

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA  
AGRÍCOLA**

**Deivid Araújo Magano**

**PENETRAÇÃO CUTICULAR / ESTOMATAL E SUA INFLUÊNCIA  
NA EFICÁCIA DE FERTILIZANTES FOLIARES E AGROTÓXICOS**

**Santa Maria, RS  
2018**

**Deivid Araújo Magano**

**PENETRAÇÃO CUTICULAR / ESTOMATAL E SUA INFLUÊNCIA NA  
EFICÁCIA DE FERTILIZANTES FOLIARES E AGROTÓXICOS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Engenharia Agrícola.**

**Orientador: Prof. Dr. Jerson Carús Guedes**

**Santa Maria, RS  
2018**

Magano, Deivid Araújo  
Penetração cuticular/estomatal e sua influência na  
eficácia de fertilizantes foliares e agrotóxicos / Deivid  
Araújo Magano.- 2018.  
77 p.; 30 cm

Orientador: Jerson Vanderlei Carús Guedes  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Engenharia Agrícola, RS, 2018

1. íons 2. alternativas 3. agrotóxicos 4.  
tecnologia de aplicação 5. penetração I. Guedes, Jerson  
Vanderlei Carús II. Título.

**Deivid Araújo Magano**

**PENETRAÇÃO CUTICULAR / ESTOMATAL E SUA INFLUÊNCIA NA  
EFICÁCIA DE FERTILIZANTES FOLIARES E AGROTÓXICOS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Engenharia Agrícola.**

**Aprovado em, 29 de Junho de 2018.**

---

**Jerson Carús Guedes, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Adriano Arrué Melo, Dr. (UFSM)**

---

**Jonas André Arnemann, Dr. (UFSM)**

---

**Marcus Antônio Gonçalves Costa, Dr. (AGROFEL)**

---

**Rubens A. Fiorin, Dr. (NUFARM)**

**Santa Maria, RS**  
**2018**

# DEDICATÓRIA

*A minha família, dedico.*

## EPÍGRAFE

*“Inteligência é a capacidade de se adaptar à mudança”*  
(Stephen Hawking)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, o alpha e o ômega, o princípio e o fim.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao programa de pós-graduação em Engenharia Agrícola pela oportunidade de realização deste curso.

A coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (capes) pela concessão da bolsa.

Ao prof. Jerson Vanderlei Carús Guedes pela orientação e pelos ensinamentos ao longo desses anos de convivência.

Ao Dr. Maurício Hunsche e Dr. Juergen Burkhardt pela supervisão e amizade durante o estágio de doutorado sanduíche na Alemanha, com quem muito aprendi, e a quem tenho grande admiração;

Ao prof. Ervandil Corrêa Costa e prof. Valmir Aita pela amizade e pelos inúmeros ensinamentos na área ambiental.

A Universidade de Bonn, e toda equipe de técnicos e pesquisadores com quem convivi, pelo acolhimento e oportunidade de estágio de doutorado sanduíche.

Aos funcionários do departamento de defesa fitossanitária Angelita Martins, Marizete Pozzobon, Fioravante Amaral, Fernando Gnocatto e Gustavo Ugalde pelo seu apoio para com esse trabalho.

Aos colegas e amigos de jornada Fábio Martins e Suzy Pinheiro, pelo convívio e apoio diário para a realização deste, e pelo suporte financeiro, quando as coisas ficaram difíceis.

Aos colegas de UFSM, Janine Menegaes, Paulo Sérgio Santos, Josana Langner, Marciane Fleck, Jéssica Maus, Leonardo Machado e Dayanna Nascimento.

Aos colegas do laboratório de manejo integrado de pragas (labmip), Leonardo Burtet, Régis Stacke, Luis Curioletti, Alberto Röhrig, Ericmar Santos, Maicon Machado, Glauber Stürmer, Janine Palma, Clérison Perini, Ivair Valmorbida, Adriano Melo e Jonas Arnemann (hoje professores) e demais membros desse grupo.

A minha namorada Isabel Cristina Frozza pelo carinho, dedicação e auxílio durante esse período conturbado da minha vida, por entender a ausência, compreender minhas dificuldades e meu mau humor. Obrigado por tudo!

A todos que anonimamente contribuíram para essa conquista, o meu muito obrigado.

# RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

## **PENETRAÇÃO CUTICULAR / ESTOMATAL E SUA INFLUÊNCIA NA EFICÁCIA DE FERTILIZANTES FOLIARES E AGROTÓXICOS**

AUTOR: DEIVID ARAUJO MAGANO

ORIENTADOR: JERSON CARÚS GUEDES

Local e data da defesa: Santa Maria, 29 de junho de 2018.

A melhor compreensão de mecanismos envolvidos no processo de penetração cuticular e penetração estomatal vêm sendo novamente fonte de inovação e interesse de pesquisadores, visto os recentes avanços tecnológicos. O presente trabalho apresenta dois artigos, que tem como objetivo elucidar aspectos referentes a penetração cuticular e estomatal e a interferência de sais no comportamento de adubos foliares e agrotóxicos. O primeiro artigo intitulado: “Penetração cuticular de fertilizantes foliares: evidências para copenetração de Zn e Mn com íons K”, apresentou uma possibilidade de incrementar a penetração de manganês. Foram mensurados ângulo de contato, tensão superficial, formação dos depósitos, espectrometria de absorção atômica para quantificação dos índices de penetração e interações de fertilizantes foliares. Como conclusão, o uso do KSCN aumentou as taxas de penetração para o Mn. No segundo artigo intitulado “Influência de sais de potássio no incremento da atividade de dois herbicidas” avaliamos o potencial do tiofanato de potássio em incrementar a eficiência de herbicidas, quando aplicado 48 horas antes da aplicação dos herbicidas paraquat e bromoxynil. Foram mensuradas interferências dos tratamentos analisados por processamento digital de imagens, para constatação do aumento/redução de eficiência. O emprego de KSCN antes da aplicação dos herbicidas, propiciaram um aumento na eficiência de ambos herbicidas.

**Palavras chaves:** íons, alternativas, agrotóxicos, tecnologia de aplicação, penetração



## **ABSTRACT**

Doctoral thesis

Graduate Program in Agricultural Engineering  
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

### **PENETRATION CUTICULAR / STOMATAL AND INFLUENCE ON EFFICIENCY FOLIAR FERTILIZER AND PESTICIDES**

AUTHOR: DEIVID ARAUJO MAGANO

ADVISOR: JERSON CARÚS GUEDES

Santa Maria, June 29<sup>th</sup> 2018.

The better understanding of the mechanisms involved in the process of cuticular penetration and stomatal penetration has once again been a source of innovation and interest for researchers, given the recent technological advances. The present work presents two articles, whose objective is to elucidate aspects related to cuticular and stomatal penetration and the interference of salts in the behavior of foliar fertilizers and pesticides. The first article entitled "Cuticular penetration of foliar fertilizers: evidence for Zn and Mn co-penetration with K ions", presented a possibility of increasing the penetration of manganese. Contact angle, surface tension, deposition formation, atomic absorption spectrometry for quantification of penetration indices and foliar fertilizer interactions were measured. In conclusion, the use of KSCN increased penetration rates for Mn. In the second article entitled "Influence of potassium salts on the increase the activity of two herbicides", we evaluated the potential of potassium thiophanate to increase herbicide efficiency when applied 48 hours before the application of the herbicides paraquat and bromoxynil. Interferences of the treatments were measured by digital image processing to quantify the increase / reduction of efficiency. The use of KSCN before the application of herbicides, led to an increase in the efficiency of both herbicides.

**Keywords:** ions, alternatives, pesticides, application technology, uptake

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>14</b>
2.1 Folhas: interface para interações.....	14
2.2 Adubação foliar .....	14
2.3 Ativação hidráulica de estômatos.....	15
2.4 Herbicidas .....	17
2.5 PAM fluorescência de clorofila.....	18
<b>ARTIGO 1 – PENETRAÇÃO CUTICULAR DE FERTILIZANTES FOLIARES: EVIDÊNCIAS PARA COPENETRAÇÃO DE ZN E MN COM ÍONS K.....</b>	<b>20</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
2.1 Penetração Cuticular .....	23
2.2 Compostos alvo para penetração .....	24
2.3 Ângulo de contato e tensão superficial.....	25
2.4 Caracterização micro morfológica de depósitos .....	25
2.5 Determinação da penetração .....	25
2.6 Análise estatística .....	26
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>26</b>
3.1 Tensão superficial e ângulo de contato .....	27
3.2 Penetração Cuticular .....	27
3.3 Propriedades micro morfológicas dos resíduos de depósito .....	28
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>31</b>
<b>6. AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>32</b>
<b>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>33</b>
<b>ARTIGO 2 – INFLUÊNCIA DE SAIS DE POTÁSSIO NO INCREMENTO DA ATIVIDADE DE DOIS HERBICIDAS.....</b>	<b>43</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>46</b>
2.1 Ensaios .....	46
2.2 Condições experimentais: cultivo de plantas.....	46
2.3 Experimento 1: triagem de julgamento.....	47
2.4 Caracterização de sais em contato com tecidos vegetais .....	47

2.5	Experimento 2: Deficiências fisiológicas devidas a sais .....	47
2.6	Ilustração de danos.....	48
3.	<b>RESULTADOS</b> .....	48
4.	<b>DISCUSSÃO</b> .....	52
5.	<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	56
6.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	57
7.	<b>DISCUSSÃO GERAL</b> .....	69
8.	<b>CONCLUSÃO</b> .....	71
9.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	72

## 1. INTRODUÇÃO

A agricultura mundial está em constante evolução, inovando por meio de novas tecnologias e aprimorando técnicas e manejos já estabelecidos, buscando atingir melhores índices de produção e produtividade, o que dará sustentabilidade a toda cadeia produtiva. No entanto, os problemas se maximizam frente à realidade de que as terras agricultáveis per capita decrescem a cada ano (Mazoyer e Roudart, 2010). Segundo estimativas da Food and Agriculture Organization (FAO, 2014), até 2050, o planeta terá uma população de 9 bilhões de pessoas, o que exige que as ações no setor agrícola ocorram de forma planejada e organizada para alimentar essa população crescente.

Pela agricultura tratar-se de um sistema aberto, ou seja, um sistema que sofre influências de fatores bióticos e abióticos, exige dos profissionais que atuam no segmento, intervir sobre o meio, a fim de estabelecer as melhores estratégias para promover incrementos a produtividade. Neste contexto, para se atingir melhores rendimentos, faz-se necessário o controle das pragas agrícolas, dentre as quais estão as plantas daninhas, insetos e doenças, sendo consideradas os mais importantes fatores bióticos na redução da produtividade das culturas, e que na ausência ou falhas no controle, podem causar prejuízos econômicos relevantes (Oerke e Dhene, 2004).

Para conter os prejuízos causados por essas pragas, o controle químico é a principal ferramenta empregada pelos agricultores (Hamil et al, 2004; Russel, 2005; Oerke, 2006). No entanto, por inobservância das recomendações, falta de rotação de ingredientes ativos, uso excessivo de agrotóxicos e manejos inadequados, problemas como a resistência tem se tornado cada vez mais constantes. A resistência é uma característica herdável que alguns, indivíduos apresentam em suportar as doses aplicadas em campo, fato esse que vêm tornando difícil o controle dessas diferentes pragas (Christofolleti; Victoria filho; Silva, 1994; Tabashnik e Roush, 1990; Ghini e Kimati, 2002) exigindo do setor de proteção de cultivos, ações direcionadas para melhorar a eficiência e incrementar o manejo desses organismos.

Uma das alternativas para maximizar a eficácia de agrotóxicos, consiste no emprego de soluções salinas que em combinação com esses ingredientes

ativos promovam um incremento ao controle desses diferentes alvos biológicos (Burkhardt et al., 2012; Basi et al., 2013; Basi et al., 2014) ou que interfiram sobre mecanismos alterando o *status quo* de tecidos foliares, modificando características como a rugosidade, a adesão e outros parâmetros (Burkhardt et al., 2012; Kautz et al., 2015).

Dentre as diferentes formas de absorção de compostos por tecidos foliares, o principal desafio diz respeito a penetração através da cutícula. A cutícula é a primeira barreira a penetração de compostos em uma planta, sendo definida como uma película lipídica e impermeável que recobre as folhas das plantas terrestres, impedindo o ressecamento e diminuindo a taxa de transpiração das plantas (Taiz e Zeiger, 2012).

A visualização recente da absorção de nanopartículas sob via estomatal, pôs fim em um paradigma que durava há 40 anos. Quando se assumia que as superfícies foliares são hidrofóbicas e limpas, tal paradigma considerava ser impossível o transporte de água líquida para dentro dos estômatos, por consequência da tensão superficial da água. No entanto, folhas na natureza não são limpas, e os sprays presentes na atmosfera, uma vez depositados sobre os tecidos vegetais, podem mudar a hidrofobia e tensão da superfície da água (Burkhardt et al., 2012).

Nesse sentido, Burkhardt (2010), propõe um modelo denominado ativação hidráulica dos estômatos. De acordo com esse processo, é possível que os sais higroscópicos permitam a absorção estomática de compostos, mesmo que a tensão superficial esteja bem acima de  $30 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$  (Burkhardt et al., 2012). No entanto, saber de forma objetiva, quais compostos são compatíveis e passíveis de ser adicionados, e até mesmos sobre quais produtos comerciais os mesmos podem ter influência, é um desafio a pesquisa e a indústria.

Esta tese é composta por dois artigos científicos. No primeiro artigo intitulado “Penetração cuticular de fertilizantes foliares: evidências para copenetração de Zn e Mn com íons K”, foi proposta a seleção dentre um grupo de sais potássicos, explorar o potencial que estes teriam em facilitar a penetração cuticular de dois fertilizantes foliares manganês (Mn) e zinco (Zn). Foi realizada a caracterização completa das soluções quanto ao ângulo de contato, tensão superficial, padrão de deposição e demais interações sobre cutículas de tomate e maçã, onde se observou o incremento da penetração dos

compostos. No segundo artigo, intitulado “Influência de sais potássicos em aumentar a eficácia de dois herbicidas” foram selecionadas e definidas as concentrações de trabalho de tiofanato de potássio (KSCN) e mensurada sua capacidade de interagir com dois herbicidas selecionados (paraquat e bromoxynil) em mudas de feijão, a fim de incrementar a atividade desses herbicidas sobre diferentes arranjos experimentais.

Esse trabalho tem como objetivo, elucidar alguns aspectos relativos a ativação hidráulica de estômatos, e suas perspectivas de emprego na proteção de cultivos. Esse estudo visa potencializar novas oportunidades de pesquisa e financiamento, além de oferecer subsídios para o aprimoramento e posterior emprego desse conhecimento, na concepção de novas moléculas, como estratégia para maximizar efeitos de moléculas já existentes, propiciando a abertura de novos rumos a defesa fitossanitária.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Folhas: interface para interações**

As folhas são estruturas fundamentais para o vegetal, uma vez que se relacionam com a fotossíntese. O conhecimento de suas características morfológicas é de grande relevância para o sucesso de estudos das interações entre plantas, herbívoros e inimigos naturais (PRICE, 1997). Além disso, a folha é meio indispensável para a adoção de estratégias para o controle de pragas agrícolas (plantas daninhas, patógenos e insetos).

Na maioria das plantas, a epiderme é constituída por apenas uma camada de células. No entanto, em algumas plantas há formação de epiderme com várias camadas (pluriestratificada), cuja função, acredita-se que seja a de reduzir a perda de água e proteção mecânica. Na planta, a epiderme possui várias funções, tais como proteção mecânica, proteção contra o dessecamento, trocas gasosas (estômatos) e absorção de água em determinadas partes dela (TAIZ e ZEIGER, 2012).

A fim de diminuir a perda de água, as paredes das células epidérmicas das partes aéreas contêm uma substância lipídica chamada cutina. A cutina forma a camada protetora externa da epiderme chamada cutícula, que por sua vez é recoberta por uma camada cerosa. A espessura das camadas de cutina, especialmente as de cera na epiderme da planta, determinam o quanto ela é protegida da perda de água por evaporação, sua susceptibilidade à ação de herbicidas, capacidade de penetração de diferentes compostos, impedindo a ação de patógenos (SERRANO et al., 2014) e seu potencial para a exploração econômica.

### **2.2 Adubação foliar**

Muito ainda se discute a respeito dos benefícios da adubação foliar do ponto de vista de sua eficiência e praticidade, mesmo sendo esse um tópico discutido no campo científico a mais de três séculos (FERNANDEZ; EICHERT, 2009). Os registros científicos mais antigos a respeito de adubação foliar, remetem a segunda metade do século XVIII (GRIS, 1844). No entanto, os

estudos relativos a penetração de nutrientes minerais passou a ser mais explorada após a segunda grande guerra mundial.

A adubação foliar é uma alternativa para o fornecimento de nutrientes para deficiências nutricionais em macro e micronutrientes. A melhor recomendação para aumentar a produtividade e a qualidade dos cultivos a campo, passam pela perfeita combinação do equilíbrio entre a adubação do solo e foliar (TUKEY; MARCZYNSKI, 1984; DORICK; GERICKE, 1986). Nessa operação, os nutrientes são aplicados na forma solúvel diretamente nas folhas das plantas, tendo como grande vantagem a resposta mais rápida na superação de deficiências nutricionais quando comparada a aplicação realizada no solo (FAGERIA et al., 2009).

Atualmente, essa forma de adubação tem uma importância crescente, mas apesar dos inúmeros avanços realizados, entender os mecanismos que controlam a penetração de solutos, ainda não são totalmente compreendidos. A maioria dos nutrientes aplicados via foliar são íons ou moléculas polares e, especialmente para esses tipos de solutos, o conhecimento atual dos processos de penetração foliar ainda é muito limitado (FERNANDEZ; EICHERT, 2009).

Deficiências de manganês e zinco são constantemente observadas em algumas culturas, como o milho (FERREIRA, 2012), café (Malavolta et al., 2000) e o citros (GODOY et al., 2013), que dentre os micronutrientes são os que limitam a produção. A adubação foliar com Mn, é uma prática recomendada no Brasil e é realizada em mistura com agrotóxicos. No entanto, a assimilação desses compostos é baixa, devido à baixa mobilidade dos mesmos, sendo condições normais a uma taxa de 2,5 - 3,5 % a penetração do Zn através da cutícula e de 3 - 5% para o Mn.

A adubação foliar pode ser positiva no processo produtivo, por outro lado, a falta de conhecimento e definição sobre técnicas e produtos mais adequados para essa prática, podem comprometer a obtenção de bons resultados (ROSSI et al., 2004) e por consequência uma menor adoção por parte dos agricultores.

### **2.3 Ativação hidráulica de estômatos**

A penetração foliar ocorre basicamente por dois caminhos, via cutícula ou via estomatal, sendo que tradicionalmente o caminho através dos estômatos foi



por muito tempo considerado virtualmente impossível ser acessado sob condições naturais, devido a hidrofobicidade da superfície das folhas (SCHÖNHERR; BUKOVAC, 1972).

