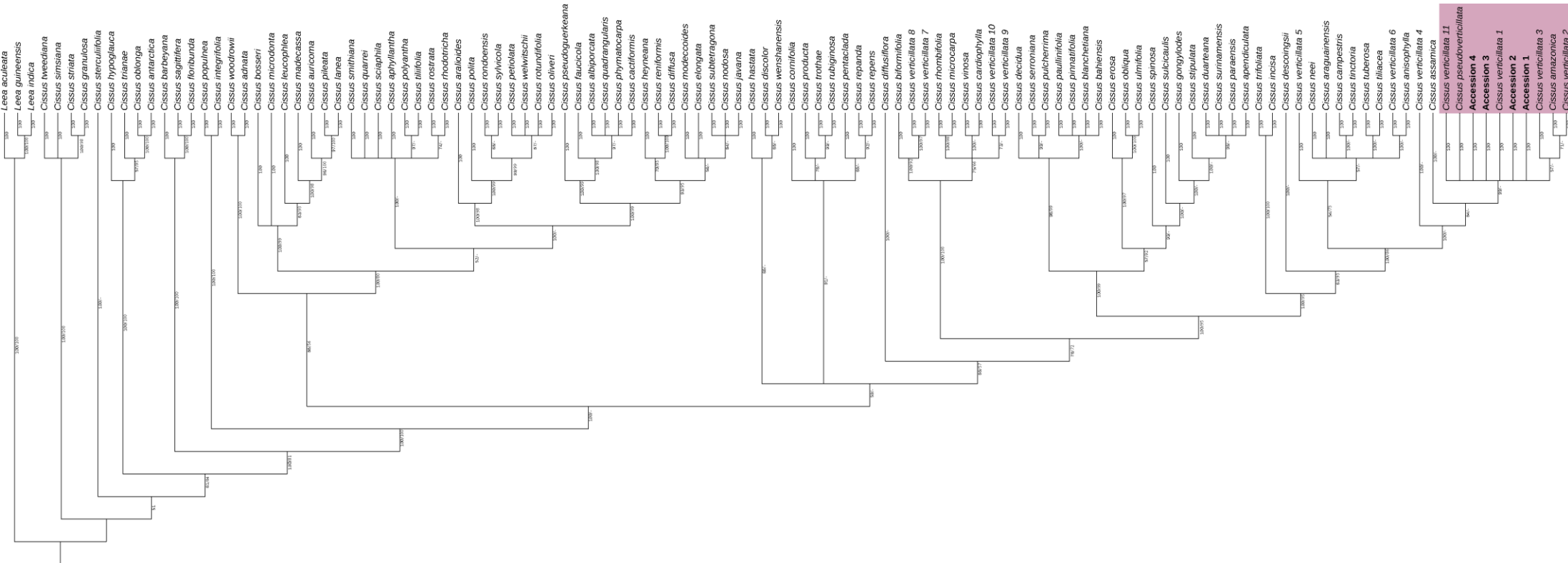
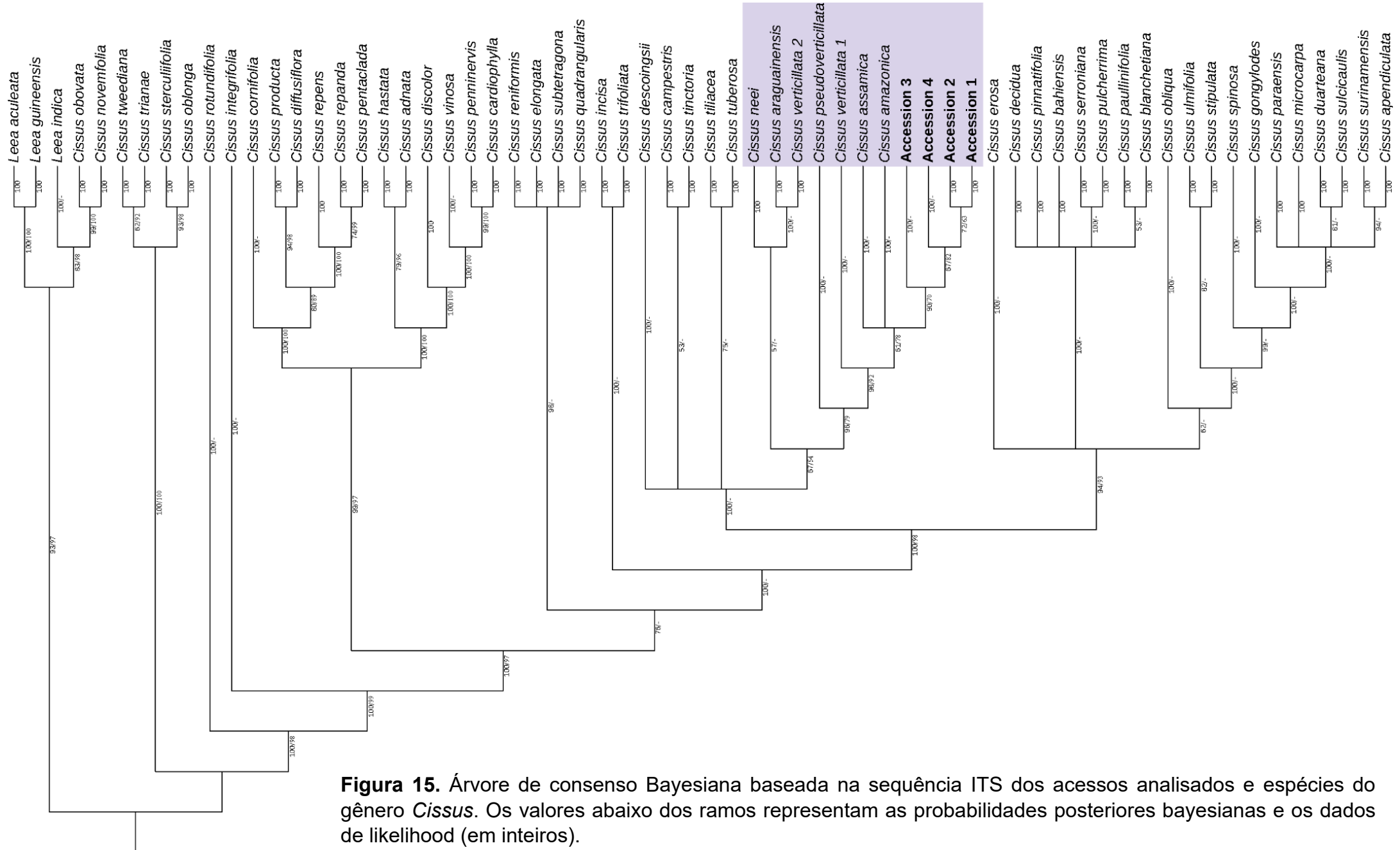


Figura 14. Árvore de consenso Bayesiana baseada nos dados combinados das sequências (*trnL-F* e *rps16*) dos acessos analisados e do gênero *Cissus*. Os valores abaixo dos ramos representam as probabilidades posteriores bayesianas e os dados de likelihood (em inteiros).



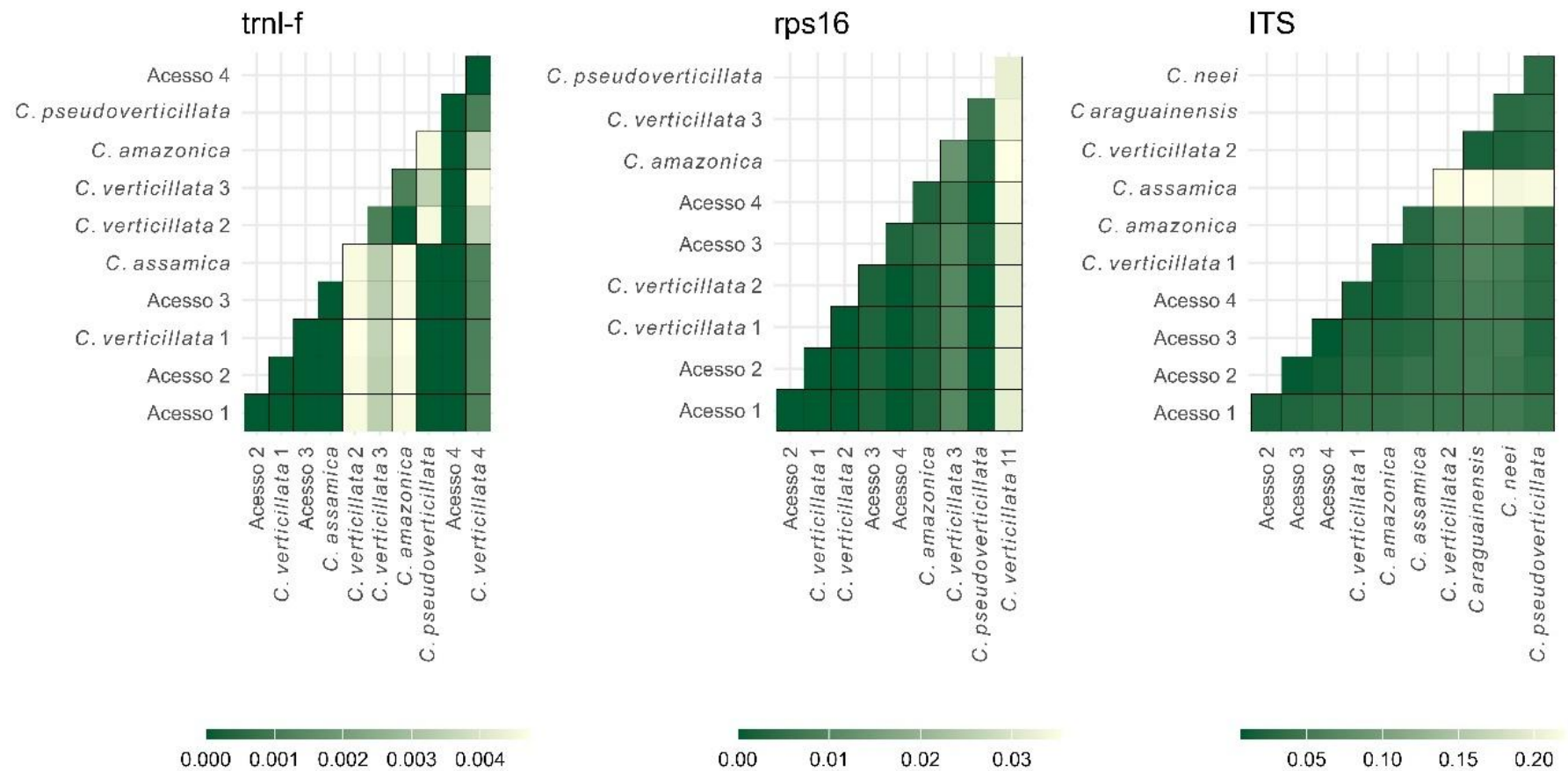


Figura 16. Mapas de calor gerados a partir das matrizes de distância par a par, apresentando apenas as espécies e acessos de *Cissus verticillata* mais próximos com base nas árvores filogenéticas. Foram utilizados os genes cloroplastidiais *trnL-F* e *rps16*, e o gene nuclear ITS. A matriz completa encontra-se disponível nos Apêndices I, II e III.

4.4. Quantificação de cera nas folhas

Quanto à análise de cera nas folhas, observou-se que o acesso 3, proveniente de Jaboticabal (SP), apresentou a maior concentração, com aproximadamente 235,29 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e 7871,84 $\mu\text{g}/\text{g}$ de massa fresca da folha, diferindo dos demais acessos. Os acessos 1, 2 e 4 não diferiram estatisticamente entre si, mantendo-se em valores médios entre 95 e 128 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Figura 17a e 17b).

A determinação dos teores de cera em folhas de plantas daninhas auxilia na compreensão da absorção de herbicidas, pois em aplicações de pós-emergência as folhas são a principal via de entrada, enquanto a cutícula atua como barreira ao movimento dos compostos hidrofílicos (Viana et al., 2010). Essas ceras, compostas predominantemente por substâncias hidrofóbicas, atuam como barreiras à absorção, sendo sua composição e quantidade influenciadas pela espécie, pelas condições ambientais e pelo estágio de desenvolvimento das folhas (Chachalis et al., 2001).

Estudos anteriores indicam que a maioria das espécies apresenta concentrações de cera entre 10 e 200 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Trezzi et al., 2020), faixa que correspondeu aos acessos 1, 2 e 4 no presente estudo. No entanto, o acesso 3 apresentou valores superiores, próximos aos já descritos em espécies como *Sorghum halepense*, que pode ultrapassar 300 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Mcwhorter, 1993).

Além disso, destaca-se a importância do manejo de plantas daninhas em estádios iniciais de desenvolvimento, devido à menor deposição de cera epicuticular, o que favorece maior absorção do produto e eficiência do controle (Files et al., 2024). Resultados semelhantes foram observados para *Euphorbia heterophylla* (leiteiro), em que o controle eficaz com glifosato foi obtido com a dose de 698 g e.a. ha^{-1} aplicada nos estádios iniciais, enquanto em fases mais avançadas, como o florescimento, houve redução significativa da eficácia (Lati et al., 2019).

