

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**SUSCETIBILIDADE DIFERENCIADA DE *Synedrellopsis
grisebachii* AO HERBICIDA GLYPHOSATE: EFEITO DO
SOMBREAMENTO E DO ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO**

**Juciléia Irian dos Santos
Engenheira Agrônoma**

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**SUSCETIBILIDADE DIFERENCIADA DE *Synedrellopsis
grisebachii* AO HERBICIDA GLYPHOSATE: EFEITO DO
SOMBREAMENTO E DO ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO**

Juciléia Irian dos Santos

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

Co-orientador: Dr. Eduardo Custódio Gasparino

Profa. Dra. Grisel Mariom Fernandez Childs

**Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para a
obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Produção Vegetal)**

2015

Santos, Juciléia Irian dos

S237s Suscetibilidade diferenciada de *Synedrellopsis grisebachii* ao herbicida glyphosate: efeito do sombreamento e do estágio de desenvolvimento / Juciléia Irian dos Santos. -- Jaboticabal, 2015

x, 56 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015.

Orientadora: Pedro Luís da Costa Aguiar Alves

Banca examinadora: Dagoberto Martins, Edivaldo Domingues Velini

Bibliografia

1. *Synedrellopsis grisebachii*. 2. Anatomia foliar. 3. Luminosidade. 4. Controle químico. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.954:632.5

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

JUCILÉIA IRIAN DOS SANTOS – nascida em Maringá, Estado do Paraná, Brasil, aos 17 de março de 1990. Graduiu-se em Agronomia pelo Câmpus Regional de Umuarama da Universidade Estadual de Maringá (UEM), no ano de 2012. Atuou em pesquisa na área de fitotecnia, com culturas para produção de biodiesel. Desde 2013 atua em pesquisa na área da Ciência das Plantas Daninhas, principalmente em resistência de plantas daninhas a herbicidas. Nos últimos anos tem participado de eventos científicos nacionais e internacionais na sua área de atuação, bem como da organização de eventos nacionais. A autora também publicou artigos científicos em revistas nacionais e internacionais.

EPÍGRAFE

“O Senhor é meu pastor, nada me faltará”.

Salmo 22

DEDICATÓRIA

**Aos meus pais Ari e Erci, pela
amizade e apoio.**

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde e força.

Aos meus pais Ari dos Santos e Erci Rodrigues do Nascimento Santos, que sempre me apoiaram, acreditaram em mim e me ensinaram os valores da vida.

Ao meu namorado e grande companheiro Eder Wagatsuma por toda amizade, companheirismo e apoio sempre.

Aos meus avós Antônio Vitor do Nascimento e Mauro Rodrigues do Nascimento, por todo amor e carinho.

Ao prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves, pela orientação, amizade e dedicação dispensada ao longo do curso de mestrado.

Ao prof. Dr. Eduardo Custódio Gasparino, pela co-orientação e ensinamentos.

A Profa. Dra. Grisel Mariom Fernandez Childs, pela co-orientação no mestrado sanduíche, amizade, por ter me recebido de braços abertos no Uruguaý e ter compartilhado momentos maravilhosos.

Ao CNPQ e a FAPESP pela concessão da bolsa de estudo para a realização do curso de mestrado.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal, através do Programa de Produção Vegetal, que possibilitou a realização do curso de mestrado.

Aos colegas do LAPDA, em especial meus amigos a Carita Liberato do Amaral, Bruna Pires da Silva, Mariluce Pascoina Nepomuceno e José Valcir Fidelis Martins, pela colaboração indispensável nas atividades do experimento e pelos bons momentos compartilhados.

Aos Prof. Dr. Edivaldo Velini e ao NUPAN pela realização de parte das análises.

As funcionárias Roseli Conceição Silva e Eliane Cistina da Cunha Alves pela ajuda na realização em parte das análises.

Aos meus amigos Jordana Flores de Araújo, Jaqueline Lopes, Nadinha de Freitas Spanhol, Flavia Rogério, Verena Benício de Oliveira e Rodrigo Nowaki, pela grande amizade e companheirismo.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
1. RESUMO.....	ii
2. ABSTRACT.....	iii
3. INTRODUÇÃO.....	4
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
4.1 Uso de Glyphosate e espécies tolerantes.....	6
4.2 Anatomia foliar e absorção de herbicida.....	7
4.3 Rota do ácido chiquímico.....	10
4.4 Efeitos do glyphosate nos compostos metabólicos.....	12
4.5 Metabolização do glyphosate na planta.....	13
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
5.1 Instalação e condução dos experimentos.....	15
5.2 Análise da anatomia foliar.....	16
5.3 Extração dos compostos metabólicos.....	17
5.4 Análise dos resultados.....	18
6. RESULTADOS.....	20
6.1 Anatomia foliar.....	20
6.2 Anatomia foliar após a aplicação do herbicida.....	27
6.3 Curva de dose-resposta.....	30
6.4 Compostos metabólicos.....	33
7. DISCUSSÃO.....	40
8. CONCLUSÃO.....	45
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

SUSCETIBILIDADE DIFERENCIADA DE *Synedrellopsis grisebachii* AO HERBICIDA GLYPHOSATE: EFEITO DO SOMBREAMENTO E DO ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO

RESUMO – A suscetibilidade das plantas aos herbicidas está relacionada a diversos fatores, dentre eles as condições ambientais em que essas plantas são desenvolvidas. Com base nessa informação, foram realizados dois experimentos condizentes a dois estágios de desenvolvimento das plantas (vegetativo e reprodutivo), com o objetivo de estudar a possível relação entre a tolerância de *Synedrellopsis grisebachii* ao herbicida glyphosate e sua anatomia foliar, em função da intensidade luminosa. Os experimentos foram conduzidos em esquema fatorial 2 x 7, duas condições de luminosidade (pleno sol e 70% de sombra) e sete doses crescentes de glyphosate (0; 450; 900; 1.800; 3.600; 7.200 e 10.800 g e. a. ha⁻¹), sendo que aplicação do herbicida foi realizada quando as plantas encontravam-se nos estágios de desenvolvimento proposto no trabalho. As análises de anatomia foliar foram realizadas ao 0 e 7 dias após a aplicação do herbicida (DAA). Aos 7 DAA foi realizado também a coleta de folhas para quantificação dos compostos metabólicos das plantas, através do sistema LC-MS/MS, e a avaliação visual de controle das plantas foi realizada aos 14, 21, 28 e 35 DAA. A luminosidade provocou mudanças na anatomia foliar de *S. grisebachii*, que atuaram como barreiras à absorção do herbicida glyphosate conferindo maior tolerância a essa espécie em condições de alta intensidade de luz (sol). A ação desse herbicida foi mais efetiva em plantas sob baixa intensidade de luz (sombra), o que acarretou maior absorção de herbicida, injúria nos tecidos foliares, maior acúmulo dos ácidos chiquímicos e controle mais rápido e em menores doses, em relação a plantas sob alta intensidade de luz. Plantas em estágio reprodutivo são menos susceptíveis à ação do herbicida glyphosate em relação a aquelas em estágio vegetativo.

“Palavras-chave”: Anatomia foliar, controle químico, estágio de desenvolvimento, luminosidade, *Synedrellopsis grisebachii*

DIFFERENTIAL SUSCEPTIBILITY OF *Synedrellopsis grisebachii* TO HERBICIDE GLYPHOSATE: SHADING EFFECT AND STAGES OF PLANT DEVELOPMENT

ABSTRACT - Susceptibility to herbicides is related to several factors, including the environmental conditions in which these plants are developed. According this information two experiments were carried out (vegetative and full bloom stages of plant development) and the aim was to correlate the tolerance of *Synedrellopsis grisebachii* to glyphosate and their leaf anatomy, by distinct light intensities. The treatments were arranged in 2 x 7 factorial design, consisting of two light intensity (sun and shade) and seven glyphosate rates (0; 450; 900; 1,800; 3,600; 7,200 e 10,800 g e. a. ha⁻¹). The herbicide application was performed when the plants were in the stages of development proposed at work. Analysis of leaves anatomy was performed at 0 and 7 days after the application (DAA). The metabolic compounds were quantified also at 7 DAA, by LC-MS/MS system and the visual control was evaluated at 14, 21, 28 and 35 DAA. The sunlight changed the leaf anatomy of *S. grisebachii* who acted as barriers absorption of glyphosate giving greater tolerance in a high light intensity (sun). The herbicide action was more effective in plants under low light intensity (shadow), leading to greater absorption of herbicide, greater injury in the leaves, greater accumulation of shikimic acid and faster control and in smaller rates, than plants under high light intensity. Plants in full bloom stage are less susceptible to the action of glyphosate than in vegetative stage of plant development.

“Keywords”: Leaves anatomy, chemical weed control, stages of plant development, light, *Synedrellopsis* *grisebachii*

3. INTRODUÇÃO

O controle de plantas daninhas é uma prática de extrema importância no manejo das culturas, uma vez que a competição entre essas plantas podem resultar perdas significativas de produtividade. Portanto, os herbicidas são uma das principais ferramentas no controle da população infestante.

O controle químico é umas das principais formas de controle de plantas daninhas, devido suas inúmeras vantagens em comparação a outros métodos de controle (BURNSIDE, 1992); no entanto, seu uso indiscriminado pode levar diversos problemas, sendo um dos principais, a seleção de espécies tolerantes, devido o uso consecutivo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação.

O glyphosate, por ser o herbicida mais utilizado mundialmente, tem selecionado diversas espécies tolerantes de plantas daninhas (MOREIRA; CHRISTOFFOLETI, 2008). Essa tolerância pode estar relacionada a diversos fatores que diminuem a eficiência do herbicida na planta, como morfologia e/ou anatomia diferenciada que interferem na absorção foliar, redução na translocação de herbicida na planta, compartimentalização e/ou metabolização, superexpressão da enzima inibida pelo herbicida e modificação no sítio de ação dessa enzima, tornando-a incapaz de ser reconhecida pelo herbicida (POWLES e YU, 2010).

A absorção de herbicidas aplicados em pós-emergência, como é o caso do glyphosate, esta diretamente relacionada à anatomia foliar, sendo que esta sofre influencia direta das condições ambientais. A luz é um dos principais fatores responsáveis por modificações na anatomia foliar (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001), que podem resultar no acúmulo de cera na superfície da folha, espessamento da cutícula e células epidérmicas e diferenciação dos tecidos fotossintetizantes (ABRAMS; MOSTOLLER, 1995; CASTRO et al., 1998; LEE et al., 2000). Essas características podem interferir na absorção do herbicida na planta, e, conseqüentemente, no controle das mesmas.

Outro fator relacionado à eficiência do herbicida na planta é o estágio de desenvolvimento que esta encontra-se no momento da aplicação (PASSOS;

MENDONÇA, 2006). Plantas em estágio vegetativo são mais facilmente controladas pelo uso de herbicidas, em comparação aquelas já em estágio reprodutivo.

No caso do glyphosate, a quantidade de herbicida que chega ao seu sítio de ação é responsável pela inibição da enzima EPSPs, que resulta na interrupção da síntese de corismato, substrato para a biossíntese dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) e compostos secundários. A inibição dessa enzima leva também ao acúmulo de ácido chiquímico na planta e desvio do fluxo de carbono de outras rotas metabólicas, resultando dessa maneira, na morte da planta (DUKE; POWLES, 2008).

Dentre as plantas daninhas consideradas tolerantes ao glyphosate a espécie *Synedrellopsis grisebachii*, vem destacando-se por sua agressividade e dificuldade de controle (PROCÓPIO et al., 2006; GIANCOTTI et al., 2012; DUKE; POWLES, 2008). Tem a capacidade de desenvolver-se em diferentes condições de luminosidade, sendo comumente encontrada em áreas de pastagens e culturas perenes, dificultando o manejo de plantas daninhas em sistema de plantio direto e o controle da comunidade infestante em áreas de citros.

Deste modo, o objetivo do trabalho foi estudar a tolerância de *Synedrellopsis grisebachii* ao herbicida glyphosate e sua anatomia foliar, em função de diferentes condições de luminosidade, em dois estágios de desenvolvimento da planta.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Uso de glyphosate e espécies tolerantes

As plantas daninhas competem com as culturas por água, luz, espaço e nutriente causando redução na produtividade e depreciação da qualidade dos produtos (VIEIRA; SOCOLOWSKI; TAKAKI, 2007). Para reduzir esses prejuízos faz-se necessário a adoção de métodos de controle, tais como, mecânicos, culturais, biológicos e químicos.

O controle químico é o mais utilizado dentre os métodos de controle de plantas daninhas devido a grande oferta de herbicidas, economia de mão de obra e rapidez da operação. No entanto, a pressão causada pelo uso contínuo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação pode selecionar espécies tolerantes ou biótipos resistentes de plantas daninhas (BURNSIDE, 1992).

O glyphosate é o herbicida mais utilizado mundialmente, devido principalmente suas características como, amplo espectro de ação, sendo utilizado tanto no controle de plantas daninhas anuais como perenes, baixo custo, baixa toxicidade ao homem e rápida degradação no ambiente (MOREIRA; CHRISTOFFOLETI, 2008; DILL; CAJACOB; PADGETTE, 2008). Apresenta como ingrediente ativo a molécula N – (phosphonomethyl) glicina (BRIDGES, 2003), e pode ser formulado a partir do sal de isopropilamina, sal de amônio, sal potássico ou sal de trimetilsulfônico (MESQUITA; RODRIGUÊS; MENDONÇA JÚNIOR, 2011), sendo o primeiro o mais utilizado (BRIDGES, 2003).

A introdução do sistema conservacionista do solo contribuiu para o aumento do uso de glyphosate, para manejo da vegetação antes do plantio da cultura, principalmente em áreas de plantio direto e para controle de plantas daninhas em culturas perenes (PRICE et al., 2011) O surgimento de culturas transgênicas, tolerantes ao glyphosate, também colaborou para o aumento do uso desse herbicida, elevando a pressão de seleção exercida pelo herbicida sob espécies tolerantes e biótipos resistentes de plantas daninhas (DILL; CAJACOB; PADGETTE, 2008; MOREIRA; CHRISTOFFOLETI, 2008).

Atualmente no Brasil, estão registrados oito biótipos de plantas daninhas resistentes ao herbicida glyphosate (HEAP, 2015), e há diversos estudos com espécies tolerantes a esse herbicida. Algumas espécies têm sido relatadas como tolerantes ao herbicida glyphosate, como por exemplo, *Ambrosia artemisiifolia* (KAPUSTA; KRAUZ; MATTHEWS, 1994), *Sesbania exaltata*, *Ipomoea spp.* (JORDAN et al., 1997; LICH; RENNER; PENNER, 1997), e *Synedrellopsis grisebachii* (PROCÓPIO et al., 2006).

A espécie *Synedrellopsis grisebachii* (Hieron. & Kuntze), comumente conhecida como agriãozinho das pastagens, é uma das plantas daninhas pertencentes à família das Asteraceae, frequentemente encontrada em pastagens das regiões Centro-Oeste e Centro- Sul do Brasil e sua presença vem aumentando também em lavouras perenes (NAKAJIMA; LOEUILLÉ; HEIDEN, 2014). Ocorre também em outros países da América do Sul, como Bolívia, Paraguai e Norte da Argentina (CABRERA, 1978). Apresenta hábito de crescimento prostrado, dominando facilmente gramíneas forrageiras, principalmente se pastoreadas (YAMAUTI et al., 2012). É uma espécie tolerante ao herbicida glyphosate (PROCÓPIO et al., 2006; GIANCOTTI et al., 2012), de difícil controle em áreas de dessecação da pastagem para realização de plantio direto e em culturas perenes, principalmente frutíferas, no qual esse herbicida é utilizado para manejo da população infestante.

4.2 Anatomia foliar e absorção de herbicida

A eficácia do herbicida na planta é dependente da retenção da molécula na superfície foliar, da penetração foliar, da translocação na planta até o sítio de ação e da inibição da enzima alvo (MONQUEIRO et al., 2004). A resistência/tolerância de plantas daninhas a herbicidas pode estar relacionada à mutação na enzima alvo, na qual uma quantidade letal de herbicida alcança essa enzima, mas devido à mutação em seu gene, não ocorre morte da planta, ou a outros fatores que não envolvem essa enzima alvo, como redução na absorção e translocação do herbicida, compartimentalização e/ou metabolização acelerada do produto na planta (POWLES e YU, 2010).

A absorção do herbicida na planta pode estar relacionada à morfologia (área foliar e ângulo das folhas em relação ao jato de pulverização) e/ou anatomia da folha (presença de tricomas, composição da cera epicuticular, espessura da cutícula, espessura e organização das células parenquimáticas).

As folhas representam a principal rota de entrada dos herbicidas aplicados em pós-emergência. Nelas localizam-se diversas estruturas funcionais, como ceras, estômatos e tricomas, que podem influenciar na entrada de herbicida através da cutícula. O conhecimento dessas estruturas funcionais poderá elucidar as possíveis interações entre os herbicidas e as superfícies foliares das plantas daninhas, durante o processo de absorção (MENDONÇA et al., 2005). Diversos estudos de caracterização da anatomia foliar de plantas daninhas têm sido desenvolvidos no Brasil (ALBERT; VITÓRIA FILHO, 2002; FERREIRA et al., 2002; SANTOS et al., 2002; MONQUERO, 2004; TUFFI SANTOS et al., 2004), evidenciando a importância dessa linha de pesquisa na área das plantas daninhas.

As características da superfície foliar são variáveis de cada espécie, em relação à quantidade e disposição de estômatos, deposição de ceras epicuticulares, depósito diferenciado de ceras nas paredes periclinais das células guardas, influenciando na absorção de produtos e no desenvolvimento de tricomas e glândulas (HESS; FALK, 1990).