De acordo com Burkhardt et al., (2009), sob certas condições, é possível ativar hidraulicamente os estômatos das plantas, e nesse trabalho definem o conceito de ativação hidráulica dos estômatos (HAS). Como os estômatos são locais de transpiração e apresentam uma elevada taxa de evaporação, com a flutuação da umidade relativa, sais aplicados sobre a superfície foliar são dirigidos em direção aos interior dos estômatos, e por fim desenvolve-se um fino filme ao longo das paredes estomáticas, conectando a superfície da folha com o apoplasto, que potencialmente é capaz de suportar a penetração de líquidos ao interior da planta.

Em estudos complementares, Burkhardt (2010), propõe que sais higroscópicos a partir de repetidos ciclos de deliquescência/eflorescência, aumentam a área de contato com a superfície, causando uma expansão nos cristais dendríticos de sais, que se espalhariam sobre a superfície da folha, propiciando a condução de soluções aquosas ao interior da planta.

Segundo Dutcher et al., 2010, gotas de soluções salinas com pequenas quantidades de sais, resultam em soluções com altas concentrações após a evaporação da água, e podem alterar energia da superfície. Sais higroscópicos, são categorizados com base na série de Hofmeister (KUNZ et al., 2004). De acordo com essa série ainda podemos ter uma subdivisão em função da natureza desses sais, sendo considerados sais caotrópicos e sais cosmotrópicos. Os sais caotrópicos terão a capacidade de reduzir a tensão superficial enquanto que os sais cosmotrópicos teriam a capacidade de aumentar a tensão superficial das soluções.

Com base na escala de Hofmeister para ânions o grau da série é definido na seguinte sequência:  $\text{SO}_4^{-2}$ ,  $\text{F}^{-1}$ ,  $\text{Cl}^{-1}$ ,  $\text{Br}^{-1}$ ,  $\text{NO}_3^{-1}$ ,  $\text{ClO}_3^{-1}$ ,  $\text{I}^{-1}$ ,  $\text{ClO}_4^{-1}$ ,  $\text{SCN}^{-1}$ , e para cátions  $\text{NH}_4^{+4}$ ,  $\text{Cs}^{+1}$ ,  $\text{Rb}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{H}^{+}$ . Quanto mais a direita mais caotrópica é a solução. Muitos sais podem ser utilizados, como adjuvantes podendo aumentar a eficiência de aplicações de herbicidas por exemplo (GREENE; BUCKOVAC, 1974; THELEN et al., 1995; RAMSEY et al., 2006).

Provas objetivas da penetração estomatal foram providas usando nanopartículas de poliestireno fluorescente (EICHERT; GOLDBACH, 2008), e

Burkhardt et al., (2012), demonstraram que a penetração de agroquímicos é suportada pela HAS, e que a adição de sais caotrópicos causam um forte decréscimo na tensão superficial, favorecendo uma alta penetração estomatal e aumentando consideravelmente a bioeficiência de glifosato (BASI et al, 2014).

## 2.4 Herbicidas

Os herbicidas são substâncias empregadas no controle de plantas daninhas, plantas estas que competem com a cultura de interesse, provocando entre outros danos a redução na produtividade e até mesmo dificultando o processo de colheita. Os herbicidas interagem com o tecido vegetal, sendo absorvidos e translocados através das superfícies foliares, interferindo sobre processos associados a seus diferentes mecanismos de ação. O processo de absorção fisiologicamente está relacionado a camada cuticular, parede celular e plasmalema. Nesse trabalho os herbicidas selecionados foram os herbicidas paraquat e bromoxynil, em razão de sua grande facilidade de interação com a energia luminosa.

O paraquat é um sal solúvel em água que desseca rapidamente todo o tecido verde no qual entra em contato, não é volátil, explosivo nem mesmo inflamável em solução aquosa (PERON et al., 2013), pertencendo ao grupo químico dos bipyridílios (atuando sobre o fotossistema I), moléculas com atividade relacionada com a formação de radicais superóxidos, cuja detoxificação pela enzima superóxido dismutase, resulta na formação de peróxido de hidrogênio, que peroxida lipídios e danifica as membranas do cloroplasto e células (VIDAL, 1997). Este herbicida é uma molécula aceptora de elétrons que em plantas expostas a luz leva a sérios prejuízos fisiológicos, com depleção de NADPH e inibição da fixação de CO<sub>2</sub>, que promovem a lesão grave e rápida destruição das membranas.

O bromoxynil é um composto orgânico, com baixa solubilidade em água classificado como um herbicida nitrílico que atua inibindo a fotossíntese, mais especificamente atuando sobre o fotossistema II. É um herbicida de contato indicado a combater dicotiledôneas infestantes em aplicações de pós emergência. Seu Mecanismo de ação faz com que a molécula se liga ao bolso da proteína D1 do FS II, impedindo a ligação da Qb, bloqueando o fluxo de elétrons entre o FS II e o FS I. Com o bloqueio, forma-se clorofila tripleto que reage com O<sub>2</sub>, formando

oxigênio singleto que gera estresse oxidativo, que culmina com a destruição do tecido vegetal.

## 2.5 PAM fluorescência de clorofila

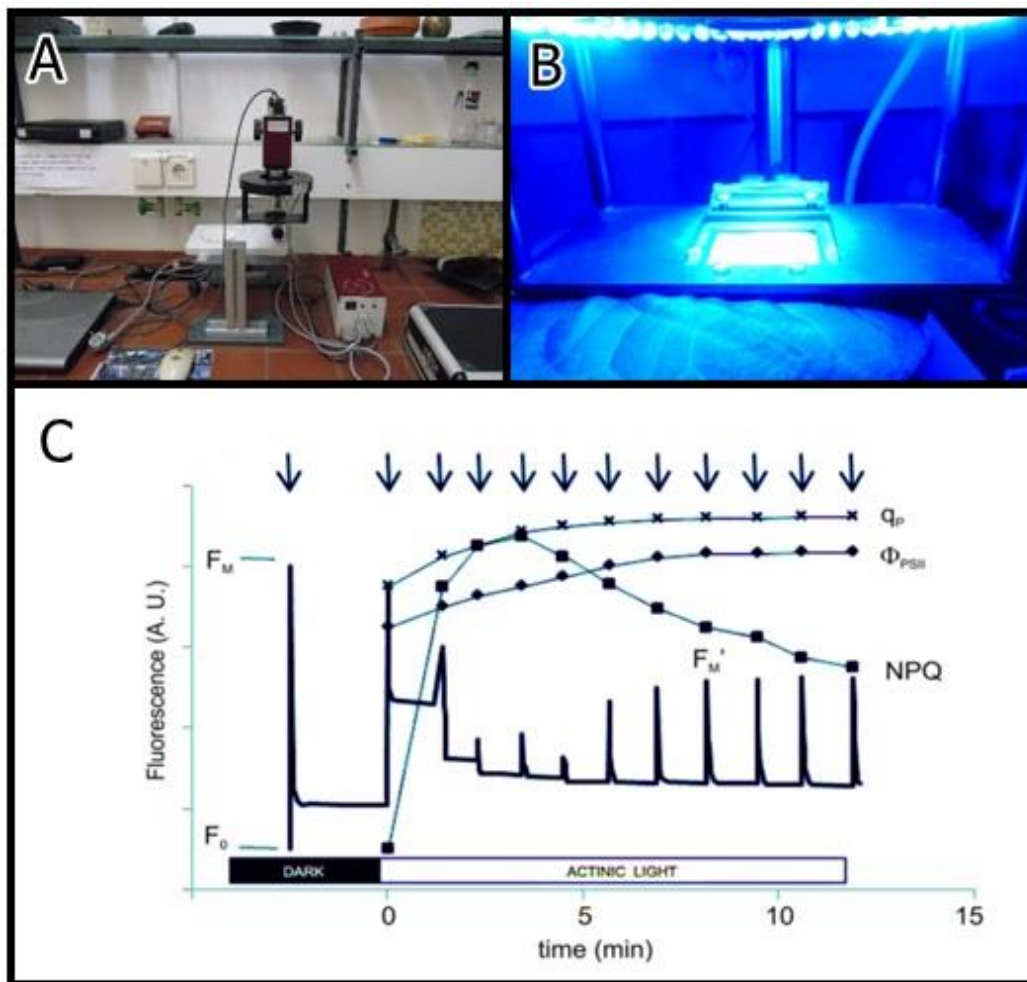
A técnica de pulso de amplitude modulada (PAM) de fluorescência da clorofila pode funcionar como um indicador em todos os níveis de fotossíntese. Por ser uma técnica não invasiva, e ser capaz de detectar alterações antes da manifestação de efeitos ao tecido vegetal, se mostra muito eficaz (HUNSCHE, BÜRLIG; NOGA, 2011; MURCHIE; LAWSON, 2013). É uma técnica que permite quantificar danos ocorridos em tecidos vegetais em virtude da eficiência dos fotossistemas, de forma que os mesmos sejam detectados antes mesmo da observação visual nos tecidos com a planta *in vivo*.

A clorofila é o principal pigmento da antena, que canaliza a energia da luz absorvida para os centros de reação dos fotossistemas I (PSI) e II (PSII), onde ocorre a conversão fotoquímica da energia de excitação. A função indicadora da fluorescência da clorofila surge do fato de que a emissão de fluorescência é complementar às vias alternativas de desexcitação, que são a fotoquímica (D'HAESE et. al., 2004) e a dissipação de calor. De um modo geral, o rendimento de fluorescência é aumentado quando os rendimentos de fotoquímica e dissipação de calor são diminuídos e vice-versa. A parte variável da fluorescência da clorofila se origina principalmente no PSII, refletindo mudanças na eficiência fotoquímica do PSII e dissipação de calor. (KALAHY et al., 2014).

O princípio da fluorometria PAM é baseado em um pulso de luz de 1  $\mu$ s (baixa intensidade, não-actínico) que é sincronizado com um amplificador de bloqueio. Isso permite que determinações de rendimento quântico efetivo sejam executadas na luz. Após a planta sofrer um período de adaptação ao escuro, o valor mínimo de fluorescência ( $F_0$ ) da amostra pode ser medido. Se a amostra é então exposta a um pulso saturante de luz, então todos os centros de reação prenderão a energia de um fóton absorvido por suas antenas (pois seus centros de reação são fechados), então a quantidade máxima de fluorescência ( $F_m$ ) pode ser medida. A diferença entre esses dois valores extremos é a fluorescência variável ( $F_v$ ).  $F_v / F_m$  fornece uma medida da eficiência fotoquímica máxima de PSII. Após a iluminação actínica da amostra, o seu

rendimento de fluorescência pode variar entre os dois valores extremos,  $F_0$  e  $F_m$ . O rendimento momentâneo de fluorescência,  $F$ , pode ser medido brevemente antes do disparo do pulso de saturação, durante o qual o rendimento máximo de fluorescência,  $F_m'$  é alcançado. O rendimento efetivo da conversão de energia fotoquímica de PSII sob iluminação é calculado como  $(F_m' - F) / F_m'$ .

**Figura 1.** Análises realizadas com o sensor de fluorescência de clorofila. A) sensor de PAM fluorescência de clorofila, (Imaging PAM, Heinz-Walz GmbH, Effeltrich, Germany), B) sensor em funcionamento, com ação da luz actínica e em C) registros realizados pelo software imaging PAM, com comportamento padrão.



## **ARTIGO 1 – PENETRAÇÃO CUTICULAR DE FERTILIZANTES FOLIARES: EVIDÊNCIAS PARA COPENETRAÇÃO DE ZN E MN COM ÍONS K**

Magano, D.A.<sup>1</sup>; Guedes, J.V.C.<sup>1</sup>; Paryar, S.<sup>2</sup>; Burkhardt, J.<sup>2</sup>; Hunsche, M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil; <sup>2</sup>

University of Bonn, Plant Nutrition Group, Bonn, Germany <sup>3</sup> University of Bonn,

Horticultural Sciences Group, Bonn, Germany

maganodeivid@gmail.com (autor correspondente)

**RESUMO:** A adubação foliar é uma maneira eficaz de garantir a nutrição adequada das culturas e, desta forma, contribui para a alta produtividade e qualidade da cultura. O objetivo deste estudo foi avaliar a penetração cuticular de íons potássio de diferentes sais K (KSCN, KIO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e seu impacto na copenetração de micronutrientes selecionados. Em um primeiro passo, a penetração cuticular de K dos quatro sais classificados de acordo com a série de Hofmeister foi estudada utilizando cutículas de tomate e cutícula de maçã. A penetração cuticular dos sais de potássio foi KSCN > KIO<sub>3</sub> > KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> > K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, seguindo a série aniônica de Hofmeister. Em uma etapa seguinte, usando KSCN, analisamos a penetração de Mn ou Zn derivados dos respectivos sulfatos de Mn e Zn. O KSCN aumentou a penetração do Mn em comparação ao tratamento controle. No caso do Zn, observamos efeitos antagônicos e uma ligeira diminuição na penetração. Estes resultados apontam para a potencial influência de íons na solução de tratamento influenciando de forma errônea ou sistemática a penetração dos principais íons fertilizantes.

**PALAVRAS CHAVE:** sais, série de Hofmeister, processos de contorno, sistemas modelos, penetração de nutrientes.

## **CUTICULAR PENETRATION OF FOLIAR FERTILIZERS: EVIDENCES FOR CO-PENETRATION OF ZN AND MN WITH K IONS**

**ABSTRACT:** The foliar fertilization is an effective way to ensure the proper nutrition of the crops and in this way, it contributes for high productivity and crop

quality. The aim of this study was to evaluate the cuticular penetration of potassium ions from different K salts (KSCN,  $\text{KIO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) and their impact on the co-penetration of selected micronutrients. In a first step, the cuticular penetration of K from the four salts classified according to the Hofmeister series was studied using tomato fruit and apple leaf cuticles. Cuticular penetration of potassium salts was  $\text{KSCN} > \text{KIO}_3 > \text{KH}_2\text{PO}_4 > \text{K}_2\text{SO}_4$ , thus following the anionic Hofmeister series. In a next step, using KSCN, we analyzed the penetration of Mn or Zn derived from the respective Mn and Zn sulfates. KSCN increased the penetration of Mn as compared to the control treatment. In case of Zn, however, we observed antagonistic effects and a slight decrease in penetration. These results point to the potential influence of ions in the treatment solution influencing in an erroneous or systematic way the penetration of the major fertilizer ions.

**KEYWORDS:** salts, Hofmeister series, boundary processes, model systems, nutrients uptake.

## 1. INTRODUÇÃO

A adubação foliar é uma ferramenta importante para o manejo sustentável e produtivo de culturas agrícolas e hortícolas, e é considerada ambientalmente amigável, imediata e direcionada aos objetivos do que a fertilização do solo (FERNADÉZ et al., 2013). O conhecimento sobre a capacidade das folhas das plantas para absorver água e nutrientes foi reconhecido há quase 300 anos (FERNANDÉZ e EICHERT, 2009). Além de muitos estudos sobre esse assunto, particularmente nas últimas décadas (BUKOVAC e PETRACEK, 1993; BAUR, GRAYSON e SCHÖNHERR, 1997; BAUR, 1999; KIRKWOOD, 1999; KNOCHE et al., 2000; KNOCHE e BUKOVAC, 2001; ELSHATSHAT, 2004; KRAEMER et al., 2009), o entendimento preciso sobre os fatores que influenciam a eficácia final dos compostos aplicados através de via foliar permanece incompleto.

A penetração de compostos através de membranas cuticulares é principalmente um processo de dissolução-difusão conduzido por gradientes de concentração (YAMADA et al., 1964; SCHÖNHERR, 2002; RIEDERER e FRIEDMANN, 2006; KRAEMER et al., 2009). Isso é influenciado pela área de contato entre gotículas depositadas e a superfície da planta, e pode ser parcialmente manipulado pelo ajuste da tensão superficial dos líquidos (HUNSCHE et al., 2010; FERNADÉZ et al., 2013). Em geral, a penetração de íons e moléculas através da cutícula hidrofóbica é determinada pelas características físico-químicas das cutículas, pelas propriedades das soluções, pelo ambiente e pela interação dinâmica de todos os fatores (SCHÖNHERR e LUBER, 2001; SCHÖNHERR, 2001; SCHÖNHERR, 2002; ELSHATSHAT, 2004; WANG e LIU, 2007). O tamanho das moléculas nesse processo é de particular relevância. Enquanto moléculas ou íons hidrofílicos permeiam menos, ou mais lentamente, a barreira hidrofóbica do que os compostos hidrofóbicos (POPP et al. 2005).

Há muito tempo, o impacto dos adjuvantes em relação às suas características físico-químicas no aumento da penetração cuticular de fertilizantes e agroquímicos foi avaliado. Além dos efeitos plastificante e umectante, os líquidos com menor tensão superficial tendem a se espalhar mais fortemente nas superfícies, reduzindo assim o tempo de secagem das gotículas e o potencial de penetração (KIRKWOOD, 1999; PENNER, 2000; FORSTER et al., 2004; ZABKIEWICZ, 2007).

A umidade dentro da camada limite da folha é aumentada pela transpiração e frequentemente excederá o ponto de deliquescência dos sais, levando a soluções altamente concentradas (BURKHARDT e HUNSCHE, 2013).

A físico química de tal solução altamente concentrada é afetada por aspectos específicos de íons, e, por exemplo, as mudanças de tensão superficial (PEGRAM e RECORD, 2007; DOS SANTOS et al. 2010; LO NOSTRO e NINHAM, 2012).

A magnitude da variação da tensão superficial geralmente segue a série de Hofmeister (ZHANG e CREMER, 2006), com ânions usualmente causando efeitos mais fortes que os cátions. Tem sido demonstrado que os sais principalmente caotrópicos (disjuntores estruturais) suportam a penetração de sais (BURKHARDT et al., 2012) e ingredientes ativos (BASI et al., 2013) através dos estômatos presentes nas folhas para o interior das plantas. No entanto, ainda não se sabe se a penetração cuticular dos íons pode ser associada à sua classificação na série Hofmeister, e se eles podem ter efeitos influenciadores na penetração cuticular de outros compostos (BAUR, 1999; ALEXANDER e HUNSCHE, 2016).

Nesse sentido, realizamos uma série de experimentos para analisar a penetração cuticular de íons através de cutículas isoladas. Nossa hipótese norteadora foi que os sais caotrópicos e cosmotrópicos classificados na série Hofmeister apresentam diferenças na capacidade de penetração cuticular. Além disso, assumimos que os sais com maior potencial de permeação cuticular suportariam a copenetração de outros íons contidos na solução de tratamento.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Penetração Cuticular**

Experimentos sobre a penetração de íons através de membranas cuticulares foram conduzidos em condições de laboratório. Frutos de tomateiro (*Solanum*



*lycopersicum* L. cv. Capricia) e folhas de macieira (*Malus domestica* Borkh. Cv Pinova) foram colhidos e selecionados de acordo com sua integridade física. Discos (18 mm de diâmetro) das folhas e frutos foram perfurados com um vazador de cortiça e colocados em solução enzimática para degradação das paredes celulares, conforme metodologias descritas por KRAEMER et al., (2009).