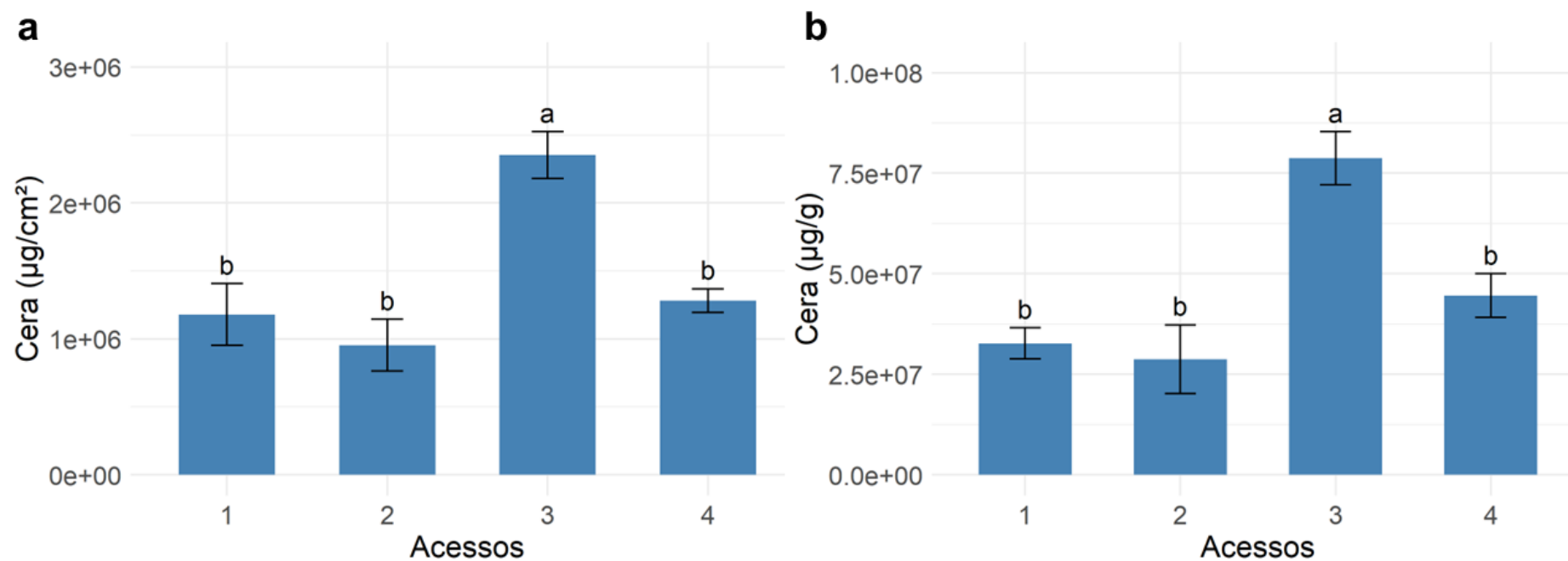


Figura 17. Quantidade de cera em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (a) e cera $\mu\text{g}/\text{massa fresca (g)}$ das folhas (b) nos diferentes acessos de *Cissus verticillata*.

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

4.5. Aspectos germinativos

As sementes de *C. verticillata* apresentam formato ovoidal e dimensões reduzidas, com diâmetro médio de 3,54 mm ($\pm 0,372$ mm; n = 50). Em cada fruto extraído foi observada apenas uma semente (Figura 18).



Figura 18. Sementes de *Cissus verticillata*, acesso 4, localização: Olímpia, SP - Fazenda Bela Vista, dispostas sobre papel milimetrado.

Nos registros de germinação, verificou-se que o tegumento das sementes apresentou tegumento mais rígido, o que retardou o início do processo. A germinação ocorreu de forma epígea, padrão característico de espécies eudicotiledôneas (Figuras 19a, 19b e 19c). Nas raízes jovens, observou-se a presença de pelos absorventes e de uma raiz principal axial (Figura 19e). Após a emergência, as folhas cotiledonares exibiram limbo palmatilobado (Figuras 19f e 20), característica que pode auxiliar na identificação precoce das plântulas em campo.

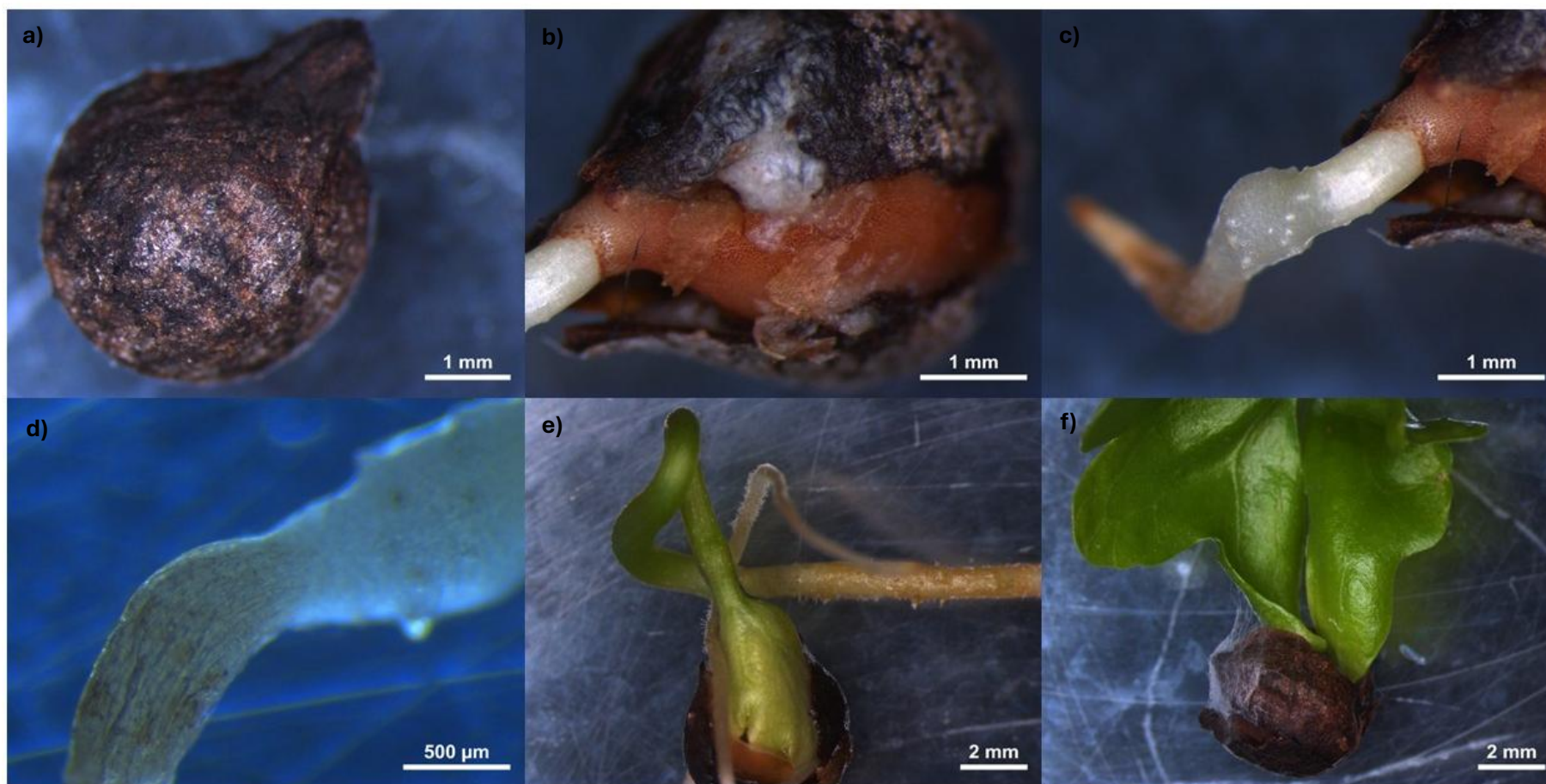


Figura 19. Estágios da germinação de *Cissus verticillata* – acesso número 4 -: (a) semente com protuberância inicial; (b) início da ruptura do tegumento; (c) emissão da radícula; (d) detalhe da radícula em desenvolvimento; (e) emergência dos cotilédones; (f) cotilédones expandidos, com margens recortadas. **Fonte:** Própria autora.



Figura 20. Detalhes das folhas cotiledonares de *Cissus verticillata*. **Fonte:** Própria autora.

Para os ensaios conduzidos sob diferentes condições de temperatura, a germinação das sementes de *C. verticillata* foi monitorada ao longo de 56 dias. Após esse período, não foram registradas novas plântulas por mais de sete dias consecutivos, indicando a estabilização do processo germinativo. Os resultados apresentaram elevado coeficiente de determinação ($R^2 = 0,99$) (Figura 21a). Para a porcentagem de germinação, observaram-se diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 21b).

Na condição de temperatura constante de 25 °C, registrou-se o menor índice de velocidade de germinação (IVG = 1,67), associado a uma baixa resposta germinativa (2,88%). O aumento da temperatura para 30 °C promoveu incremento no desempenho, resultando em 25% de germinação, estatisticamente semelhante igual à condição de 25 °C, com IVG de 5,67. Sob oscilação térmica de 30/35 °C, observou-se taxa germinativa de 42,18%, que diferiu significativamente às condições anteriores, associada a IVG de 21,60. Já a temperatura constante de 35 °C resultou no maior IVG (23,86) e na maior porcentagem de germinação (45,31%), estatisticamente igual à obtida sob 30/35 °C (Figura 21).

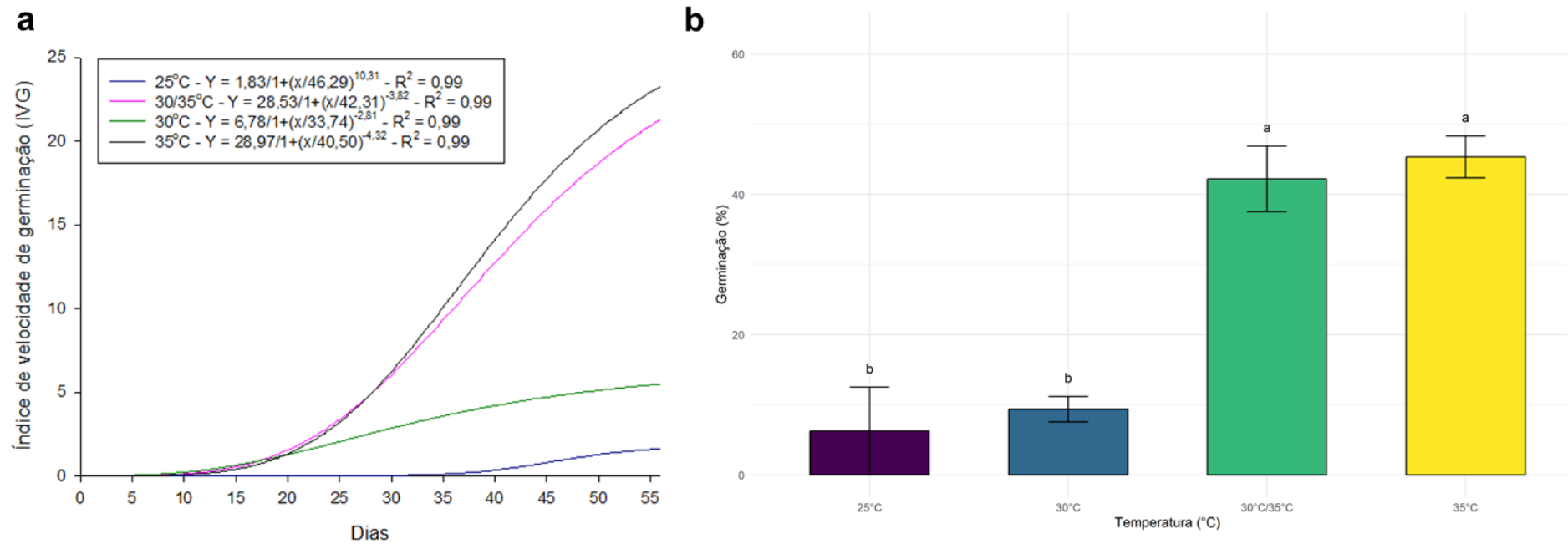


Figura 21. Índice de velocidade de germinação (IVG) (a) e porcentagem de germinação (b) de *Cissus verticillata* sob diferentes temperaturas.

Na avaliação do fator qualidade da luz incidente, a germinação das sementes de *C. verticillata* ocorreu até 64 dias após a instalação do teste (Figura 22a). O experimento foi conduzido por mais sete dias, período em que não foram registradas novas plântulas, caracterizando a estabilização da germinação. Em todos os tratamentos houve elevado ajuste do modelo de regressão ($R^2 = 0,99$) (Figura 22a), não sendo constatadas diferenças significativas entre as porcentagens finais de germinação (Figura 22b).

Entre os tratamentos, a luz vermelha apresentou os maiores valores de índice de velocidade de germinação (IVG = 25,18) e porcentagem de germinação (%G = 26,67), indicando forte estímulo nesse espectro. Sob luz branca, a germinação inicial foi mais lenta (IVG = 22,90), mas ao longo do tempo resultou na mesma porcentagem final de germinação observada sob luz vermelha (%G = 26,67). A luz verde apresentou desempenho intermediário (IVG = 22,21; %G = 20,00) (Figura 22).