O estômato é normalmente constituído por um poro elíptico, localizado na epiderme adaxial e/ou abaxial das folhas, caules herbáceos e partes florais, rodeado por duas células epidérmicas especializadas, as células guardas (METCALFE; CHALK, 1979). Devido à maior predominância na fase abaxial das folhas, os estômatos têm pouca influência na absorção de herbicidas aplicados em pós-emergência, em razão da dificuldade que as gotas de herbicida apresentam em atingirem a superfície abaxial da folha (TUFFI SANTOS et al., 2009). Outro fator que limita a absorção de herbicida pelos estômatos é o fato de a cavidade estomática ser recoberta por cutícula. Essas estruturas encontram-se ainda cheias de gases, impedindo assim, a rápida movimentação do herbicida para o interior das folhas (VELINI et al., 2009; SALGADO et al., 2011)

A membrana cuticular é um fator chave na absorção de produtos químicos pelas plantas. Ela é formada por cutícula secundária (capa cuticular cutinizada),

cutícula primária (cutícula propriamente dita) com ceras embebidas e, na parte mais externa, as ceras epicuticulares (MONQUERO et al., 2004).

As ceras epicuticulares e cuticulares contêm uma pequena porcentagem de longas cadeias de alcanos (10-20%), e outras substâncias, como, alcoóis, aldeídos, ácidos graxos e cetonas (MONQUERO et al., 2004). As ceras epicuticulares podem apresentar-se na forma cristalina e amorfa, e sua quantidade pode variar em decorrência dos fatores ambientais, como intensidade luminosa, fotoperíodo, umidade e temperatura, enquanto a sua composição química varia em função da espécie e idade da planta (MONQUERO et al., 2004; HESS; CHESTER, 2000).

O tipo de superfície de cera influencia na capacidade de molhamento da solução de pulverização. De acordo com HESS (1997), superfícies foliares lisas, ausentes de cristais de ceras, contendo apenas ceras amorfas são de fácil molhamento, enquanto as superfícies foliares com presença de cristas de ceras são mais difíceis de molhar, como a maioria das espécies monocotiledôneas.

As condições ambientais têm influência direta nas alterações morfo-anatômicas das folhas. A capacidade de adaptação e aclimatação ao estresse ambiental resulta de eventos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização, desde o anatômico e morfológico até o celular, bioquímico e molecular (TAIZ; ZEIGER, 2010).

A luz é um dos principais fatores responsáveis pelas modificações no desenvolvimento, tamanho e espessura foliar (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001). “Em geral, folhas que desenvolvem-se sob alta intensidade luminosa, denominadas folhas “de sol”, são menores e mais espessas do que aquelas que permanecem sob baixa intensidade, as folhas “de sombra”” (MILANEZE-GUTIERRE; MELLO; DELAPORTE, 2003). Folhas “de sol” tendem ainda a ter maior desenvolvimento dos parênquimas paliçádico e lacunoso do mesófilo foliar em comparação com as folhas “de sombra” devido à maior taxa fotossintética que essas plantas apresentam em condição de alta saturação de luz (CHATELET et al., 2013). Em condições onde as plantas estão sob diferentes quantidades de luz, a espessura e a área foliar tendem a ser inversamente proporcionais, ou seja, a folha diminui a área exposta, mas aumenta a espessura da lâmina, devido ao incremento dos tecidos fotossintéticos e

dos espaços intercelulares, garantindo assim o volume da folha (BOEGER; POULSON, 2006).

Outro fator relacionado à absorção de herbicida e eficácia do mesmo é o estágio de desenvolvimento da planta no momento da aplicação. Folhas em desenvolvimento (jovens) apresentam maior capacidade de absorção de herbicida em comparação às folhas plenamente desenvolvidas (adultas), devido à menor espessamento das células epidérmicas (PASSOS; MENDONÇA, 2006). Um estudo da anatomia vegetal de *Brachiaria decumbens* Stapf e *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitch, Marques et al. (2012) observaram que plantas adultas, no início do florescimento, apresentavam maior porcentagem de esclerênquima, feixe vascular e parênquima em comparação a plantas em estágio inicial de desenvolvimento (4-6 folhas no colmo), dificultando assim a absorção e transporte do herbicida na planta. Segundo Crawford e Zambrysky (2001) tecidos mais novos possuem a capacidade de transportar moléculas maiores, tornando as plantas menos suscetíveis aos herbicidas à medida que avança seu estágio de desenvolvimento.

4.3 Rota do ácido chiquímico

Após sua absorção, o glyphosate é translocado até seu sítio de ação, através do floema, onde inibe a enzima 5-enolpiruvilchiquimato fosfato sintase (EPSPs; EC 2.5.1.19) em plantas suscetíveis (DUKE; POWLES, 2008). Esta enzima encontra-se presente na rota do ácido chiquímico, que consiste na conversão de fosfoenolpiruvato (PEP), da glicólise, e eritrose 4-fosfato, da via pentose- fosfato em corismato, precursor dos aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina e triptofano e compostos secundários (MAEDA; DUDAREVA, 2012).

A rota do ácido chiquímico compreende sete reações catalisadas por seis enzimas (TZIN; GALILI, 2010). Primeiramente, a enzima 3-deoxy-d-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintase (DAHPS; EC 2.5.1.54) catalisa a formação de 3-deoxy-d-arabino-heptulosonato-7-fosfato (DAHP) pela condensação de fosfoenolpiruvato (PEP) e eritrose 4-fosfato (TZIN; GALILI, 2010). Essa enzima requer Mn^{2+} e tioredoxin (TRX) reduzido para sua atividade, ligando assim o fluxo de

carbono na via do ácido chiquímico ao fluxo de elétrons do fotossistema I (ENTUS; POLING; HERRMANN, 2002).

O próximo passo da rota é a conversão de 3-deoxi-d-arabino-heptulose-7-fosfato em 3-desidroquinato (DHQ) pela enzima 3-dehydroquinase sintase (DHQS; EC 4.2.3.4). O terceiro e quarto passo enzimático é catalizado pelas enzimas bi-funcionais 3-dehydroquinato desidratase (DHQ; EC 4.2.1.10), o qual desidrata DHQ a 3-desidrochiquimato (DHS), seguido pela redução de DHS a chiquimato, catalisada pela chiquimato-desidrogenase (SDH; EC 1.1.1.25) (TZIN; GALILI, 2010). Essas enzimas desempenham importante papel na regulação de metabólitos nos pontos de ramificação da rota para garantir a produção suficiente do composto desejado, e são encontradas no ponto de ramificação para a síntese de ácido quínico (DING et al., 2007).

Na quinta reação enzimática, a enzima chiquimato quinase catalisa a fosforilação de chiquimato para produzir chiquimato-3-fosfato (S3P) (TZIN; GALILI, 2010). Posteriormente, a enzima 5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase (EPSPS), também conhecida como 3-fosfochiquimato 1-carboxiviniltransferase, catalisa o penúltimo passo da rota do ácido chiquímico, a formação de 5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato (EPSP) pela transferência da porção enolpiruvil da PEP para a posição 5-hidroxil do S3P (MAEDA; DUDAREVA, 2012). Em plantas, a enzima EPSPs é o único sítio da ação do herbicida glyphosate, competindo com a PEP pelo sítio de ligação no complexo EPSPs-S3P (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000; MAEDA; DUDAREVA, 2012).

O último passo da rota é a conversão de EPSP a corismato pela enzima corismato sintase (CS; EC 4.2.3.5). O corismato é o metabolito central, precursor na síntese dos três aminoácidos aromáticos e outros metabólitos como, tetrahydrofolato (vitamina B9) (BASSET et al., 2004; WALLER et al., 2010), isochorismato 3 para a produção de ácido salicílico (GARCION et al., 2008; WILDERMUTH et al., 2001), filloquinona (vitamina K1) e pigmentos (GROSS et al., 2006; KIM et al., 2008).

4.4 Efeitos do glyphosate nos compostos metabólicos

Conseqüentemente à inibição da enzima EPSPs, ocorre interrupção da rota, resultando no aumento do fluxo de carbono para chiquimato-3-fosfato, que é convertido em níveis elevados de ácido chiquímico nos tecidos das plantas susceptíveis ao herbicida glyphosate (DUKE, 1988). Diversos autores evidenciaram acúmulo de ácido chiquímico nas plantas tratadas com glyphosate (MATALLO et al., 2009; REDDY et al., 2008; ORCARAY et al., 2010; FENG et al., 2004; SINGH; SHANER, 1998)

Mattallo et al. (2009), estudando efeito de doses de glyphosate em *Brachiaria decumbens*, observaram aumento nos níveis ácido chiquímico na planta, aos sete dias após os tratamentos, quando foi aplicada as doses de 360, 720 e 1440 g e. a. ha⁻¹. Resultados semelhantes foram observados por Reddy et al. (2008), onde os níveis desse composto variou de 53 a 16530 µg g⁻¹ nos tecidos de *Glycine max* resistente e a *Vigna unguiculata* susceptíveis ao herbicida, respectivamente.

O ácido chiquímico também foi o principal composto acumulado em *Pisum sativum* após a aplicação de glyphosate, representando até 8% da matéria seca das plantas aos quinze dias após a aplicação (ORCARAY et al., 2010). Esses autores também observaram acúmulo de outros ácidos após a aplicação do glyphosate, ácido protocatecuico, ácido gálico e ácido quínico. Este último está presente em plantas superiores, e pode ser sintetizado a partir de DHQ ou a partir do próprio ácido chiquímico (GUO et al., 2014; ORCARAY et al., 2010). Segundo Orcaray et al. (2010), o ácido quínico pode ser um composto reserva da via do ácido chiquímico, mas seu papel fisiológico ainda não está completamente esclarecido.

Em relação ao efeito da inibição da enzima EPSPs pelo herbicida glyphosate nos níveis de aminoácidos aromáticos, estes podem ser diferentes em cada espécie. Os resultados obtidos no experimento realizado por Petersen et al. (2007), não evidenciaram claro decréscimo no teor desses aminoácidos em *Brassica napus* L. expostas a concentrações de glyphosate em comparação com as plantas testemunhas. Quando a planta foi exposta a concentrações entre 1 a 10 µM de glyphosate houve aumento nos teores de fenilalanina e tirosina, já em concentrações superiores a 50 µM de glyphosate houve decréscimo nos teores

desses aminoácidos. No entanto, os teores de triptofano aumentaram em todas as concentrações avaliadas, ao invés do esperado, que seria a redução.

Forlani, Lejczak e Kafarski (2000), analisaram o conteúdo de aminoácidos em células de *Nicotiana plumbaginifolia* quatro dias após a adição de 100 µM de glyphosate em meio de cultura e verificaram redução na concentração de tirosina e fenilalanina, 59% e 77%, respectivamente, enquanto que o teor de triptofano reduziu somente 13%. Wang (2001) investigou o efeito do glyphosate no teor de aminoácidos aromáticos em plântulas de *Cyperus rotundus* e observaram que as concentrações de tirosina e fenilalanina, três dias após o tratamento, não diferiram significativamente da testemunha, e a concentração de triptofano foi significativamente maior em plântulas tratadas com glyphosate em comparação com a testemunha.

A causa da morte das plantas pela inibição da rota do ácido chiquímico não está totalmente esclarecida (DUKE; POWLES, 2008). Alguns autores afirmam que a inibição de síntese de aminoácidos aromáticos é o principal fator responsável pela morte das plantas. No entanto outros autores defendem a teoria de que o aumento no fluxo de carbono para a rota do ácido chiquímico pela sua desregulação é a principal responsável pela morte das plantas, uma vez que desvia grande parte do carbono utilizado em outras rotas metabólicas essenciais a planta (FUCHS et al., 2002). Segundo Duke e Powles, 2008, esta última explicação parece ser a teoria mais aceitável.

4.5 Metabolização do glyphosate na planta

O glyphosate pode ser metabolizado em algumas espécies de planta, sendo degradado a ácido aminometilfosfônico (AMPA) e glioxilato pela enzima glyphosate oxidoreductase (GOX) (DUKE et al., 2003; NANDULA et al., 2007). Embora esse herbicida seja minimamente metabolizado pelas plantas (DUKE, 1988), o AMPA foi encontrado como metabólito principal em sementes de canola (*Brassica rapa* L.), em trigo (*Triticum aestivum* L.), ervilha (*Pisum sativum* L.), cevada (*Hordeum vulgare* L.) e linhaça (*Linum usitatissimum* L.) (CESSNA et al., 2000; 2002), e em folhas e sementes de soja resistente ao glyphosate tratadas com o herbicida (DUKE et al.,

2003), indicando metabolismo do glyphosate também em soja transgênica (ARREGUI et al., 2003). Esse resultado evidencia que mesmo plantas transgênicas, capazes de ser protegidas dos efeitos tóxicos do glyphosate devido à mutação na enzima EPSPs, são capazes de degradar esse princípio ativo em AMPA (DUKE; POWLES, 2008).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Instalação e condução dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA), anexo ao Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária pertencente Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – FCAV/UNESP campus de Jaboticabal. Foram realizados dois experimentos condizentes a dois estágios de desenvolvimento da espécie *S. grisebachii* vegetativo (dois a quatro nós no ramo principal) e reprodutivo (pleno florescimento), seguindo a classificação descrita por Bleiholder et al. (1991).

As sementes de *S. grisebachii* foram coletas na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNESP – Jaboticabal. Em seguida, foram semeadas em caixas plásticas (34x43cm), preenchidas com a mistura de solo e substrato hortícola, na proporção 3:1 v/v, e mantidas em área anexa ao LAPDA, para formação das mudas. Quando as plantas apresentaram duas folhas totalmente expandidas, foi realizado o transplante para caixas plásticas (15x15 cm), com capacidade para 3 litros preenchidas com o mesmo substrato, mantendo duas plantas por vasos. A análise química do substrato evidenciaram as seguintes características: pH 6,2; M.O 15 g dm⁻³; P 96 mg dm⁻³; K 5,7; Ca 54; Mg 23; H+Al 10; SB 82,7; T 92,7 (mmolc dm⁻¹); V 89%.

A irrigação foi realizada diariamente, sempre que visualmente necessária, procurando reproduzir a capacidade de campo do substrato próxima a 60%.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 7, sendo duas condições de luminosidade, pleno sol (380 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e 70% de sombra (120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e sete doses de glyphosate (0D, 1/4D, 1/2D, D, 2D, 4D e 6D, em que D é a dose recomendada de 1800 g ha⁻¹ de equivalente ácido). O produto comercial utilizado foi Roundup Original (360 g e.a. L⁻¹, Monsanto Company).

No momento em que as plantas encontravam-se nos estágios de desenvolvimento descritos anteriormente, foi realizada a aplicação das doses do

herbicida. Para isso, foi utilizado um pulverizador costal, a pressão constante (mantida por CO₂ comprimido) de 2,8 kgf cm⁻², munido de barra com duas pontas de pulverização XR 110.02, espaçadas em 0,5 m, com consumo de calda equivalente a 200 L ha⁻¹.

Foram realizadas avaliações visuais de intoxicação das plantas aos 14, 21, 28 e 35 dias após a aplicação (DAA), segundo escala percentual de notas, onde “0” corresponde a nenhuma injúria e “100” significa a morte das plantas, conforme a Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (1995).

5.2 Análise da anatomia foliar

Nos dois experimentos, a coleta do material foliar de *S. grisebachii* foi realizada ao 0 e 7 dias após a aplicação herbicida (DAA), em plantas conduzidas nas condições de luminosidade descritas anteriormente. Aos 7 DAA a análise em microscopia óptica foi realizada nas doses 0, 1.800 e 3.600 g e. a. ha⁻¹.

Para proceder à análise anatômica foliar, foi amostrada a porção mediana (3x3 mm) do limbo das folhas do terceiro nó do ramo principal, utilizando-se quatro repetições, sendo que para cada repetição foram analisadas cinco folhas. As amostras foliares foram fixadas em FAA 50 (formaldeído + ácido acético + álcool 50%) por aproximadamente 48 horas e conservadas em álcool 70%, de acordo com a metodologia de Johansen (1940).

Lâminas permanentes foram preparadas seguindo os métodos tradicionais de desidratação em série etílica (85, 95 e 100%) permanecendo por duas horas em cada concentração. Em seguida, as amostras foram submetidas em tríplice imersão em TBA (C₄H₁₀O), três vezes, por um período de 12 horas cada e mantidas em TBA+óleo de parafina (JOHANSEN, 1940). O material foi emblocado com parafina, e os cortes histológicos transversais foram realizados em micrótomo de rotação Leica RM 2065, em 10 µm de espessura. Para aderência das secções sobre a lâmina foi utilizado o adesivo de Mayer. O material foi corado com azul de toluidina 0,05% (O'BRIEN; FEDER; MCCULLY, 1964) e montado entre lâmina-lamínula com bálsamo de Canadá sintético.

As estruturas anatômicas foram observadas em microscópio óptico, marca Bel photonics, nas objetivas 10 e 40 X, e mensuradas com auxílio de uma lente contendo uma régua micrométrica. Para o registro de imagens foram realizadas representações esquemáticas com auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio Bel photonics, equipado com fotoautomático, no Laboratório de Anatomia Vegetal da UNESP – Jaboticabal.

Os caracteres anatômicos foliares quantitativos avaliados foram espessura da epiderme adaxial e abaxial, espessura do parênquima, largura da nervura principal e comprimento e largura dos feixes vasculares.

Para visualização frontal da epiderme adaxial e abaxial das folhas, as amostras foliares coletadas ao 0 DAA foram fixadas também em solução de glutaraldeído 25% e tampão fosfato de potássio 0,1M, em pH 7,4, e, desidratadas em série crescente etílica (30, 50, 70, 85 e 95%) uma vez cada por 20 minutos e em 100% de álcool etílico por três vezes de 20 minutos. Em seguida, realizou-se a secagem até ponto crítico com a finalidade de retirar o álcool etílico das amostras foliares, substituindo-o por CO₂ líquido, em seguida mudando seu estado físico para gasoso (Marca Balzers e Modelo CPD 050). Depois de secas, as amostras foram colocadas sobre suportes de alumínio (stubs) com auxílio de fita de carbono dupla face, e metalizadas com ouro (20 nm de ouro), em metalizador marca Baltec modelo SCD005.

A investigação e documentação das imagens foram efetivadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), marca Phillips, do Laboratório de Microscopia Eletrônica, da UNESP - Jaboticabal. As imagens foram escaneadas e trabalhadas no software Adobe Photoshop CS 5.1 para montagem das figuras.