Após completa degradação das paredes celulares, as membranas cuticulares foram colocadas em um tampão de bórax (2,01 g.L<sup>-1</sup>, pH 9), e mantidas por três dias para remover os materiais residuais sorvidos às membranas lipofílicas. Subsequentemente, as membranas foram lavadas extensivamente em água deionizada e armazenadas em placas de Petri em condições de laboratório. Antes de executar os experimentos, as cutículas foram novamente verificadas visualmente quanto à homogeneidade e integridade física, empregando uma luz forte.

## **2.2 Compostos alvo para penetração**

A penetração cuticular dos fertilizantes foliares foi estudada empregando dois fertilizantes foliares: sulfato de manganês (MnSO<sub>4</sub>) e sulfato de zinco (ZnSO<sub>4</sub>). Dois sais cosmotrópicos Tiocianato de potássio (KSCN) e iodato de potássio (KIO<sub>3</sub>) e dois sais caotrópicos Fosfato monopotássico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) e Sulfato de potássio (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), classificados de acordo com a série Hofmeister foram selecionados como candidatos para os estudos de copenetração. As soluções de tratamento foram preparadas com água destilada; gotículas (1 µL) foram geradas com uma micro seringa dispensador Repetidor PB600-1

(Hamilton Bonaduz A.G, Suíça) e cuidadosamente colocadas nas superfícies alvo.

### **2.3 Ângulo de contato e tensão superficial**

O ângulo de contato (CA) e a tensão superficial (ST) foram determinados utilizando um Sistema de Análise de Forma de Gotas DSA 30E (Krüss GmbH, Hamburgo, Alemanha). Gotículas ( $v = 1 \mu\text{L}$ ;  $n = 5$ ) das soluções de tratamento foram gentilmente depositadas sobre as cutículas isoladas e o ângulo de contato foi determinado nos lados esquerdo e direito da vista transversal da gota; ambos os valores foram usados para calcular o valor médio. A tensão superficial foi determinada usando o método da gota pedante.

### **2.4 Caracterização micro morfológica de depósitos**

O padrão de depósito causado pelas soluções de tratamento nas cutículas foi analisado usando um microscópio eletrônico de varredura ambiental (XL 30 ESEM, FEI-Phillips Co., Kassel, Alemanha). Microfotografias representativas foram feitas em amostras frescas sem preparação prévia, mas empregando o modus ambiental.

### **2.5 Determinação da penetração**

Estudos sobre a penetração cuticular de K, Mn e Zn foram conduzidos usando um sistema de dose finita, como descritos por KRAEMER et al., (2009). Resumidamente, as cutículas isoladas foram colocadas no topo dos recipientes de aço inoxidável cheias com água deionizada. O lado abaxial de cada membrana cuticular estava sempre em contato próximo com a solução receptora. Um anel de metal fixou cada membrana cuticular. Em cada cutícula,

cinco micro gotas (1  $\mu$ L) foram delicadamente colocadas com uma micro seringa Dispensador Repetidor PB600-1 (Hamilton-Bonaduz A.G., Suíça). Os recipientes de penetração foram mantidos em câmara ambiental fechada por 48 h sob condições constantes (temperatura =  $20 \pm 1$  °C; umidade relativa > 80%).

Cada tratamento consistiu em 16 recipientes individuais com repetições; desse modo, oito recipientes de penetração foram preparados para a análise de potássio e as oito restantes para a análise dos outros dois elementos (potássio e zinco ou manganês). Após o tempo de penetração pré-definido, a solução receptora de cada amostra foi coletada, preenchida (2 ml) com água e analisada por espectroscopia de absorção atômica (AAS). A percentagem de penetração foi calculada comparando a concentração do respectivo elemento que se difundiu através das cutículas com a concentração dos respectivos elementos quando a solução foi aplicada diretamente nos recipientes ( $n = 8$ ) sem cutícula (simulando 100% de penetração).

## **2.6 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada com o software SPSS (SPSS Inc., Chicago, EUA, versão 23.0 para Windows). Após a verificação da distribuição normal, os dados foram analisados usando análise de variância (ANOVA). Em caso de significância estatística, as médias dos grupos de dois tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Os gráficos foram feitos com o SigmaPlot 10.0 (Systat Software Co., Erkrath, Alemanha).

## **3. RESULTADOS**

Em nossos experimentos, estudamos o impacto de quatro sais de potássio – KSCN, KIO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – as propriedades das soluções de

tratamento e na sua ação sobre a permeação cuticular dos íons K, Mn e Zn. Com base nos ânions presentes nos sais, eles foram classificados como caotrópicos (disjuntores estruturais) ou cosmotrópicos (estruturadores) seguindo o sistema de classificação de Hofmeister. Conseqüentemente, os sais KSCN e KIO<sub>3</sub> mostraram efeitos caotrópicos e os sais KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> exibiram uma natureza cosmotrópicas.

### 3.1 Tensão superficial e ângulo de contato

A tensão superficial (ST) dos líquidos e o ângulo de contato (CA) das gotículas sésseis foram levemente afetadas pelos sais (25 mM), como demonstrado na Tabela 1. A tensão superficial das soluções de tratamento foram relativamente menor que a água (ST = 72,28 mN m<sup>-1</sup>), exceto KSCN (ST = 72,35 mN m<sup>-1</sup>), sendo ligeiramente reduzido particularmente com a adição de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (71,57 mN m<sup>-1</sup>). O ângulo de contato das gotículas sésseis foi significativamente ( $P \leq 0,05$ ) menor (CA = 95 °– 96 °), exceto para KSCN (CA = 98 °), quando comparado com água pura (CA = 99 °).

### 3.2 Penetração Cuticular

No primeiro experimento, a penetração cuticular de K dos quatro sais (KSCN, KIO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) a 25 mM foi investigada em duas membranas naturais, cutículas de tomate e cutícula de maçã. Em termos gerais e independentemente dos sais de potássio, as cutículas de tomate (cerca de 4 µm de espessura) foram mais permeáveis que as cutículas de maçã (cerca de 1 µm de espessura) (Fig. 2), confirmando novamente que a espessura da cutícula não é principal fator limitante para a penetração cuticular. A maior penetração de potássio foi observada para KSCN (73% em membranas de tomate e 59% em

membranas de folhas de maçã) seguida por  $\text{KIO}_3$  (36% e 33%, respectivamente),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (25% e 18%, respectivamente) e  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (7% e 6%, respectivamente). Com base na maior penetração de KSCN, este composto caotrópico foi selecionado para os estudos sequenciais de copenetração de Mn e Zn.

Em um experimento sequencial, a penetração de potássio de KSCN (76%) aumentou para 87% na presença de  $\text{MnSO}_4$ , mas diminuiu para 67% quando misturado com  $\text{ZnSO}_4$ . Por outro lado, a penetração de Mn foi aumentada de 2,8% para 27% quando em combinação com KSCN (Fig. 3). A penetração de Zn diminuiu de 3,3% para 0,5% quando o KSCN estava na solução de tratamento.

Em uma experiência consecutiva utilizando uma concentração segura (não fitotóxica) de KSCN (10 mM), a penetração de K de KSCN foi maior (86%), enquanto  $\text{MnSO}_4$  e  $\text{ZnSO}_4$  diminuíram a penetração de K para 80%. A penetração do Mn do  $\text{MnSO}_4$  (4,8%) foi duplicada para 9,6% quando o KSCN estava presente na solução. A penetração de zinco sozinho com 10 mM foi de 4,9%.

### **3.3 Propriedades micro morfológicas dos resíduos de depósito**

Os resíduos de gotículas sésseis em cutículas de tomate foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura, e imagens representativas são mostradas na figura 5. Gotículas contendo KSCN espalham-se bem sobre as membranas cuticulares, restando alguns resíduos de sal como pequenas ilhas isoladas, principalmente próximas à fronteira da área de resíduos. A adição de  $\text{MnSO}_4$  ou  $\text{ZnSO}_4$  alterou o padrão de resíduos. Com  $\text{MnSO}_4$ , o resíduo foi encontrado como um padrão semelhante a uma crosta,

seja em uma grande área congruente ou espalhada em várias ilhas de tamanho intermediário. Com  $ZnSO_4$  na solução, os depósitos foram formados de forma semelhante como áreas isoladas. No entanto, com a amplificação da imagem no microscópio, pequenas agulhas de cristal feitas pelos sais foram claramente identificadas.

#### **4. DISCUSSÃO**

A eficiência de uso de fertilizantes foliares depende da penetração dos nutrientes aplicados na folha das culturas alvo (WÓJCIK, 2004). A penetração desses íons/nutrientes na folha é o pré-requisito para a integração dos minerais nos processos metabólicos e de crescimento das plantas. Como formas possíveis, os minerais podem atingir o interior das folhas através da via estomática (BURKHARDT et al., 2012) ou a penetração cuticular (FORSTER et al., 2006; KRAEMER et al., 2009; ALEXANDER e HUNSCHE, 2016).

A cutícula é uma camada cerosa e hidrofóbica que protege todas as superfícies das plantas do meio ambiente e estabelece a barreira mais importante para a absorção de fertilizantes foliares (FAGERIA et al., 2009). A penetração cuticular é um processo impulsionado pela difusão que é influenciado principalmente pelos gradientes de concentração através da cutícula, mas também pelo tempo de secagem das gotas aplicadas e desempenha um papel significativo, uma vez que nenhuma penetração ocorre a partir de depósitos secos (KRAEMER et al., 2009; FERNANDÉZ et al., 2013; ALEXANDER e HUNSCHE, 2016).

Além disso, as características intrínsecas das próprias cutículas, bem como as alterações na membrana após a aplicação de adjuvantes ou outros compostos, podem influenciar significativamente a permeação de compostos. O

objetivo do trabalho foi avaliar a penetração cuticular dos sais de potássio caotrópicos e cosmotrópicos e estudar os potenciais efeitos na penetração dos micronutrientes zinco e manganês.

Destaque pode ser dada a tensão superficial nesta discussão. A tensão superficial medida não mostra diferenças muito significativas, no entanto, esses valores foram medidos em baixa concentração. Quando as gotículas secam, elas atingem alta concentração e, somente com força iônica maior que 0,1 Molar, haverá efeitos significativos de Hofmeister. Em uma superfície de planta, existe a transpiração cuticular, e a umidade presente na superfície pode ser maior do que o ponto de deliquescência e pode impedir a secagem completa das gotículas por um tempo, e deste ponto de vista, a tensão superficial e os efeitos de Hofmeister podem desempenhar um papel para a penetração.

Em geral, diferentes íons podem ter permeação cuticular distinta, o que tem sido associado à teoria dos poros aquosos cuticulares (SCHÖNHERR, 2000). De acordo com esta teoria, poros ou canais através da cutícula hidrofóbica permitem a penetração de compostos hidrofílicos, limitando a penetração de íons específicos ou moléculas por causa de um fator limitante de tamanho (diâmetro dos poros). Em nosso estudo, observamos uma penetração significativamente maior de potássio quando a fonte era KSCN em comparação com os outros sais (Figuras 3 e 4). Nestas circunstâncias, a controversa teoria dos poros cuticulares não teria nenhum papel em explicar a penetração de potássio de diferentes sais, como foi observado.

Outro aspecto importante ao se estudar a penetração cuticular dos sais é a umidade relativa do ambiente (BAUR, 1999; SCHÖNHERR, 2000; SCHÖNHERR e LUBER, 2001; KRAEMER et al., 2009). Sais com um ponto de

deliquescência baixo (DP) podem permanecer por mais tempo e ter um tempo de penetração mais longo se uma baixa porcentagem de umidade relativa for um fator limitante. Em nosso estudo, no entanto, o DP dos sais à temperatura ambiente (20 °C) (KSCN = 47%; KIO<sub>3</sub> = 70%; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 86%; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 97%) foi significativamente menor para KSCN e KIO<sub>3</sub> do que a relativa umidade utilizada nas câmaras de penetração (80 ± 10%), de modo que o potencial efeito da umidade relativa em limitar a penetração pode ser excluído.

A maior penetração de potássio a partir do KSCN suportou também a penetração de Mn a partir do MnSO<sub>4</sub>. Como mostrado anteriormente, sais específicos podem afetar a permeabilidade de cutículas isoladas à água (ELSHATHAT et al., 2007). Em particular, o potássio aplicado como sulfato, nitrato ou cloreto não afetou a permeabilidade à água das cutículas de folhas de pereira, enquanto os sais de K<sup>+</sup> de ácidos fracos aumentaram a permeabilidade à água pelos fatores 5,4 (acetato de K<sup>+</sup>) 3,9 (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) e 2,0 (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), respectivamente (ELSHATHAT, et al., 2007). O mecanismo preciso por trás da maior penetração do Mn quando combinado com o KSCN ainda não é conhecido. No entanto, nossos resultados demonstram que, na prática, a mistura de diferentes fertilizantes e agroquímicos pode influenciar positivamente – ou negativamente – a absorção e a bioeficácia dos compostos.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As condições experimentais utilizadas neste estudo foram selecionadas para permitir alta penetração cuticular por todos os sais envolvidos. O uso do KSCN aumentou as taxas de penetração para o Mn. A solução (Mn + KSCN)



apresentou maiores taxas de penetração que podem possibilitar maior eficácia biológica sob condições reais de campo.

## **6. AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem Libeth Schwager e Britta Albinus por seu valioso apoio nas atividades do laboratório, Knut Wichterich por preparar as micrografias da ESEM e Antje Fiebig pelo apoio. Os autores reconhecem também a fundação CAPES brasileira por fornecer ao primeiro autor uma bolsa para sua estada na Universidade de Bonn (Processo PDSE 99999.010628 / 2014-02), e o professor Dr. Georg Noga por seu apoio e parceria.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alexander, A. and Hunsche, M. 2016. Influence of Formulation on the Cuticular Penetration and on Spray Deposit Properties of Manganese and Zinc Foliar Fertilizers. **Agronomy**, 6(3):1-10. Available at: <http://www.mdpi.com/2073-4395/6/3/39>. Accessed: June, 02, 2017.

Basi, S.; Noga, G. and Hunsche, M. 2013. Relevance of the deposit structure for the uptake and bio-efficacy of diquat, as monitored by the spatially resolved chlorophyll fluorescence. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 107(2):218–225.

Baur, P.; Grayson, B.T. and Schönherr, J. 1997. Polydisperse Ethoxylated Fatty Alcohol Surfactants as Accelerators of Cuticular Penetration . 1 . **Effects of Ethox y Chain Length and the Size of the Penetrants**, 51:131–152.

Baur, P. 1999. Surfactant Effects on Cuticular Penetration of Neutral Polar Compounds: Dependence on Humidity and Temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47(2):753–761.

Bukovac, M. J. and Petracek, P. D. 1993. Characterizing pesticide and surfactant penetration with isolated plant cuticles. **Pesticide Science**, 37:179-194.

Burkhardt J.; Basi S.; Pariyar S.; Hunsche M. 2012. Stomatal penetration by aqueous solutions - an update involving leaf surface particles. **New Phytologist**, 196(3):774–787.

Burkhardt, J. and Hunsche, M. 2013. Breath figures on leaf surfaces - formation

and effects of microscopic leaf wetness. **Frontiers in Plant Science**. 4 (422):1-9

Elshatshat, S. Effects of inorganic salts on water permability of isolated cuticular membranes. 2004. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat) der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, p. 58. Available at: <http://hss.ulb.uni-bonn.de/2004/0496/0496.pdf> Accessed: June, 02,2017.

Elshatshat, S.; Schreiber, L. and Schönherr, J. 2007. Some cesium and potassium salts increase the water permeability of stomatous isolated plant cuticles. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**. 170 (1): 59-64.

Fageria, N.K., Barbosa-Filho, M.P.; Moreira, A.; Guimarães, C.M. 2009. Foliar fertilization of crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, 32(6):1044–1064.

Fernadéz, V. and Eichert, T. 2009. Uptake of hydrophilic solutes through plant leaves: current state of knowledge and perspectives of foliar fertilization. **Critical reviews in Plant science**, 28:36-68.

Fernadéz, V.; Sotiropoulos, T.; Brown, P. 2013. **Foliar Fertilization: Scientific Principles and Field Practices** 1 ed. P. Fernadéz, V.; Sotiropoulos, T.; Brown, ed., Paris, France.: International Fertilizer Industry Association.

Forster, W. A.; Zabkiewicz, J.A.; Riederer, M. 2006. Mechanisms of cuticular uptake of xenobiotics into living plants: Evaluation of a logistic-kinetic penetration model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54:

3025-3032.

Hunsche, M.; Bürling, K.; Saied, A.S.; Schmitz-Eiberger, M.; Sohail, M.; Gebauer, J.; Noga, G. and 2010. Effects of NaCl on surface properties, chlorophyll fluorescence and light remission, and cellular compounds of *Grewia tenax* (Forssk.) Fiori and *Tamarindus indica* L. leaves. **Plant Growth Regulation**, 61(3): 253–263.

Kirkwood, R.C. 1999. Recent developments in our understanding of the plant cuticle as a barrier to the foliar uptake of pesticides. **Pesticide Science**, 55(1): 69–77.

Knoche, M., Petracek, P. D., and Bukovac, M. J. 2000. Finite dose diffusion studies: I. Characterizing cuticular penetration in a model system using NAA and isolated tomato fruit cuticles. **Pest Management Science**, 56:1005-1015.

Knoche, M., Petracek, P. D., and Bukovac, M. J. 2001. Finite dose diffusion studies: III. Effects of temperature, humidity and deposit manipulation on NAA penetration through isolated tomato fruit cuticles. **Pest Management Science**. 57:737-742.

Kraemer, T., Hunsche, M. and Noga, G. 2009. Cuticular calcium penetration is directly related to the area covered by calcium within droplet spread area. **Scientia Horticulturae**, 120(2): 201–206.

Lo Nostro, P. and Ninham, B.W. (2012) Hofmeister Phenomena: An Update on Ion Specificity in Biology. **Chemical Reviews**, 112(4):2286-2322.