Na ausência de luz, verificou-se germinação de *C. verticillata*, embora em menor intensidade (IVG = 9,28; %G = 14,16), confirmando a capacidade da espécie em germinar no escuro, característica que pode representar vantagem adaptativa em ambientes sombreados. Já a luz azul promoveu estímulo inicial expressivo, com germinação mais rápida em comparação às demais condições, mas esse efeito não se manteve ao longo do tempo, resultando em um IVG reduzido (6,05) e porcentagem final de germinação inferior às luzes branca e vermelha (%G = 25,00) (Figura 22).

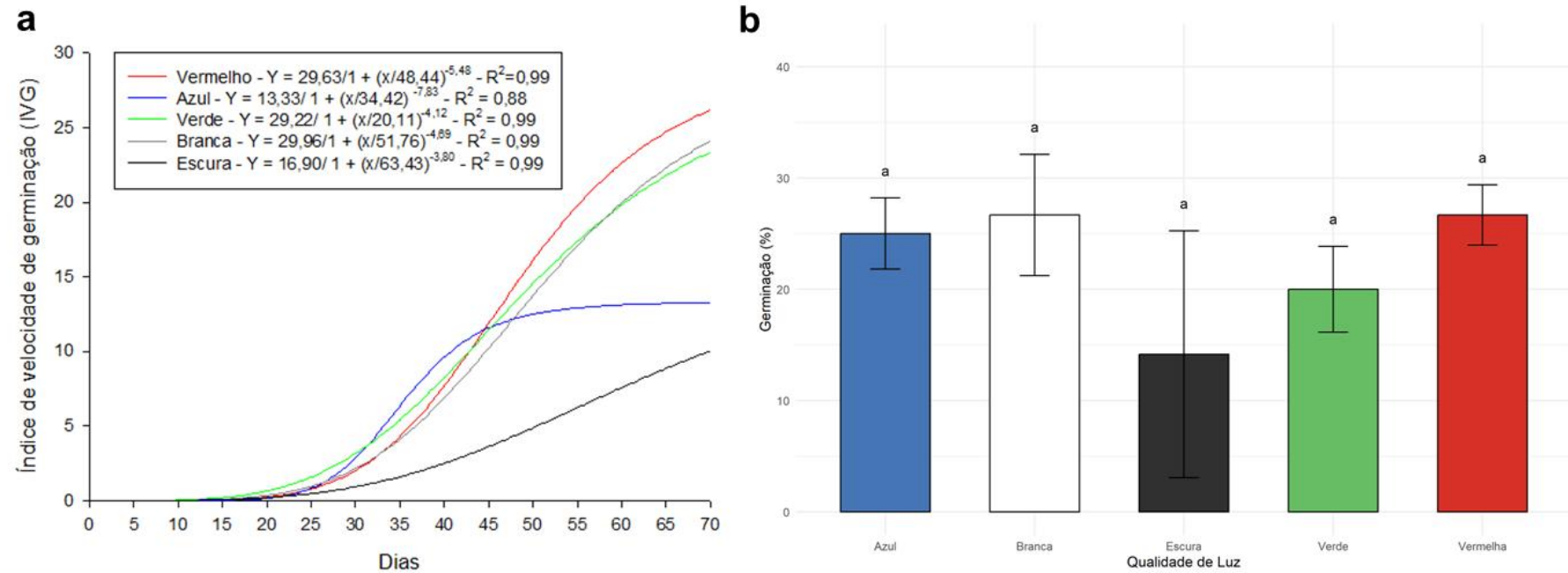


Figura 22. Índice de velocidade de germinação (IVG) (a) e porcentagem (%) de germinação (b) de *Cissus verticillata* sob diferentes qualidades de luz.

Com relação à profundidade de semeadura, a emergência de *C. verticillata* foi restrita às camadas mais superficiais do solo (Figuras 23a e 23b). A 1 cm de profundidade, verificou-se o maior índice de velocidade de emergência (IVE = 11,65 – Figura 22a) e a maior porcentagem de emergência (%E = 40 – Figura 23b), indicando condições mais favoráveis para o estabelecimento inicial da espécie. Com 3 cm, a emergência foi reduzida, com valores inferiores de IVE (7,87) e %E (36), sendo que ambos os ajustes tenham apresentado elevado coeficiente de determinação ($R^2 = 0,99$). Por outro lado, em profundidades de 5, 7 e 10 cm, não foi constatada a emergência de plântulas até os 90 dias de avaliação.

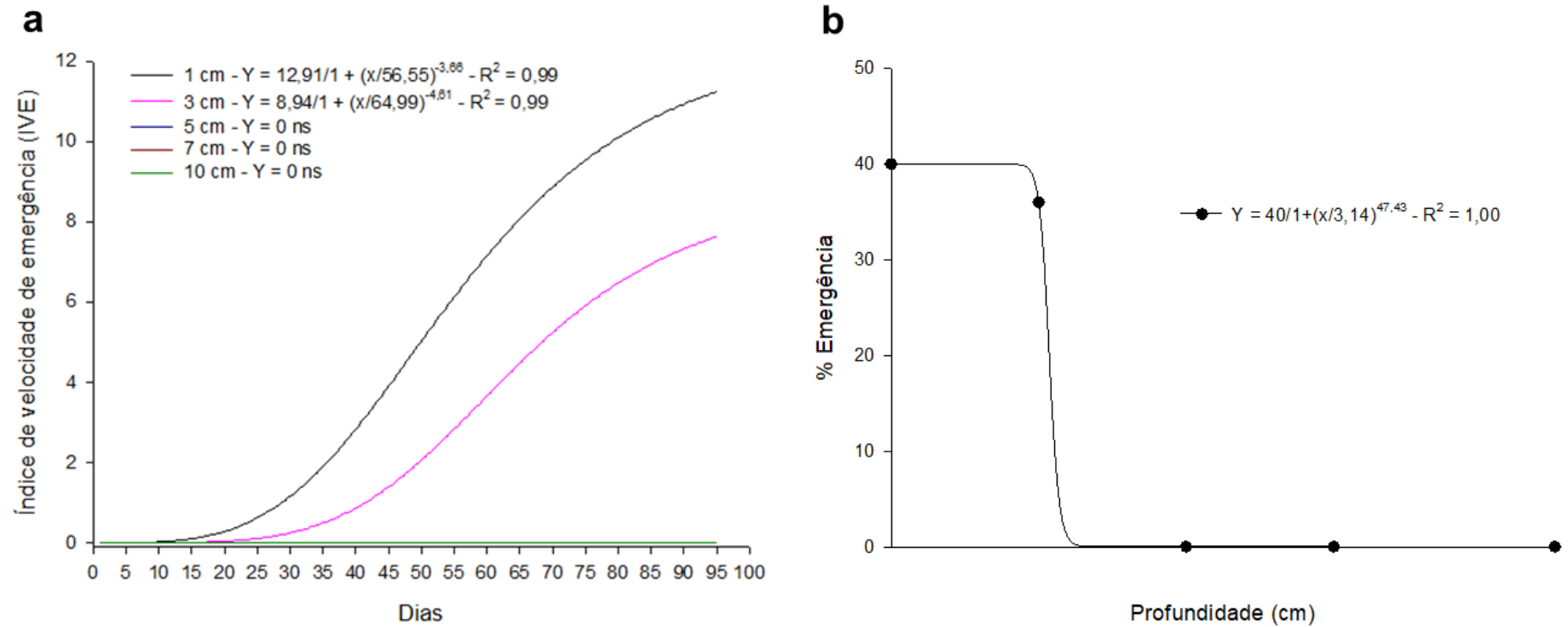


Figura 23. Índice de velocidade de emergência (IVE) (a) e porcentagem (%) de emergência (b) de *Cissus verticillata* em diferentes profundidades de semeadura.

Ressalta-se que, ao final de todos os testes de germinação, as sementes não germinadas foram submetidas ao teste de tetrazólio, o qual indicou 100% de viabilidade. Esse resultado demonstra que a limitação observada na germinação não está relacionada à perda de viabilidade, mas possivelmente a outros fatores, como dormência, que impede a germinação mesmo em condições favoráveis, restrições ambientais durante os ensaios, como temperatura, disponibilidade de oxigênio e umidade, ou ainda dificuldade de embebição, que pode retardar ou até inibir o processo germinativo (Braskin e Braskin, 2014).

De modo geral, a germinação de *C. verticillata* foi fortemente influenciada pelas condições ambientais de temperatura, profundidade de semeadura e qualidade de luz. Temperaturas elevadas, especialmente na oscilação de 30/35 °C e na condição constante de 35 °C, favoreceram a emergência inicial das sementes, sugerindo adaptação da espécie a ambientes quentes. Esse comportamento contrasta com o descrito para outras espécies da família Vitaceae, como *Parthenocissus quinquefolia*, cuja germinação foi mais eficiente em temperaturas amenas, próximas a 25 °C (Kovalenco e Kalista, 2019).

A profundidade de semeadura também exerceu influência, visto que não houve emergência de plântulas em profundidades superiores a 3 cm, característica de muitas espécies de plantas daninhas com sementes pequenas, relacionada à limitada reserva energética das sementes e dependem do estímulo luminoso para germinar (Taiz e Zeiger, 2021), que é rapidamente atenuado à medida que a profundidade aumenta.

Apesar disso, *C. verticillata* apresentou capacidade de germinar mesmo sob condições de baixa ou nenhuma luminosidade, ainda que em proporções reduzidas. Essa resposta está relacionada à atuação do fitocromo, pigmento fotorreceptor que alterna entre as formas Pr (inativa, ~660 nm) e Pfr (ativa, ~730 nm), regulando o início da germinação em função da qualidade da luz (Ferreira e Borghetti, 2004; Nogueira et al., 2014). Os resultados obtidos no presente trabalho caracterizam a espécie como fotoblástica positiva preferencial (Santos e Cury, 2011), pois germina preferencialmente sob luz (vermelha: 590–630 nm; verde: 520–530 nm; branca: 440–595 nm), mas mantém certa plasticidade para germinar mesmo na ausência de luminosidade.

Considerando o manejo de *C. verticillata* no campo, práticas de controle mecânico, como a gradagem, podem influenciar a germinação. O solo atua não

apenas como barreira à penetração da luz, mas também exerce um efeito físico sobre o crescimento da plântula, retardando sua emergência até que esta atinja a superfície e deixe de depender das reservas dos cotilédones, especialmente quando a semente está em profundidade maior no perfil do solo (Tao et al., 2022).

Além disso, práticas culturais voltadas à redução da infestação, como o uso de cobertura morta na entrelinha, podem interferir no processo germinativo. A cobertura morta exerce efeitos físicos, atenuando a luz e aumentando a umidade do solo (Martinelli et al., 2017), o que pode reduzir a germinação de sementes fotoblásticas positivas, de sementes que necessitam de grande amplitude térmica para iniciar a germinação ou de sementes com baixo conteúdo de reservas nos diásporos (Monquero et al., 2012).

4.6. Controle em pós-emergência inicial

Na análise da porcentagem de controle de *C. verticillata* para plantas com 4 a 6 folhas não foram observadas diferenças significativas para a interação entre Tratamentos e Períodos de Avaliação ($p = 0.999872$), indicando que o efeito dos tratamentos não variou ao longo dos períodos. No entanto, os fatores tratamento ($p < 0.001$) e períodos de avaliação ($p < 0.001$) foram significativos individualmente. Portanto, os tratamentos foram comparados separadamente para cada período de avaliação (Figura 24).

Com 56 Dias Após a aplicação, constatou-se que os tratamentos carfentrazone, tiafenacil e diquat apresentaram controle superior a 80% das plantas, quando aplicados com 4-6 folhas (estágios mais iniciais da planta). Os tratamentos glifosato, glufosinato e chlorimuron diferiram estatisticamente dos herbicidas supracitados e apresentaram controle visual próximo a 50%, enquanto o tratamento com saflufenacil não diferiu estatisticamente da testemunha e apresentou controle inferior a 10% (Figuras 24 e 28).

Para os parâmetros biométricos altura, número de folhas e massa seca da parte aérea, constatou-se o que já foi observado anteriormente para controle da espécie. Observou-se que, na variável altura, a testemunha apresentou a maior média, diferindo estatisticamente de todos os tratamentos, que não diferiram entre si (Figura 25). Em relação ao número de folhas por planta, a

testemunha também apresentou o maior valor, seguida pelo tratamento com saflufenacil, que se diferenciou estatisticamente da testemunha, enquanto os tratamentos com carfentrazone, glifosato, glufosinato e chlorimuron apresentaram médias estatisticamente iguais entre si. Os menores valores foram observados nos tratamentos com tiafenacil e diquat (Figura 26). Para a massa seca da parte aérea, o padrão foi semelhante, com a testemunha apresentando a maior massa, seguida pelo tratamento com saflufenacil, ambos diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, que apresentaram as menores médias (Figura 27).

