

SELEÇÃO DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA CUCURBITACEAE E CHENOPODIACEAE PARA INDICAÇÃO DA PRESENÇA DE SAFLUFENACIL NO SOLO

FRANCIELLI DIESEL *
MICHELANGELO MUZZELL TREZZI **
DAIANA PAZUCH ***
ELOUIZE XAVIER ***
DEVAIR ROSIN ****
FORTUNATO PAGNONCELLI ****

O objetivo deste estudo foi selecionar espécies cucurbitáceas e quenopodiácea para serem usadas como plantas bioindicadoras da presença de saflufenacil no solo. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com três repetições, em bifatorial 8 x 5. O primeiro fator foi constituído pelas concentrações de saflufenacil (0; 2,45; 4,9; 9,8; 14,7; 19,6; 24,5 e 29,4 g i.a. ha⁻¹) e o segundo pelas espécies bioindicadoras: pepino, melancia, cabotiá, abobrinha híbrida Clarita (família Cucurbitaceae) e beterraba (família Chenopodiaceae). Aplicou-se o herbicida saflufenacil em pré-emergência em Latossolo Vermelho distroférico. Realizaram-se quatro avaliações de estande e estatura de planta, determinando-se no final do experimento as massas das partes aéreas verde e seca das espécies. Os resultados deste estudo permitiram classificar as espécies estudadas conforme o nível de tolerância ao herbicida saflufenacil: abobrinha = cabotiá > melancia > beterraba = pepino.

PALAVRAS-CHAVE: SAFLUFENACIL; BIOENSAIO; ESPÉCIES BIOINDICADORAS; PERSISTÊNCIA.

- * Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Produção Vegetal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, PR (e-mail: francielli_diesel@hotmail.com).
** Professor, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, UTFPR, Campus Pato Branco, PR (e-mail: trezzi@utfpr.edu.br).
*** Mestrandas, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Produção Vegetal, UTFPR, Campus Pato Branco, PR (e-mail: daipzu@hotmail.com; elo231@hotmail.com).
**** Graduandos, curso de Agronomia, UTFPR, Campus Pato Branco, PR (e-mail: devairosin@hotmail.com; fortunapagnoncelli@bol.com.br).

1 INTRODUÇÃO

A permanência de herbicidas residuais no solo assume relevância para o controle de plantas daninhas, porém podem provocar grandes prejuízos (como a perda de qualidade e do rendimento) e até mesmo causar a morte de plantas cultivadas não tolerantes.

Saflufenacil, herbicida em fase de registro no Brasil, é indicado para controle de plantas daninhas em pré-semeadura de culturas como soja e milho, entre outras (BASF, 2012). Seu mecanismo de ação ocorre pela inibição da enzima protoporfirinogen oxidase (Protox), resultando em rápido acúmulo de espécies reativas de oxigênio e a peroxidação lipídica das membranas celulares. Isso leva à perda de integridade das membranas e à rápida morte celular das plantas daninhas (DAYAN e WATSON, 2011). Esse herbicida tem demonstrado controle rápido da maioria das espécies dicotiledôneas, incluindo a falsa-erva-de-Santa-Maria (*Chenopodium album*), ambrósia comum (*Ambrosia artemisiifolia*), girassol (*Helianthus annuus*), buva (*Conyza canadensis*), corda de viola (*Ipomoea* spp.) e caruru (*Amaranthus* spp.) (WESTBERG *et al.*, 2008). Saflufenacil reduziu a biomassa de cinco espécies de plantas daninhas dicotiledôneas (*Descurainia sophia*, *Amaranthus palmeri*, *Amaranthus retroflexus* (L.), *Amaranthus albus* (L.) e *Chorispora tenella*), que apresentaram queda expressiva de 82 a 98% na biomassa com a aplicação das doses de 6 a 30 g ha⁻¹. Além disso, não foi observada diferença para essa variável com o uso de doses acima de 12 g ha⁻¹ (GEIER, STAHLMAN e CHARVET, 2009).