5.3 Extração dos compostos metabólicos

Para extração dos compostos as folhas foram coletadas aos sete dias após a aplicação, e armazenadas frescas, em ultrafreezer (-80 °C) até a utilização para as análises. No momento dessa amostragem, as folhas já haviam sido lavadas pela

irrigação, evitando desta maneira a contaminação das amostras pela presença de resíduos do herbicida na superfície foliar.

Na ocasião da extração, as amostras foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido. Em seguida, pesou-se 0,2 g do material vegetal, em balança Shimadzu (AY220) com 0,0001g de precisão e as amostras foram acondicionadas em tubos facon de 15 mL de capacidade, no qual foram adicionados 10 mL de água acidificada a pH 2,5 e homogeneizado em turrax por cinco minutos.

Após a extração, os tubos foram submetidos a banho de ultra-som (Cristófoli Biossegurança) com freqüência ultra-sônica de 42 KHz, durante 30 minutos. Na sequência, foram centrifugados a 4000 rpm, durante 10 minutos a 20 °C. O sobrenadante foi coletado e filtrado em filtro Millex HV (Millipore) 0,45 µm, com membrana durapore 13 mm, e acondicionados em vial âmbar 9 mm (Flow Supply), com 2 mL de capacidade.

Através de um cromatógrafo líquido (Proeminence UFLC) acoplado ao espectrômetro de massas (3200 Q TRAP), sistema LC-MS/MS, foram quantificados os teores de glyphosate na planta, ácido aminometilfosfônico (AMPA), ácido chiquímico e os três aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina e triptofano.

5.4 Análises dos resultados

Os dados de controle, obtidos através da escala percentual de nota, foram submetidos à análise de variância empregando-se o teste F. Quando comprovado a significância do teste foi realizada a análise por meio de curvas de dose-resposta e os dados ajustados à equação não linear tipo logística (SEEFELDT; JENSEN; FUERST, 1995) pelo programa computacional estatístico Origin Pro 8.0:

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

em que: y representa porcentagem de controle; A2, o limite inferior da curva (resposta média com maior doses de herbicida); A1, limite superior da curva

(resposta média da testemunha); x_0 , a dose de glyphosate necessária para causar 50% de injúria nas plantas (EC_{50}); e p a declividade da curva em torno de x_0 .

Os dados anatômicos quantitativos, obtidos através dos cortes transversais, foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias comparadas pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar.

Os valores médios anatômicos quantitativos foram submetidos também à análise multivariada, pelo programa estatístico STATISTICA 7.0 (StatSoft. Inc., Tulsa, OK, USA), compreendendo a análise de componentes principais (Sneath; Sokal, 1973).

A análise de componentes principais foi empregada para verificar a capacidade discriminatória dos caracteres originais no processo de formação dos agrupamentos, reduzindo o conjunto de caracteres a duas novas variáveis não correlacionadas, chamadas componentes principais e indicados por Y1 e Y2, sendo o resultado desta análise apresentada na forma de dispersão gráfica.

Os dados referentes aos compostos metabólicos extraídos da planta foram submetidos ao teste de F, sendo as médias variáveis, teores dos aminoácidos fenilalanina, tirosina e triptofano analisadas pelo teste de tukey, e as demais variáveis, submetidas análise de regressão.

6. Resultados

6.1 Anatomia foliar

Lâmina foliar - A epiderme, em visão frontal (MEV), apresenta células poligonais de paredes curvas, com estômatos do tipo anisocítico, distribuídos de forma aleatória na face adaxial e abaxial da folha (anfiestomática) (Figura 1 e 2). Tricomas tectores não ramificados unisseriados, de diferentes tamanhos, ocorrem por toda lâmina foliar de forma aleatória em ambas as faces da folha, coberto por cristais de cera. Na face adaxial, há formação de pequena quantidade de cera epicuticular em plantas desenvolvidas em condição de pleno sol (Figura 1 e 3).

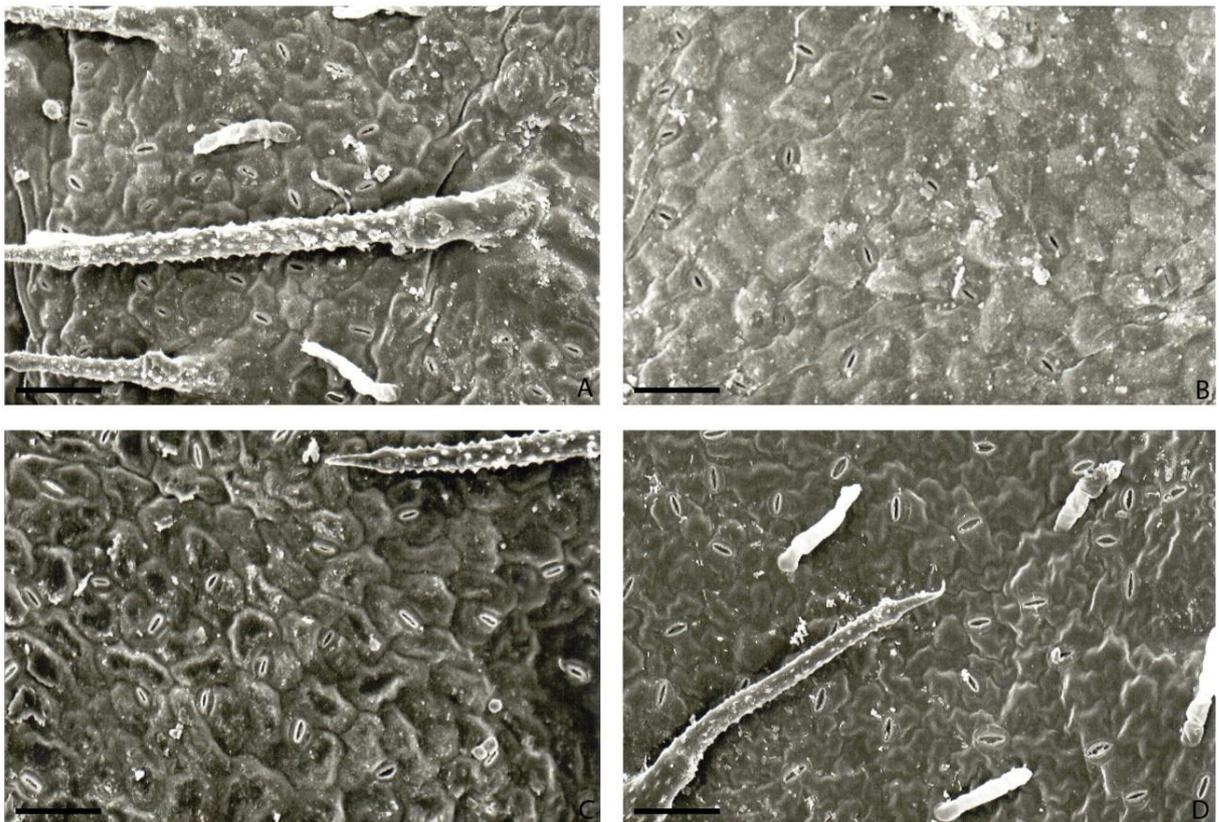


Figura 1 Superfície foliar de *S. grisebachii* no estágio vegetativo. Face abaxial e adaxial de folha a pleno sol (A e B, respectivamente); face abaxial e adaxial de folha na sombra (C e D, respectivamente). Barra: 50 µm.

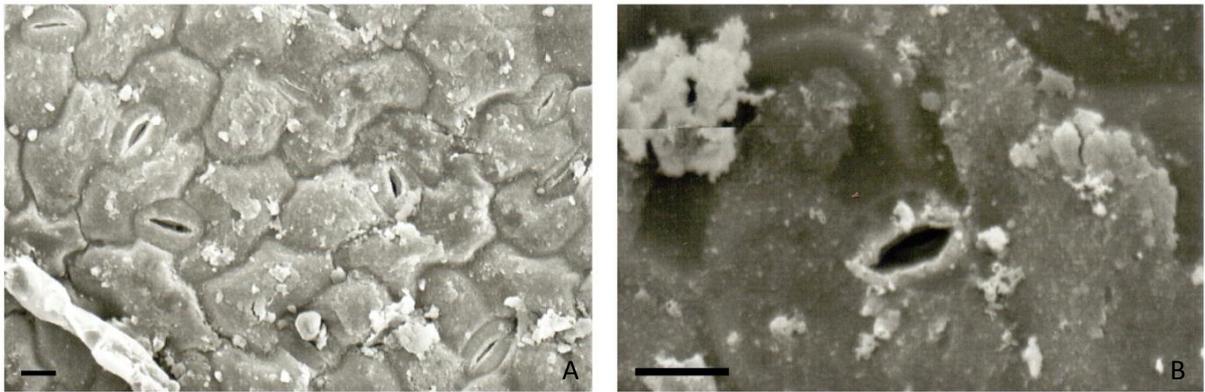


Figura 2 Detalhe do estômato, na condição de pleno sol (A) e sombra(B). Barra: 10 μm .

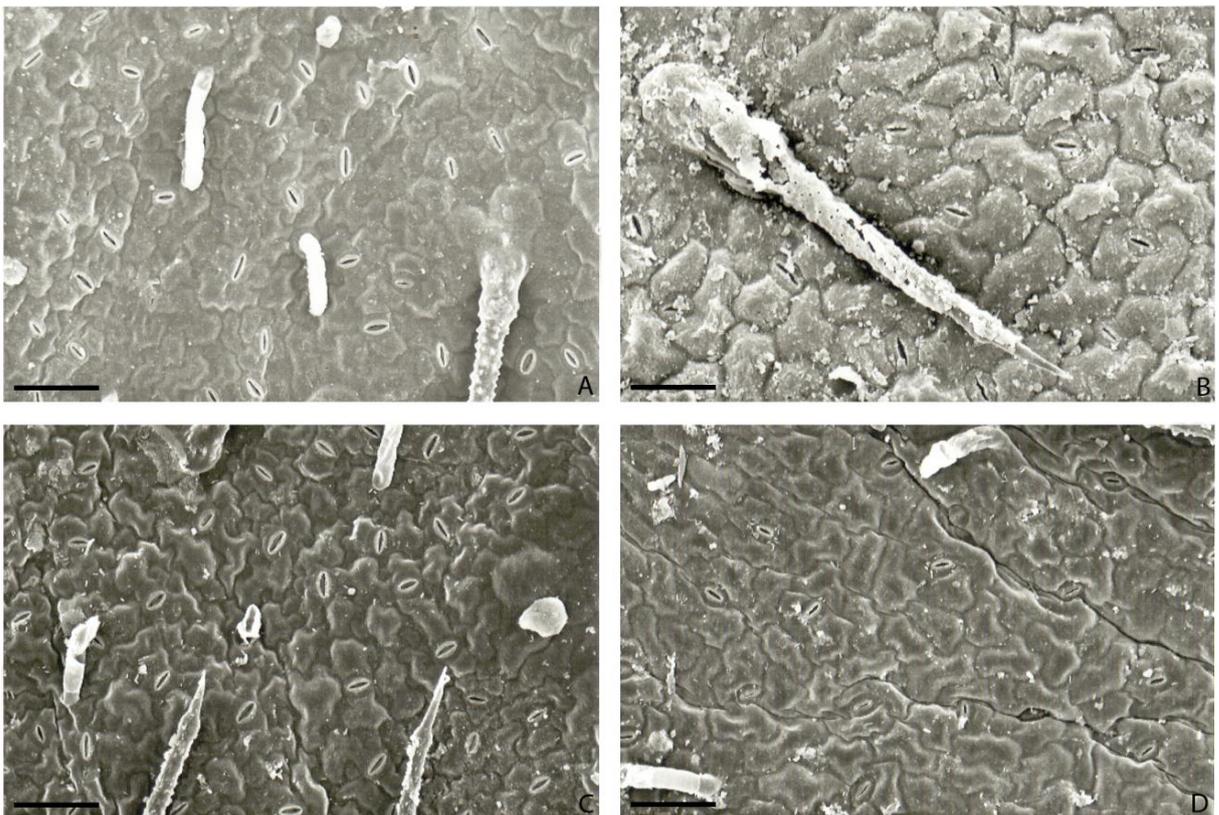


Figura 3 Superfície foliar de *S. grisebachii* no estágio reprodutivo. Face abaxial e adaxial de folha a pleno sol (A e B, respectivamente); face abaxial e adaxial de folha na sombra (C e D, respectivamente). Barra: 50 μm .

As células epidérmicas, em secção transversal (microscopia óptica), mostram contorno retangular, de formato tabular, formadas por uma única camada de células

(unisseriadas) em ambas as faces do limbo foliar, recoberta por uma tênue cutícula (Figura 4 A e C; 5 A e C).

O mesófilo possui organização dorsiventral, diferindo entre plantas desenvolvidas a pleno sol e na sombra. Nas plantas a pleno sol o mesófilo é formado por dois estratos de parênquima paliçádico discretamente diferenciado, e, dois ou três estratos de parênquima lacunoso. Na sombra, as plantas apresentam apenas um estrato de parênquima paliçádico e dois ou três estratos de parênquima lacunoso. Ainda, nos tratamentos a pleno sol (experimento 1 e 2), as células dos parênquimas paliçádico e lacunoso apresentam-se de bem agrupadas, diferindo dos tratamentos na sombra nos quais as células parenquimáticas são arranjadas frouxamente, evidenciando a presença de espaços intracelulares (Figura 5 A e C). Os feixes vasculares distribuídos no mesófilo estão envolvidos por células endodérmicas.

Nervura principal – A nervura principal, no terço médio do limbo foliar, exibiu em secção transversal, contorno biconvexo, sendo o arco abaxial mais proeminente nas duas condições de luminosidade estudada, em cada experimento. A epiderme de ambas a face apresenta forma retangular a elíptico, também recoberta por uma fina camada de cutícula. Subjacente à epiderme, encontra-se o colênquima do tipo angular, constituído de aproximadamente três camadas de células na face adaxial e uma na face abaxial. O sistema vascular é constituído por um único feixe do tipo colateral (Figura 4 B e D; 5 B e D).

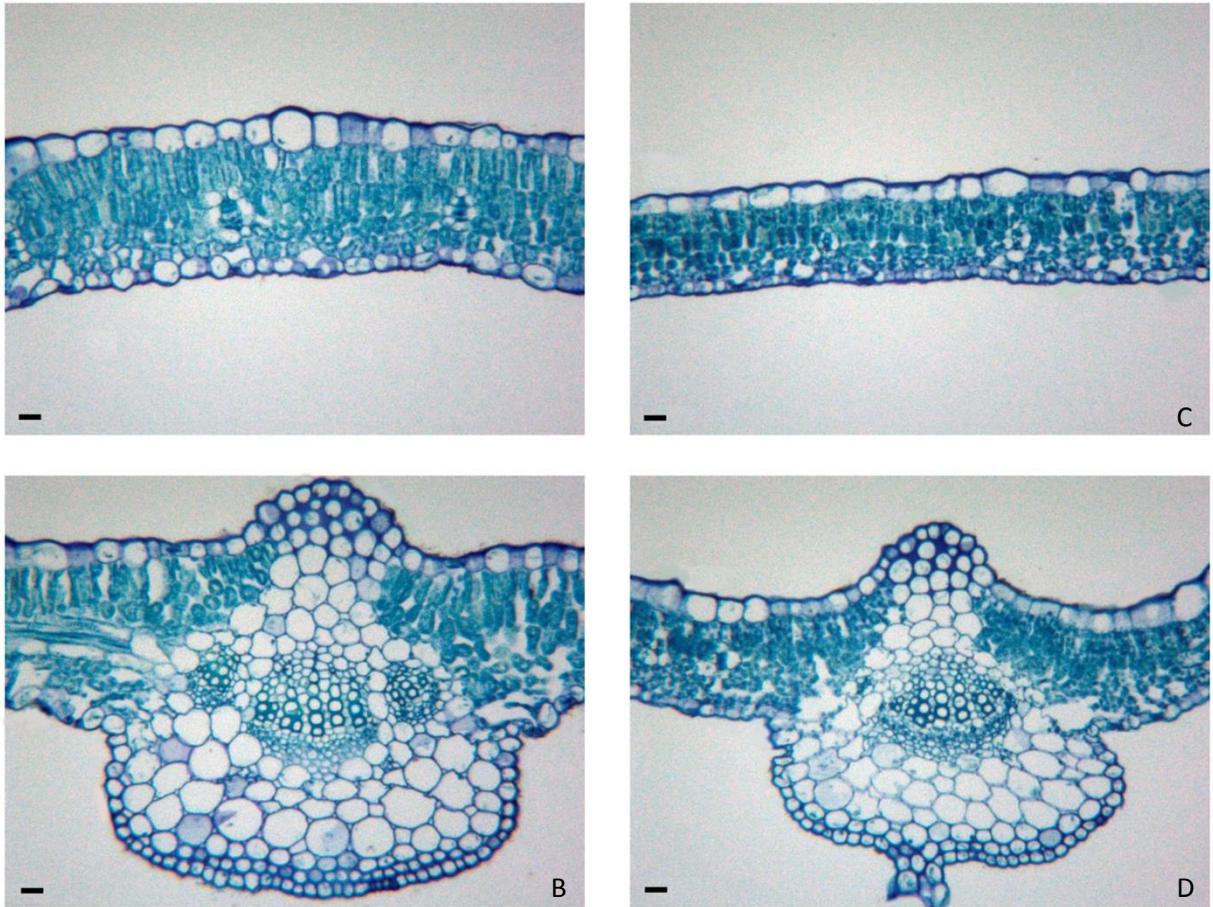


Figura 4 Secção transversal do limbo foliar de *S. grisebachii* no estágio vegetativo. Região do mesófilo e nervura principal de folha a pleno sol (A e B, respectivamente); região do mesófilo e nervura principal de folha a sombra (C e D, respectivamente). Barra: 20 μ m.