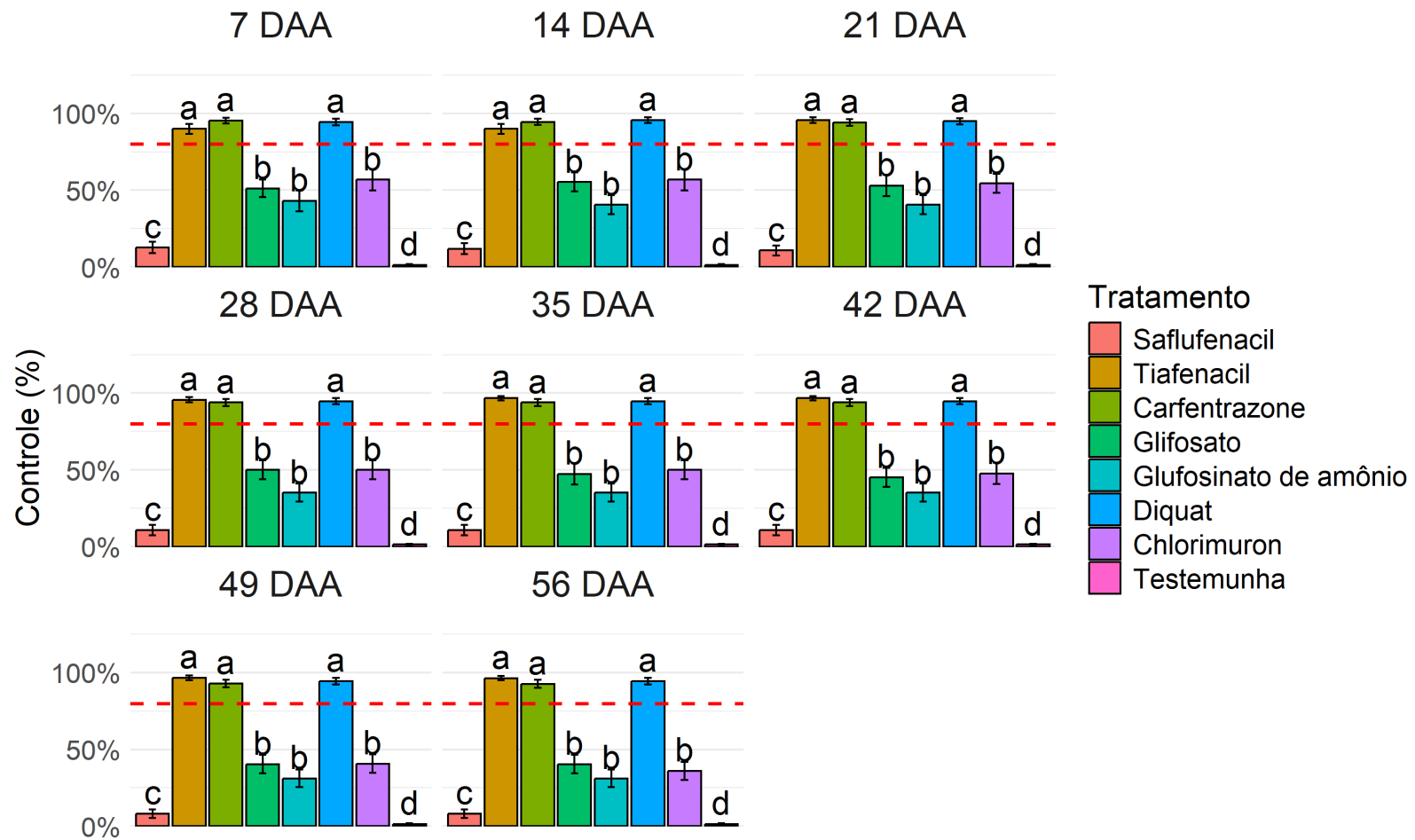


Figura 24. Controle (%) de *Cissus verticillata* com 4-6 folhas aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 DAA. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *A linha tracejada em vermelho representa o nível de 80% de controle.

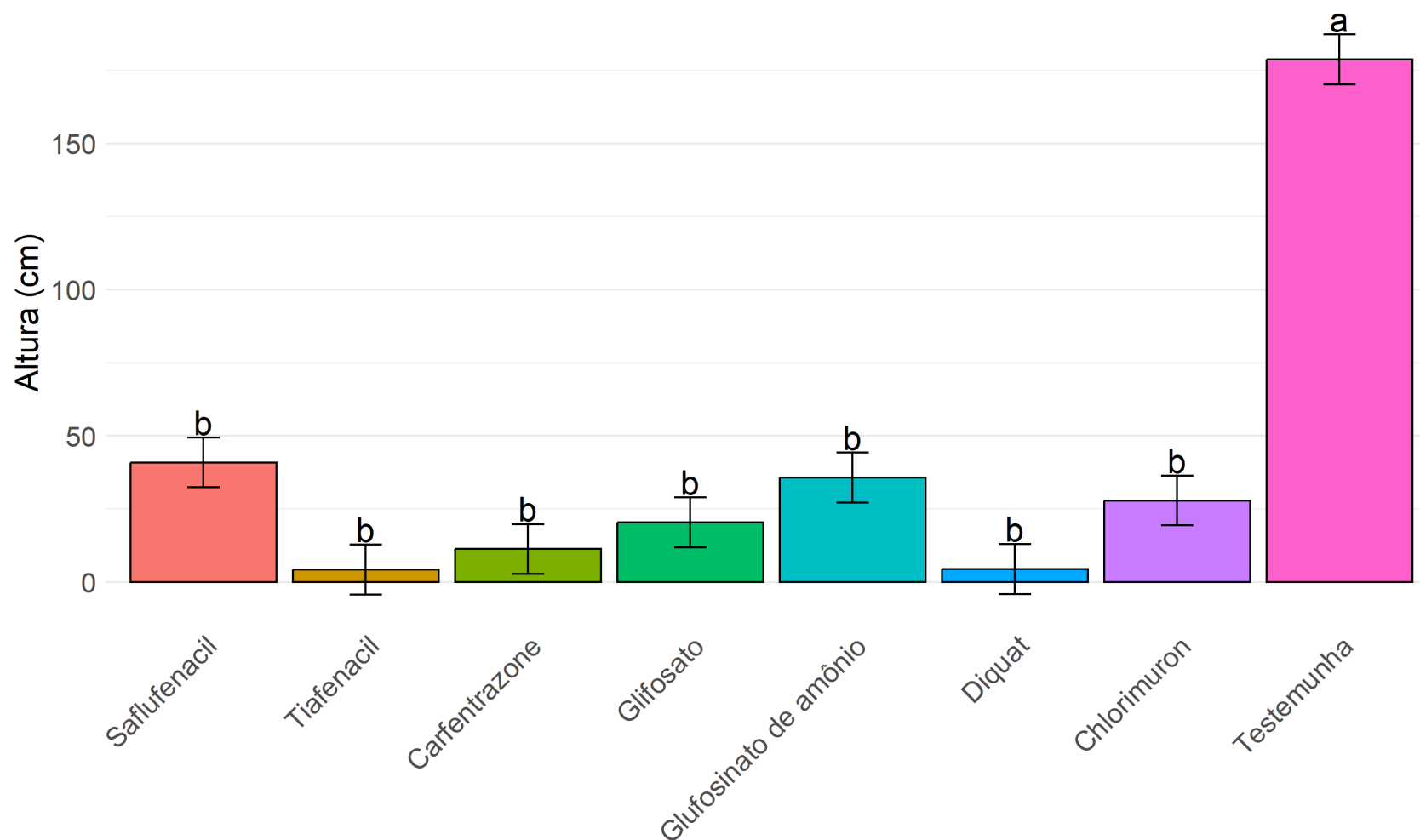


Figura 25. Altura de *Cissus verticillata*, aos 56 DAA dos herbicidas em plantas com 6-8 folhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

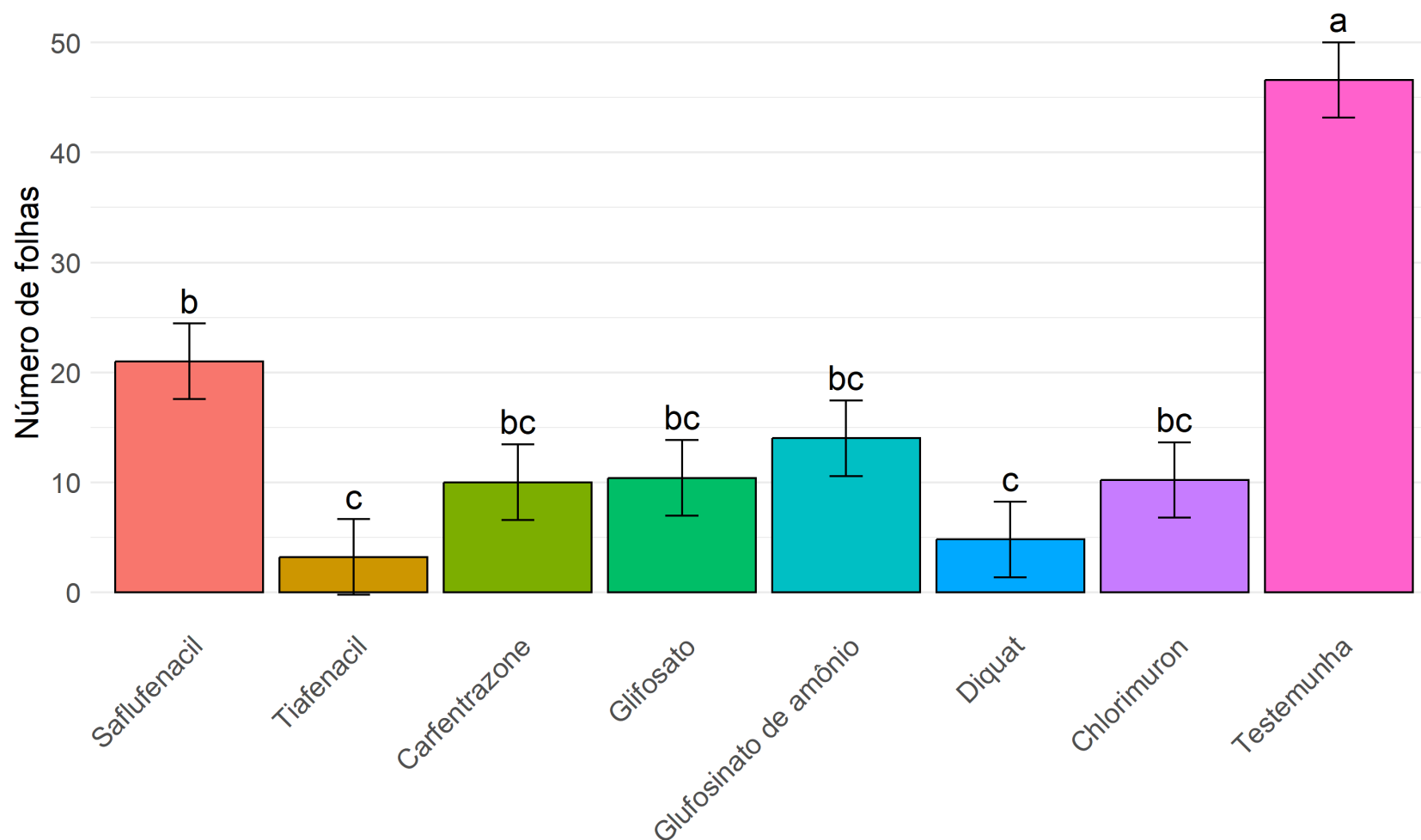


Figura 26. Número de folhas (b) e massa seca da parte aérea de *Cissus verticillata* (c) aos 56 DAA dos herbicidas em plantas com 6-8 folhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

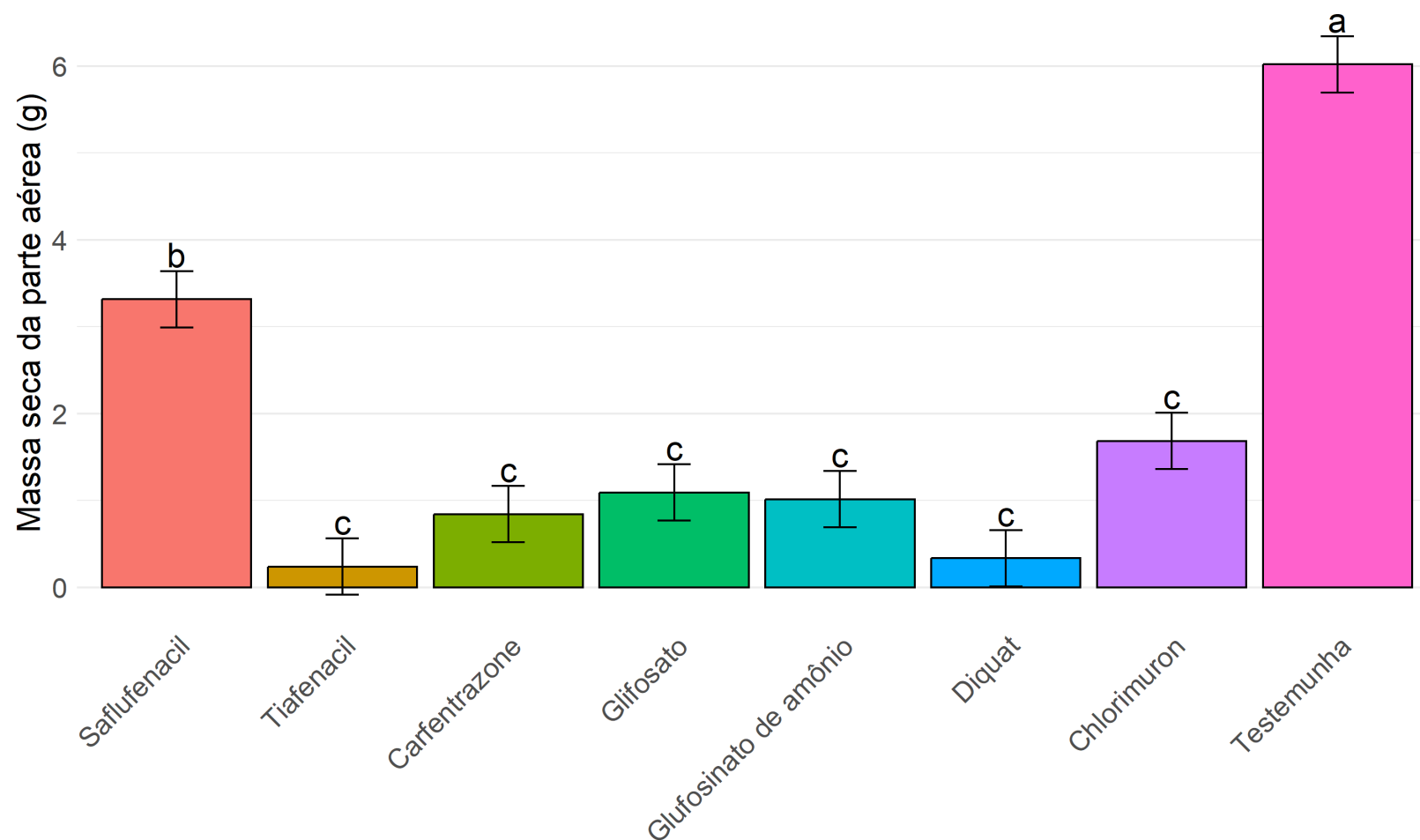


Figura 27. Massa seca da parte aérea de *Cissus verticillata* (c) aos 56 DAA dos herbicidas em plantas com 6-8 folhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