Em trigo (*Triticum aestivum* L.), a aplicação em pré-emergência de saflufenacil até a dose de 400 g ha⁻¹ não resultou em lesão ou perda de rendimento. No entanto, as aplicações em pós-emergência resultaram em lesão e redução de rendimento, particularmente quando associado com adjuvante (KNEZEVIC *et al.*, 2010). Sikkema, Shropshire e Soltani (2008) relataram lesão mínima (1% ou menos) em cevada, aveia e trigo com aplicação de saflufenacil em pré-emergência nas doses 50 e 100 g i.a. ha⁻¹, porém constataram rendimentos de cevada e trigo reduzidos em 24 e 13% com sua aplicação em pós-emergência.

Soltani, Shropshire e Sikkema (2010) avaliaram a tolerância de sete leguminosas [feijão azuki (*Vigna angularis* L. "Eramo"), feijão cranberry (*Phaseolus vulgaris* L. "Etna"), feijão lima (*Phaseolus lunatus* L. "Kingston"), ervilha (*Lathyrus odoratus* L. "Durango"), feijão snap (*Phaseolus vulgaris* L. "Matador"), soja (*Glycine max* L.) e feijão branco (*Phaseolus vulgaris* L. "OAC Rex")] ao herbicida saflufenacil aplicado em pré-emergência nas doses 100 e 200 g i.a. ha⁻¹. Verificaram que o produto causou fitotoxicidade elevada nas sete leguminosas avaliadas.

O uso de plantas indicadoras constitui forma prática de se avaliar a permanência de herbicidas no solo, mediante bioensaios que propiciam a detecção de resíduos biologicamente ativos. Algumas características importantes de espécies indicadoras estão relacionadas à alta taxa de crescimento, ausência de dormência e menor variabilidade genética. Tais características propiciam redução do erro experimental nas avaliações, visualização rápida dos sintomas ocorridos e ampla distribuição geográfica para que seja utilizada como bioindicadora em outros locais. Geralmente essas características estão presentes em espécies cultivadas (NUNES e VIDAL, 2009).

Inúmeras espécies de plantas são usadas como bioindicadoras da presença de determinados herbicidas. Por exemplo, pepino (*Cucumis sativus*), soja (*Glycine Max*), milho (*Zea mays*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*) foram utilizados por Guerra *et al.* (2011) como espécies bioindicadoras para a presença de trifloxissulfurom-sódico e piritiobaque-sódico. A persistência do herbicida sulfentrazone foi avaliada com o emprego de beterraba (*Beta vulgaris*), espécie mais sensível (BLANCO e VELINI, 2005; BLANCO, VELINE e BATISTA FILHO, 2010). Nunes e Vidal (2009) empregaram aveia branca (*Avena sativa* L.), melancia (*Cucumis sativus* L.), pepino (*Cucurbita pepo* L.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), alface (*Lactuca sativa* L.), nabo forrageiro (*Raphanus sativus* var. *oleiferus* Metzger), rabanete (*Raphanus sativus* var. *sativus* L.) e trigo (*Triticum aestivum* L.) com o objetivo de selecionar plantas indicadoras de herbicidas residuais no solo (atrazina, cloransulam, imazaquin, metribuzin e s-metolacoloro). Aveia branca, trigo, quiabo (*Abelmoschus esculentus*), tomate (*Solanum*

lycopersicum), ervilha (*Pisum sativum* L.) e rabanete foram utilizados como bioindicadores da presença do herbicida atrazina (MARCHESAN *et al.*, 2011). Bioensaios com sorgo (*Sorghum bicolor*) foram efetuados para avaliar a lixiviação dos herbicidas metolaclo e fomesafen (FONTES *et al.*, 2004).

Analisando os resultados de lixiviação de ametrina em colunas de solo, mediante bioensaios e cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE), Andrade *et al.* (2010) observaram que em algumas regiões da coluna quando as plantas indicadoras apresentaram sintomas de intoxicação entre 20 e 40%, a CLAE não permitiu a quantificação da presença do herbicida. Possível justificativa para tal fato envolveria a concentração do herbicida, que estaria abaixo do limite de detecção do equipamento (0,01 mg L⁻¹). A pequena quantidade de produto que não foi detectada pela CLAE causou injúrias em espécies sensíveis.