- Pegram, L.M. and Record, M.T. (2007) Hofmeister salt effects on surface tension arise from partitioning of anions and cations between bulk water and the air-water interface. **Journal of Physical Chemistry B**, 111(19): 5411-5417.
- Penner, D., 2000. Activator Adjuvants. **Weed Science**, 14(4), pp.785–791.
- Popp, C.; Burghardt, M.; Friedmann A.; Riederer, M. 2005. Characterization of hydrophilic and lipophilic pathways of *Hedera helix* L. cuticular membranes: Permeation of water and uncharged organic compounds. **Journal of Experimental Botany**, 56(421):2797–2806. Available at: doi:10.1093/jxb/eri272 Accessed: June, 02, 2017.
- Pottosin, I. and Dobrovinskaya, O. 2014. Non-selective cation channels in plasma and vacuolar membranes and their contribution to K<sup>+</sup> transport. **Journal of Plant Physiology**, 171(9):732–742.
- Riederer, M. and Friedmann, A. 2006. **Biology of the Plant cuticle** C. Riederer, M. and Müller, ed., Blackwell Publishing.
- Santos, A.P. dos; Diehl, A. and Levin, Y. 2010. Surface Tensions, Surface Potentials, and the Hofmeister Series of Electrolyte Solutions. **Langmuir**, 26(13):10778–10783. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la100604k>. Accessed: June, 02,2017.
- Schönherr, J. and Luber, M. 2001. Cuticular penetration of Potassium salts; Effects of humidity, anions and temperature. **Plant and soil**, 236:117-122.
- Schönherr, J. 2001. Cuticular penetration of calcium salts; effects of humidity, anions and adjuvants. **Journal of Plant Nutrition Soil Science**, 164:225-

231.

Schönherr, J. 2002. A mecanistic analisys of penetration of glyphosate salts across austomatous cuticular membranes. **Pest Management Science**, 58:343-351.

Wójcik, P., 2004. Uptake of Mineral Nutrients From Foliar Fertilization. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, 12:201–218.

Yamada, Y.; Wittwer S.H. and Bukovac, M.J. 1964. Ion Binding by Surfaces of Isolated Cuticular Membranes. **Plant physiology**, 39:29–32. Available at; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC550204/pdf/plntphys00415-0110.pdf> Accessed: June, 02,2017.

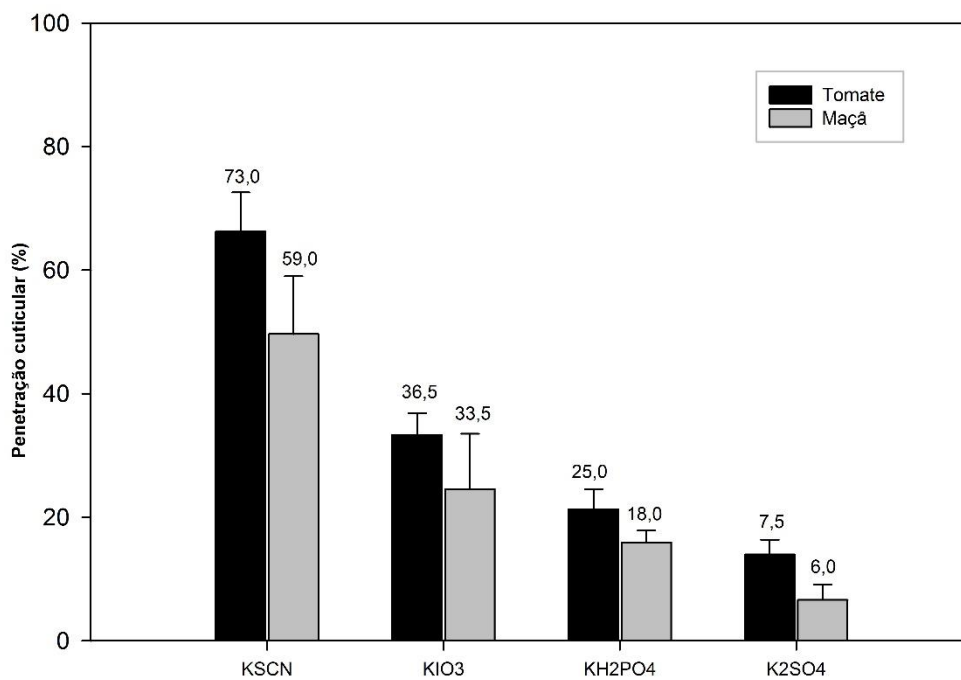
Wang, C. J. and Liu, Z.Q. 2007. Foliar uptake of pesticides - present status and future challenge. **Pesticide Biochemistry Physiology**, 87:1-8.

Zabkiewicz, J. A. 2007. Spray formulation efficacy – holistic and futuristic perspectives. **Crop Protection**, 26 (3):312-319.

Zhang, Y. and Cremer, P.S. 2006. Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. **Current Opinion in Chemical Biology**, 10(6), pp.658–663.

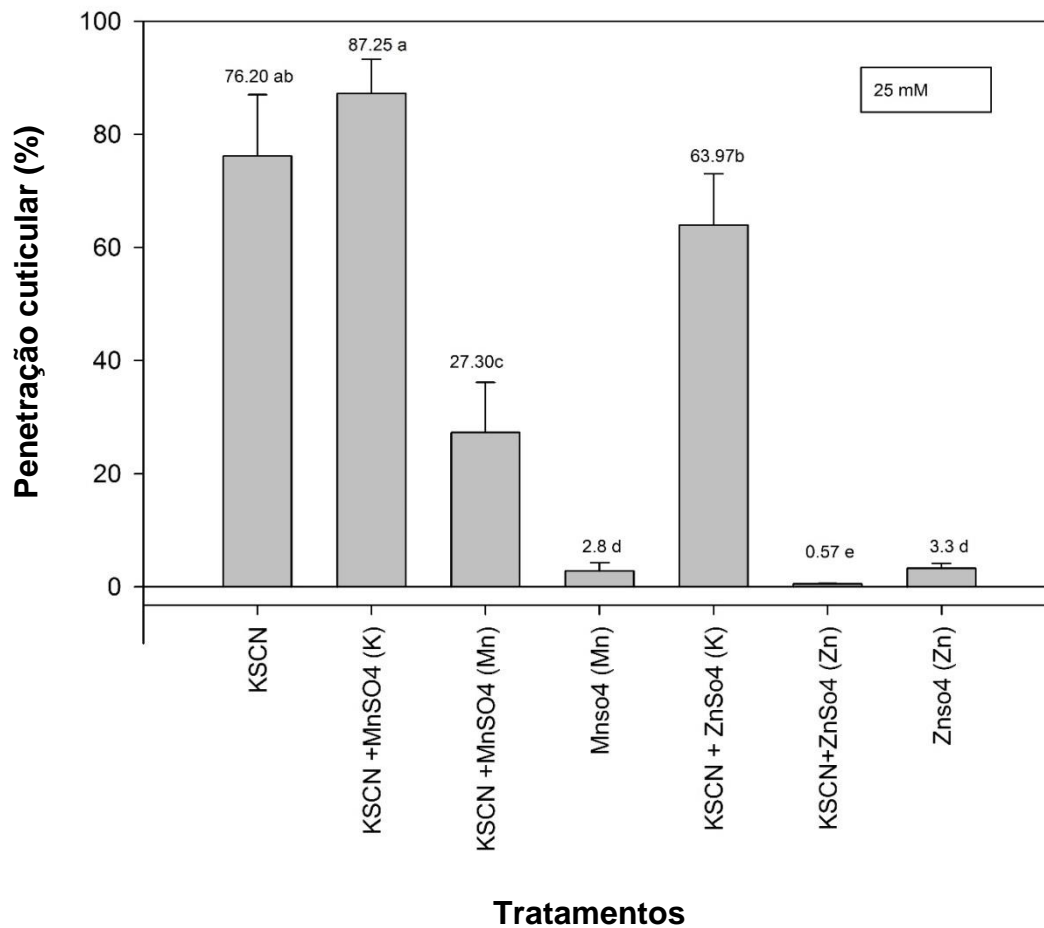
**Tabela 1.** Tensão superficial e ângulo de contato das gotículas sésseis influenciadas pelos sais de potássio (25 mM). Valores: média, n = 10 para tensão superficial; n = 20 para o ângulo de contato). Significância estatística ( $p \leq 0,05$ ), teste de Tukey e indicado por diferentes letras.

<b>Soluções</b>	<b>Tensão superficial ( mN m<sup>-1</sup>)</b>	<b>Soluções</b>	<b>Ângulo de contato (°)</b>
<b>KSCN</b>	72.35 a	<b>H<sub>2</sub>O</b>	99.66 a
<b>H<sub>2</sub>O</b>	72.28 b	<b>KSCN</b>	98.60 a
<b>KIO<sub>3</sub></b>	71.89 bc	<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	96.73 b
<b>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	71.83 bc	<b>KIO<sub>3</sub></b>	95,83 b
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	71.57 c	<b>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	95.81 b
<b>C.V. (%)</b>	0.68	<b>C.V. (%)</b>	1.12

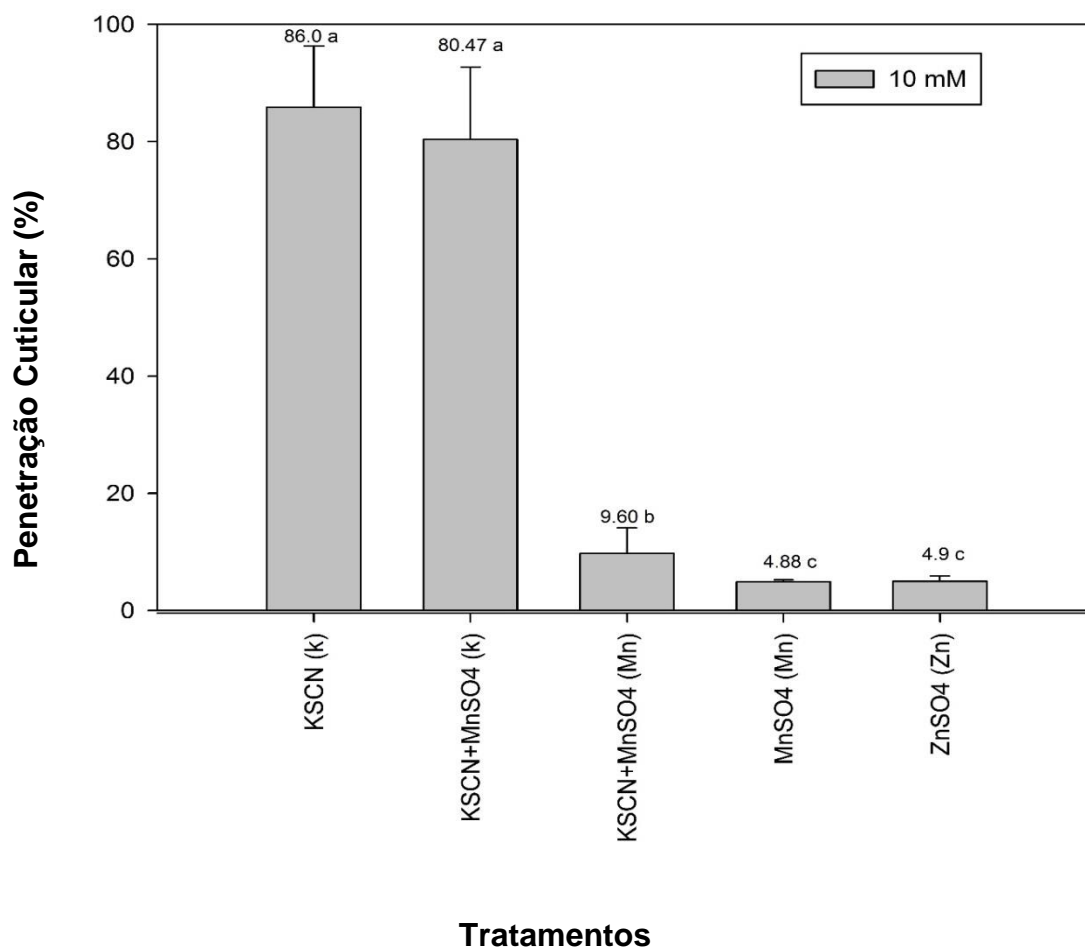


**Figura 1.** Penetração de íons potássio de diferentes sais (25 mM) através de cutículas isoladas de frutos de tomateiro e folhas de macieira. Barras: Médias + SE (n = 8) com valores médios mostrados. Significância estatística em ( $p \leq 0,05$ ) e denotada por letras minúsculas (cutículas de frutos de tomateiro) e letras maiúsculas (cutículas de folhas de maçã) entre os tratamentos de sal, respectivamente. A penetração entre cutícula de tomate e cutícula de maçã em cada tratamento com sal não diferiu estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

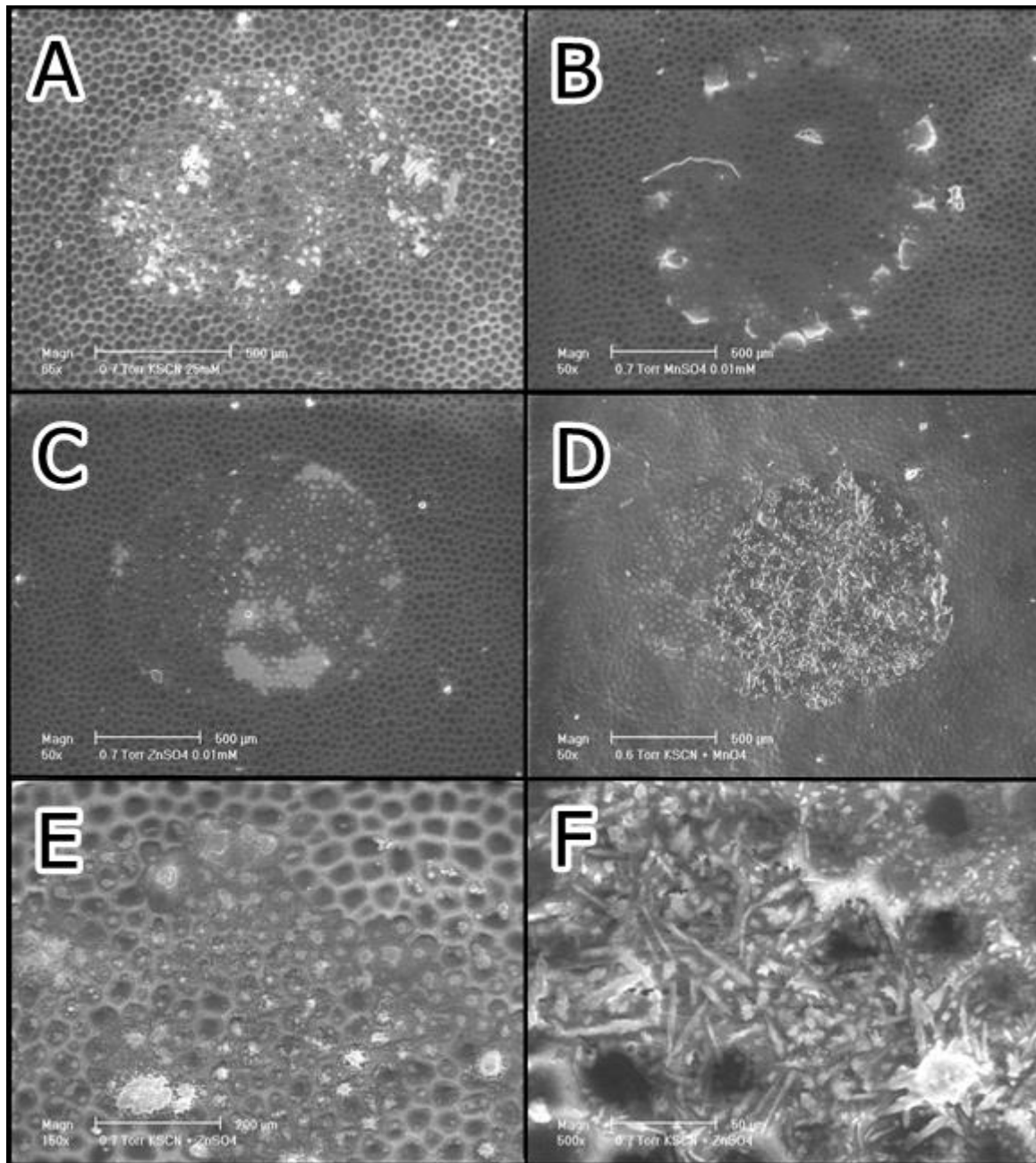




**Figura 2.** Penetração de potássio (de KSCN, 25 mM), zinco (de ZnSO<sub>4</sub>) e manganês (de MnSO<sub>4</sub>) através de cutículas isoladas de frutos de tomateiro. Barras: Meios + SE (n = 8), C.V. 63,79%, teste de Tukey (p ≤ 0,05).



**Figura 3.** Penetração de potássio (de KSCN, 10 mM), zinco (de ZnSO<sub>4</sub>) e manganês (de MnSO<sub>4</sub>) através de cutículas de frutos de tomate isolados enzimaticamente. Média ± SE (n = 8), C.V. 68,52%, teste de Tukey (p ≤ 0,05).



**Figura 4.** Micrografias através de Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) mostrando o padrão de deposição de resíduos de gotículas em cutículas isoladas de frutos de tomate: KSCN (A), MNSO4 (B), ZnSO4 (C), KSCN + MnSO4 (D), KSCN + ZNSO4 (E, F). Tamanho da gota = 1 μl.

## ARTIGO 2 – INFLUÊNCIA DE SAIS DE POTÁSSIO NO INCREMENTO DA ATIVIDADE DE DOIS HERBICIDAS

\*Magano, D. A<sup>1.</sup>; Guedes, J.V.C.<sup>2.</sup>; Pariyar, S<sup>3.</sup>; Burkhardt, J.<sup>3.</sup>; Hunsche, M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Phd. Student, PPG Agriculture Engineering, UFSM, Santa Maria, RS, Brazil  
maganodeivid@gmail.com

<sup>2</sup> Prof. Dr. Department of Crop protection, UFSM, Santa Maria, RS, Brazil  
jerson.guedes@gmail.com

<sup>3</sup> PD. Dr. Institute of Crop Science and Resource Conservation, Bonn, NW, Germany  
spariyar@uni-bonn.de, j.burkhardt@uni-bonn.de, MHunsche@uni-bonn.de,

**RESUMO:** Aprimorar o processo de controle de pragas e reduzir perdas na atividade agrícola é fundamental. O objetivo desta pesquisa foi buscar uma forma alternativa de aumentar a atividade de dois herbicidas utilizando sais de potássio. Foram realizados ensaios para analisar a eficiência de sais em promover um incremento na atividade de dois herbicidas selecionados (paraquat e bromoxynil). Primeiramente, verificamos os efeitos dos sais de potássio caotrópicos e cosmotrópicos e sua capacidade de causar danos no tecido foliar. Posteriormente, foram analisados os danos fisiológicos decorrentes de sais utilizando técnicas de Fluorescência PAM para avaliar a atividade do herbicida e seus respectivos efeitos nos tecidos foliares. A maior atividade herbicida foi obtida quando o sal de potássio foi aplicado 48 horas antes da aplicação dos herbicidas, promovendo um aumento de duas vezes na eficiência tanto para paraquat e bromoxynil.