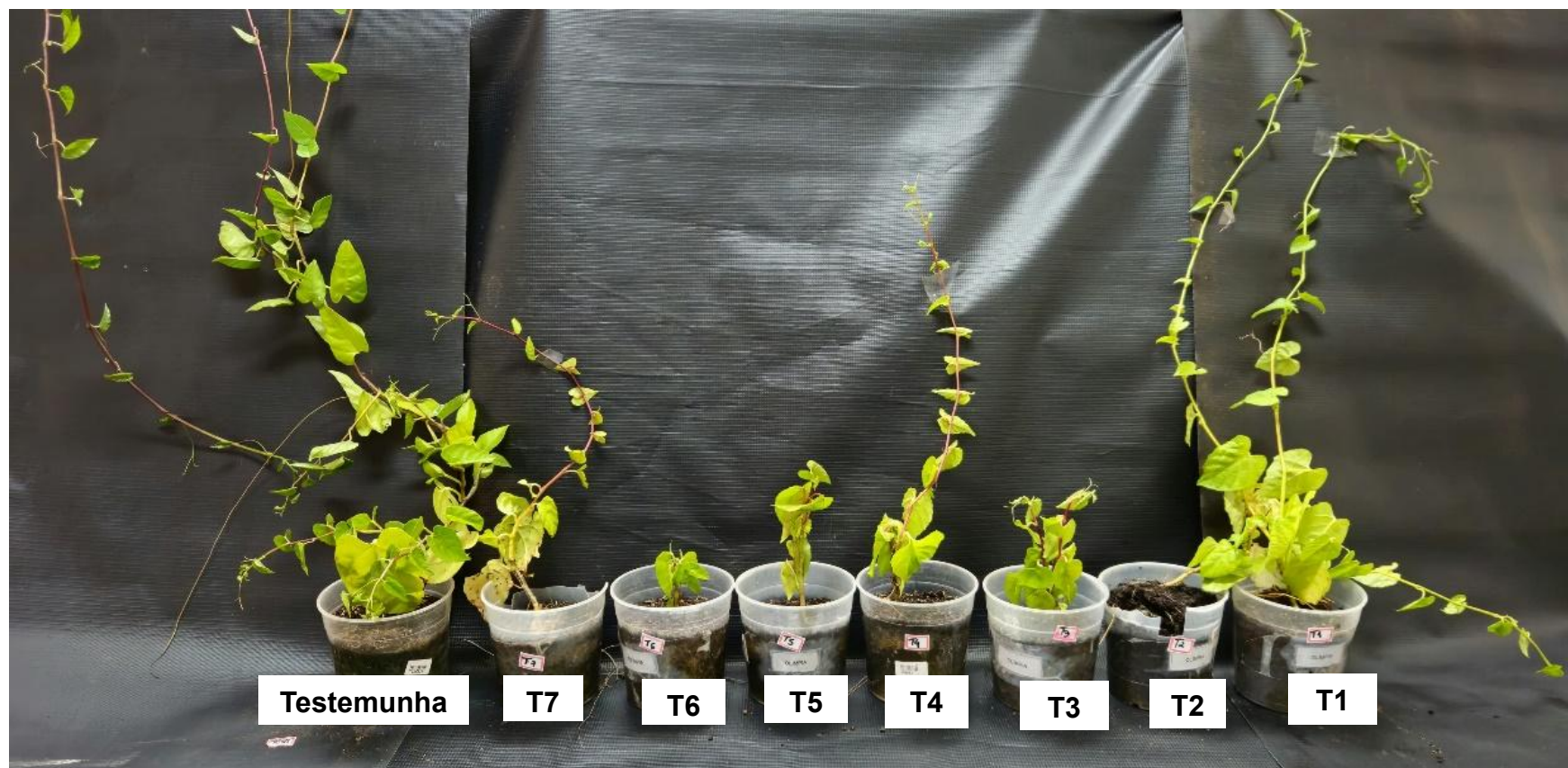


Figura 28. Controle pós-emergência de *Cissus verticillata* com 4 a 6 folhas. Testemunha – T7 (chlorimurom) – T6 (diquat) – T5 (glufosinato de amônio) – T4 (glifosato) – T3 (carfentrazone) – T2 (tiafenacil) – T1 (saflufenacil) aos 56 DAA.

Na análise da porcentagem de controle em plantas com 26–28 folhas, não foram observadas diferenças significativas para a interação entre tratamentos e dias após a aplicação (DAA) ($p = 1,000$), indicando que o efeito dos tratamentos se manteve estável ao longo dos períodos avaliados. Da mesma forma, o fator DAA isolado ($p = 0,973$) não apresentou efeito significativo. Apenas o fator tratamento foi significativo ($p < 0,001$), sendo seus resultados detalhados em cada época de avaliação (Figura 29).

Houve uma pequena evolução nas porcentagens de controle ao longo dos períodos de avaliação. Diferentemente do observado em estádios iniciais, o desempenho dos herbicidas com plantas de 26-28 folhas foi limitado. O tratamento com diquat destacou-se como o mais eficaz, atingindo mais de 90% de controle aos 56 DAA e diferindo estatisticamente do segundo melhor tratamento, tiafenacil, que apresentou cerca de 80% de eficácia. Os demais herbicidas não superaram 40% de controle, independentemente do período avaliado. No caso do chlorimuron, o controle foi estatisticamente igual a testemunha na última avaliação (Figura 29 e Figura 33).

Quanto aos parâmetros biométricos avaliados aos 56 DAA, os resultados confirmaram o observado no controle visual. As plantas de maior porte foram verificadas nos tratamentos testemunha, glufosinato de amônio e chlorimuron, que não diferiram estatisticamente entre si; contudo, exceto para o chlorimuron, esses tratamentos diferiram dos demais herbicidas (Figura 30). Para o número de folhas e a massa seca da parte aérea, destacaram-se os tratamentos com tiafenacil e diquat, que promoveram as maiores reduções nesses parâmetros (Figuras 31 e 32).

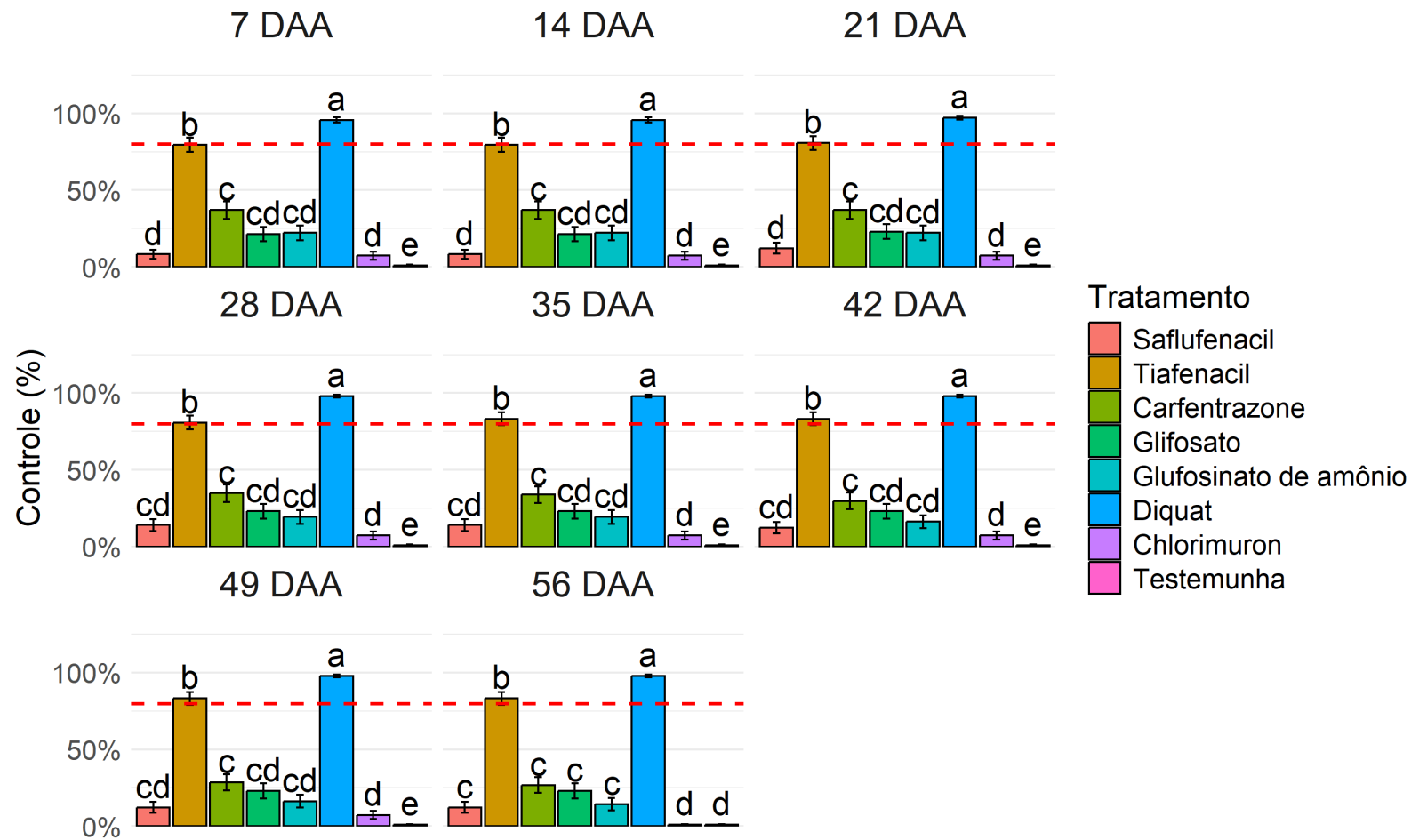


Figura 29. Controle (%) de *Cissus verticillata* com 26-28 folhas aos 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 DAA. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *A linha tracejada em vermelho representa o nível de 80% de controle.

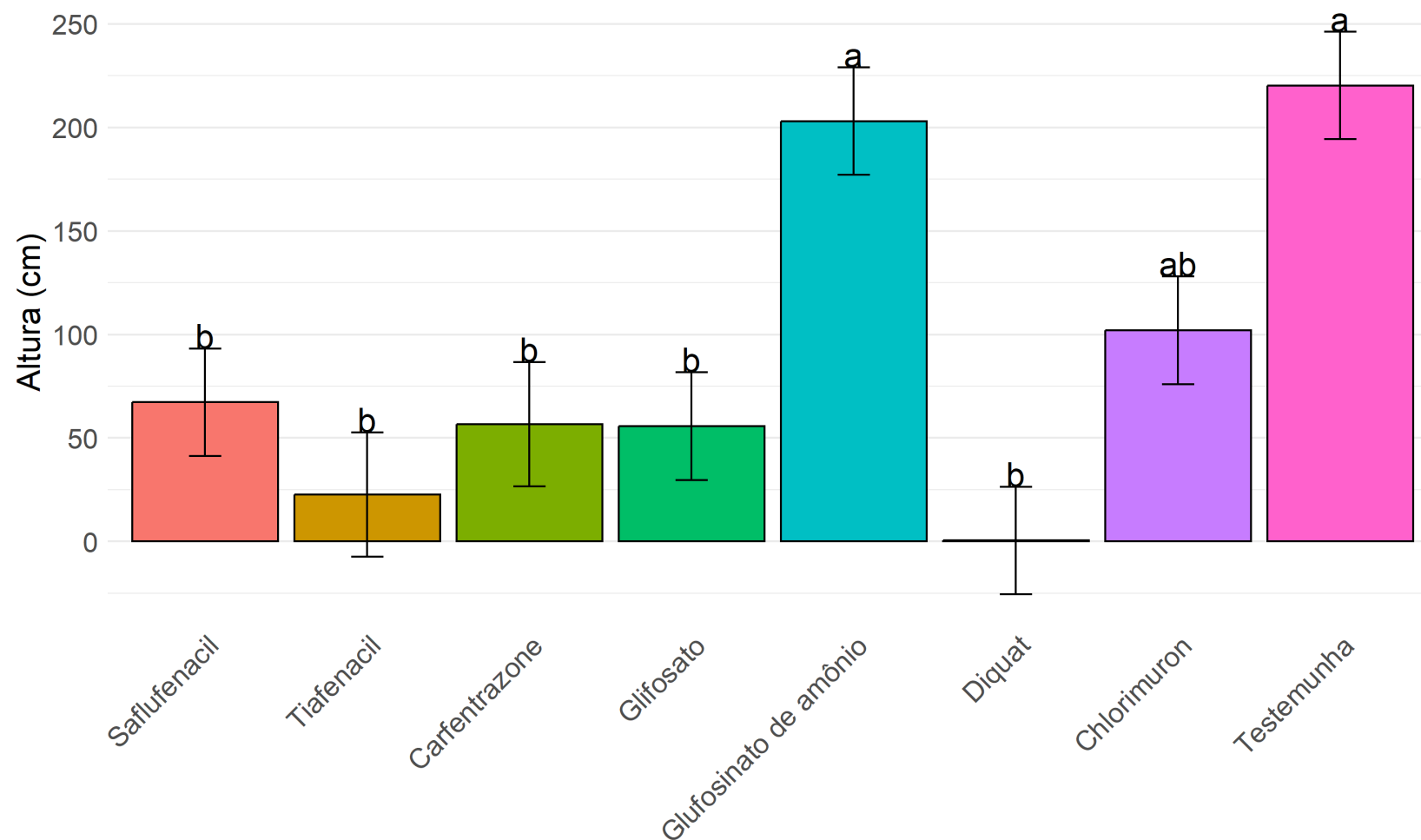


Figura 30. Altura de *Cissus verticillata* aos 56 DAA dos herbicidas em plantas com 26-28 folhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