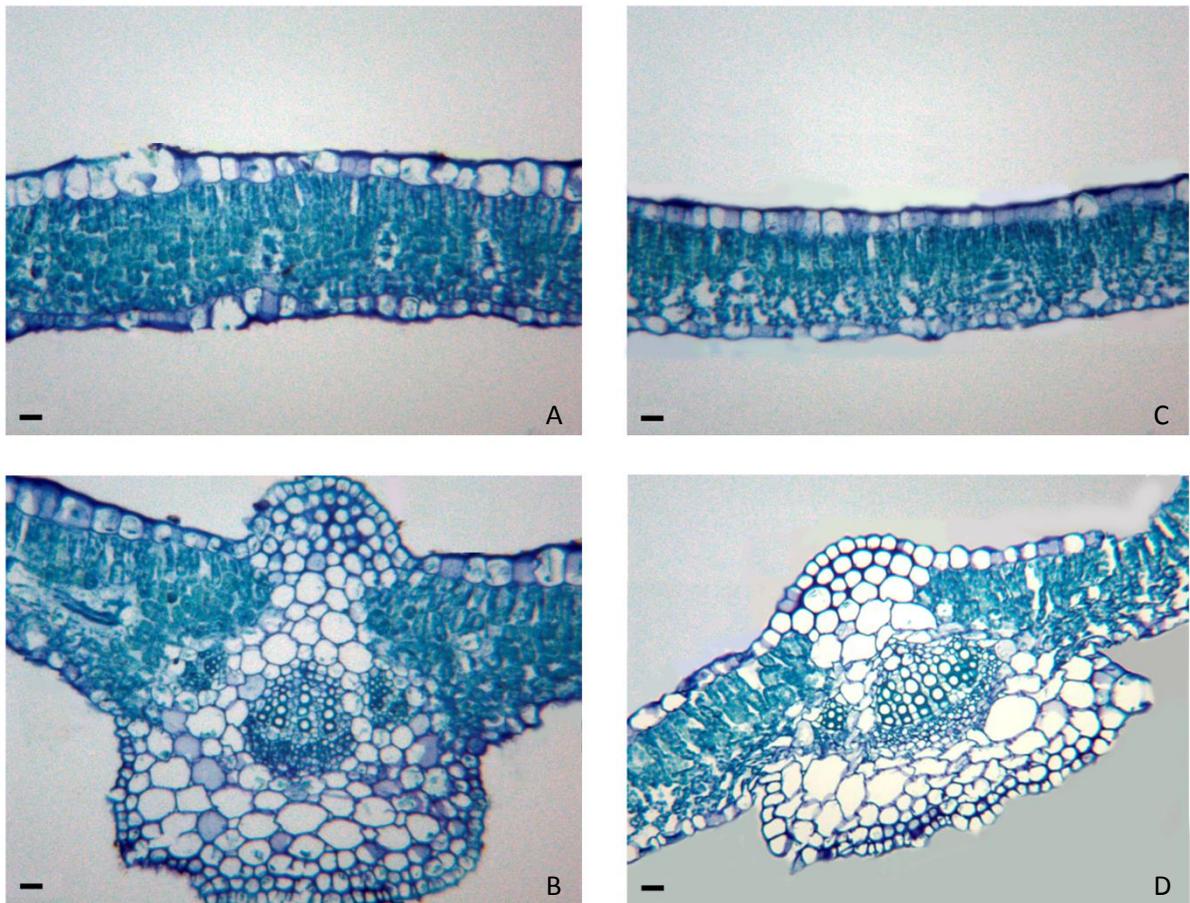


Figura 5 Secção transversal do limbo foliar de *S. grisebachii* no estágio reprodutivo. Região do mesófilo e nervura principal de folha a pleno sol (A e B, respectivamente); região do mesófilo e nervura principal de folha a sombra (C e D, respectivamente). Barra: 20 μ m.

Devido à similaridade anatômica entre as plantas desenvolvidas a pleno sol e na sombra nos dois experimentos, procedeu-se a análise quantitativas dos parâmetros anatômicos avaliados.

A análise de variância (ANOVA) evidenciou que os valores médios de espessura da epiderme adaxial, espessura do parênquima, largura da nervura principal e comprimento e largura do feixe vascular diferiram entre os tratamentos a pleno sol e na sombra nos dois experimentos (Tabela 1). Os valores médios de espessura da epiderme adaxial, parênquima e nervura principal foram significativamente maiores no tratamento a pleno sol enquanto os valores médios de comprimento e largura do feixe vascular foram significativamente menores nesse mesmo tratamento. Observa-se que plantas desenvolvidas a pleno sol apresentaram

espessura de parênquima cerca de 30% maior em relação às plantas de sombra, nos estágios vegetativo e reprodutivo, aumentando a diluição da dose do herbicida no mesófilo foliar em plantas em condição de pleno sol.

Tabela 1 Valores médios e respectivos desvios padrão das características anatômicas de *S. grisebachii* em duas condições de luminosidade, nos dois estágios de desenvolvimento (Experimento 1 e 2). Jaboticabal-SP, 2015.

	EEAD	EEAB	EP	NP	CFV	LFV
	----- μm -----					
Estágio Vegetativo						
Sol	26,0±0,41 A	14,4±0,25 A	102,1±0,49 A	399,9±0,55 A	66,1±0,50 B	59,9±0,24 B
Sombra	21,9±0,33 B	16,2±0,24 A	73,0±0,68 B	242,5±0,77 B	107,2±0,17 A	119,1±0,30 A
F_{cal}	5,976*	2,196 ^{ns}	247,040**	2142,79**	545,45**	1978,61**
CV (%)	15,69	17,65	4,72	2,37	4,55	3,32
Estágio Reprodutivo						
Sol	24,2±0,22 A	14,7±0,12 A	113,6±0,57 A	400,9±0,35 A	102,7±2,43 B	102,7±0,11 B
Sombra	22,6±0,16 B	14,0±0,13 A	81,1±0,18 B	309,9±1,04 B	113,4±0,50 A	142,8±0,50 A
F_{cal}	5,546*	1,042 ^{ns}	311,292**	97,09**	22,25**	171,33**
CV (%)	6,46	9,78	4,23	5,81	4,71	5,59

EEAD=espessura da epiderme adaxial; EEAB=espessura da epiderme abaxial; EP=espessura de parênquima; NP=espessura da nervura principal; CFV=comprimento do feixe vascular; LFV=largura do feixe vascular.

A análise de componentes principais (PCA) evidenciou, como base nos caracteres anatômicos foliares analisados, distinção entre os tratamentos sol e sombra (Figura 6). A PCA indicou a formação de um plano bidimensional gerado com dois componentes principais PC1 e PC2 que respondem por 75,48 % da informação original: 55,91 % e 19,57 % respectivamente no PC1 e PC2. Este resultado condiz com o critério estabelecido por Sneath e Sokal (1973), em que o número de PC utilizado na interpretação deve ser tal que explique no mínimo 70 % da variância total dos dados.

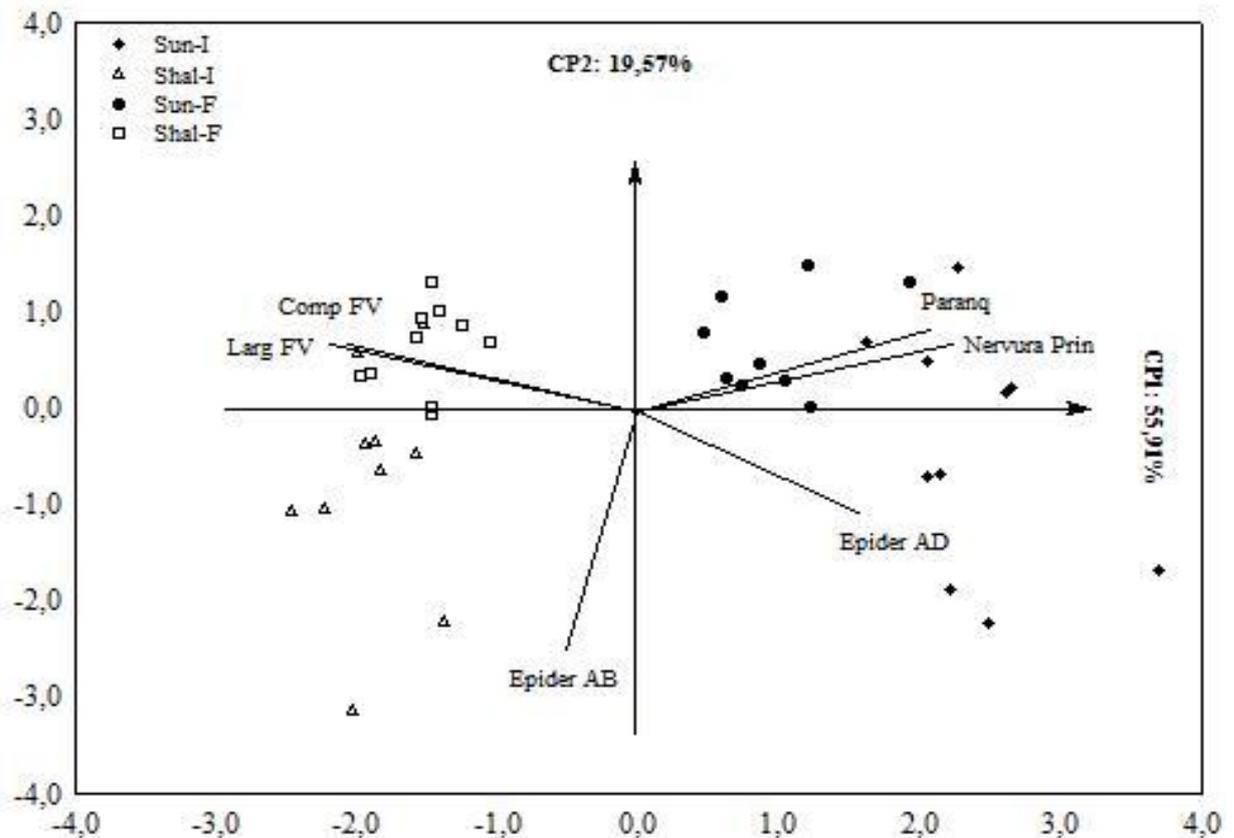


Figura 6 Análise de componentes principais (PCA) da PC1 e PC2 com as variáveis: Largura da nervura Principal; Comprimento de feixe vascular; Largura de feixe vascular; Epiderme adaxial; Epiderme abaxial e espessura de parênquimas no estágio vegetativo (I) e reprodutivo (F) em sistema a sombra (Shade-I /Shade-F) e pleno solo (Sun-I/Sun-F).

Os atributos mais expressivos retidos em PC1 foram espessura da nervura principal ($r=0,89$), espessura da epiderme adaxial ($r=0,63$) e espessura do parênquima ($r=0,83$) que apresentaram correlações positivas, enquanto, comprimento do feixe vascular ($r=-0,82$) e largura do feixe vascular ($-0,87$) apresentaram correlação inversa. A variável epiderme abaxial ($r=-0,87$) apresentou um comportamento distinto às demais variáveis analisadas ficando isolada na PC2. PC1 indicou uma distribuição ampla das características anatômicas das folhas de *S. grisebachii*, enquanto PC2 exibiu uma distribuição mais estreita para o mesmo conjunto de caracteres.

Os tratamentos a pleno sol tiveram correlação positiva com as variáveis espessuras do parênquima, da nervura principal e da epiderme adaxial, e negativa com comprimento e largura do feixe vascular. As três primeiras características estão

relacionadas à absorção do herbicida na planta, enquanto que as duas últimas estão relacionadas com sua translocação.

A análise de PCA evidenciaram alto grau de dissimilaridade entre plantas desenvolvidas a pleno sol e a sombra, nos dois estágio de estágios de desenvolvimento. Essa diferença se deve ao fato de que as plantas de sol apresentam maior espessura do parênquima e da nervura principal e menor comprimento e largura de feixe vascular. Esses valores distinguem-se ainda entre os dois estágios de desenvolvimento, sendo que em estágio reprodutivo as plantas apresentam maiores valores médios dessas características anatômicas em relação ao estágio vegetativo, justificando, assim, a formação dos quatro grupos. Essa discriminação entre folhas de sol e de sombra e estágio de desenvolvimento pode ser observada também na Tabela 1.

6.2 Anatomia foliar após a aplicação do herbicida

A análise anatômica realizada aos sete dias após a aplicação do herbicida evidencia diferenças entre folhas que receberam o herbicida e a testemunha. Observa-se que nas doses avaliadas, 1.800 e 3.600 g e. a. ha⁻¹, as plantas de sol apresentaram menores danos nos tecidos celulares que compõe o mesófilo foliar em relação às plantas de sombra (figura 7 e 8).

A aplicação do herbicida provocou plasmólise das células parenquimáticas levando, conseqüentemente, a ruptura dos tecidos e necrose, aumento os espaços intercelulares. Após a aplicação do herbicida as plantas desenvolvidas a pleno sol mantiveram maior integridade dos tecidos foliar, enquanto que as plantas desenvolvidas a sombra tiveram suas células totalmente danificadas pela ação do herbicida.

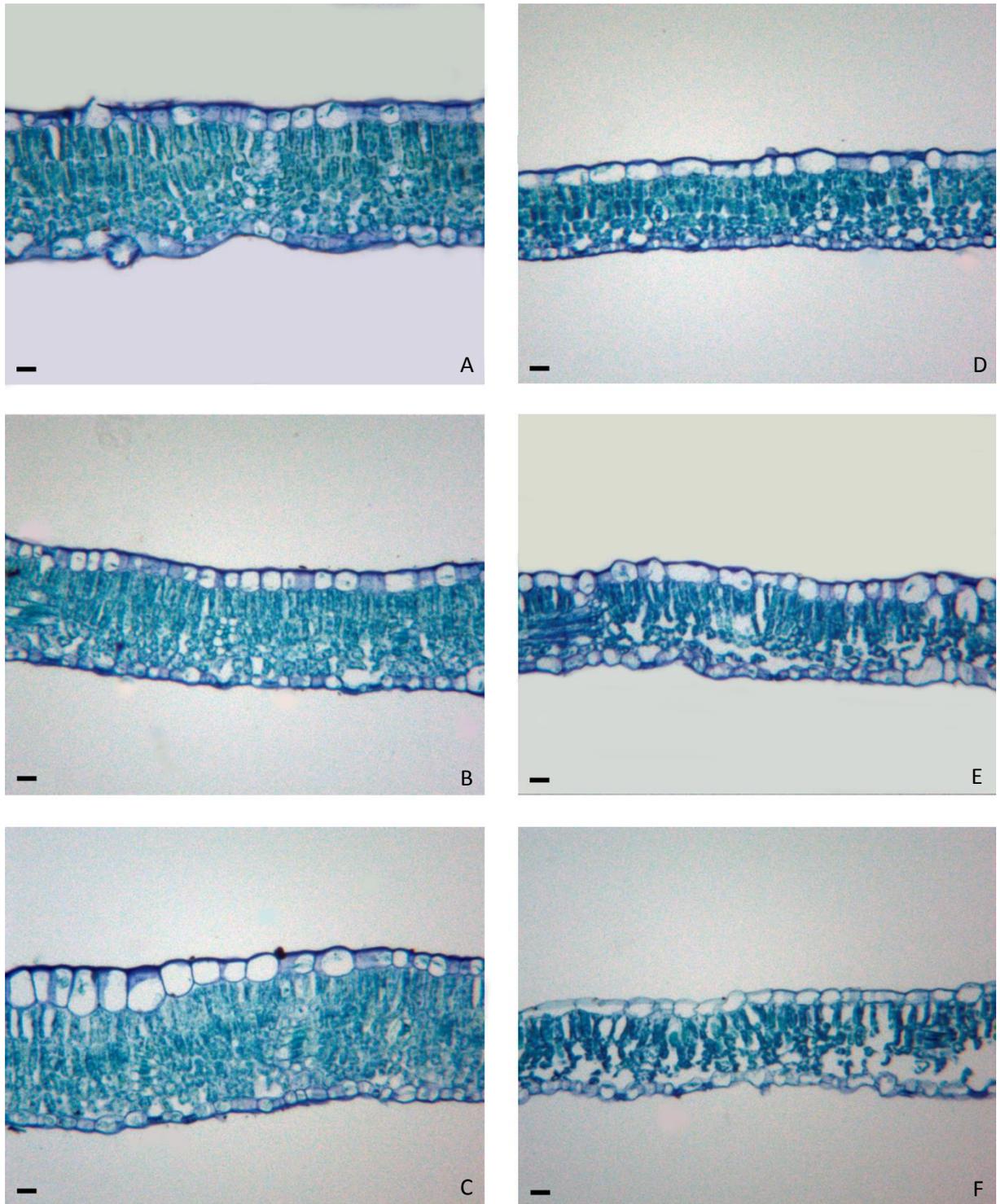


Figura 7 Secção transversal do limbo foliar de *S. grisebachii* no estágio vegetativo, aos 7 DAA. Plantas a pleno sol (A, B e C) e a sombra (D, E e F), nas doses 0, 1.800 e 3.600 g e. a. ha⁻¹, respectivamente. Barra: 20 µm.