**PALAVRAS CHAVE:** Paraquat, bromoxynil, dano, fluorescência de PAM, múltiplas gotas.

### INFLUENCE OF K SALTS ON ENHANCED HERBICIDE ACTIVITY.

**ABSTRACT:** Maximizing the process of pest control and reducing loss in the agriculture process is fundamental. The aim of this research was to achieve a different way to increase the herbicide activity, using potassium salts. Experiments were conducted to analyze the efficiency of salts to enhance the activity of two selected herbicides (paraquat and bromoxynil). Firstly, we checked the effects of chaotropic and kosmotropic potassium salts and their capability to cause damage in

the foliar tissue, and made a dosage adequate to avoid these undesirable effects. Later on, we analyzed the physiological impairments due to salts using PAM-Fluorescence techniques to evaluate the herbicide activity and respective damage on the foliar tissues. The highest herbicide activity was obtained when potassium salt was applied 48 hours before the herbicides application, promoting an increase of two times more efficacy, for paraquat and bromoxynil.

**KEYWORDS:** Paraquat, Bromoxynil, damage, PAM-fluorescence, multidroplets.

## 1. INTRODUÇÃO

A agropecuária brasileira desempenha um papel importante na produção de alimentos, fibras e produtos industriais, com crescente impulso para a economia, sendo o país um dos maiores exportadores de grãos e recursos vegetais do mundo (MAPA, 2017). Neste cenário, a proteção de cultivos é uma das áreas prioritárias, visto que a melhoria da eficácia dos agrotóxicos é uma das estratégias para superar as perdas causadas por plantas daninhas, insetos e patógenos, que na ausência de tratamento, acabam reduzindo o lucro e por consequência, a sustentabilidade dos produtores (PEDIGO E RICE, 1989).

Historicamente, o manejo de pragas tem sido realizado com um número limitado de mecanismos de ação (GHANIM E YSHAAYA, 2010). Problemas com resistência, no entanto, são cada vez mais comuns devido à aplicação repetitiva desses mesmos mecanismos, tornando o controle dessas pragas complexo, exigindo novas estratégias para maximizar a eficiência dos compostos existentes, melhorando assim o manejo químico de pragas.

Uma alternativa para melhorar a eficácia de agroquímicos aplicados por contato ou aplicação sistêmica foliar é acessar a capacidade desses compostos em penetrar na cutícula da folha (BASI et al., 2013). Usualmente, esses

compostos auxiliados por adjuvantes misturados em tanques, incrementam a quantidade de pesticidas depositados em superfícies foliares hidrofóbicas (STEVENS, 1993; KIRKWOOD, 1999; BAUR, 1999; FORSTER e KIMBERLEY, 2015; MELO et al. 2015). O processo de penetração é governado basicamente por duas vias: uma cuticular (SCHREIBER et al., 2005) ou via estomática (EICHERT et al. 2008; BURKHARDT, 2010, BURKHARDT et al. 2012). Além disso, uma nova abordagem, proposta por BURKHARDT (2010), denominada ativação hidráulica de estômatos (HAS) afirma poder aumentar a absorção de íons. Segundo HAS, é possível que os sais higroscópicos permitam a absorção estomática de compostos, mesmo que a tensão superficial esteja bem acima de  $30\text{mN m}^{-1}$  (BURKHARDT et al., 2012).

Com base nesses mecanismos, explorar o uso de soluções salinas, surge como uma maneira de maximizar a eficácia de compostos que já existem no mercado, a fim de promover um incremento no controle desses diferentes alvos biológicos (BURKHARDT et al. 2012; BASI et al. 2013). A outra forma é intervir sobre mecanismos que possam alterar o "status quo" dos tecidos foliares, modificando características como rugosidade, adesão e outros parâmetros (BURKHARDT E HUNSCHE, 2013; KAUTZ et al. 2015).

Nesse sentido, realizamos uma série de experimentos para analisar a eficiência de sais em diferentes tratamentos. Com base nos sais caotrópicos e cosmotrópicos classificados na série de Hofmeister (LO NOSTRO E NIHAM, 2012), levantamos a hipótese de que os sais de potássio caotrópicos intensificariam a atividade do herbicida quando misturados. Assumimos que os sais com maior potencial de permeação cuticular suportariam a copenetração de outros íons contidos na solução de tratamento. Esta pesquisa visa alcançar uma

forma diferente de aumentar a atividade do herbicida, usando para isso sais de potássio.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Ensaio**

No primeiro experimento, analisamos o possível papel dos sais caotrópicos e cosmotrópicos aplicados em solução, diretamente sobre os tecidos vegetais e verificamos possíveis efeitos sob plantas modelo (feijão e plântula de maçã). Fizemos uma triagem com seis concentrações (25, 20, 15, 10, 5, 1 mM e água) de cinco sais diferentes (KSCN, KI, KIO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Nós aplicamos essas soluções em mudas de feijão e maçã e monitoramos os efeitos visuais dos danos nessas folhas. Ao mesmo tempo, analisamos a resposta fisiológica com microscopia de fluorescência de amplitude de pulso (PAM), detectando as alterações nos tecidos tratados. No segundo ensaio, verificamos o padrão de deposição desses sais. No terceiro ensaio, verificamos os efeitos do KSCN na mistura da solução com dois herbicidas diferentes (bromoxynil e paraquat), utilizando diferentes arranjos com gotículas simples (SD) e múltiplas gotículas (MD), alterando o tempo de aplicação e analisando os diferentes efeitos visuais.

### **2.2 Condições experimentais: cultivo de plantas**

Os ensaios foram realizados sob condições ambientais semi controladas em uma casa de vegetação (50° 43'46.9 "N 7° 04'21.6" E, Bonn, Alemanha), com uma temperatura média de 25 °C e uma umidade relativa entre 60 - 80%. Os experimentos foram realizados com plântulas de maçã (*Malus domestica* Borkh.) Sementes originárias das cultivares Golden Delicious e de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Negra, Kieperkerl, Volmary GmbH, Muenster,

Alemanha. As plantas foram cultivadas em vasos preenchidos com substrato (solo: turfa: perlita) e fertilizados e irrigados de acordo com suas necessidades.

### **2.3 Experimento 1: triagem de julgamento**

As soluções de tratamento foram aplicadas com uma micro seringa Hamilton com micro gotículas simples (1  $\mu\text{l}$ ) nas superfícies das folhas. A ocorrência de sintomas fitotóxicos foi avaliada visualmente em dez plantas individuais (maçãs e feijão) por tratamento às 5, 24, 48, 72 e 96 horas após a aplicação.

### **2.4 Caracterização de sais em contato com tecidos vegetais**

O padrão de depósito para cada gotícula de sais foi analisado utilizando um microscópio eletrônico de varredura ambiental (XL 30 ESEM, FEI-Phillips Co., Kassel, Alemanha).

### **2.5 Experimento 2: Deficiências fisiológicas devidas a sais**

A identificação precisa e registro dos tecidos afetados foi feita com fluorescência de clorofila (Imaging PAM, Heinz-Walz GmbH, Effeltrich, Alemanha). As gravações foram realizadas em laboratório, no lado adaxial de folhas adaptadas ao escuro (30 min). Primeiro, a fluorescência de base ( $F_o$ ) foi registrada após a iluminação das folhas com diodos emissores de luz azul ( $0,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). A fluorescência máxima da clorofila ( $F_m$ ) foi medida após um pulso de saturação de  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A variável fluorescência da clorofila ( $F_v$ ) foi calculada como  $F_m - F_o$  e a eficiência fotoquímica máxima como  $F_v / F_m$ . Os pulsos de saturação foram aplicados no intervalo de 20 s dentro de um período de tempo de 320 s para determinar as curvas cinéticas. As microfotografias de



fluorescência foram avaliadas com o software ImagingWin v2.40b (Heinz-Walz GmbH, Effeltrich, Alemanha).

## **2.6 Ilustração de danos**

Os registros das folhas tratadas foram feitos usando uma câmera digital Nikon a uma profundidade constante, com um fundo escalonado. As imagens foram transformadas com o software Gimp 2.8 e processadas no Image J 4.1 (Abramoff et al. 2004) para calcular a área afetada/danificada.

## **2.7 Avaliação de dados e estatísticas**

Os dados quantitativos foram analisados com o software SPSS (IBM SPSS, V22, Ehningen, Alemanha). Os gráficos foram elaborados no software SigmaPlot (Systat, Erkrath, Alemanha).

## **3. RESULTADOS**

As soluções de triagem foram acessadas com base nos danos observados nos tecidos foliares. Para  $KIO_3$  e KI, todas as concentrações aplicadas foram muito agressivas para as mudas de feijão, causando necrose. Em baixa concentração (1mM), os efeitos destes sais foram medidos usando a técnica de PAM, e revelou com 5 horas após as aplicações, mudanças no comportamento natural no parâmetro fluorescência da clorofila. KSCN com 25mM e 20mM apresentaram menores efeitos nos tecidos foliares, mas quando analisados pelo PAM, após 48 horas apareceram alterações mais fortes nos sinais de fluorescência para o feijão e observamos os efeitos visuais de necrose no tecido foliar somente após 72 horas. Com 15 mM, não verificamos os efeitos fitotóxicos foliares para o feijão. Os efeitos nas plântulas de maçã aparecem

claramente em 15 dias após a aplicação, mas seus danos foram detectados pela técnica PAM em 48 horas. Assim, KSCN com concentração de 1, 5 e 10 mM foram selecionados neste estudo, pois não apresentaram nenhum dano ao tecido foliar.

O  $\text{KH}_2\text{SO}_4$  e o  $\text{K}_2\text{SO}_4$  não mostraram nenhum efeito ou influência para a copenetração. As micrografias ESEM mostram que estes compostos foram inertes e não houve diferenças após a deposição nas folhas (figura 1 K e L). Com base nos ânions presentes nos sais, eles foram classificados como caotrópicos (disjuntores estruturais) ou cosmotrópicos (estruturadores) seguindo o sistema de classificação de Hofmeister. Conseqüentemente, os sais KSCN, KI e  $\text{KIO}_3$  tinham um efeito caotrópico e os sais  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{K}_2\text{SO}_4$  eram de natureza cosmotrópica.

Os resíduos de gotículas individuais em mudas de feijão foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura e imagens representativas são mostradas na figura 1. As gotículas contendo KI mostraram uma enorme estrutura de cubo cristalizado, descrevendo os maiores valores de deliquescência/eflorescência (Figura 1. A, D e L).  $\text{KIO}_3$  na solução, depósitos formados semelhantes a áreas de gotículas individuais. Entretanto, em ampliações maiores, pequenas agulhas de cristal feitas pelos sais poderiam ser claramente identificadas, cobrindo totalmente o tecido vegetal (Figura 1. B, F, G e K). O KSCN se espalhou bem sobre as membranas cuticulares, restando alguns resíduos do sal como pequenas ilhas isoladas, principalmente próximo ao limite da área de resíduos (Figura 1. C, E e K). Quando fizemos uma diluição de 10mM, aplicando-se em cutículas de tomate, verificamos os mesmos efeitos

na cristalização, tornando óbvia a característica de propagação desse sal (Figura 1. I).

O  $K_2SO_4$  mostrou uma estrutura massiva, condensando todas as partículas de sal, não interagindo com o tecido foliar (Figura 1. H). Comportamento semelhante foi fundamentado para o  $KH_2SO_4$ , cristalizando uma grande estrutura sem qualquer interação com a superfície do tecido, porém sem propagação. Fatores como espalhamento, rugosidade e capacidade de expansão através do tecido vegetal são muito importantes, pois permitem aumentar a área de contato específica garantindo um melhor umedecimento, incluindo diferentes ciclos de deliquescência/eflorescência, facilitando a captação de cristais ou soluções em contato com estômatos processos regulatórios.

As respostas dos tecidos foliares às soluções de tratamento sob luz (cinética do fotossistema) indicam alterações significativas de parâmetros chave já poucas horas após a aplicação do tratamento, tanto para sais como para misturas de herbicidas. Diretamente no local de aplicação, foi possível identificar áreas de interesse (AOI) sem necessidade dos sintomas fitotóxicos visíveis, que se restringiram ao local de deposição das micro gotículas sésseis.

A eficácia das soluções de sais foi quantificada nas figuras 5 e 6, alterando os parâmetros de rendimento quântico efetivo (PSII). A técnica de PAM foi muito eficiente para quantificar os danos, sem necessidade de visualização de sintomas visuais, e baixos valores para todos os tratamentos contendo sais de K, reduzindo os valores de fluorescência da clorofila. Ambos os herbicidas

necessitam de energia para alimentar seu PSI ou PSII e com os tecidos danificados não é possível adquirir índices normais.

Na primeira abordagem, utilizamos um esquema aplicando sais nas folhas com 10 micro gotículas (SD; 1  $\mu$ L) e após 48 horas aplicamos bromoxynil (1 gota, 1  $\mu$ L) exatamente no local onde o sal foi depositado. O dano (%) foi medido usando o software de processamento de imagens digitais Image J, um programa de processamento de imagens de código aberto projetado para imagens multidimensionais científicas (Abramoff et al., 2004). O tratamento isolado com bromoxynil causou isoladamente um dano de cerca de 6% na área total (Figura 1). Quando aplicado com sais em diferentes concentrações, um aumento na eficácia foi verificado, chegando a quase 2 vezes na aplicação a 10 mM, nos danos ao tecido foliar.

O uso de múltiplas gotículas (MD, 1 mM, cerca de 25 gotas em toda a AOI), este parâmetro assume outra configuração. O bromoxynil aplicado isoladamente promoveu uma 7% de danos a superfície foliar. Surpreendentemente, quando aplicadas outras concentrações, o dano aumentou rapidamente para os maiores gradientes de concentração que atingiram 18% na concentração máxima aplicada (10 mM).

Como a diferença não foi tão pronunciada, resolvemos aplicar para o próximo arranjo, apenas MD pela semelhança com as situações reais de aplicação ao campo. Além disso, a aplicação da MD, o paraquat isoladamente causou 35% de dano, sendo muito agressivo, sendo possível verificar sintomas visuais em até 3 horas após a aplicação no feijão. Não encontramos diferenças entre 1 e 5 mM na porcentagem de dano, ambos em torno de 55%, que podem

corresponder quase a 1,6 vezes mais que o paraquat sozinho. Quando verificamos o paraquat aplicado sobre KSCN 10 mM, os valores aumentaram para cerca de 75%, um aumento real de 2,1 vezes, aumentando a eficácia deste produto.

Outro arranjo, buscando aproximar da realidade de uma mistura em tanque, foram utilizadas soluções em mistura (paraquat e bromoxynil) adicionados diretamente na solução de KSCN. No entanto, eles mostraram incompatibilidade. A microfotografia revela a modificação no padrão dos cristais. O paraquat e o KSCN juntos na mesma solução reduziram os danos a 8%, uma interferência muito grande sobre a capacidade desse herbicida promover danos ao tecido foliar. Com o bromoxynil, os efeitos foram ainda mais drásticos, promovendo redução total do potencial de causar dano, tornando-se totalmente sem efeito. Podemos observar o comportamento antagonista do bromoxynil na Figura 5. Independentemente da dosagem ou produto comercial ou ingrediente ativo puro, os resultados foram os mesmos para ambos os experimentos.

#### **4. DISCUSSÃO**

BUKHARDT (2010) postulou que existiria uma via estomática de troca de soluto estomático denominada ativação Hidráulica de estômatos (HAS), um processo que permite o movimento bidirecional de líquidos ao longo da parede interna das células-guarda, que suportaria a captação de agroquímicos (BUKHARDT et al; 2012; BASI et al., 2013; BASI et al, 2014). Além disso, demonstramos que os íons, dependendo de seu comportamento caotrópico ou cosmotrópico, como classificado de acordo com a série de Hofmeister, podem apoiar os caminhos de formação de estruturas a partir do exterior para o lado interno dos estômatos (BUKHARDT et al; 2012).

A HAS descreve o estabelecimento de uma conexão hidráulica entre o exterior e o interior da cavidade estomática ao longo das paredes estomatais. Normalmente, os sais podem se deslocar sobre a superfície da folha hidrofóbica em direção às aquelas regiões com maior umidade relativa, os estômatos. Quando um caminho é formado, permite o movimento bidirecional de compostos dissolvidos, e dessa forma partículas microscópicas e moléculas da superfície podem acessar o interior dos estômatos. A formação dos caminhos contra a gravidade também pode ser favorecida pela tensão superficial comparativamente baixa das soluções de sal supersaturado, como é o caso quando gotículas de solução de concentração "normal" perdem água para o ambiente circundante.

Em nossos resultados, é possível verificar o rastro deixado pelo KSCN e sua capacidade de se espalhar facilmente, ao longo do tecido vegetal. Essa é uma característica importante, pois fatores como espalhamento, rugosidade e capacidade de expansão através do tecido vegetal são muito importantes, pois o aumento da área de contato específica, garantindo um melhor molhamento. PURI et al., (2008), explica que a eficácia dos herbicidas é aumentada quando a solução pulverizada é uniformemente espalhada sobre as folhas. No entanto, de acordo com GASKEN e STEVENS (1993) apenas a cobertura uniforme não garante maior fitotoxicidade. Quando aplicamos KSCN em MD, alteramos este potencial incluindo diferentes ciclos de deliquescência/eflorescência, uma propriedade importante desse sal (K), que pode facilitar a captação de cristais ou soluções em contato com estômatos, inferindo em processos regulatórios. BUKHARDT et al., (2012) exploram a questão dos diferentes ciclos de

deliquescência/eflorescência e sua importância para permitir a entrada dos estômatos.

A tensão superficial medida não mostra diferenças significativas, mas isso foi medido em baixa concentração. Quando as gotículas secam, elas atingem alta concentração e, somente com força iônica maior que 0,1 Molar, haverá efeitos significativos de Hofmeister. Em uma superfície de planta, há transpiração cuticular, a umidade na superfície pode ser maior do que o ponto de deliquescência e pode impedir a secagem completa das gotículas por um tempo, e deste ponto de vista, a tensão superficial e os efeitos de Hofmeister podem desempenhar um papel. papel para a penetração.

Nossas tentativas foram focadas em acessar os estômatos de forma eficiente. Por essa razão, tentamos trabalhar com dois modelos diferentes de plantas, maçãs e mudas de feijoeiro devido à presença/ausência de estômatos na região abaxial das folhas. No entanto, a constituição com uma excessiva camada de cera nas folhas das maçãs muito mais expressiva, devido à presença dessas estruturas na superfície vegetal. Hunsche et al. (2006), fizeram uma caracterização dessas diferentes superfícies, na superfície foliar adaxial de plântulas de maçã contendo  $412 \text{ ng.cm}^{-2}$  de ceras distribuídas em ácidos (8,4%), álcoois primários (41,5%), alcanos (14,1%), triterpenos (25,0%) e ésteres (10,9%). Para a plântula de feijão, foram depositadas  $926 \text{ ng.cm}^{-2}$  de ceras na superfície adaxial e consistiram de álcoois primários (85,4%), alcanos (12,7%), triterpenos (0,004%) e ésteres (1,4%). Essa composição diferente de ceras pode ser responsável por produzir o efeito desses resultados.