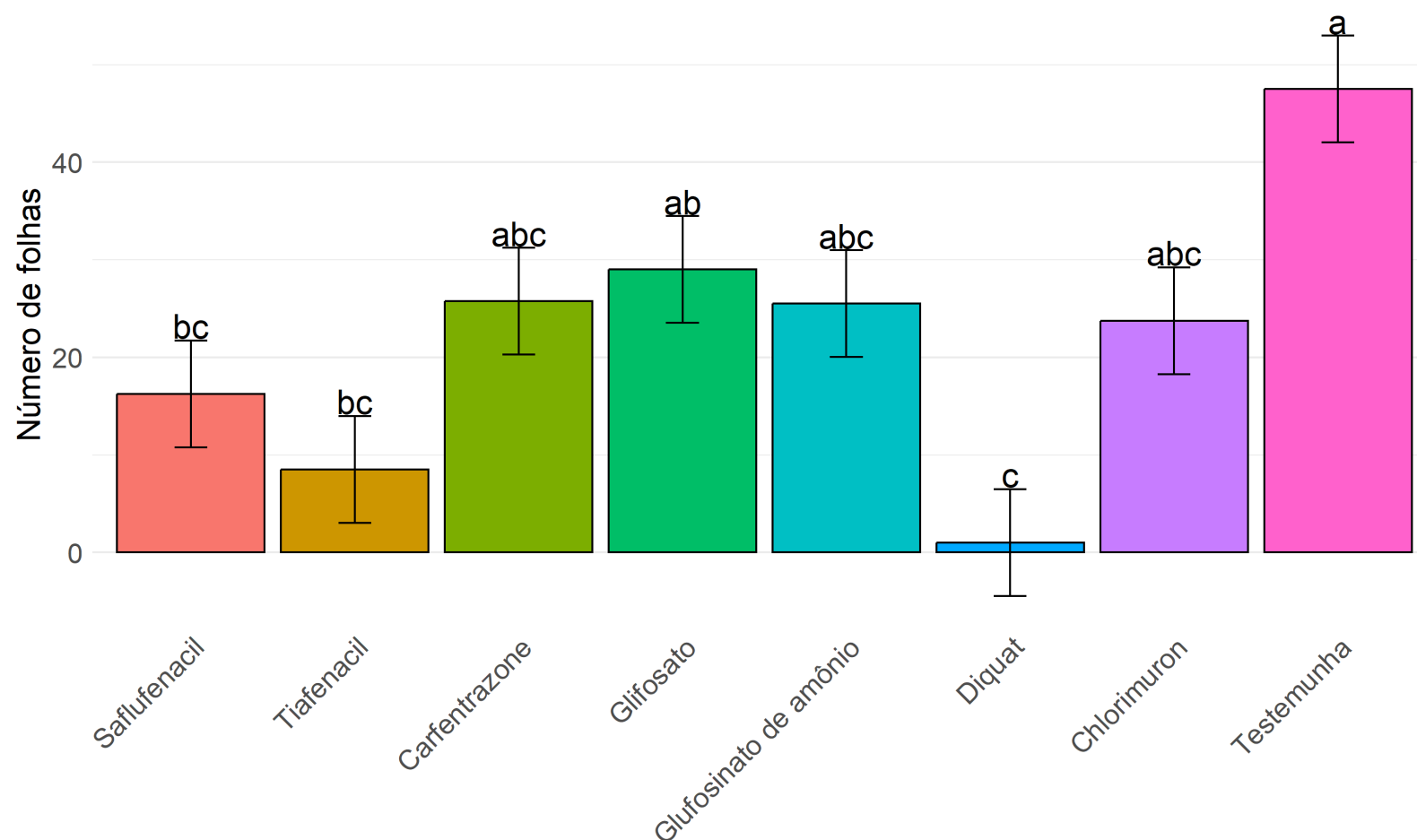


Figura 31. Número de folhas de *Cissus verticillata* aos 56 DAA dos herbicidas em plantas com 26-28 folhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

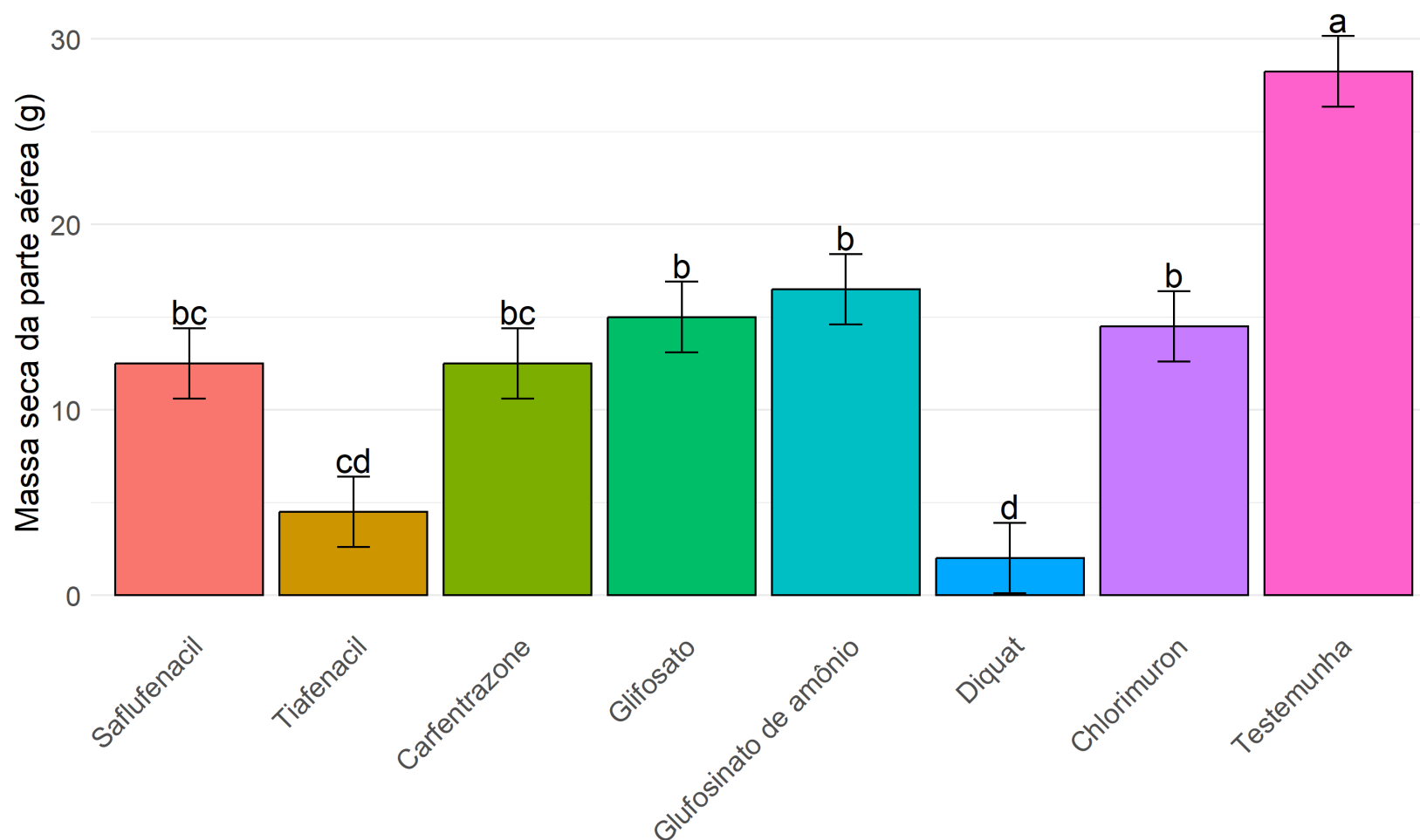


Figura 32. Massa seca da parte aérea de *Cissus verticillata* (c) aos 56 DAA dos herbicidas em plantas com 26-28 folhas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

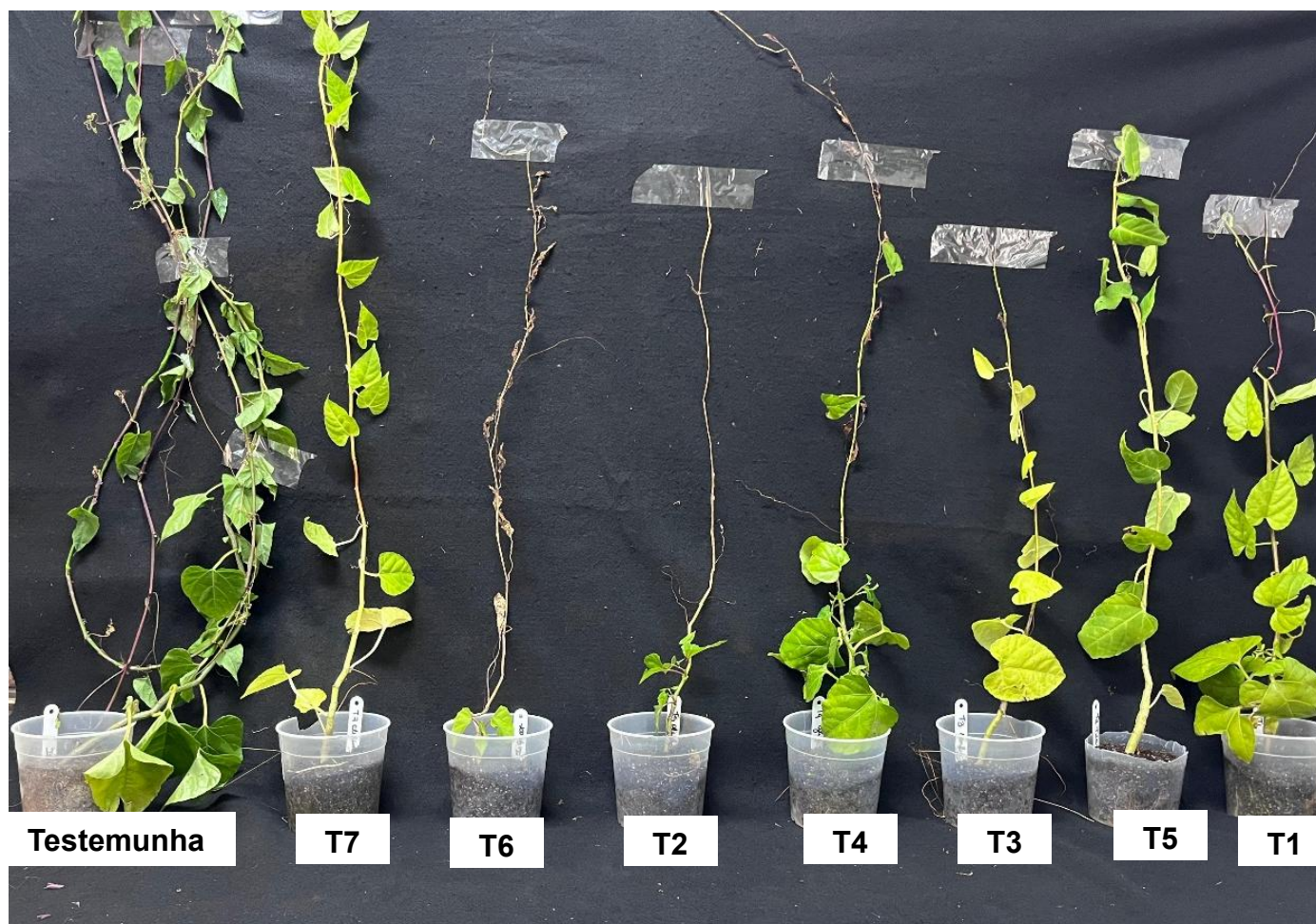


Figura 33. Controle pós-emergência de *Cissus verticillata* com 26-28 folhas. Testemunha – T7 (chlorimuron) – T6 (diquat) – T5 (glufosinato de amônio) – T4 (glifosato) – T3 (carfentrazone) – T2 (tiafenacil) – T1 (saflufenacil) aos 56 DAA.