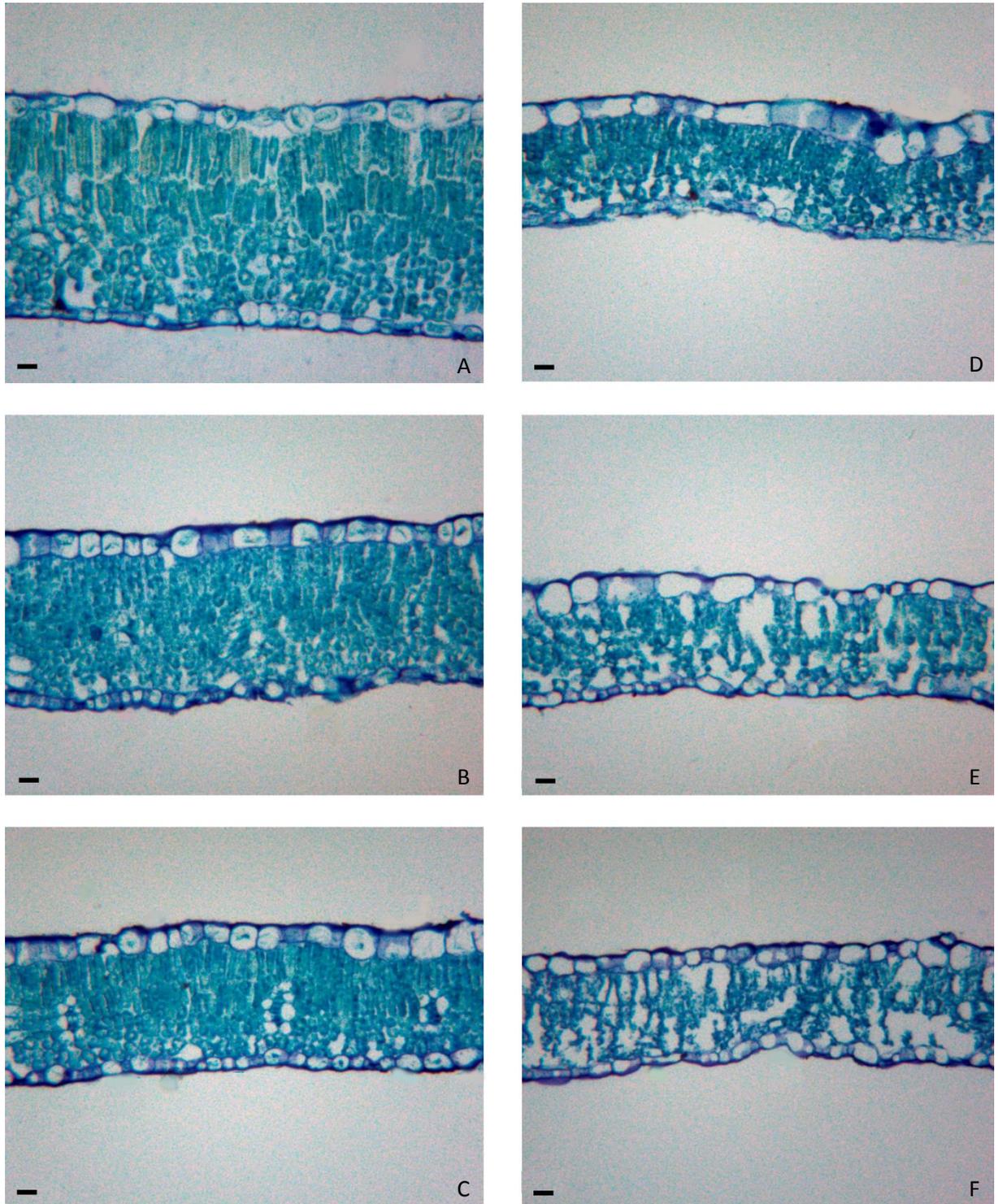


Figura 8 Secção transversal do limbo foliar de *S. grisebachii* no estágio reprodutivo, aos 7 DAA. Plantas a pleno sol (A, B e C) e a sombra (D, E e F), nas doses 0, 1.800 e 3.600 g e. a. ha⁻¹, respectivamente. Barra: 20 μ m.

6.3 Curva de dose e resposta

A porcentagem de controle de *S. grisebachii* aumentou com incremento das doses de glyphosate aplicado, em ambos os experimentos, mas houve resposta diferenciada entre os tratamentos de luminosidade (Figura 9 e 10).

Para o primeiro experimento, utilizando plantas em estágio vegetativo, aos 14 dias após a aplicação (DAA), o controle das plantas desenvolvidas na sombra (70% de sombreamento), na dose de 1.800 g e.a ha⁻¹, foi de 79 %, enquanto para as plantas desenvolvidas a pleno sol foi de 53%, em relação à testemunha (Figura 9 A). Na avaliação realizada aos 21 DAA, as plantas desenvolvidas na sombra e a pleno sol obtiveram controle de 91 e 73%, respectivamente (Figura 9 B), enquanto aos 28 DAA, as mesmas plantas evidenciaram controle de 94 e 79% (Figura 9 C). Somente na última avaliação, aos 35 DAA, as plantas desenvolvidas em ambas as condições de luminosidade obtiveram nota de controle superior a 90% em relação à testemunha (Figura 9 D). Considerando ainda essa data de avaliação, a dose de glyphosate necessária para causar 50% de injúria nas plantas (EC₅₀) para as plantas desenvolvidas a pleno sol foi de 1.277,10 g e.a ha⁻¹, enquanto para condição de sombreamento foi de 454,05 g e.a ha⁻¹ (Tabela 2). Assim, plantas desenvolvidas a pleno sol apresentaram um fator de tolerância de 2,81, ou seja, necessitaram de uma dose 2,81 vezes maior do que as plantas desenvolvidas na sombra.

Tabela 2 Parâmetros do modelo logístico da curva dose-resposta para porcentagem de controle de *S. grisebachii* aos 14, 21, 28 e 35 dias após aplicação de glyphosate, no estágio vegetativo. Jaboticabal-SP, 2015.

Parâmetros	Controle (%)			
	14 DAA	21 DAA	28 DAA	35 DAA
	Pleno sol			
A1	-4,39	-0,42	-0,21	-0,24
A2	104,85	95,07	96,85	99,35
x0	2.215,93	1.541,67	1.419,60	1.277,10
p	1,98	7,99	6,12	5,17
R²	0,925*	0,979**	0,991**	0,999**
	Sombra			
A1	1,84	0,16	0,08	0,09
A2	99,69	102,59	101,45	101,71
x0	1.122,30	497,59	476,95	454,05
p	2,55	1,50	1,76	1,65
R²	0,995**	0,995**	0,998**	0,997**
FT	1,97	3,09	2,98	2,81

DAA = dias após a aplicação; FT = fator de tolerância; x0 = EC50.

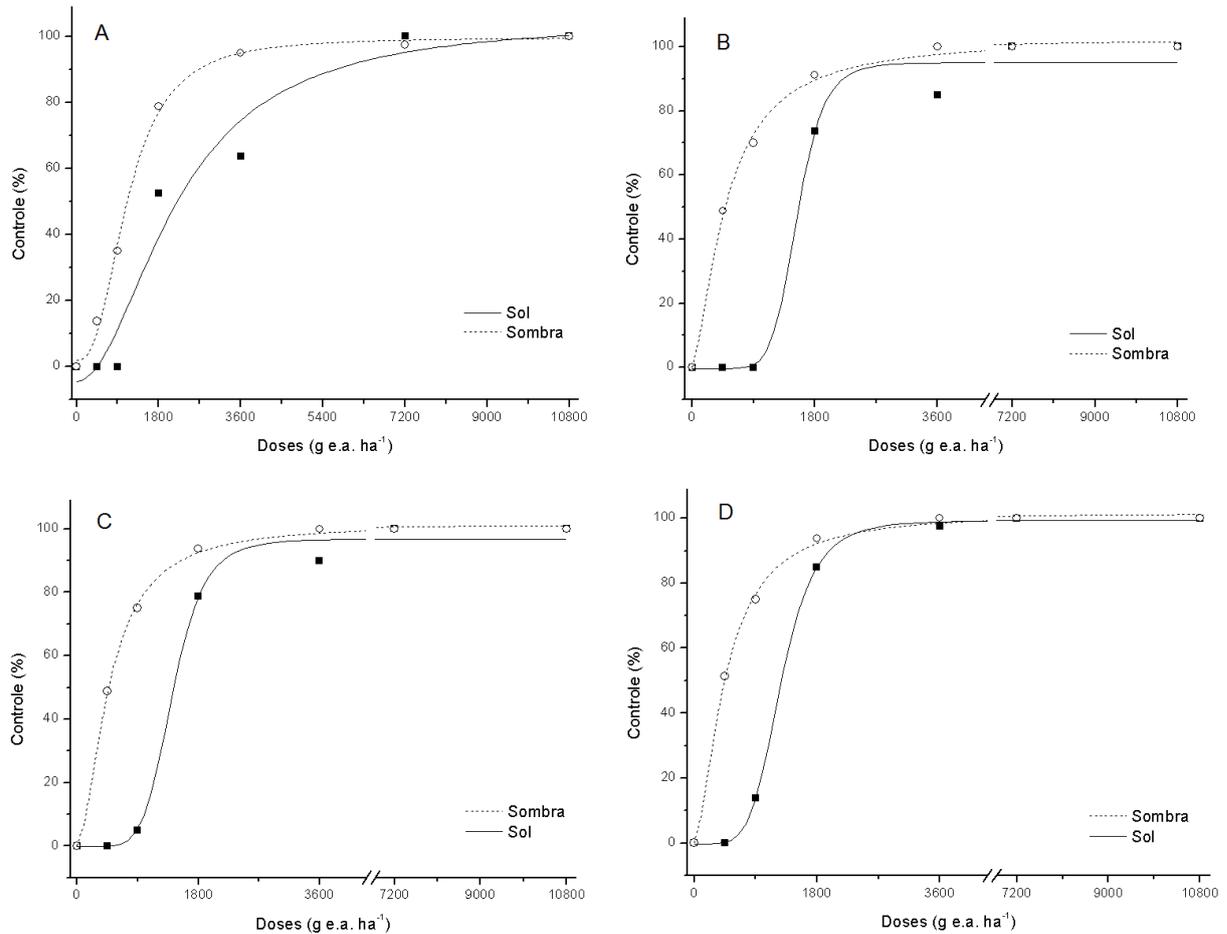


Figura 9 Controle (%) de *S. grisebachii* no estágio vegetativo, conduzido em duas condições de luminosidade (pleno sol e sombra), aos 14, 21, 28 e 35 DAA (A, B, C e D, respectivamente). Jaboticabal-SP, 2015.

O segundo experimento, utilizando plantas em estágio reprodutivo, seguiu o mesmo padrão de controle obtido no primeiro. No entanto, para as duas condições de luminosidade, as doses necessárias para controle eficiente foram maiores. Considerando a dose recomendada pelo fabricante (1.800 g e. a ha⁻¹), aos 14 DAA, o controle das plantas desenvolvidas na sombra e a pleno sol foi de 48 e 37%, respectivamente, em relação à testemunha (Figura 10 A). Nas demais avaliações (21, 28 e 35 DAA), as plantas desenvolvidas na sombra obtiveram nota de controle superior a 80%, enquanto a pleno sol o controle não superou a 60%, quando comparada à testemunha (Figura 10 B, C e D). Controle acima de 90%, em ambas as condições de luminosidade, somente foi obtido com a dose de 3.600 g e. a ha⁻¹. A EC₅₀ aos 35 DAA também foi maior em relação ao mesmo período avaliado no

primeiro experimento, sendo de 778,39 e 1.720,71 g e. a ha⁻¹ para condições de sombra e pleno sol, respectivamente (Tabela 3), representando portanto, aumento de 71 e 35% em relação ao primeiro experimento. Assim, plantas de *S. grisebachii* desenvolvidas a pleno sol apresentaram um fator de tolerância de 2,21, ou seja, necessitaram de uma dose 2,21 vezes maior do que as plantas desenvolvidas na sombra.

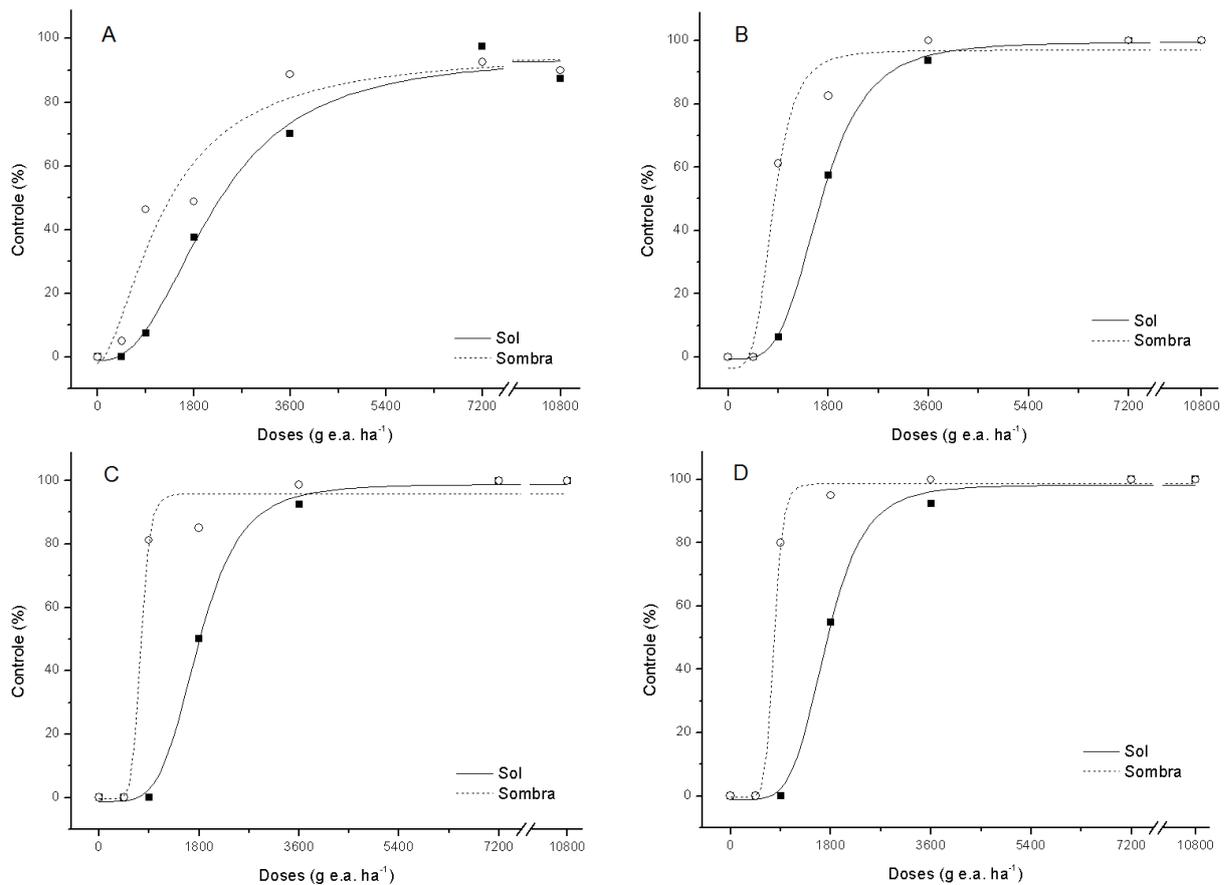


Figura 10 Controle (%) de *S. grisebachii* no estágio reprodutivo, conduzido em duas condições de luminosidade (pleno sol e sombra), aos 14, 21, 28 e 35 DAA (A, B, C e D, respectivamente). Jaboticabal-SP, 2015.

Tabela 3 Parâmetros do modelo logístico da curva dose-resposta para porcentagem de controle de *S. grisebachii* aos 14, 21, 28 e 35 dias após aplicação de glyphosate, no estágio reprodutivo. Jaboticabal-SP, 2015.

Parâmetros	Controle (%)			
	14 DAA	21 DAA	28 DAA	35 DAA
		Pleno sol		
A1	-1,05	-0,56	-1,19	-1,09
A2	94,54	99,55	98,92	98,38
x0	2.174,6	1.669,88	1.794,09	1.720,71
p	2,49	4,04	4,68	5,13
R ²	0,981**	0,999**	0,997**	0,996**
		Sombra		
A1	-1,99	-3,49	-0,36	-0,2
A2	96,06	96,96	95,95	98,76
x0	1.263,39	804,47	752,05	778,39
p	1,66	4,18	9,53	10,01
R ²	0,904**	0,968**	0,974**	0,997**
FT	1,72	2,08	2,39	2,21

DAA = dias após a aplicação; FT = fator de tolerância; x0 = EC50.

6.4 Compostos metabólicos

Houve aumento dos níveis de glyphosate nos tecidos foliares de *S. grisebachii* com o incremento das doses de herbicida aplicadas (Tabela 11). Observa-se ainda que os níveis desse composto foram maiores em condições de sombra e em plantas que receberam o herbicida em estágio vegetativo. Na última dose avaliada, 3.600 g e. a. ha⁻¹, os teores de glyphosate em plantas desenvolvidas em condições de sombra foram aproximadamente 84% maior em relação às plantas desenvolvidas a pleno sol, em ambos os estágios de desenvolvimento, evidenciando, portanto, maior absorção do herbicida em plantas desenvolvidas sob baixa intensidade de luz.

Os níveis de glyphosate mensurados referem-se somente a quantidade de herbicida efetivamente absorvido pela planta, disponível para ser translocado até seu sítio de ação e inibir a enzima EPSPs, pois ao sétimo dia após a aplicação as folhas já tinham sido lavadas pela irrigação, descartando, portanto, a possibilidade de resíduos de herbicida na superfície da folha.

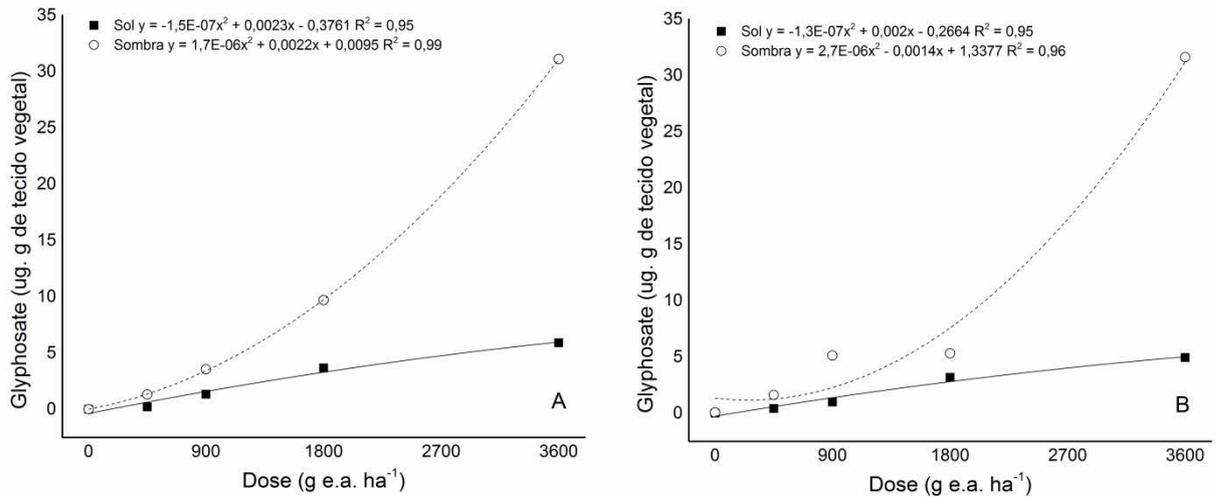


Figura 11 Níveis de glyphosate nos tecidos foliares de *S. grisebachii* aos sete dias após a aplicação, em plantas em estágio vegetativo (A) e reprodutivo (B). Jaboticabal, 2015.