A análise e o comportamento de diferentes tipos de soluções foram fundamentais para explicar muitas respostas em nosso trabalho. A fluorescência da clorofila é uma técnica universalmente aceita para avaliar o estado fisiológico das plantas, promovendo uma técnica rápida e não destrutiva para avaliar a atividade de herbicidas fotossinteticamente ativos no tecido vegetal (Hunsche et al, 2011). Acessamos esse parâmetro usando a amplitude de pulso modulada (PAM). Essa técnica detecta a fluorescência da clorofila em uma banda espectral definida (geralmente 680-690 nm).

Com base no solo e na fluorescência máxima das folhas adaptadas ao escuro, bem como a intensidade da fluorescência durante as medições cinéticas medidas, parâmetros específicos permitem conclusões sobre a atividade fotossintética atual e o estado fisiológico dos tecidos. Os resultados usando esta ferramenta foram muito eficientes. As mudas de macieira apresentaram um atraso de quase 15 dias para demonstrar efeitos visuais, e utilizando este recurso foi possível detectar alterações no comportamento do parâmetro YII, algumas horas após a aplicação. Foi possível acessar a influência dos sais K interagindo com os dois pesticidas aplicados, permitindo quantificar e qualificar os danos contidos.

O resultado inesperado foi a interação entre sal e ambos os herbicidas em mistura. Nós apenas verificamos esse resultado usando a microfotografia ESEM, que mostrou claramente as mudanças no padrão de deposição. No entanto, podemos comprovar que é possível melhorar a eficácia de herbicidas utilizando sais de potássio, através de benefícios da HAS. Talvez nosso trabalho traga uma nova contribuição para o desenvolvimento de formulações e, usando esse conhecimento, problemas com efeitos antagonistas,



como mostrado em nossos experimentos, possam ser superados. É um desafio para as empresas que estão trabalhando com proteção de cultivos. Herbicidas micro encapsulados como o clomazone 360, podem ser uma estratégia para fazer a diferença usando sais potássicos.

## **5. AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem Libeth Schwager e Britta Albinus por seu valioso apoio nas atividades do laboratório, Knut Wichterich por preparar as micrografias da ESEM e Antje Fiebig pelo apoio. Os autores reconhecem também a fundação CAPES brasileira por fornecer ao primeiro autor uma bolsa para sua estada na Universidade de Bonn (Processo PDSE 99999.010628 / 2014-02), e o professor Dr. Georg Noga por seu apoio e parceria.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abramoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. 2004. Image processing with Image Journal Biophotonics International 11:36–42.

Basi, S., Noga, G. and Hunsche, M., 2013. Relevance of the deposit structure for the uptake and bio-efficacy of diquat, as monitored by the spatially resolved chlorophyll fluorescence. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 107(2), pp.218–225.

Baur, P., 1999. Surfactant Effects on Cuticular Penetration of Neutral Polar Compounds: Dependence on Humidity and Temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), pp.753–761. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf980507h>.

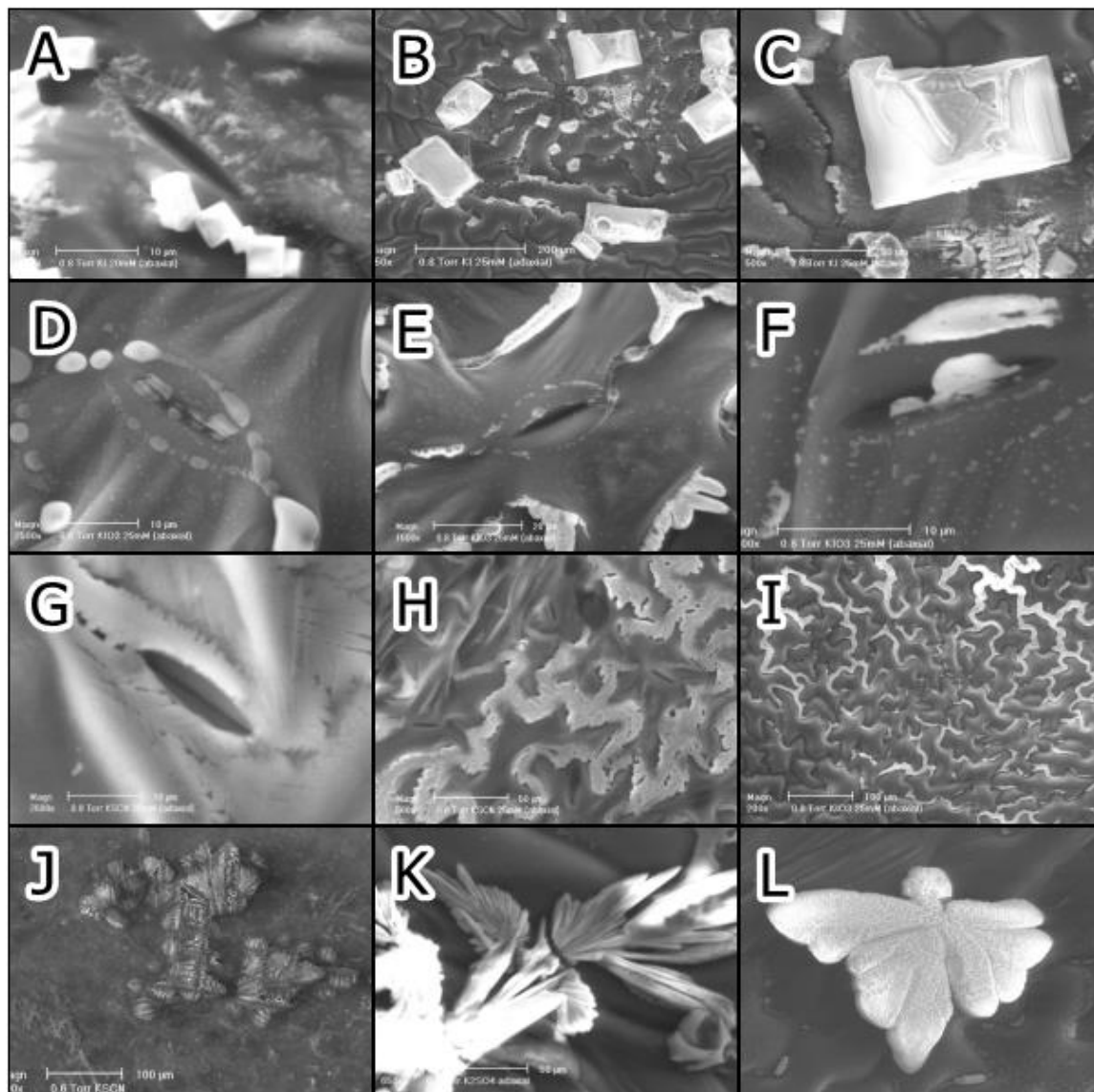
Burkhardt, J. et al., 2012. Stomatal penetration by aqueous solutions - an update involving leaf surface particles. *New Phytologist*, 196(3), pp.774–787.

Burkhardt, J. & Hunsche, M., 2013. “Breath figures” on leaf surfaces-formation and effects of microscopic leaf wetness. *Frontiers in plant science*, 4(October), p.422.

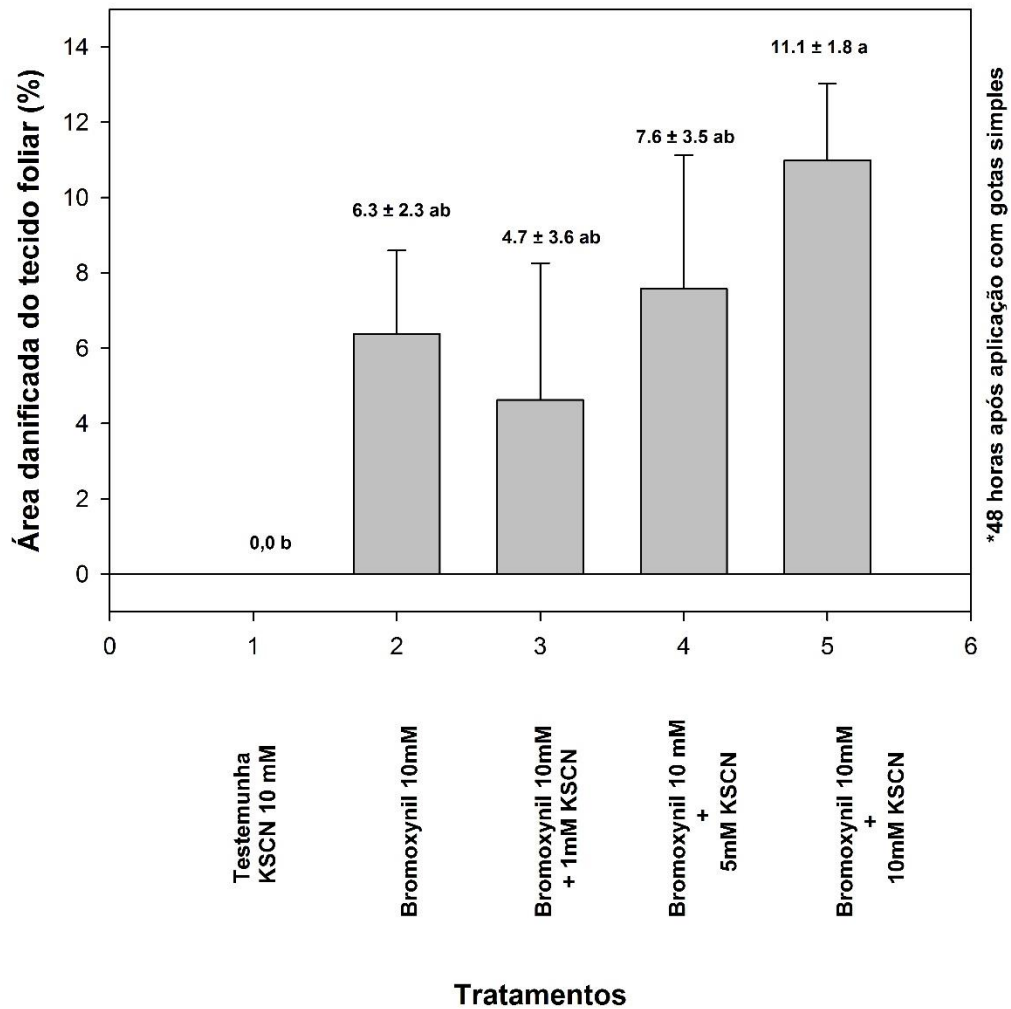
Forster, W.A. & Kimberley, M.O., 2015. The contribution of spray formulation component variables to foliar uptake of agrichemicals. *Pest Management Science*, 71(9), pp.1324–1334.

Gaskin, R. E. and Stevens, P. J. G. (1993), Antagonism of the foliar uptake of glyphosate into grasses by organosilicone surfactants. Part 1: Effects of plant species, formulation, concentrations and timing of application. *Pestic. Sci.*, 38: 185–192. doi:10.1002/ps.2780380213

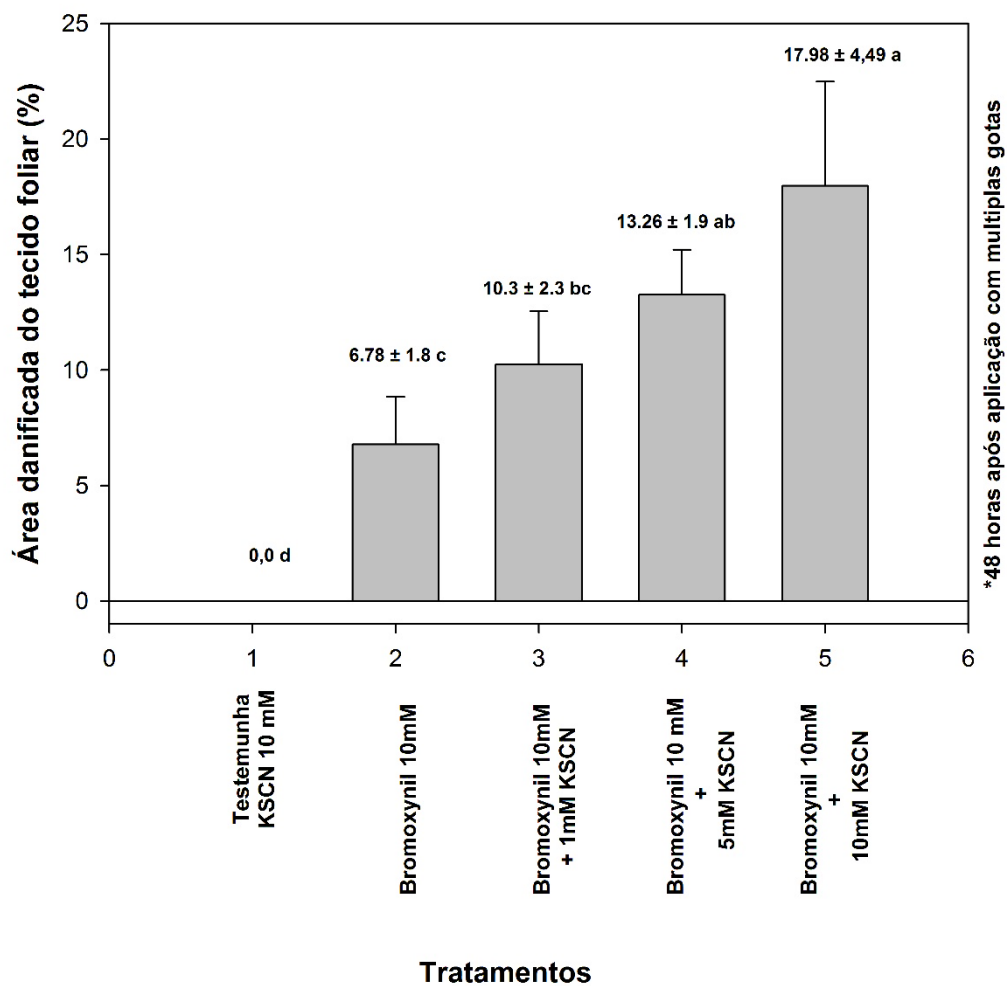
- Kautz, B., Noga, G. & Hunsche, M., 2015. PEG and drought cause distinct changes in biochemical, physiological and morphological parameters of apple seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(8), p.162.
- Kirkwood, R.C., 1999. Recent developments in our understanding of the plant cuticle as a barrier to the foliar uptake of pesticides. *Pesticide Science*, 55(1), pp.69–77.
- Melo, A.A. et al., 2015. Impact of tank-mix adjuvants on deposit formation, cuticular penetration and rain-induced removal of chlorantraniliprole. *Crop Protection*, 78, pp.253–262.
- Pedigo, L. and Rice, M. E. Economic Decision Levels for Pest Populations in : Entomology and Pest Management, 6<sup>a</sup>. edition, p. 255-260.
- Puri, A ; Macdonald, G.E.; Shiling, D.S.; Haller, W.T. Effect of the foliar application of diquat herbicide on selected natural area and field crop species, *Weed Biol. Manag.* 8 (2008) 133–138.
- Stevens, P.J.G., 1993. Organosilicone Surfactants as Adjuvants for Agrochemicals. *Pesticide Science*, 38(2–3), pp.103–122.
- Schreiber, L. 2005. Polar paths of diffusion across plant cuticles: new evidence for an old hypothesis. *Annals Bot.* 95: 1069-1073.



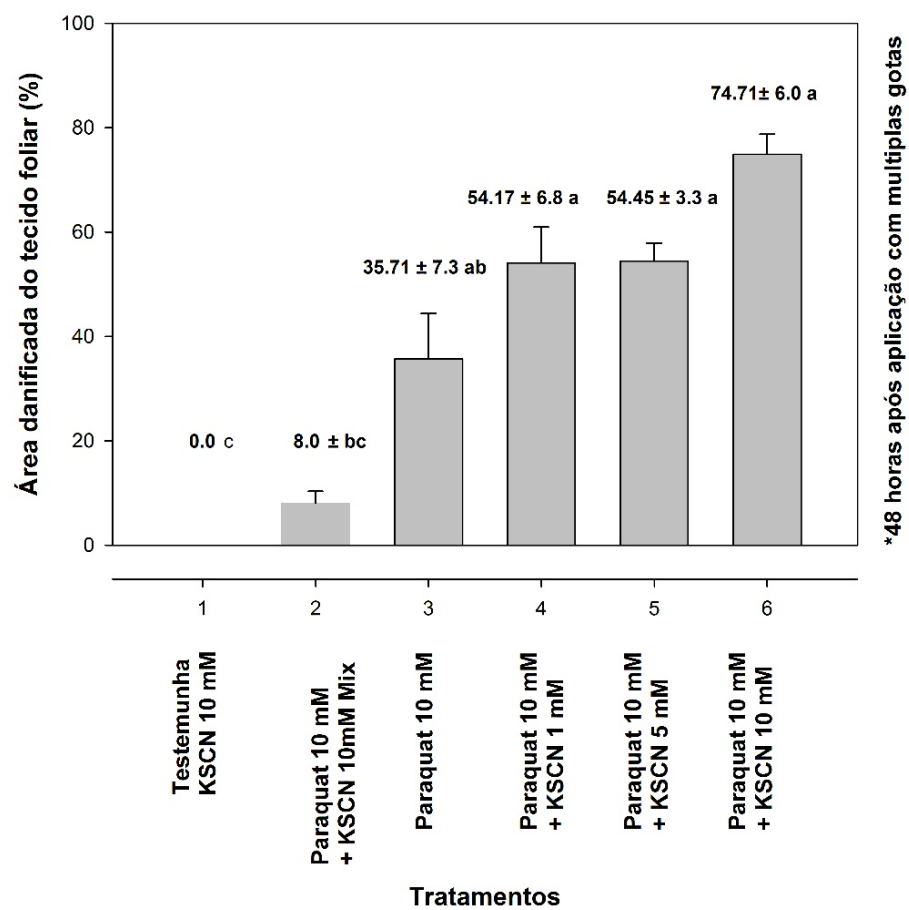
**Figura 1.** Caracterização do padrão de deposição com ampliação dos sais potássicos selecionados. (A), (B) e (C) padrão KI. (D), (E) e (F) padrão de KIO<sub>3</sub>. (G) e (H) padrão de KSCN e suas diferenças entre KIO<sub>3</sub> (H x I). (J) Padrão de KSCN usando 10 mM aplicado na cutícula de tomate. Padrão de deposição de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e (L) padrão de KH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