Dessa forma, a proposta de manejo avaliada neste estudo concentra-se no controle de *C. verticillata* em estádios iniciais, até aproximadamente 28 folhas, evitando que as plantas atinjam comprimentos superiores ou ocupem o dossel da cultura. Nessas condições mais extremas, o controle tende a se tornar mais difícil devido à ausência de seletividade desses herbicidas para a cultura dos citros (Agrofit, 2025).

De modo geral, a eficácia dos herbicidas variou conforme o estágio de desenvolvimento, com destaque para diquat, carfentrazone e tiafenacil em estádios iniciais. Em plantas mais desenvolvidas, apenas diquat e tiafenacil mantiveram níveis satisfatórios de controle ao longo das avaliações.

A baixa eficácia de chlorimuron e saflufenacil foi observada em ambos os estádios de desenvolvimento avaliados. O chlorimuron, inibidor da enzima acetolactato sintase (ALS), embora indicado para o manejo de plantas daninhas eudicotiledôneas em diversas culturas, costuma ser aplicado em associações com outros herbicidas, como diquat ou glufosinato de amônio, para aumentar a eficiência de controle (Schneider et al., 2022).

O saflufenacil, inibidor da protoporfirinogênio oxidase (PROTOX), promove o acúmulo de protoporfirinogênio IX, que, ao ser convertido em protoporfirina IX no citoplasma, forma espécies reativas de oxigênio na presença de luz, resultando em peroxidação lipídica, inibição da síntese de clorofila e morte celular (Dayan, 2019). Sua aplicação isolada, contudo, é reconhecida como mais limitada, sendo indicada principalmente em associação com glifosato na cultura de citros (Mendes et al., 2022). Agostineto et al. (2016) observaram, por exemplo, que a associação glifosato + saflufenacil proporcionou controle superior de *Ipomoea hederifolia* em comparação à aplicação isolada dos herbicidas.

Entre os tratamentos testados, destacam-se tiafenacil e diquat, que apresentaram controle superior a 80% independentemente do estágio fenológico, com reflexos também na redução da área fotossintética e do porte das plantas. O tiafenacil, recentemente lançado no Brasil, atua igualmente como inibidor da PROTOX e apresenta baixa mobilidade na planta (Silva, 2025). Já o diquat, recomendado para aplicação em jato dirigido nas entrelinhas de citros, atua na inibição do fotossistema I (F_I), promovendo rápida formação de radicais

livres e necrose dos tecidos (Dayan, 2019), o que justifica sua maior eficácia em estádios avançados.

Diante dos resultados obtidos, as associações de herbicidas no campo se configuram como uma estratégia eficiente de manejo, pois ampliam o espectro de controle e reduzem a competição inicial entre planta daninha e cultura (Zobiolo et al., 2018), constituindo também uma oportunidade para estudos futuros no controle de *C. verticillata*. Outra estratégia recomendada é o uso de produtos pré-emergentes com ação residual, que atuam especialmente nos estádios em que as plantas daninhas são mais suscetíveis, isto é, germinação e emergência, permitindo o controle de diferentes fluxos de emergência presentes no banco de sementes e evitando a competição inicial com a cultura (Rizzardi et al., 2020).

Considerando a biologia de *C. verticillata* apresentada nos capítulos anteriores, o controle químico não deve ser aplicado isoladamente, devendo ser complementado por outras práticas de manejo, especialmente culturais. Martinelli (2021) constatou que o manejo mais eficiente de plantas daninhas em citros envolve o uso de plantas de cobertura, associado a roçagem ecológica e à aplicação de herbicidas residuais e pós-emergentes. O autor relatou que essa estratégia proporcionou não apenas o melhor retorno econômico, mesmo com maior investimento, mas também os melhores indicadores de controle: baixas densidades populacionais e maior depleção do banco de sementes.

Por fim, todos os herbicidas testados, exceto chlorimuron, estão listados na Protecitus (antiga lista PIC – Produção Integrada de Citros), que prioriza o uso de agrotóxicos aceitos internacionalmente e recomendados para áreas destinadas à exportação (Protecitus, 2023), representando, quando viáveis para o controle da flora infestante, uma alternativa segura e estratégica.

5. CONCLUSÕES

Os acessos de *Cissus verticillata* apresentaram relativa uniformidade em suas características botânicas e biométricas, destacando-se a presença de cutícula foliar estriada e estômatos em ambas as superfícies foliares. Exceção foi observada no acesso 3, que apresentou pequena variação intraespecífica na

presença de tricomas, maior densidade estomática na face abaxial e maior produção de cera.

As análises filogenéticas, com base em marcadores cloroplastidiais (trnL-F, rps16) e nucleares (ITS), indicaram um padrão de polifilia no gênero *Cissus*, com pequenas distâncias genéticas entre os acessos estudados.

No que se refere à germinação, a espécie é favorecida pela exposição à luz vermelha (660 nm) e branca (440–595 nm), por temperaturas elevadas (30–35 °C) e por semeadura superficial (1–3 cm). Quanto ao controle químico, a eficácia foi maior em plantas jovens (4–6 folhas), especialmente com carfentrazone, tiafenacil e diquat, enquanto em estádios mais avançados (26–28 folhas) apenas tiafenacil e diquat mantiveram alto desempenho.

6. REFERÊNCIAS

Agrofit – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Consulta de produtos formulados. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: junho 2025.

Acevedo-Rodríguez P (2005) Contributions from the United States National Herbarium. Washington, DC: Department of Systematic Biology – Botany, National Museum of Natural History, Smithsonian Institution. **Contributions from the United States National Herbarium** 51:483 p.

Acevedo-Rodríguez P, Strong MT (2012) **Catalogue of the Seed Plants of the West Indies**. Washington, DC: Smithsonian Institution, 1192 p.

Acosta-Recalde P, Lugo G, Vera Z, Morinigo M, Maidana GM, Samaniego L (2018) Uso de plantas medicinales y fitoterápicos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. **Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud** 16(2): 6-11.

Agostinetto MC, Carvalho LB, Ansolin HH, Andrade TCGR, Schmit R (2016) Sinergismo de misturas de glyphosate e herbicidas inibidores da PROTOX no controle de corda-de-viola. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, 15(1):8–15.

Aguiar MACM, Mendes KF, Barcellos Júnior LH, Silva EMG, Silva AA (2022) **Aspectos da biologia e ecofisiologia de plantas daninhas**. In.: Mendes KF,

Silva AA (Eds.) Plantas daninhas: biologia e manejo (Vol. 1). São Paulo: Oficina de Textos, p 9-39.

ALAM – Asociación Latinoamericana de Malezas (1974) Recomendaciones sobre unificación de los sistemas de evaluación em ensayos de control de malezas. **ALAM** 1:35-38.

Álvarez IJFW, Wendel JF (2003) Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 29(3):417–434.

Barbosa WLR, Santos WR, Pinto LN, Tavares ICC (2002) Flavonóides de *Cissus verticillata* e a atividade hipoglicemiante do chá de suas folhas. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 12:13–15.

Bellard C, Cassey P, Blackburn TM (2016) Alien species as a driver of recent extinctions. **Biology Letters** 12:20150623.

Berg ME (2010) Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático. 3ª Ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 226 p. Brasil. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária (2009) **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDP/DNDV/CLAV, 365 p.

Brenes-Prendas S, Agüero-Alvarado R (2007) Levantamento e identificação de ervas daninhas e descrição de suas estratégias de controle em quatro fazendas de abacaxi (*Ananas comosus* L.) na Costa Rica. **Agronomía Mesoamericana** 18:239-246.

Callow JA, Hallahan DL, Gray JC (2000) Plant Trichomes. San Diego, CA: Academic Press.

Chachalis D, Reddy KN, Elmore CD (2001) Characterization of leaf surface, wax composition, and control of redvine and trumpetcreeper with glyphosate. **Weed Science** 49:156–163.

Christoffoleti PJ, López-Ovejero R (2003) Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha** 21:507–515.

Christoffoleti PJ, Oliveira FS, Semensato LO, Gasolla JM (2023) Difíceis de manejar. **Revista do Grupo de Consultores em Citros** 134:1-16.

Dayan FE (2019) Current status and future prospects in herbicide discovery. **Plants** 8(9):341.

Drobnik J, De Oliveira AB (2015) *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis (Vitaceae): its identification and usage in the sources from 16th to 19th century. **Journal of Ethnopharmacology** 171:317–329.

Drobnik J, de Oliveira AB (2015) *Cissus verticillata* (L.) Nicolson and CE Jarvis (Vitaceae): Its identification and usage in the sources from 16th to 19th century. *Journal of Ethnopharmacology*, 171:317-329.

Estação Meteorológica (2025) UNESP, FCAV. Disponível em: <https://www.fcav.unesp.br/#!/estacao-agroclimatologica/dados/estacao-automatica/>. Acesso em: 24 de setembro de 2025.

Feitosa JM, Santos RC, Ramos RM, Lima MEN, Siqueira JS, Lima VS, Silva GC (2021) Caracterização fitoquímica, toxicidade preliminar e potencial biológico das folhas de *Cissus sicyoides* L. **Research, Society and Development** 10:e31710615771.

Fernandes G, Banu J (2012) Medicinal properties of plants from the genus *Cissus*: A review. **Journal of Medicinal Plants Research** 6(16):3080-3086.

Ferreira AG, Borghetti F (2004) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 209 p.

Files MC, Viana VE, Camargo ER, Silva RS, Vieira LM, Kruse ND, Avila LA (2025) S-metolachlor in pre-emergence reduces the leaf cuticular wax and increases the efficiency of glyphosate. **Pest Management Science** 81(3):1478-1486.

Franco-Mora O, Morales PAA, Mirelles VAD, Castañeda-Vildózola A, Sánchez-Pale JR (2016) Searching alternative uses for *Cissus tiliacea* fruit in Central Mexico: seed oil and fruit liquor. **Genetic Resources and Crop Evolution** 63:141–149.

French JV, Lonard RI, Everitt JH (2003) *Cissus sicyoides* C. Linnaeus (Vitaceae), a potential exotic pest in the lower Rio Grande Valley, Texas. **Subtropical Plant Science** 55:72.

Glez-Peña D, Gómez-Blanco D, Reboiro-Jato M, Fdez-Riverola F, Posada D (2010) ALTER: program-oriented conversion of DNA and protein alignments. **Nucleic Acids Research** 38:W14–W18.

Gondim RSD, Ribeiro I, Soares Filho FF, Luz TRSA, de Castro TL, Serra MB, ... Vilanova CM (2019) Morpho-anatomical evaluation of hypoglycaemic medicinal plants. **Scientia Plena** 15(5): 1-9.

Hallahan DL, Gray JC (2000) **Plant trichomes**. San Diego: Academic Press.
 Hanan AAM, Mondragón PJ, Vibrans H (2009) *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & CE Jarvis. Disponível em: <https://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/vitaceae/cissus-verticillata/fichas/ficha.htm>. Acesso em: setembro 2025.

Hoang DT, Chernomor O, Von Haeseler A, Minh BQ, Vinh LS (2018) UFBoot2: improving the ultrafast bootstrap approximation. **Molecular Biology and Evolution** 35(2):518–522.

Katoh K, Standley DM (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution** 30:772–780.

Kovalenko OA, Kalista MS (2019) Germination biology of *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch. (Vitaceae). **Brazilian Journal of Botany** 29(2):179-190.

Lameira O, Medeiros A, Ferreira M (2022) ***Cissus verticillata*: insulina-vegetal**. In: Coradin L, Camillo J, Vieira ICG (Eds.) Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Norte. Brasília, DF: MMA, p. 1020-1027.

Lati RN, Goldwasser Y, Horesh A, Igbariya K (2019) Wild poinsettia biology and management – determining optimal control with herbicides and propane flaming. **Crop Protection** 115:20–26.

Leopardi-Verde CL, Guzmán-González S, Carnevali G, Duno de Stefano R, Tapia-Muñoz JL (2021) Weeds of commercial crops in Colima, Mexico. **Revista Mexicana de Biodiversidad** 92: e923718.

Letunic I, Bork P (2019) Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. **Nucleic Acids Research** 47(W1):W256–W259.

Lima EB, Borges EE, Rena AB (1993) **Germinação de sementes**. In: Aguiar IB, Pina Rodrigues FCM, Figliola MB (Eds.) *Sementes Florestais Tropicais*. Brasília: ABRATES, p.70–81.

Linh TH, Trang VTH, Anh TV, Duong NT, Giang NQ, Ngoc PT, Khanh TD (2024) Evaluation of allelopathic potential of *Cissus sicyoides* against the growth of *Echinochloa crus-galli* and some tested plants. **Journal of Advanced Zoology** 45(1) : 287-296.

Liu XQ, Ickert-Bond SM, Chen LQ, Wen J (2013) Molecular phylogeny of *Cissus* L. of Vitaceae (the grape family) and evolution of its pantropical intercontinental disjunctions. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 66(1):43–53.

Lizama RS, Miranda Martínez M, Caballero Pérez O (2000) Contribución al estudio de *Cissus sicyoides* L. (bejuco-ubí). **Revista Cubana de Farmacia** 34(2):120–124.