O ácido aminometilfosfônico (AMPA) somente foi detectado nas duas últimas doses estudadas (1.800 e 3.600 g e. a. ha⁻¹), em plantas a pleno sol, enquanto que em plantas à sombra esse composto foi constatado a partir da dose de 450 g e. a. ha⁻¹. Quando a aplicação do herbicida ocorreu em plantas em estágio reprodutivo, o AMPA foi observado somente na dose de 3.600 g e. a. ha⁻¹, para as plantas a pleno sol, e a partir da dose 900 g e. a. ha⁻¹, para plantas a sombra (Figura 12).

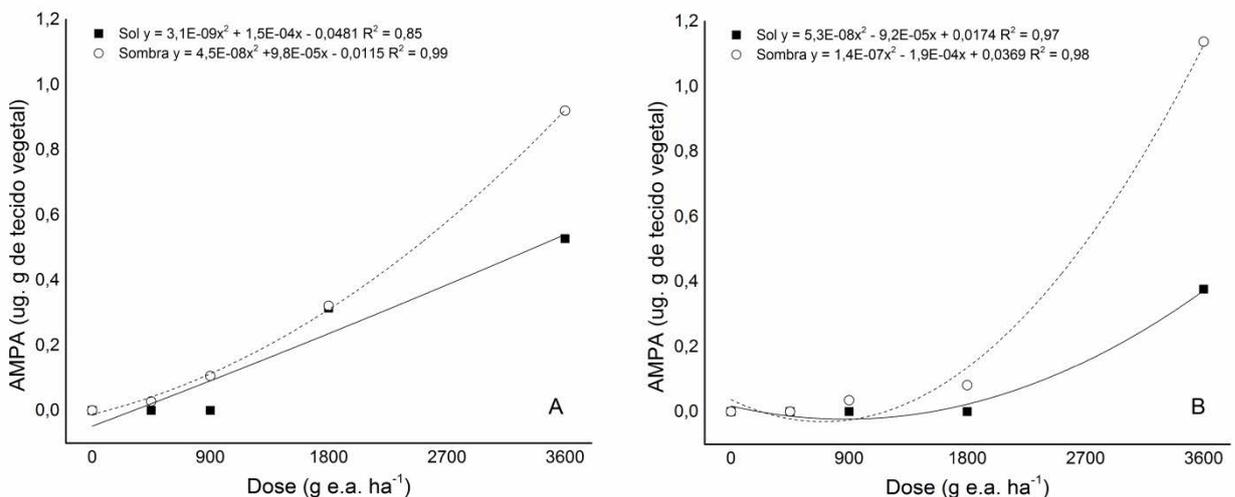


Figura 12 Níveis de ácido aminometilfosfônico (AMPA) nos tecidos foliares de *S. grisebachii* aos sete dias após a aplicação, em plantas em estágio vegetativo (A) e reprodutivo (B). Jaboticabal, 2015

As variáveis glyphosate e AMPA, quando submetidas à análise de Pearson, apresentaram correlação positivamente significativa (Figura 13 e 14). Observa-se que para as duas condições de luminosidade (sol e sombra) do experimento 1 (plantas em estágio vegetativo), o coeficiente de correlação foi positivamente significativo e os valores de P, valores dentro do parêntese, foi menor que 0,05 (Figura 13), demonstrando incremento das variáveis de forma conjunta, ou seja, nas amostras em que foram encontradas maiores concentrações do glyphosate, foram encontradas também as maiores doses do seu principal metabólito, o AMPA.

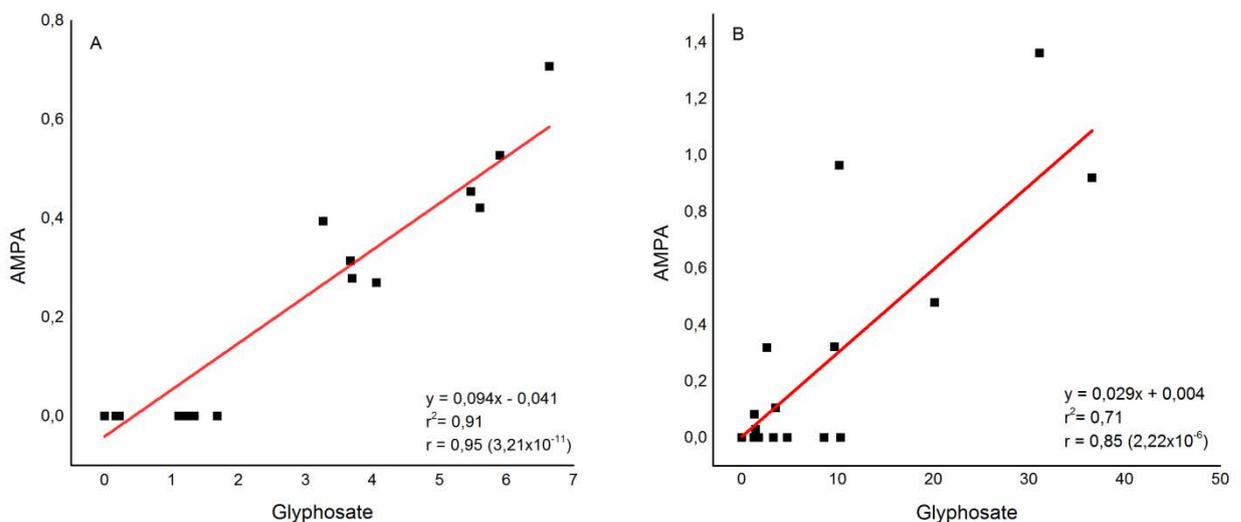


Figura 13. Correlação entre as variáveis glyphosate e AMPA nas folhas de *S. grisebachii* aos 7 DAA. Plantas a pleno sol (A) e a sombra (B) no estágio vegetativo. Jaboticabal, 2015.

Para o experimento 2 (plantas em estágio reprodutivo), plantas desenvolvidas a pleno sol, as variáveis glyphosate e AMPA correlacionaram-se de positivamente, no entanto essa correlação foi relativamente baixa, ou seja, nas amostras que apresentaram maiores concentrações do glyphosate, não necessariamente foram encontradas as maiores doses de AMPA (Figura 14 A). Já plantas desenvolvida a sombra, observou-se forte correlação positiva entre essas duas variáveis avaliadas, demonstrando que nas amostras com maiores teores de glyphosate foram encontrados também os maiores teores de AMPA (Figura 14 B).

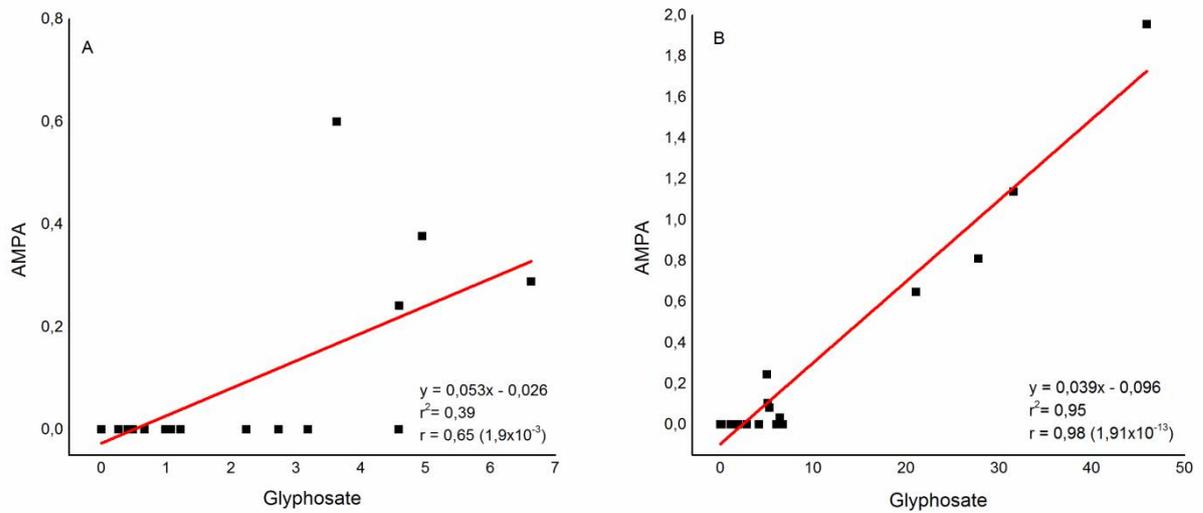


Figura 14. Correlação entre as variáveis glyphosate e AMPA nas folhas de *S. grisebachii* aos 7 DAA. Plantas a pleno sol (A) e a sombra (B) no estágio reprodutivo. Jaboticabal, 2015.

O aumento da dose de glyphosate aplicada resultou em aumento dos níveis de ácido chiquímico acumulado nas plantas (Figura 15). Os níveis de ácido chiquímico variaram de 23 a 931,55 e 2,8 a 854,5 $\mu\text{g. g}^{-1}$, em plantas a pleno sol e a sombra, respectivamente, em estágio vegetativo. Em estágio reprodutivo aos valores desse composto acumulado foi de 18,3 a 866,2 e 19 a 1.402 $\mu\text{g. g}^{-1}$, ao sol e a sombra, respectivamente.

No primeiro experimento, observar-se que a maior dose de glyphosate avaliada (3.600 g e. a. ha^{-1}) representou aumento dos níveis de ácido chiquímico, de aproximadamente 41 vezes em relação à testemunha, em plantas a pleno sol, enquanto que em plantas desenvolvidas a sombra esse aumento foi de aproximadamente 319 vezes. No segundo experimento, os níveis desse composto acumulada na dose de 3.600 g e. a. ha^{-1} foi em torno de 47 e 73 vezes maior em relação à testemunha, para plantas a pleno sol e à sombra, respectivamente.

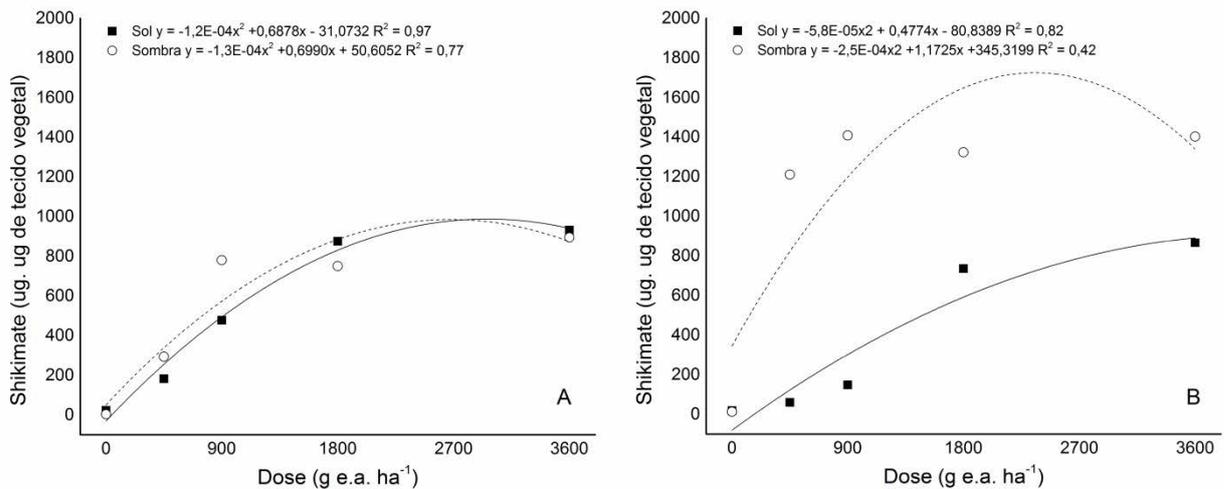


Figura 15 Níveis de ácido chiquímico nos tecidos foliares de *S. grisebachii* aos sete dias após a aplicação, em plantas em estágio vegetativo (A) e reprodutivo (B). Jaboticabal, 2015.

Os teores dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) comportaram-se de maneira diferente para cada um desses compostos (Tabelas 4, 5, 6). O aumento das doses de glyphosate representou aumento inicial nas concentrações de fenilalanina. A partir da dose de $1.800 \text{ g e. a. ha}^{-1}$ houve decréscimo dos níveis desse aminoácido nas plantas. No entanto, observa-se que nas plantas em condições de sombra, a quantidade de fenilalanina diminuiu a partir da dose $900 \text{ g e. a. ha}^{-1}$ (Tabela 4). No estágio vegetativo, plantas desenvolvidas a pleno sol, tiveram variação de $14,6$ a $50,4 \mu\text{g. g}^{-1}$ nos níveis desse aminoácido, enquanto que para a condição de sombra esses valores foram de $6,0$ a $39,9 \mu\text{g. g}^{-1}$, representando aumento de aproximadamente 71 e 84% , respectivamente, em relação a testemunha. Em estágio reprodutivo, o aumento de fenilalanina foi de 69 e 72% , condição de sol e sombra, respectivamente.

Os níveis do aminoácido tirosina seguem o mesmo padrão observado para o anterior, aumento inicial seguido por uma diminuição quando as plantas foram submetidas a maiores doses do herbicida (Tabela 5). Para tirosina, os valores mensurados variaram de $1,3$ a $2,8 \mu\text{g. g}^{-1}$ a pleno sol e de $0,5$ a $2,0 \mu\text{g. g}^{-1}$ em plantas a sombra. Na dose $900 \text{ (g e.a. ha}^{-1}\text{)}$, onde ocorreu o pico no acúmulo de tirosina em estágio reprodutivo, os valores mensurados foram de cerca de 3 e 4 vezes maior em relação a testemunha, na condição de sol e sombra, respectivamente.

Tabela 4 Níveis de fenilalanina ($\mu\text{g. g}^{-1}$) nos tecidos foliares de *S. grisebachii* aos sete dias após a aplicação, em duas condições de luminosidade, nos dois estágios de desenvolvimento (Experimento 1 e 2). Jaboticabal, 2015.

	0	450	900	1.800	3.600
----- g e. a. ha ⁻¹ -----					
Estágio Vegetativo					
Sol	14,6 ± 0,9 Ac	22,2 ± 2,6 Bbc	50,4 ± 3,0 Aa	44,5 ± 10,9 Aab	40,7 ± 10,7 Aab
Sombra	6,0 ± 1,0 Ab	39,9 ± 9,2 Aa	38,1 ± 4,3 Aa	33,2 ± 6,4 Aa	33,4 ± 26,6 Aa
Estágio Reprodutivo					
Sol	8,8 ± 3,5 Aa	7,9 ± 1,2 Aa	28,8 ± 17,9 Aa	22,7 ± 4,9 Aa	13,4 ± 6,9 Aa
Sombra	4,6 ± 0,8 Aa	16,4 ± 5,5 Aa	7,3 ± 3,6 Ba	13,0 ± 6,8 Aa	3,0 ± 0,6 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não difere entre si pelo teste tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 5 Níveis de tirosina ($\mu\text{g. g}^{-1}$) nos tecidos foliares de *S. grisebachii* aos sete dias após a aplicação, em duas condições de luminosidade, nos dois estágios de desenvolvimento (Experimento 1 e 2). Jaboticabal, 2015.

	0	450	900	1.800	3.600
----- g e. a. ha ⁻¹ -----					
Estágio Vegetativo					
Sol	1,3 ± 0,4 Aa	1,4 ± 0,3 Aa	2,8 ± 0,9 Aa	2,7 ± 0,2 Aa	1,7 ± 0,5 Aa
Sombra	0,5 ± 0,1 Aa	2,0 ± 1,3 Aa	1,4 ± 0,4 Ba	1,6 ± 0,1 Ba	2,0 ± 0,6 Aa
Estágio Reprodutivo					
Sol	1,1 ± 0,5 Aa	0,6 ± 0,1 Aa	3,3 ± 3,1 Aa	2,0 ± 1,4 Aa	0,9 ± 0,4 Aa
Sombra	0,3 ± 0,1 Aa	1,0 ± 0,5 Aa	1,3 ± 0,2 Aa	0,7 ± 0,1 Aa	0,9 ± 0,1 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não difere entre si pelo teste tukey, a 5% de probabilidade.

O triptofano comportou-se de diferentemente dos outros dois aminoácidos aromáticos analisados nesse trabalho. Houve aumento dos teores de triptofano com aumento das doses de glyphosate, sendo que na dose de 3.600 g e. a. ha⁻¹ o teor desse aminoácido foi 57 e 95% maior nas condições de sol e sombra, respectivamente, em relação à testemunha (Tabela 6).

Quando comparado os dois experimentos (estágio vegetativo e reprodutivo), observa-se que o acúmulo de triptofano em estágio reprodutivo foi menor em relação ao vegetativo, incrementando cerca de 47 e 86%, em condição de pleno sol e sombra, respectivamente, quando comparado a maior dose estudada e a testemunha.

Tabela 6 Níveis de triptofano ($\mu\text{g. g}^{-1}$) nos tecidos foliares de *S. grisebachii* aos sete dias após a aplicação, em duas condições de luminosidade, nos dois estágios de desenvolvimento (Experimento 1 e 2). Jaboticabal, 2015.