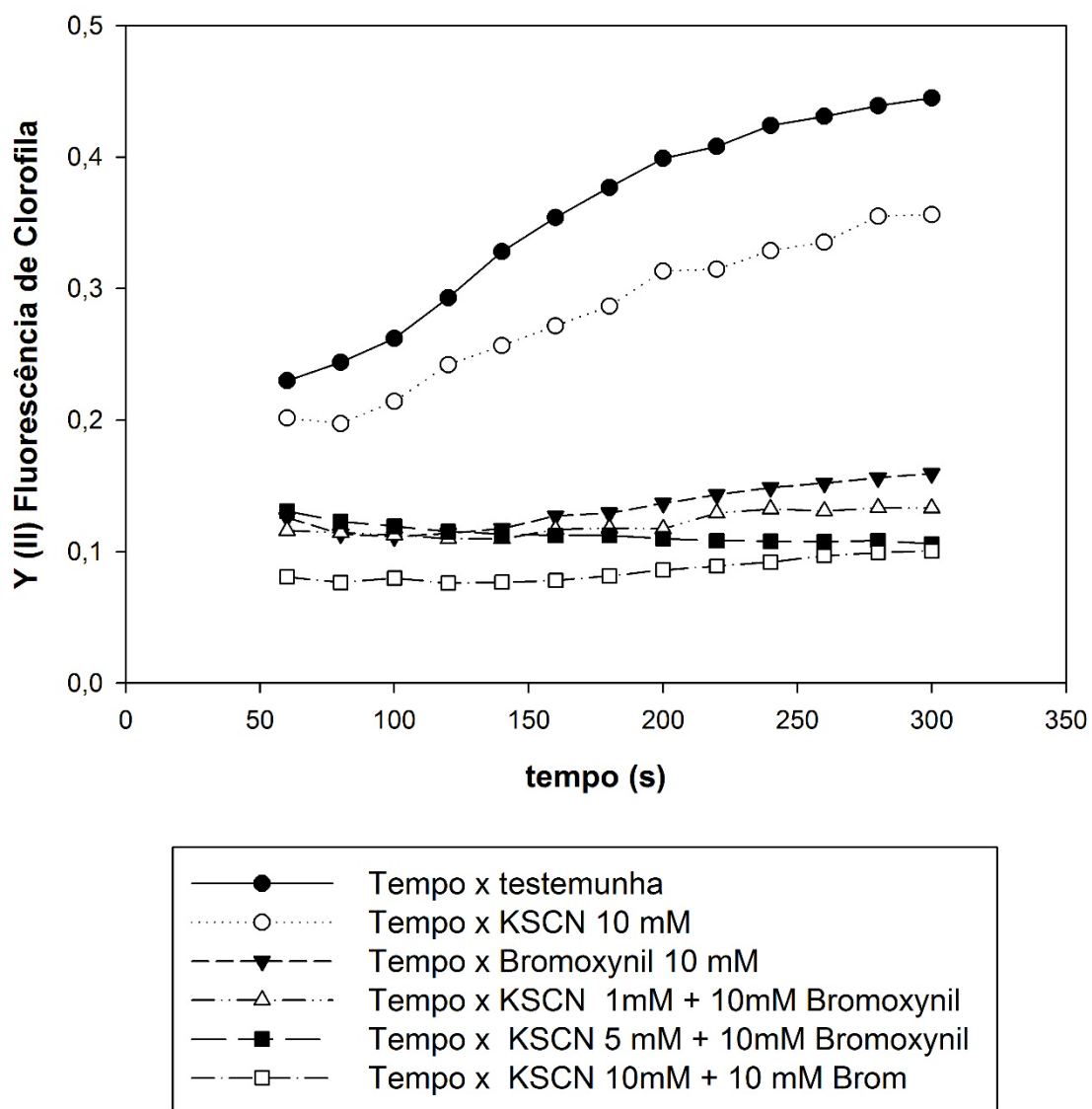
**Figura 2.** Percentual de área danificada do tecido foliar provocado por diferentes tratamentos, utilizando sais de potássio em conjunto de gotas individuais.



**Figura 3.** Percentual de área danificada do tecido foliar causado por diferentes tratamentos, utilizando sais de potássio em conjunto de Múltiplas gotas.

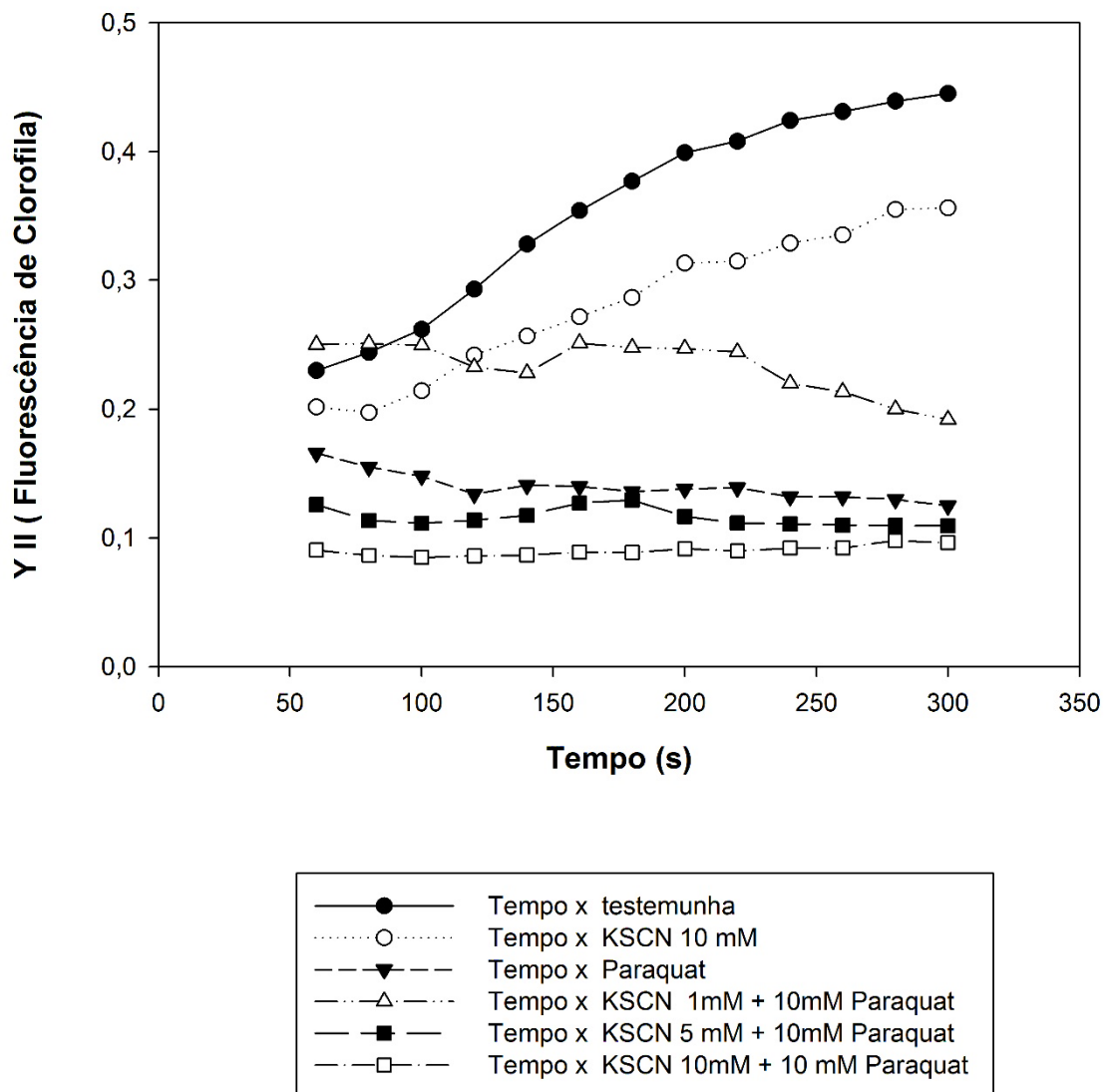


**Figura 4.** Percentual de área danificada do tecido foliar provocado por diferentes tratamentos, utilizando sais de potássio em conjunto de Múltiplas gotas.

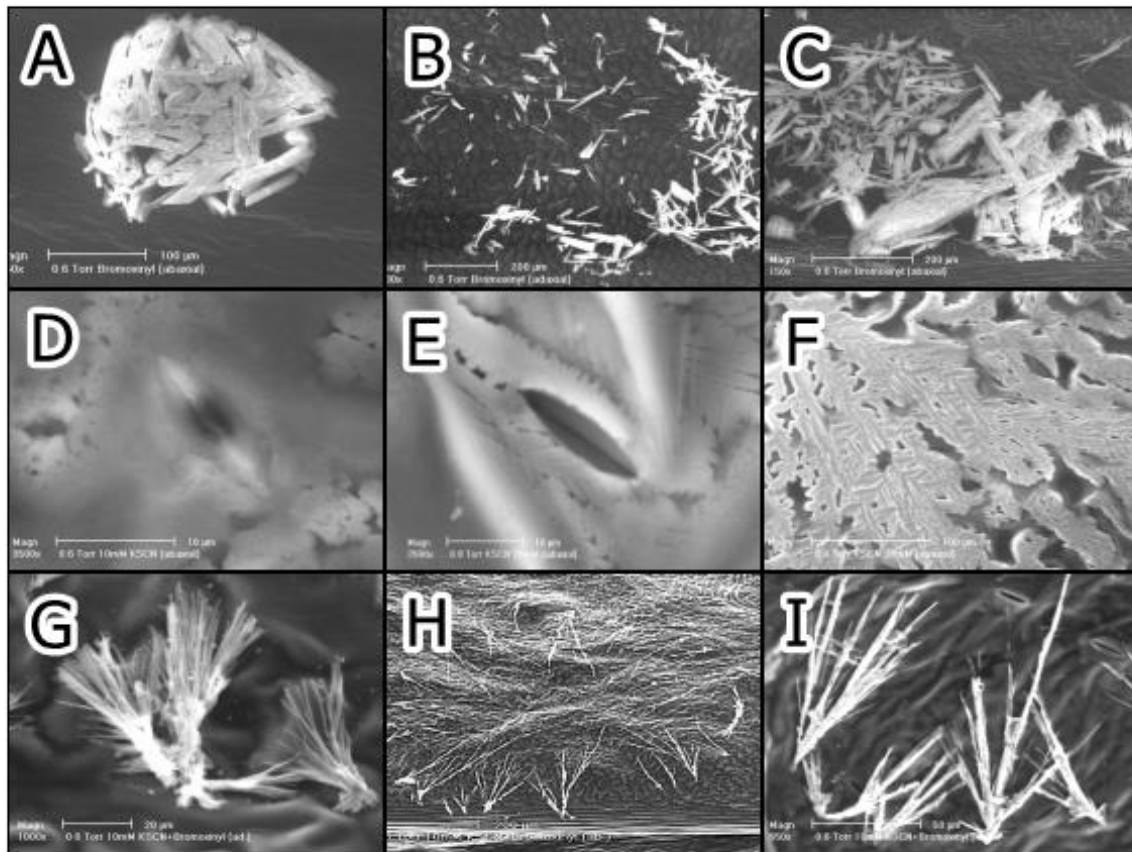


**Figura 5.** Alterações no comportamento do Parâmetro YII (Fluorescência da Clorofila) em função do tempo selecionado para diferentes tratamentos empregando bromoxynil.

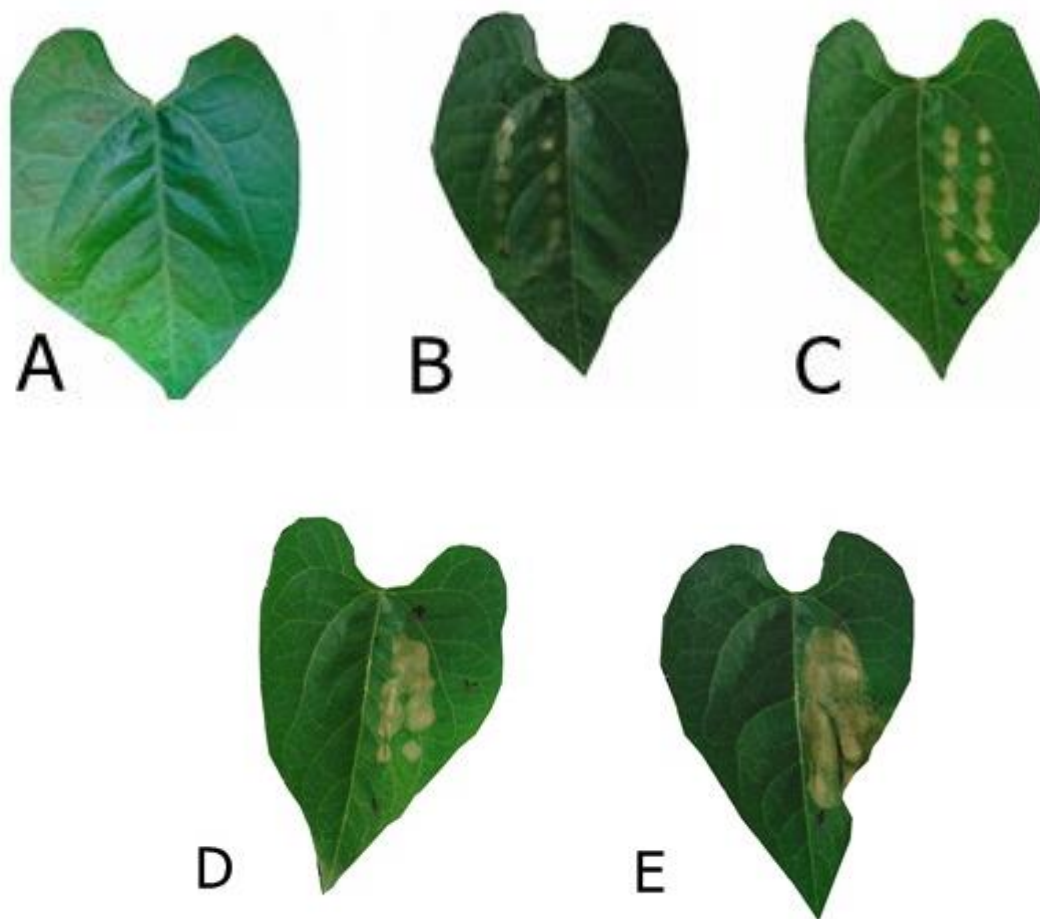




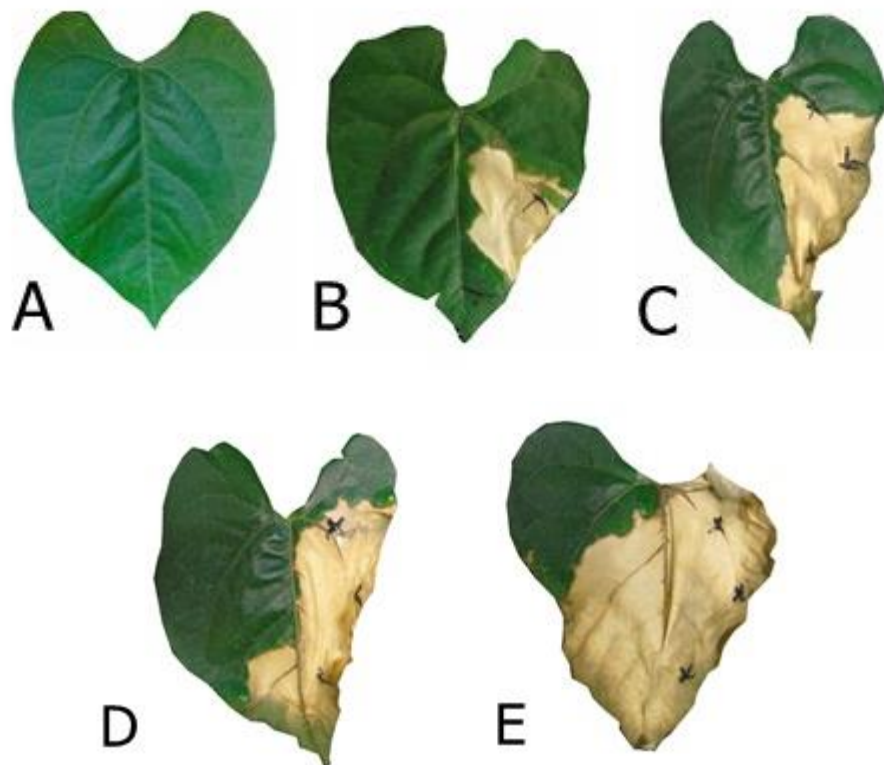
**Figura 6.** Alterações no comportamento do Parâmetro YII (Fluorescência de Clorofila) em função do tempo selecionado para diferentes tratamentos empregando paraquat.



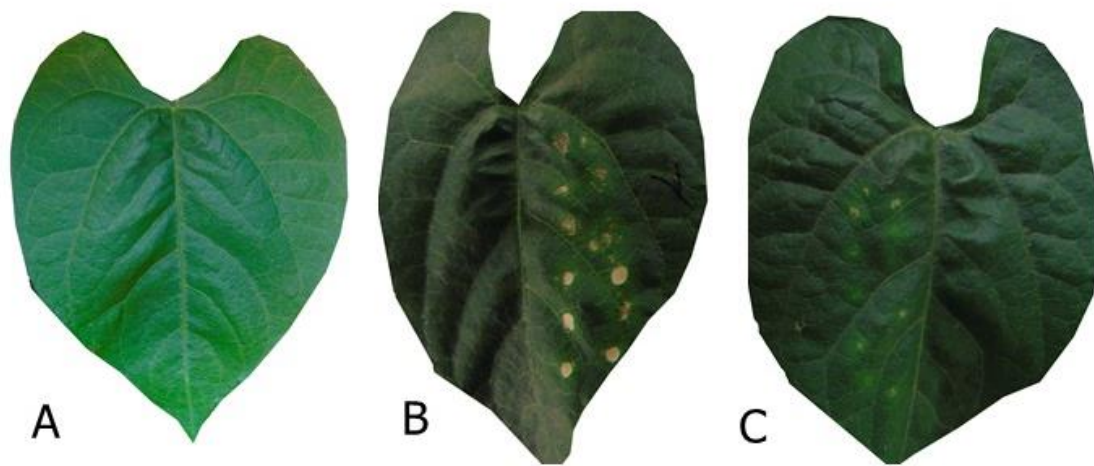
**Figura 7.** Caracterização de alterações no padrão de deposição com ampliação diferente para sais potássicos (KSCN) e bromoxynil. (A, B e C) deposição de Bromoxynil isolado, (D,E,e F) KSCN isolado, (G,H e I) Mistura entre KSCN + bromoxynil 10 mM.



**Figura 8.** Imagens relativa aos efeitos visuais do dano. (A) KSCN 10 mM; (B) bromoxinil 10 mM; (C) KSCN 1 mM + bromoxinil 10 mM; (D) KSCN 5 mM + bromoxinil 10 mM; (E) KSCN 10 mM + bromoxinil 10 mM.



**Figura 9.** Imagens relativas aos efeitos visuais do dano. (A) KSCN 10 mM; (B) paraquat 10 mM; (C) KSCN 1 mM + paraquat 10 mM; (D) KSCN 5 mM + paraquat 10 mM; (E) KSCN 10 mM + paraquat 10 mM.



**Figura 10.** Imagens relativas aos efeitos visuais de redução no dano. (A) KSCN 10 mM (sem danos), (B) 10 mM KSCN + 10 mM paraquat, (C) 10 mM KSCN + 10 mM bromoxynil.