Lombardi JA (2000) **Vitaceae – Generos *Ampelocissus*, *Ampelopsis* e *Cissus***. Flora Neotropica, Monograph 80. New York: The New York Botanical Garden.

Lombardi JA (2007) Systematics of Vitaceae in South America. **Botan** 85:712–721.

Lombardi JA (2015) New combinations for the South American *Cissus striata* clade (Vitaceae). **Phytotaxa** 227:295-298.

Lucena RC, Moço JST, Almeida BS (2024) Aspectos agronômicos do cipó-insulina. In.: Silva CXR, Belfort MGS, Azevedo SA (Eds.) *Estudos e aspectos gerais do cipó-insulina (*Cissus sicyoides* / *C. verticillata*)*. Campina Grande: Amplla, p. 42-45.

Maguire JD (1962) Speed of germination—aid in selection evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science** 2:176-177.

Martinelli R (2021) Manejo sustentável de plantas daninhas em citros: implicações do glyphosate no metabolismo da cultura e estratégias de controle. 121 p. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agrônômico, São Paulo.

Martinelli R, Monquero PA, Fontanetti A, Conceição PM, Azevedo FA (2017) Ecological mowing: An option for sustainable weed management in young citrus orchards. **Weed Technology** 31(2):260–268.

Martins ER, Castro DM de, Castellani DC, Dias JE (2000) Plantas Medicinais. Viçosa: UFV, 220 p.

McWhorter CG (1993) Epicuticular wax on johnsongrass (*Sorghum halepense*) leaves. **Weed Science** 41:475–482.

Mendes KF, Silva AA (2022) Plantas daninhas: biologia e manejo (Vol. 1). São Paulo: Oficina de Textos, 512 p.

Mendes KF, Silva AA, Mielke KC (2022) **Classificação, seletividade e mecanismos de ação de herbicidas**. In: Mendes KF, Silva AA (Org.) Plantas Daninhas: Herbicidas Vol. 2. 1ed. São Paulo: Oficina de Textos, v.2, p.7–56.

Mikich SB, Silva SM (2001) Composição florística e fenologia das espécies zoocóricas de remanescentes de floresta estacional semidecidual no Centro-Oeste do Paraná, Brasil. **Acta Botânica Brasílica** 15(1):89–113.

Millán-Aguilar O, Ordóñez-Rosas ML, Castillo-Cruz I, Rodríguez-Arredondo L, Ruiz-Domínguez M, Hurtado-Oliva MÁ, Manzano-Sarabia M (2025) Nuisance growth of *Cissus verticillata* (Vitaceae) negatively affects the structure of mangroves in Marismas Nacionales Nayarit, Mexico. **Diversity** 17:407.

Monquero PA, Hijano N, Orzari I, dos Santos Sabbag R, da Silva Hirata AC (2012) Profundidade de semeadura, pH, textura e manejo da cobertura do solo na emergência de plântulas de *Rottboellia exaltata*. **Semina: Ciências Agrária** 33(1):2799-2812.

Moraes JS, Santos DL, Fecury AA, Dendasck CA, Dias CAGM, Pinheiro MCN, Souza KO, Silva IR, Oliveira E (2020) The use of the plant *Cissus verticillata* (insulin) in the treatment of Diabetes Mellitus, in a coastal community in Pará, Amazon, Brazil. **Research, Society and Development** 9(7):e443974273.

Navarro FF (2009) ***Cissus gongylodes*: caracterização farmacognóstica e investigação de aspectos preliminares da segurança da utilização de extratos aquosos das folhas e caules**. 89 f. Dissertação (Mestrado) –

Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Botucatu, SP.

Nie ZL, Sun H, Chen ZD, Meng Y, Manchester SR, Wen J (2010) Filogenia molecular e diversificação biogeográfica de *Parthenocissus* (Vitaceae) disjunta entre a Ásia e a América do Norte. **American Journal of Botany** 97:1342–1353.
Nogueira FCB, Gallão MI, Bezerra AME, Filho SME (2014) Efeito da temperatura e luz na germinação de sementes de *Dalbergia cearensis* Ducke. **Ciência Florestal** 24(4):995-1005.

Nylander JAA (2004) MrModeltest v2.3. Uppsala: Program Distributed by the Author; Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
Oliveira ABD, Mendonça MSD, Azevedo AA, Meira RM (2012) Anatomy and histochemistry of the vegetative organs of *Cissus verticillata*: a native medicinal plant of the Brazilian Amazon. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 22:1201-1211.

Oliveira ACS, Gervásio SV, Galter IN, Fontes MP, Matsumoto ST, França H, Batitucci MDCP (2024) Investigação da atividade citotóxica e da composição química por espectrometria de massa de extratos polares de *Cissus verticillata*. **Revista Virtual de Química** 16(4):1-10.

Oxelman B, Lidén M, Berglund D (1997) Chloroplast rps16 intron phylogeny of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae). **Plant Systematics and Evolution** 206(1):393–410.

Pan L, George-Jaeggli B, Borrell A, Jordan D, Koller F, Al-Salman Y, Cano FJ (2022) Coordination of stomata and vein patterns with leaf width underpins water-use efficiency in a C4 crop. **Plant, Cell & Environment** 45(6):1612–1630.

Pettit D (2016) An illustrated guide for Bermuda's indigenous and invasive plants. Flatts, Bermuda: Department of Environment and Natural Resources, 207 p. Disponível em: <https://www.gov.bm/sites/default/files/plantfinder-april-2016.pdf>. Acesso em: 20 de agosto de 2025.

Picanço WL, Lombardi JA (2020) **Vitaceae in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB248>. Acesso em: 12 set. 2023.

ProteCitrus (2023) **Produtos para Proteção da Citricultura**. Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/protectitrus/> Acesso em: 28 set. 2025.

Rizzardi MA, Rockenbach AP, Schneider T (2020) Residual herbicides increase the period prior to interference in soybean cultivars. **Planta Daninha** 38:e020222194.

Rodrigues JG, Lombardi JA, Lovato MB (2014) Phylogeny of *Cissus* (Vitaceae) focusing on South American species. **Taxon** 63:287–298.

Rojas-Sandoval J (2022) ***Cissus verticillata* (Possum Grape Vine)**. CABI Compendium: Wallingford, UK. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.82702108>. Acesso em: 20 ago. 2025.

Rojo A, Rodriguez J (2002) **La flora del Pedregal de San Ángel**. 2. ed. Ciudad de México: Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales/Instituto Nacional de Ecología.

Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic Biology** 61(3):539–542.

Rossetto M, Jackes BR, Scott KD, Henry RJ (2002) Is the genus *Cissus* (Vitaceae) monophyletic? Evidence from plastid and nuclear ribosomal DNA. **Systematic Botany** 27(3):522–533.

Rzedowski GC, Rzedowski J (2001) **Flora fanerogámica del Valle de México**. 2a ed. Pátzcuaro, Michoacán, México: Instituto de Ecología e Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

Rzedowski J, Calderón de Rzedowski G (2005) **Vitaceae**. In: Rzedowski GC, Rzedowski J (eds.) *Flora del Bajío y de regiones adyacentes*. Fascículo 131.

Pátzcuaro, Michoacán, México: Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Salamah H, Mulyah E, Hariri MR (2025) Inventory of weeds in Mexican Park, Bogor Botanical Garden. **Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia** 30:11-18.

Santos JD, Cury JP (2011) Picão-preto: uma planta daninha especial em solos tropicais. **Planta Daninha** 29:1159-1172.

Santos RTDS (2021) **Caracterização de acessos e controle químico de *Paspalum virgatum* L.** 115 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Schneider T, Michelon F, Bortolotto RP, Camera JN, Machado JM, Koefender J (2022) Controle químico de buva em dessecação pré-semeadura da soja. **Weed Control Journal** 21: e202200766.

Schwarz G (1978) Estimating the dimension of a model. **Annals of Statistics** 6:461–464.

Senapati A, Chetri BK, Mitra S, Shelke RG, Rangan L (2023) Decoding the complete chloroplast genome of *Cissus quadrangularis*: insights into molecular structure, comparative genome analysis and mining of mutational hotspot regions. **Physiology and Molecular Biology of Plants** 29(5):709–724.

Silva AJ (2025) **Dinâmica, metabolismo e ação de tiafenacil em plantas**. 56 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu.

Silva CXR, Belfort MGS, Azevedo SA (Eds.) (2024) **Estudos e aspectos gerais do cipó-insulina (*Cissus sicyoides* / *C. verticillata*)**. Campina Grande: Amplla. 72 p.

Silva L, Carreira RC, Oniki GH, Agripino DG, Young MCM, Ladeira AM (2007) Crescimento e análise do potencial antifúngico em plantas de *Cissus verticillata* (L.) Nicholson & Jarvis (Vitaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais** 9:73-79.

Smith RL (2010) **Invasive alien plant species of The Bahamas and biodiversity management**. 131 f. Dissertação (Master in Biological Sciences) – Miami University, Oxford, OH, EUA.

Soejima A, Wen J (2006) Phylogenetic analysis of the grape family (Vitaceae) based on three chloroplast markers. **American Journal of Botany** 93(2):278–287.

Souza FA, Guarim-Neto G (2009) Aspectos botânicos e de usos de *Cissus verticillata* (L.) Nicholson & C.E. Jarvis (Vitaceae): insulina vegetal. **FLOVET** 1:21–39.

Souza VC, Lorenzi H (2019) **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG IV**. 4ª ed. Nova Odessa: Jardim Botânico Plantarum.

Streibig JC (1988) Herbicide bioassay. **Weed Research** 28(6):479–484.

Taberlet P, Gielly L, Pautou G, Bouvet J (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant Molecular Biology** 17:1105–1109.

Taiz L, Zeiger E (2021) **Plant Physiology and Development**. 6th ed. Oxford: Oxford University Press.

Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution** 24(8):1596–1599.

Tao YY, Shang TC, Yan JJ, Hu YX, Zhao Y, Liu Y (2022) Effects of sand burial depth on *Xanthium spinosum* seed germination and seedling growth. **BMC Plant Biology** 22:43.

Trezzi MM, Teixeira SD, de Lima VA, Scalcon EL, Pagnoncelli FDB Jr, Salomão HM (2020) Relationship between the amount and composition of epicuticular wax and tolerance of Ipomoea biotypes to glyphosate. **Journal of Environmental Science and Health, Part B** 55:959–967.

Trifinopoulos J, Nguyen LT, von Haeseler A, Minh BQ (2016) W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. **Nucleic Acids Research** 44(W1):W232–W235.

Val ADB, Motoike SY, Alvarenga EM, Cecon PR (2010) Quebra de dormência de sementes da videira cv. niágara rosada sem estratificação. **Revista Ceres** 57(2):234–238.

Valderrama-Landeros L, Camacho-Cervantes M, Velázquez-Salazar S, et al. (2025) Detection of an invasive plant (*Cissus verticillata*) in the largest mangrove system on the eastern Pacific coast—a remote sensing approach. **Wetlands Ecology Management** 33:13.

Valkama E, Salminen JP, Koricheva J, Pihlaja K (2003) Comparative analysis of leaves trichome structure and composition of epicuticular flavonoids in Finnish Birch species. **Annals of Botany** 91(6):643–655.

Viana RG, Tuffi Santos LD, Demuner AJ, Ferreira FA, Ferreira LR, Ferreira EA, Santos MV (2010) Quantificação e composição química de cera epicuticular de folhas de *Eucalyptus*. **Planta Daninha** 28:753-758.

Vilà M, Espinar JL, Hejda M, Hulme PE, Jarošík V, Maron JL, Pergl J, Schaffner U, Sun Y, Pyšek P (2011) Ecological impacts of invasive alien plants: a meta-analysis of their effects on species, communities and ecosystems. **Ecology Letters** 14:702-708.

Wall S, Vialet-Chabrand S, Davey P, Van Rie J, Galle A, Cockram J, Lawson T (2022) Stomata on the abaxial and adaxial leaf surfaces contribute differently to leaf gas exchange and photosynthesis in wheat. **New Phytologist** 235(5):1743–1756.

Wen J, Lu LM, Nie ZL, Liu XQ, Zhang N, Ickert-Bond S, Gerrath J, Manchester SR, Boggan J, Chen ZD (2018) A new phylogenetic tribal classification of the grape family (Vitaceae). **Journal of Systematics & Evolution** 56(4):262–272.
Wertz PW (1996) **Waxes: chemistry, molecular biology and functions**. Dundee: The Oily Press, 349 p.

Willmer CM, Fricker M (1996) **Stomata**. 2nd ed. Dordrecht: Springer.

Wright S, Keeling J, Gillman L (2006) The road from Santa Rosalia: a faster tempo of evolution in tropical climates. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 103(20):7718–7722.

Yang Y, Forsythe ES, Ding YM, Zhang DY, Bai WN (2023) Genomic analysis of plastid–nuclear interactions and differential evolution rates in coevolved genes across Juglandaceae species. **Genome Biology and Evolution** 15(8):145.

Zobiole LHS, Krenchinski FH, Pereira GR, Rampazzo PE, Rubin RS, Lucio FR (2018) Programas de manejo para o controle de *Conyza* spp. em aplicações pré-semeadura da soja. **Planta Daninha** 36: e018175883.

Apêndice II. Matriz de distância genética par a par do marcador *rps16*.

[illegible]