	0	450	900	1.800	3.600
	----- g e. a. ha ⁻¹ -----				
Estágio Vegetativo					
Sol	13,2 ± 4,7 Ab	12,4 ± 1,0 Ab	26,8 ± 2,8 Aab	35,3 ± 6,5 Aa	33,9 ± 11,2 Bab
Sombra	2,4 ± 0,8 Ac	13,1 ± 0,9 Abc	25,0 ± 7,2 Ab	32,1 ± 7,9 Aab	48,5 ± 12,3 Aa
Estágio Reprodutivo					
Sol	14,8 ± 3,6 Aa	11,8 ± 0,8 Aa	25,3 ± 20,3 Aa	27,8 ± 6,3 Aa	28,0 ± 5,3 Aa
Sombra	4,0 ± 2,01 Ab	22,4 ± 2,3 Aab	27,2 ± 1,9 Aa	17,3 ± 1,3 Aab	29,5 ± 7,1 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não difere entre si pelo teste tukey, a 5% de probabilidade.

7. Discussão

Os resultados desse trabalho demonstram que quando desenvolvidas sob condições de alta intensidade luminosa, as plantas de *S. grisebachii* tem maior tolerância ao herbicida glyphosate em comparação às plantas sob baixa intensidade de luz. Alguns autores, estudando essa espécie em condições normais de desenvolvimento (sob sol), evidenciaram alta tolerância ao herbicida glyphosate (PROCÓPIO et al., 2006; GIANCOTTI et al., 2012).

Menor suscetibilidade foi verificada ainda quando a aplicação de glyphosate foi realizada em estágio reprodutivo, em comparação a plantas controladas em estágio vegetativo. Esse resultado pode ser explicado pelo fato das folhas de plantas jovens apresentarem camada cuticular mais fina, facilitando, assim, a penetração de produtos (PASSOS; MENDONÇA, 2006). A translocação do herbicida para partes reprodutivas das plantas também pode ter contribuído para menor controle nessa fase. Em estágio reprodutivo há maior demanda de água e nutrientes para os órgãos reprodutores que funcionam como drenos na planta. Desta forma, o herbicida pode seguir o fluxo de fotoassimilados (CHACHALIS et al., 2001; HENNIGH et al., 2005) e ser translocados para frutos e sementes, destinando, portanto, menor quantidade de produtos para o sitio de ação desse herbicida na planta (SCHUSTER; SHOUP; AL-KHATIB, 2007).

As adaptações anatômicas desenvolvidas em plantas a pleno sol é uma das principais responsáveis por essa diferença de suscetibilidade entre plantas de sol e sombra. Como estratégia para reduzir a perda de água, plantas sob alta intensidade luminosa tende a diminuir a área foliar e aumentar a espessura da cutícula. Segundo Fermino Jr. et al. (2004), a cutícula desempenha papel fundamental na redução da perda de água pela folha, da temperatura e reflexão da irradiação solar incida diretamente sobre as folhas. Ela funciona também como barreira contra a entrada de microorganismos e produtos químicos (PROCÓPIO et al., 2003), interferindo na absorção de herbicidas aplicados em pós emergência.

Herbicidas hidrofílicos, como é o caso do glyphosate, apresentam maior dificuldade em penetrar a cutícula devido à sua natureza lipofílica. Para esses herbicidas, a absorção pode ocorrer por poros (PROCÓPIO et al., 2003) e/ou

filamentos de pectina presentes na camada cuticular (VELINI; TRINDADE, 1992), que quando bem hidratada podem favorecer o transporte de herbicida para o interior da folha. Isso justifica o maior controle das plantas desenvolvidas em condições de sombra, que devido à menor temperatura e maior umidade relativa do ar, favoreceu a absorção de glyphosate nas plantas através da cutícula hidratada.

A espessura do limbo foliar também é uma diferenciação comum entre plantas de sol e sombra. Em geral, essa é uma característica proporcional à intensidade luminosa, e parece estar associada ao aumento da espessura do parênquima paliçádico (CAO, 2000; MENDES; GAZARINI; RODRIGUES, 2001; BARRIOS; HERNÁNDEZ, 2003; DICKISON, 2006) e/ou lacunoso (DICKISON, 2006).

Maior espessura de parênquima paliçádico, em condições de alta intensidade luminosa, também foi demonstrada por outros pesquisadores (ESPINDOLA Jr. et al., 2009; POLLASTRINI et al., 2011; XIAO-XUE et al., 2013), corroborando os resultados observados neste trabalho. Essa variação na estrutura interna da folha está relacionada com a captação da luz, pois o aumento do parênquima paliçádico e o arranjo colunar de suas células permitem que a luz seja transmitida mais diretamente, evitando assim, a foto-inibição (TAIZ; ZEIGER, 2010).

Essa diferença quantitativa dos tecidos parenquimáticos em razão da intensidade luminosa, também pode ter colaborado para menor controle das plantas em condições de pleno sol. Após transpassar a cutícula e a epiderme da folha, o herbicida necessita ser absorvido até o citoplasma da celular para ser então translocado até seu sítio de ação (SATICHIVI et al., 2000). Uma vez que se encontra nos espaços intercelulares, a molécula de glyphosate precisa atravessar a cutícula interna que reveste as paredes das células, atingindo o apoplasto e, em seguida, ser absorvido através da membrana plasmática até o simplasto (VELINI et al., 2009). Desta forma, o maior número de células, devido o incremento na espessura do parênquima em folhas de sol, constitui maior quantidade de barreiras à absorção do herbicida, podendo este ser mais facilmente perdido. Portanto, menor quantidade de herbicida pode ter sido absorvida nessa condição de alta luminosidade, justificando, assim, o menor controle em relação às plantas desenvolvidas na sombra quando se utilizou menores doses do produto.

O incremento dos tecidos parenquimáticos em 30 %, na condição de pleno sol, contribui para diluição do herbicida no mesófilo foliar, uma vez que o glyphosate deve ser absorvido por todas as células onde se encontra a enzima EPSPs, os tecidos fotossintetizantes (parênquima), destinando assim, menor quantidade de herbicida para as células. Esse fato, aliado a menor absorção do herbicida nessa condição de luminosidade contribuiu para menor controle das plantas nessa condição de luminosidade.

A quantificação de glyphosate no tecido foliar confirma maior absorção do herbicida em plantas desenvolvidas a sombra. Em doses acima de 3.600 g e. a ha⁻¹, na qual houve controle das plantas nas duas condições de luminosidade e nos dois estágios de desenvolvimento, a maior concentração de solutos é responsável por esse resultado, pois segundo Velini et al. (2009), o aumento da concentração externa de solutos provoca aumento da taxa de absorção.

O AMPA, composto derivado da metabolização do glyphosate na planta, somente foi detectado, embora em valores relativamente baixo (0,1 a 1,1 µg. g⁻¹), quando aplicado doses mais elevadas desse herbicida. Além disso, os níveis de AMPA mensurados foram maiores em condição de sombra, devido a maior quantidade de glyphosate absorvido nessa condição ambiental. Esses resultados deixam claro que tolerância dessa espécie em condição de alta intensidade de luz não está relacionada à metabolização de herbicida na planta, como ocorre em outras espécies (MONQUEIRO et al., 2004; REDDY et al., 2008).

A diferença de susceptibilidade entre plantas desenvolvidas a pleno sol e a sombra evidenciada nesse trabalho, também não deve ser atribuída à mutação no sítio de ação da enzima EPSPs, que levaria ao não reconhecimento do herbicida glyphosate, uma vez que o acúmulo de ácido chiquímico, proveniente da inibição dessa enzima pelo herbicida, ocorreu em plantas expostas em ambas as condições de luminosidade. Os níveis de ácido chiquímico mensurados podem ser diretamente relacionados ao controle dessa espécie, visto que o maior acúmulo ocorreu em plantas de sombra em relação aquelas a pleno sol, confirmando desta forma, o maior controle de plantas em condição de baixa intensidade de luz (sombra).

Além da redução na absorção a pleno sol que conseqüentemente destinou menor quantidade de glyphosate à enzima EPSPs, a luz pode também ter

influenciado na atividade da enzima 3-deoxi-d-arabino-heptulose-7-fosfato sintase (DAHPs), responsável pela primeira reação da rota do ácido chiquímico, a condensação de PEP e E3P para formação de 3-deoxi-d-arabino-heptulose-7-fosfato (DAHP). Essa enzima requer a redução de thioredoxin (TRX) para sua atividade (ENTUS; POLING; HERRMANN, 2002).

Durante o processo de fotossíntese que ocorre na membrana do tilacoide, os elétrons fluem da água para o NADP, via fotossistema II e I, formando oxigênio, ATP e NADPH + H⁺. O primeiro intermediário desse fluxo de elétrons é a ferredoxin (Fd). Com sua redução, a Fd pode doar elétrons em duas direções, para o NADP⁺ e para a TRX, reduzindo-a, e conseqüentemente alterando a atividade catalítica de diversas enzimas (Figura 15). Essas enzimas, que inclui a DAHPs, são inativas na forma oxidada, mas facilmente ativadas por TRX reduzida, que ocorre mediante o fluxo de elétrons entre os fotossistemas, ou seja, na presença de luz (ENTUS; POLING; HERRMANN, 2002). Desta forma, a síntese de aminoácidos aromáticos em plantas a pleno sol é maior, uma vez que a primeira enzima da rota para formação desses compostos encontra-se em maior atividade, levando assim aumento dos compostos da via ácido chiquímico, e conseqüentemente, dos produtos finais (fenilalanina, tirosina e triptofano).

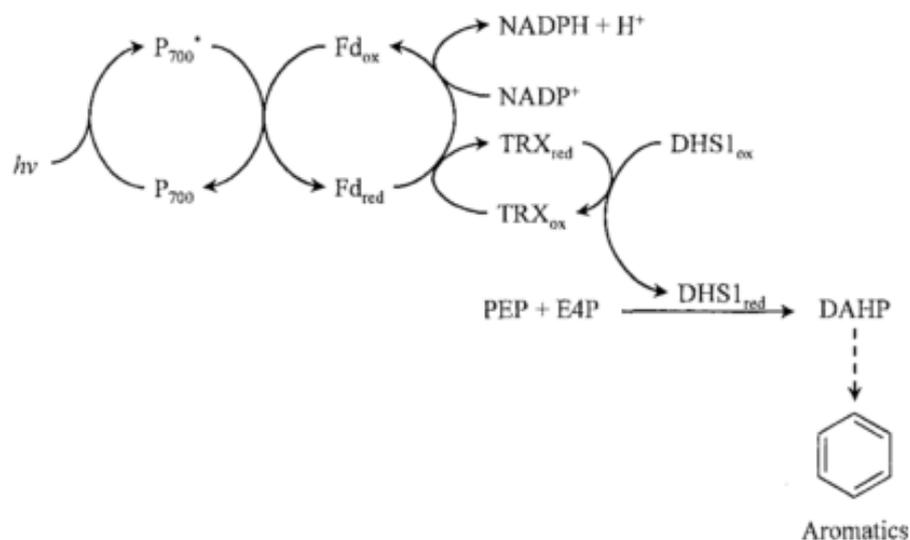


Figura 15 Esquema da ativação da enzima DAHPs pelo TRX reduzida, adaptado de ENTUS; POLING e HERRMANN (2002).

Quando em estresse, a planta pode induzir aumento dos teores de aminoácidos na tentativa de agirem frente ao dano causado pelo herbicida. O aumento nos teores de aminoácidos tem sido relatado em vários trabalhos quando expostos a agentes de estresse (COOLEY; FOY, 1992; STARRAT; LAZAROVITS, 1996; DRÖGE, 2002). Isso pode ocorrer devido a diversos fatores, como inibição da síntese de proteínas, aumento da hidrólise de proteínas, decréscimo do uso de aminoácidos como fonte de carbono respiratório e/ou aumento da biossíntese de aminoácidos (COOLEY; FOY, 1992).

As reações metabólicas que ocorrem nas plantas são interligadas de forma que, quando uma rota é afetada, a resposta pode ser demonstrada através da ativação ou inibição da síntese de outros compostos. A biossíntese de aminoácidos tem uma relação direta com o metabolismo secundário e, portanto, mudanças afetando o conteúdo de aminoácidos podem orientar o metabolismo para uma resposta de defesa (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000).

Produtos distantes do sítio de ação do glyphosate (EPSPs) na via ácido chiquímico, não necessariamente terão sua síntese bloqueada ou intensamente reduzida pela aplicação do herbicida, em função da presença de sistemas de controle da rota que podem compensar, ao menos em parte, a menor síntese de alguns dos compostos intermediários (VELINI et al., 2009). Desta forma, a morte de plantas tratadas com glyphosate não pode ser atribuída unicamente pela inibição da síntese de aminoácidos aromáticos, mas também a outros fatores, como o desvio do fluxo de carbono de outras rotas metabólicas (ORCARAY et al., 2012; DUKE; POWLES, 2008) que podem levar a diminuição de carbono respiratório e acúmulo de amônio na planta (WANG, 2001).

8. CONCLUSÃO

A luminosidade provoca mudanças na anatomia foliar de *S. grisebachii*, que atuam como barreiras absorção do herbicida glyphosate conferindo maior tolerância a essa espécie em condições de alta intensidade de luz, tanto em estágio vegetativo quanto reprodutivo. Plantas em estágio reprodutivo são menos susceptíveis à ação do herbicida glyphosate em relação aquelas em estágio vegetativo.

A ação do herbicida glyphosate é mais efetiva em plantas sob baixa intensidade de luz, o que acarretou maior injúria nos tecidos foliares, maior acúmulo dos ácido chiquímico e controle mais rápido e em menores doses, em relação a plantas sob alta intensidade de luz.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, M. D.; MOSTOLLER, S. A. Gas exchange, leaf structure, and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and under story sites during a drought. **Tree Physiology**, Oxford, v. 15, p. 361-370, 1995.

ALBERT, L. H. B.; VICTORIA FILHO, R. Micromorfologia foliar de espécies de *Sida* spp. (guanxumas). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, n. 3, p. 337-342, 2002.

ARREGUI, M. C.; LENARDON, A.; SANCHEZ, D.; MAITRE, M. I.; SCOTTA, R.; ENRIQUE, S. Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. **Pest Management Science**, Chichester, v. 60, p. 163-166, 2003. Disponível em: < 10.1002/ps.775>

BARRIOS, E. P.; HERNÁNDEZ, B. C. R. Phenology, growth and response to light of ciruela mexicana (*Spondias purpurea* L., Anacardiaceae). **Economy Botany**, New York, v. 57, p. 481-49, 2003.

BASSET, G. J. C.; QUINLIVAN, E. P.; RAVANEL, S.; RÉBEILLÉ, F.; NICHOLS, B. P.; SHINOZAKI, K.; SEKI, M.; ADAMS-PHILLIPS, L. C.; GIOVANNONI, J. J.; GREGORY, J. F.; HANSON, A. D. Folate synthesis in plants: the p-aminobenzoate branch is initiated by a bifunctional PabA–PabB protein that is targeted to plastids. **Proceedings National Academy of Sciences**, Washington, v. 101, n. 6, p. 1496–1501, 2004. Disponível em: <10.1073_pnas.0308331100>

BLEIHOLDER, H.; KILFER, H.; LANGELUDDEKE, F.; STAUSS R. Codificação unificada dos estágios fenológicos de culturas e ervas daninhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 1423-1429, 1991.

BOEGER, M. R. T.; POULSON, M. Efeitos da radiação ultravioleta-B sobre a morfologia foliar de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae). **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 329-338, 2006.

BRIDGES, D. C. Glyphosate-type herbicidas. In: BRIDGES, D. C. Herbicide action course. West Lafayette: Purdue University, 2003. p. 501-513.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. Biochemistry and molecular biology of plants. 3rd ed. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367 p.

BURNSIDE, O. C. Rationale for developing herbicide-resistant crops. **Weed Technology**, Champaign, v. 6, n. 3, p. 621-625, 1992.

CABRERA, A. L. Flora de la Provincia de Jujuy, Parte X. **Collection Científica del INTA**, Buenos Aires, Argentina, 1978.

CAO, K. F. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. **Canadian Journal of Botany**, Montreal, v. 78, p. 1245-1253, 2000.

CASTRO, E. M.; GAVILANES, M. L.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, D. M.; GAVILANES, T. O. T. Aspectos da anatomia foliar de mudas de *Guarea guidonea* (L.) Sleumer, sob diferentes níveis de sombreamento. **Daphne**, v. 8, p. 31-35, 1998.

CESSNA, A. J.; DARWENT, A. L.; TOWNLEY-SMITH, L.; HARKER, K. N.; KIRKLAND, K. J. Residues of glyphosate and its metabolite AMPA in field pea, barley, and flax seed following preharvest applications. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 82, p. 485-489, 2002.

CESSNA, A. J.; DARWENT, A. L.; TOWNLEY-SMITH, L.; HARKER, K. N.; KIRKLAND, K. J. Residues of glyphosate and its metabolite AMPA in canola seed following preharvest applications. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 80, p. 425-431, 2000.

CHACHALIS, D.; REDDY, K. N.; ELMORE, C. D.; STEELE, M. L. Herbicide efficacy, leaf structure, and spray droplet contact angle among Ipomoea species and smallflower morningglory. **Weed Science**, Lawrence, v. 49, n. 5, p. 628-634, 2001. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1614/0043-1745\(2001\)049\[0628:HELSAS\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1614/0043-1745(2001)049[0628:HELSAS]2.0.CO;2)>

CHATELET, D. S.; CLEMENT, W. L.; SACK, L. S.; DONOGHUE, M. J.; EDWARDS, E. J. The Evolution of Photosynthetic Anatomy in *Viburnum* (Adoxaceae). **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 174, n. 9, p. 1277-1291, 2013. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/10.1086/673241>

COOLEY, W. E.; FOY, C. L. Effects of SC-0224 and glyphosate on free amino acids, soluble protein, and protein synthesis in inflated duckweed (*Lemna gibba*). **Weed Science**, Lawrence, v. 40, n. 3, p. 345-350, 1992.