## 7. DISCUSSÃO GERAL

O futuro e a sustentabilidade dos cultivos agrícolas dependem da preservação ambiental e da correta implementação de métodos de manejo de adequados e intervenções alicerçadas em parâmetros técnicos (eficácia), econômicos, ecotoxicológicos (preservem o ambiente e saúde humana) e sociológicos (adaptáveis ao usuário), centrados no objetivo a ser alcançado.

Nesse sentido, buscar novas fontes que colaborem com a maximização dos efeitos promovidos por produtos já existentes no mercado se faz de grande importância, pois apresenta uma nova perspectiva. Para o desenvolvimento, pesquisa, e descoberta de novas moléculas, a indústria consome um aporte imensurável de recursos financeiros e pessoais, e muitas vezes, entraves ocasionados por processos burocráticos de liberação para aplicação e registro de novos compostos são morosos e exigem uma série de ensaios e estudos.

A adição de sais potássicos para melhorar a eficiência de compostos, vêm sendo estudada há algum tempo, e ganhou forças diante da descoberta da ativação hidráulica de estômatos, um fenômeno que descreve o estabelecimento de uma conexão hidráulica entre o exterior e o interior da cavidade estomatal ao longo das paredes estomatais. Tipicamente sais podem sofrer processos de deliquescência e eflorescência, que permitem que os mesmos percorram a superfície hidrofóbica das folhas de vegetais, com base em repetidos ciclos de temperatura e umidade, solidificando e se liquefazendo ao longo do dia, auxiliando na condução de adubos foliares e agrotóxicos a acessarem os estômatos.

Para contribuir de forma inovadora com essa realidade, em especial ao setor de proteção de cultivos, este trabalho reúne em seu corpo, dois artigos científicos. No primeiro artigo intitulado “Penetração cuticular de fertilizantes foliares: evidências para copenetração de Zn e Mn com íons K” demonstramos o potencial de uso de sais de potássio através do KSCN, que permitiu aumentar a penetração do Manganês, o que do ponto de vista da aplicação em campo é muito importante. A deficiência nutricional por Mn atinge muitas culturas como alfafa, amendoim, melancia, nabo, rabanete, beterraba, repolho, café e o próprio tomate, que é um dos substratos usados nesse teste de penetração. O trabalho também mostrou que interações negativas também podem ser observadas,

como no caso do Zinco que em mistura com a solução de KSCN, apresentou incompatibilidade e reduziu o potencial de penetração do mesmo.

O segundo artigo intitulado “Influência de sais de potássio no incremento da atividade de dois herbicidas”, constatamos diferentes caminhos para promover um incremento real no potencial de eficiência de dois herbicidas pré-selecionados, paraquat e bromoxynil, empregando soluções de KSCN. Com concentrações crescentes, podemos visualizar o comportamento e a performance desses herbicidas, com aplicações prévias (48 horas) de KSCN. Foi possível também aferir o padrão de deposição dos sais e suas interações em mistura. Resultados de grande relevância para a pesquisa foram elucidados através desse trabalho, que não é nada mais que um pequeno passo em direção à um universo de conhecimento ainda inexplorado e que ainda apresenta inúmeras lacunas a ser preenchidas.

Com base nos resultados dos dois trabalhos, é possível inferir que sais potássicos, em especial o KSCN, promove uma melhoria na copenetração de Mn em cutículas de tomate, e também promove um incremento na eficiência de paraquat e bromoxynil, desde que não sejam aplicados em mistura. O KSCN mostrou-se bastante promissor, e logicamente, abre espaços para novos estudos para outras moléculas e outras classes de agrotóxicos (fungicidas, inseticidas, adjuvantes e etc.).

Esse estudo abre portas para ações na pesquisa, focadas na busca de alternativas ao controle de plantas daninhas de difícil controle, frente aos problemas que temos a própria resistências a alguns ingredientes ativos.

## 8. CONCLUSÃO

- ✓ O tiocianato de potássio nas concentrações de 25 mM e 10 mM, promovem um incremento na penetração de manganês;
- ✓ O tiocianato de potássio nas concentrações de 25 mM e 10 mM, promovem um decréscimo na penetração de Zinco;
- ✓ O tiocianato de potássio nas concentrações de 1mM, 5mM e 10 mM, não causam danos a tecidos foliares;
- ✓ O tiocianato de potássio aplicado 48 horas antes da aplicação do herbicida paraquat promove um incremento no dano causado ao tecido foliar;
- ✓ O tiocianato de potássio aplicado 48 antes da aplicação do herbicida bromoxynil promove um incremento no dano causado ao tecido foliar;
- ✓ O tiocianato de potássio aplicado em mistura com paraquat e bromoxynil reduz a eficiência ambos herbicidas.



## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abramoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ. Image processing with **Image Journal Biophotonics International** v. 11 p. 36–42. 2004.

Alexander, A. and Hunsche, M. Influence of Formulation on the Cuticular Penetration and on Spray Deposit Properties of Manganese and Zinc Foliar Fertilizers. **Agronomy**, v.6, n. 3, p.1-10,2016.

Basi, S., Noga, G. and Hunsche, M. Relevance of the deposit structure for the uptake and bio-efficacy of diquat, as monitored by the spatially resolved chlorophyll fluorescence. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 107, n. 2, p. 218–225, 2013.

Basi, S.; Burkhardt, J.; Noga, G.; Hunsche, M. Hygroscopic salts support the stomatal penetration of glyphosate and influence its biological efficacy. **Weed Biology and Management**, 14(3) p.186-197, 2014.

Bartels, P.G., Effects of herbicides on chloroplast and cellular development. In: Duke, S.O. (Ed.), **Weed Physiology**. Boca Raton, EUA: CRC Press, v. II, p. 64-91, 1985a.

Bartels, P.G., Effects of herbicides on photosynthesis. In: Duke, S.O. (Ed.), **Weed Physiology**. Boca Raton, EUA: CRC Press, v. II, p. 2-36, 1985b.

Baur, P.; Grayson, B.T. and Schönherr, J. 1997. Polydisperse Ethoxylated Fatty Alcohol Surfactants as Accelerators of Cuticular Penetration. Effects of Ethox y Chain Length and the Size of the Penetrants. **Pesticide science**, v. 5, p. 131–152, 1997.

Baur, P. Surfactant Effects on Cuticular Penetration of Neutral Polar Compounds: Dependence on Humidity and Temperature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n. 2, p. 753–761, 1999.

Bettiol, W.; Morandi, M.A.B. **Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas**. Embrapa; Jaguariuna. 1ª. Edição. 2009. 334 p.

Beyer Jr., E.; Duffy, M.; Hay, J. & Schlueter, D., Sulfonylureas. In: Kearney, P.C. & Kaufman, D.D. (Eds.), **Herbicides chemistry, degradation and mode of action**. New York, EUA: Marcel Dekker, p. 117-189, 1988.

Bukovac, M. J. and Petracek, P. D. Characterizing pesticide and surfactant penetration with isolated plant cuticles. **Pesticide Science**, v.37 p.179-194,1993.

Burkhardt, J. Hygroscopic particles on leaves: nutrients or desiccants?

**Ecological Monographs**, v.80(3), p. 369-399, 2009.

Burkhardt J.; Basi S.; Pariyar S.; Hunsche M. Stomatal penetration by aqueous solutions - an update involving leaf surface particles. **New Phytologist**, v. 196, n.3, p. 774–787, 2012.

Burkhardt, J. and Hunsche, M. 2013. Breath figures on leaf surfaces - formation and effects of microscopic leaf wetness. **Frontiers in Plant Science**. v 4, n. 422, p. 1-9, 2013.

Cristofolleti, P.J.; Victória filho, R.; Silva, C. B da. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta daninha**, v 12, n.1, p. 13-20, 1994.

D'Haese, D.; Vandermeiren, K.; Caubergs, R.J.; Guisez, Y.; Temmerman, L.; Horemans, N. Non-photochemical quenching kinetics during the dark to light transition in relation to the formation of antheraxanthin and zeaxanthin. **Journal of Theoretical Biology**, v 227, p.175-186, 2004.

Doring H.W., Gericke R. **The efficiency of foliar fertilization in arid and semi-arid regions**. In: A. Alexander (ed.), Foliar fertilization. Kluwer Acad. Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 29-35.1986.

Eichert, T., and H.E. Goldbach. Equivalent pore radii of hydrophilic foliar uptake routes in stomatous and astomatous leaf surfaces - further evidence for a stomatal pathway. **Physiol. Plant.** v132, p. 491-502, 2008.

Elshatshat, S. **Effects of inorganic salts on water permeability of isolated cuticular membranes**. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat) der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, p. 58. 2004.

Elshatshat, S.; Schreiber, L. and Schönherr, J. Some cesium and potassium salts increase the water permeability of astomatous isolated plant cuticles. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 170, n.1, p. 59-64, 2007.

FAO - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. Em 2050, com 9 bilhões de pessoas, produção de alimentos precisará subir 70% no mundo. Disponível em <http://redesans.com.br/brasil-sera-um-dos-maiores-exportadores-de-alimentos-preve-fao/> Acesso em : 20/03/2014.

Fageria, N.K., Barbosa-Filho, M.P.; Moreira, A.; Guimarães, C.M. Foliar fertilization of crop plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.32, n.6, p.1044–1064, 2009.

Fernadéz, V. and Eichert, T. Uptake of hydrophilic solutes through plant leaves: current state of knowledge and perspectives of foliar fertilization. **Critical reviews in Plant science**, v. 28, p. 36-68, 2009.

Fernadéz, V.; Sotiropoulos, T.; Brown, P. **Foliar Fertilization: Scientific Principles and Field Practices**. 1 ed. P. Fernadéz, V.; Sotiropoulos, T.; Brown, ed., Paris, France. International Fertilizer Industry Association. 2013. 140 p.

Ferreira, M.M.M; Sintomas de deficiência de macro e micronutrientes de plantas de milho híbrido BRS 1010. *Revista Agroambiente Online*. V.6, n.1. 2012.

Forster, W. A.; Zabkiewicz, J.A.; Riederer, M. Mechanisms of cuticular uptake of xenobiotics into living plants: Evaluation of a logistic-kinetic penetration model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.54, p. 3025-3032. 2006

Forster, W.A.; Kimberley, M.O. The contribution of spray formulation component variables to foliar uptake of agrichemicals. *Pest Management Science*, v.71, n. 9, p.1324–1334, 2015.

Gaskin, R. E. and Stevens, P. J. G. Antagonism of the foliar uptake of glyphosate into grasses by organosilicone surfactants. Part 1: Effects of plant species, formulation, concentrations and timing of application. *Pesticide Science*, v.38, p. 185–192, 1993.

Guini, R and Kimati, H. **Resistência de fungos á fungicidas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2002. II ed., 78p.

Godoy, L.J.G.; Villas Bôas, R.L.; Yanagiwara, R.S; Backes, C.; Lima, C.P. de Concentração foliar de manganês e zinco em laranjeiras adubadas com óxidos e carbonatos via foliar. *Revista Ciência Agrônômica*, v 44, n.3, 437-444, 2013.

Hamill, A. S., Holt, J. S. and Mallory-Smith, C. A. Contributions of weed science to weed control and management. *Weed Technology* n.18, 1563–1565, 2004.

Hartley, D. and H. Kidd (eds.). **The Agrochemicals Handbook**. 2nd ed. Lech worth, Herts, England: The Royal Society of Chemistry, 1987, p. A045/Aug 87.

Hunsche, M.; Bürling, K.; Saied, A.S.; Schmitz-Eiberger, M.; Sohail, M.; Gebauer, J.; Noga, G. and Buekert, A. Effects of NaCl on surface properties, chlorophyll fluorescence and light remission, and cellular compounds of *Grewia tenax* (Forssk.) Fiori and *Tamarindus indica* L. leaves. *Plant Growth Regulation*, v.61, n.3, p. 253–263, 2010.

Hunsche, M.; Bürling, K.; Noga, G. J. Spectral and time-resolved fluorescence signature of four weed species as affected by selected herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v 101, n. 1, 39-47, 2011.

Kautz, B., Noga, G.; Hunsche, M. PEG and drought cause distinct changes in biochemical, physiological and morphological parameters of apple seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, v.37, n.8, p.162, 2015.

Kirkwood, R.C. Recent developments in our understanding of the plant cuticle as a barrier to the foliar uptake of pesticides. *Pesticide Science*, v.55, n.1, p .69 - 77, 1999.

Kunz, W; Lo Nostro, P.; Ninham, B.W. The present state of affairs with Hofmeister effects. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 9:1-18, 2004.

Knoche, M., Petracek, P. D., and Bukovac, M. J. Finite dose diffusion studies: I. Characterizing cuticular penetration in a model system using NAA and isolated tomato fruit cuticles. **Pest Management Science**, v.56, n.1005-1015, 2000.

Knoche, M., Petracek, P. D., and Bukovac, M. J. Finite dose diffusion studies: III. Effects of temperature, humidity and deposit manipulation on NAA penetration through isolated tomato fruit cuticles. **Pest Management Science**. v.57, p. 737-742, 2001.

Kraemer, T., Hunsche, M. and Noga, G. Cuticular calcium penetration is directly related to the area covered by calcium within droplet spread area. **Scientia Horticulturae**, v.120, n. 2, p. 201–206, 2009.

Lo Nostro, P. and Ninham, B.W. Hofmeister Phenomena: An Update on Ion Specificity in Biology. **Chemical Reviews**, v.112, n. 4, p. 2286-2322, 2012.

Malavolta, E.; Fernandes, H.S.; Casale, H.; Romero, J.P. de. Seja o Doutor do seu Cafezal. Informações Agronômicas, Piracicaba, n. 64, 1993. 10 p. (Arquivo do Agrônomo)

Mazoyer, M. e Roudart, L. **História das agriculturas no mundo: do neolítico à crise contemporânea**. Editora Unesp. Tradução. 2010. 568p.

Melo, A.A.; Usano - Alemany, J.; Guedes, J.V.C.; Hunsche, M. Impact of tank-mix adjuvants on deposit formation, cuticular penetration and rain-induced removal of chlorantraniliprole. **Crop Protection**, v.78, p. 253–262, 2015.

Murchie, E.H., Lawson, T. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. **J Exp Bot**. v.64, n. 13, p. 3983-3998, 2013.

Oerke, E. C.; Dehne, H. W. Safeguarding production – losses in major crops and the role of crop protection. **Crop Protection**, n. 23, p. 275-285, 2004.

Oerke, E.C. Crop losses to pests. Centenary review. **Journal of Agricultural Science**, v.144, p. 31-43, 2006.

Pedigo, L. and Rice, M. E. Economic Decision Levels for Pest Populations in: **Entomology and Pest Management**, 6<sup>a</sup>. Edition, p. 255-260.

Pegram, L.M. and Record, M.T. (2007) Hofmeister salt effects on surface tension arise from partitioning of anions and cations between bulk water and the air-water interface. **Journal of Physical Chemistry B**, v.111, n. 19, p. 5411-5417, 2007.

Penner, D. Activator Adjuvants. **Weed Science**, v.14, n.4, p. 785–791. 2000.

Peron, A. P.; Neves, G. Y. S.; Valérico, N. C.; Vicentini, V. E. P. Ação tóxica do herbicida paraquat sobre o homem. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 7, n. 3. 2003.

Popp, C.; Burghardt, M.; Friedmann A.; Riederer, M. Characterization of hydrophilic and lipophilic pathways of *Hedera helix* L. cuticular membranes: Permeation of water and uncharged organic compounds. **Journal of Experimental Botany**, v.56, n. 421, p. 2797–2806, 2005.

Pottosin, I. and Dobrovinskaya, O. Non-selective cation channels in plasma and vacuolar membranes and their contribution to K<sup>+</sup> transport. **Journal of Plant Physiology**, v.171, n.9, p. 732–742, 2014.

Puri, A.; Macdonald, G.E.; Shiling, D.S.; Haller, W.T. Effect of the foliar application of diquat herbicide on selected natural area and field crop species, **Weed Biology Management**, v.8 , p.133–138, 2008.

Riederer, M. and Friedmann, A *Biology of the Plant cuticle* C. Riederer, M. and Müller, ed., Blackwell Publishing. 2006.

ROSSI, R. M.; NEVES, M. F.; CARVALHO, D. T. Características do processo de decisão de compra pelos citricultores paulistas em relação a fertilizantes foliares. **Laranja**, v. 25, n. 1, p. 19-35, 2004.

Russel, P.E. A century of fungicide evolution. Centenary review. **Journal of Agricultural Science**, v.143, p. 11-25, 2005.

Santos, A.P. dos; Diehl, A. and Levin, Y. Surface Tensions, Surface Potentials, and the Hofmeister Series of Electrolyte Solutions. **Langmuir**, v.26, n.13, p. 10778–10783, 2010.

Serrano, M.; Coluccia, F.; Torres, M.; L'Haridon, F.; Métraux, J.P. The cuticle and plant defense to pathogens. **Frontiers in plant science**, v 5, p.1-8 (274). 2014.

Schönherr, J., and M.J. Bukovac. Penetration of stomata by liquids - dependence on surface tension, wettability, and stomatal morphology. **Plant Physiology**, v. 49, p. 813-819, 1972.

Schönherr, J. and Luber, M. Cuticular penetration of Potassium salts; Effects of humidity, anions and temperature. **Plant and soil**, v.23, p.117-122, 2001.

Schönherr, J. Cuticular penetration of calcium salts; effects of humidity, anions and adjuvants. **Journal of Plant Nutrition Soil Science**, v.164, p. 225-231, 2001.

Schönherr, J. A mechanistic analysis of penetration of glyphosate salts across autotomous cuticular membranes. **Pest Management Science**, v.58, p. 343-351, 2002.

Stevens, P.J.G., 1993. Organosilicone Surfactants as Adjuvants for Agrochemicals. **Pesticide Science**, v.38, n. 2–3, p.103 -122, 1993.

Taiz, L.; Zeiger, E. *Fisiologia vegetal*. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

Tabashnik, B. E.; Roush, R. T. Introduction. In: ROUSH, R. T.; TABASHNIK, B. E. (Ed.). **Pesticide resistance in arthropods**. New York: Chapman and Hall, 1990. p.1-3

Tukey H.B., Marczyński S. Foliar nutrition-old ideas rediscovered. **Acta horticulture**,145: 205-212.1984.

VIDAL, R. A. Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas. Porto Alegre: R.A. Vidal, 1997. Embrapa: Cerrados.165p.

Wang, C. J. and Liu, Z.Q. Foliar uptake of pesticides - present status and future challenge. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v. 87, p. 1-8, 2007.

Wójcik, P. Uptake of mineral nutrients from foliar fertilization. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, v.12, p. 201–218, 2004.

Yamada, Y.; Wittwer S.H.; Bukovac, M.J. Ion Binding by Surfaces of Isolated Cuticular Membranes. **Plant physiology**, v.39, p. 29–32. 1964.

Zabkiewicz, J. A. Spray formulation efficacy – holistic and futuristic perspectives. **Crop Protection**, v. 26, n.3, p. 312-319, 2007.

Zhang, Y. and Cremer, P.S. Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.10, n. 6, p.658–663, 2006.