CRAWFORD, K. M.; ZAMBRYSKI, P. C. Non-targeted and targeted protein movement through plasmodesmata in leaves in different developmental and physiological status. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, p. 1802-1812, 2001. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1104/pp.125.4.1802>>

DICKSON, W. C. **Integrative plant anatomy**. HP Harcourt. Academic Press. San Diego, 2006. 533p.

DILL, G. M.; CAJACOB, C. A.; PADGETTE, S. R. Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. **Pest Management Science**, Chichester, v. 64, p. 326–331, 2008. Disponível em: <10.1002/ps.1501>

DING, L.; HOFIUS, D.; HAJIREZAEI, M. R.; FERNIE, A. R.; BORNKE, F.; SONNEWALD, U. Functional analysis of the essential bifunctional tobacco enzyme 3- dehydroquinate dehydratase/shikimate dehydrogenase in transgenic tobacco plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n. 8, p. 2053-2067, 2007. Disponível em: <doi:10.1093/jxb/erm059>

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 82, n. 1, p. 47-95, 2002. Disponível em: < 10.1152/physrev.00018.2001>

Duke, S. O. Glyphosate. In: Kearney, P. C.; Kaufman, D. D. **Herbicides: Chemistry, Degradation, and Mode of Action**. 3 ed. Marcel Dekker, New York, NY, 1988. p. 1–70.

DUKE, S. O.; RIMANDO, A. M.; PACE, P. F.; REDDY, K. N.; SMEDA, R. J. Isoflavone, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid levels in seeds of glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 340–344, 2003. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf025908i>>

DUKE, S.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest Management Science**, Chichester, v. 64, p. 319–325, 2008. Disponível em: < DOI: 10.1002/ps.1518>

ENTUS, R.; POLING, M.; HERRMANN, K. M. Redox regulation of Arabidopsis 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase. **Plant Physiology**, Rockville, v. 129, 1866–1871, 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1104/pp.002626>>

FENG, J. C.; TRAN, M.; CHIU, T.; SOMMONS, R. D.; HECK, G. R.; CA JACOB, C. A. Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. **Weed Science**, Lawrence, v. 52, p. 498-505, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1614/WS-03-137R>>

FERMINO JR, P. C. P.; PAULILO, M. T. S.; REIS, A.; SANTOS, M. Espécies pioneiras e climáticas da Floresta Ombrófila Densa: anatomia foliar comparada. **Insula**, Florianópolis, v. 33, p. 21-37, 2004.

FERREIRA, E. A.; PROCÓPIO, S. O.; SILVA, E. A. M.; SILVA, A. A.; RUFINO, R. J. N. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. IV *Amaranthus deflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Alternanthera tenella* e *Euphorbia heterophylla*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 263-271, 2003.

FORLANI, G.; LEJCZAK, P.; KAFARSKI, P. The herbicidally active compound N-2-(5-chloro-pyridyl) aminomethylene bisphosphonic acid acts by inhibiting both glutamine and aromatic amino acid biosynthesis. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 27, p. 677- 683, 2000. Disponível em: <[10.1071/PP00011](http://dx.doi.org/10.1071/PP00011)>

FUCHS, M. A.; GEIGER, D. R.; REYNOLDS, T. L.; BOURQUE, J. E. Mechanisms of glyphosate toxicity in velvetleaf (*Abutilon theophrasti* medikus). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 74, p. 27–39, 2002. Disponível em: <[10.1016/S0048-3575\(02\)00118-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0048-3575(02)00118-9)>

GARCION, C.; LOHMANN, A.; LAMODIÈRE, E.; CATINOT, J.; BUCHALA, A.; DOERMANN, P.; MÉTRAUX, J. P. Characterization and biological function of the ISOCHORISMATE SYNTHASE2 gene of Arabidopsis. **Plant Physiology**, Rockville, v. 147, 1279–1287, 2008. Disponível em: <[10.1104/pp.108.119420](http://dx.doi.org/10.1104/pp.108.119420)>

GIANCOTTI, P. R. F.; ALVES, P. L. C. A.; YMAUTI, M. S.; BARROSO, A. A. M. Postemergence Control and Germination Characteristics of *Synedrellopsis grisebachii*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 30, p. 335-340, 2012.

GROSS, J.; CHO, W. K.; LEZHNEVA, L.; FALK, J.; KRUPINSKA, K.; SHINOZAKI, K.; SEKI, M.; HERRMANN, R. G.; MEURER, J. A plant locus essential for phylloquinone (vitamin K1) biosynthesis originated from a fusion of four eubacterial genes. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 281, n. 25, p. 17189–17196, 2006.

GUO, J.; CARRINGTON, Y.; ALBER, A.; EHLTING, J. molecular characterization of quinate and shikimate metabolism in *populus trichocarpa*. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 289, n. 34, p. 23846–23858, 2014. Disponível em: <10.1074/jbc.M114.558536>

HEAP, I. **International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org/summary/home.aspx>. Acesso: 22/01/2015.

HENNIGH, D. S.; AL-KHATIB, K.; STAHLMAN, P. W.; SHOUP, D. E. Prairie cupgrass (*Eriochloa contracta*) and windmillgrass (*Chloris verticillata*) response to glyphosate and acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides. **Weed Science**, Lawrence, v. 53, n. 3, p. 315–322, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1614/WS-04-112R>>

HESS, F. D. Absorption. In: WELLER, S. C. (Coord.) **Herbicide action course 1997**. West Lafayette: Purdue University, 1997. cap. 2, 1991, p.15-37.

HESS, F. D.; CHESTER, L. F. Interaction of surfactants with plant cuticles. **Weed technology**, Champaign, v. 14, p. 807-813, 2000. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1614/0890-037X\(2000\)014\[0807:IOSWPC\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1614/0890-037X(2000)014[0807:IOSWPC]2.0.CO;2)>

HESS, F. D.; FALK, R. H. Herbicides deposition on leaf surfaces. **Weed Science**, Lawrence, v. 38, n. 3, p. 280-288, 1990.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523p.

JORDAN, D. L.; YORK, A. C.; GRIFFIN, J. L.; CLAY, P. A.; VIDRINE, P. R.; REYNOLDS, D. B. Influence of application variables on efficacy of glyphosate. **Weed technology**, Champaign, v.11, p. 354-362, 1997.

KAPUSTA, G.; KRAUZ, R. F.; MATTHEWS, J. L. Soybean tolerance and summer annual weed control with glufosinate and glyphosate in resistant soybean. **Weed Science**, Lawrence, v.49, p. 120-124, 1994

KIM, H.; VAN OOSTENDE, C.; BASSET, G.; AND BROWSE, J. The AAE14 gene encodes the Arabidopsis o-succinylbenzoyl-CoA li- gase that is essential for phylloquinone synthesis and photosys- tem-l function. **The Plant Journal**, Oxford 54, 272–283, 2008. Disponível em: <doi:10.1111/j.1365-313X.2008.03416.x>

LEE, D. W.; OBERBAUER, S. F.; JOHNSON, P.; KHIRNAPILAY, B.; MANSOR, M.; MOHAMAD, H.; YAP, S. K. Effects of irradiance and espectrus quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast aian Hopea (Diptenocarpeceae) species. **American Jornaul of Botany**, v. 87, p. 447-455, 2000.

LICH, J. M.; RENNER, K. A.; PENNER, D. Interaction of glyphosate with postemergence soybeans (*Glycine max*) herbicides. **Weed Science**, Lawrence, v. 45, p. 12-21, 1997.

MAEDA, H.; DUDAREVA, N. The Shikimate Pathway and Aromatic Amino Acid Biosynthesis in Plants. **Plant Biology**, Chichester, v. 63, p. 73–105, 2012. Disponível em: <10.1146/annurev-arplant-042811-105439>

MARQUES, R. P.; RODELLA, R. A.; MARTINS, D. Characteristics of the leaf anatomy of Surinam grass and Alexandergrass related to sensitivity to herbicides. **Planta daninha**, Viçosa, v. 30, p. 809-816, 2012.

MATALLO, M. B.; ALMEIDA, S. D. B.; CERDEIRA, A. L.; FRANCO, D. A.; BLANCO, F. M.G.; MENEZES, P. T. C.; LUCHINI, L. C.; MOUTA, M. A. M.; DUKE, S. O. Microwave-assisted solvent extraction and analysis of shikimic acid from plant tissues. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, p. 987-994, 2009.

MENDES, M. M.; GAZARINI, L. C.; RODRIGUES, M. L. Acclimatation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments – effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. **Environmental and Experimental botany**, Amsterdam, v. 45, p. 165-178, 2001.

MESQUITA, H. C.; RODRIGUES, A. P. M. S.; MENDONÇA JR, A. F. Riscos toxicológicos do herbicida glyphosate. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campinas Grande, v. 7, n. 2, p. 1-5, 2011. Disponível em: <http://150.165.111.246/ojs-patos/index.php/ACSA/login>

METCALFE, C. R.; CHALK, L. *Anatomy of Dicotyledons II*. Oxford University Press, London, 1979.

MILANEZE-GUTIERRE, M. A.; MELLO, J. C. P.; DELAPORTE, R. H. The effect of light intensity on morpho-anatomy of leaves of *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae) and their importance on the plant drug control quality. **Revista Brasileira de farmacognosia**, Curitiba, v. 13, p. 23-33, 2003.

MONQUERO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OSUNA, M. D.; DE PRADO, R. A. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 3, p. 445-451, 2004.

MOREIRA, M. S.; CHRISTOFFOLETI, P. J. **Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da EPSPs** (Grupo G). (3 Ed.). In: CHRISTOFFOLETI, P. J.; OVEJERO, R. F. L.; NICOLAI, M.; VARGAS, L.; CARVALHO, S. J. P.; CATANEO, A. C.; CARVALHO, J. C.; MOREIRA, M. S. Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas. Piracicaba, HRAC, 2008. p. 78-96.

NAKAJIMA, J.; LOEUILLE, B.; HEIDEN, G. *Asteraceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < www.floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB130556 > Acesso em: 17 de novembro de 2014).

NANDULA, V. K.; REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O.; POSTON, D. H. Glyphosate-resistant and -susceptible soybean (*Glycine max*) and canola (*Brassica napus*) dose response and metabolism relationships with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, p. 3540–3545, 2007. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf063568l> >

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cellular wall by toluidine blue. **Protoplasma**, Wien, v. 59, p. 368-373, 1964.

ORCARAY, L.; IGAL, M.; MARINO, D.; ZABALZA, A.; ROYUELA, M. The possible role of quinate in the mode of action of glyphosate and acetolactate synthase inhibitors. **Pest Management Science**, Chichester, v. 66, p. 262-269, 2010. Disponível em: < [www.interscience.wiley.com/DOI 10.1002/ps.1868](http://www.interscience.wiley.com/DOI%2010.1002/ps.1868) >

ORCARAY, L.; ZULET, A.; ZABALZA, A.; ROYUELA, M. Impairment of carbon metabolism induced by the herbicide glyphosate. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 169, p. 27–33, 2012. Disponível em: <10.1016/j.jplph.2011.08.009>

PASSOS, M. A. B.; MENDONÇA, M. S. Epiderme dos segmentos foliares de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) em três fases de desenvolvimento. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, n. 4, p. 431 – 436, 2006.

PETERSEN, I. L.; HANSEN, H. C. B.; WEBER, R. SORENSEN, J. S.; SORENSEN, H. Metabolic effects in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings after root exposure to glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 89, p. 220–229, 2007. Disponível em: <doi:10.1016/j.pestbp.2007.06.009>

POLLASTRINI, M.; STEFANO, V. D.; FERRETTI, M.; AGATI, G.; GRIFONI, D.; ZIPOLI, G.; ORLANDINI, S.; BUSSOTTI, F. Influence of different light intensity regimes on leaf features of *Vitis vinifera* L. in ultraviolet radiation filtered condition. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 73, p. 108–115, 2011. Disponível em: < 10.1016/j.envexpbot.2010.10.027>

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review Plant Biology**, Palo Alto, 61, 317-347, 2010. Disponível em: < <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-arplant-042809-112119>>

PRICE, A. J.; BALKCOM, K. S.; CULPEPPER, S. A.; KELTON, J. A.; NICHOLS, R. L.; SCHOMBERG, H. Glyphosate-resistant Palmer amaranth: A threat to conservation tillage. **Journal of Soil and Water Conservation**, Ankeny, v. 66, n. 4, p. 265-275, 2011. Disponível em: <10.2489/jswc.66.4.265>

PROCÓPIO, S. O.; FERREIRA, E. A.; SILVA, E. A. M.; SILVA, A. A.; RUFINO, R. J. N.; SANTOS, J. B. Leaf Anatomical Studies in Weed Species Widely Common in Brazil. III - *Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* and *Ipomoea cairica*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, p. 1-9, 2003.

PROCÓPIO, S. O.; PIRES, F. R.; MENEZES, C. C. E.; BARROSO, A. L. L.; MORAES, R. V.; SILVA, M. V. V.; QUEIROZ, R. G.; CARMO, M. L. Efeitos de dessecantes no controle de plantas daninhas na cultura da soja. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 193-197, 2006.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara, Koogan, 2001.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O.; NANDULA, V. K. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 56, p. 2125-2130, 2008. Disponível em: < 10.1021/jf072954f>

SALGADO, T. P.; ALVES, P. L. C. A.; KUVA, M. A.; TAKAHASHI, E. N.; DIAS, T. C. S.; LEMES, L. N. Sintomas da intoxicação inicial de eucalyptus proporcionados por subdoses de glyphosate aplicadas no caule ou nas folhas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 913-922, 2011.

SANTOS, I. C.; MEIRA, R. M. S. A.; FERREIRA, F. A.; SANTOS, L. D. T.; MIRANDA, G. V. Caracteres anatômicos de duas espécies de trapoeraba e a eficiência do glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 20, n. 1, p. 1-8, 2002.

SATICHIVI, N. M.; WAX, L. M.; STOLLER, E. W.; BRISKIN, D. P. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Science**, Lawrence, v. 48, n. 6, p. 675-679, 2000. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0675:AATOGI\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0675:AATOGI]2.0.CO;2)

SEEFELDT, S. S.; JENSEN, S. E.; FUERST, E. P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationship. **Weed Technology**, Champaign v. 9, p. 218-227, 1995.

SHUSTER, C. L.; SHOUP, D. E.; AL-KHATIB, K. Response of Common Lambsquarters (*Chenopodium Album*) to Glyphosate as Affected by Growth Stage. **Weed Science**, Lawrence, v. 55, n. 2, p. 147-151, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1614/WS-06-130.1>

SINGH, B. K.; SHANER, D. L. Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate-resistant plants. **Weed Technology**, Champaign, v. 12, p. 527-530, 1998.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification**. W.H. Freeman, San Francisco, USA, 1973. 573 p.

STARRAT, A. N.; LAZAROVITS, G. Increases in free amino acids levels in tomato plants accompanying herbicide-induced disease resistance. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 54, n. 3, p. 230-240, Mar. 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology** (5th ed. p.cm). Snauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, U.S.A, 2010. p. 719.

TUFFI SANTOS, L. D.; MEIRA, R. M. S. A.; SANTOS, I. C.; FERREIRA, E. A. Efeito do glyphosate sobre a morfoanatomia das folhas e do caule de *Commelina diffusa* e *C. benghalensis*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 1, p. 101-108, 2004.

TUFFI SANTOS, L. D.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; MEIRA, R. M. S. A.; FERREIRA, F. A.; TIBURCIO, R. A. S.; MACHADO, A. F. L. Leaf anatomy and morphometry in three eucalypt clones treated with glyphosate. **Brazilian Journal of Biology**, Sao Carlos, v. 69, n. 1, p. 129-136, 2009.

TZIN, V.; GALILI, G. New Insights into the Shikimate and Aromatic Amino Acids Biosynthesis Pathways in Plants. **Molecular Plant**, Cambridge, v. 3, n. 6, p. 956–972, 2010. Disponível em: <10.1093/mp/ssq048>

VELINI, E. D.; Lawrence MESCHEDE, D. K.; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B. **Glyphosate** (1th Velini ED). Fepaf, Botucatu, Brazil, 2009. p. 31 – 80.

VELINI, E. D.; TRINDADE, A. L. B. Comportamento de herbicidas na planta. Épocas de aplicação de herbicidas. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE MANEJO INTEGRADO DE PLANTAS DANINHAS EM HORTALIÇAS, 1992, Botucatu, SP. Anais... Botucatu, SP: UNESP, p. 65,-86, 1992.

VIEIRA, D. C. M.; SOCOLOWSKI, F.; TAKAKI, M. Germinação de sementes de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas em luz e escuro. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 183-188, 2007.

WALLER, J. C.; AKHTARA, T. A.; LARA-NÚÑEZ, A.; GREGORY, J. F.; McQUINN, R. P.; GIOVANNONIC, J. J.; HANSON, A. D. Developmental and feedforward control of the expression of folate biosynthesis genes in tomato fruit. **Molecular Plant**, Cambridge, v. 3, n. 1, p. 66–77, 2010. Disponível em: <doi:10.1093/mp/ssp057>

WANG, C. Y. Effect of glyphosate on aromatic amino acid metabolism in purple nutsedge (*Cyperus rotundus*). **Weed Technology**, Champaign, v. 15, p. 628-635, 2001. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1614/0890-037X\(2001\)015\[0628:EOGOAA\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1614/0890-037X(2001)015[0628:EOGOAA]2.0.CO;2)

WILDERMUTH, M.; DEWDNEY, J.; WU, G.; AUSUBEL, F. Iso- chorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. **Nature**, London, v. 414, 562–565, 2001. Disponível em: <doi:10.1038/35107108>

XIAO-XUE, F.; ZHI-GANG, X.; XIAO-YING, L.; CAN-MING, T.; LI-WEN, W.; XUE-LIN, H. Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 153, p. 50–55, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.017>>

YAMAUTI, M. S.; PAVANI, M. C. M. D.; ALVES, P. L. C. A.; MORO, F. V. Efeito de fatores ambientais sobre a germinação de agriãozinho (*Synedrellopsis grisebachii*). **Científica**, Jaboticabal, v. 40, n. 2, p. 150–155, 2012.