O objetivo deste trabalho foi selecionar espécies cultivadas adequadas para serem usadas como bioindicadoras em bioensaios de detecção de saflufenacil no solo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos meses de janeiro e fevereiro de 2012, em casa de vegetação da Universidade Tecnológica Federal (UTFPR), Campus Pato Branco (26°07'S e 52°41'W). O solo utilizado, classificado como Latossolo Vermelho distroférrico (EMBRAPA, 2006), foi coletado na Área Experimental da UTFPR, Campus Pato Branco, peneirado (peneira malha 6 mm) para retirada de partículas grosseiras e depositado em vasos com dimensões de 0,2 m (diâmetro superior) x 0,1 m (altura) x 0,1 m (diâmetro inferior).

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos resultaram de bifatorial 8 x 5, sendo o primeiro fator constituído pelas concentrações de saflufenacil (0; 2,45; 4,9; 9,8; 14,7; 19,6; 24,5 e 29,4 g i.a. ha⁻¹) e o segundo pelas espécies bioindicadoras: pepino (*Cucumis sativus* L.), melancia (*Citrullus vulgaris*), cabotiá (*Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata*), abobrinha híbrida Clarita (*Cucurbita pepo* L.) e beterraba (*Beta vulgaris* L.). As sementes foram depositadas à profundidade entre 1 a 2 cm. Aspergiu-se o herbicida em solo úmido, após a semeadura das espécies, empregando pulverizador costal, à pressão constante com CO₂, em barra com 1,5 m de largura, com bicos tipo leque 110.03, distanciados entre si de 0,50 m, totalizando volume de calda aspergida de 200 L ha⁻¹.

Foram realizadas avaliações de estande de plantas e estatura aos 5, 10, 15 e 20 dias após a aplicação (DAA) e avaliadas as massas verde e seca das plantas aos 20 DAA. Determinou-se o estande mediante contagem do número de plantas sobreviventes. A estatura foi determinada com régua milimétrica, medindo-se a distância entre o colo da planta e a última folha (MARCHESAN *et al.*, 2011). Para determinar a massa da parte aérea verde (MPAV), as plantas foram cortadas rente ao solo e pesadas logo em seguida. Na determinação da massa da parte aérea seca (MPAS), as plantas foram secas em estufa a 60°C até peso constante (MARCHESAN *et al.*, 2011). Os dados de todas as variáveis foram relativizados, considerando-se a testemunha sem herbicida como 100%.

Procedeu-se a análise da variância dos resultados pelo teste F a 5% de probabilidade de erro experimental, sendo as médias de variáveis qualitativas comparadas pelo teste de Tukey (p<0,05), com auxílio do programa estatístico WINSTAT (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2005). A relação entre níveis de fator quantitativo e variáveis resposta foi ajustada por regressão não linear, usando-se o programa SIGMAPLOT (2006), versão 10.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As equações e parâmetros das equações ajustadas para estande, estatura, massa da parte aérea verde (MPAV) e massa da parte aérea seca (MPAS) constam na Tabela 1. Os dados dessas

variáveis respostas foram ajustados por meio de equação logística de três e quatro parâmetros, com valores de R² entre 0,31 a 0,97.

TABELA 1 - PARÂMETROS DAS EQUAÇÕES AJUSTADAS PARA ESTANDE, ESTATURA, MASSA VERDE E MASSA SECA EM RESPOSTA A APLICAÇÃO DE SAFLUFENACIL EM SOLO ARGILOSO NA PRÉ-EMERGÊNCIA DAS ESPÉCIES

Variáveis	Espécie	Parâmetros				R ²
		a	b	c	d	
Estande	Pepino	105,45	2,08	9,93		0,95
	Melancia	95,39	1,66	30,42		0,77
	Abobrinha	99,72	0,57	39,10		0,75
	Beterraba (*)	79,58	2,40	11,83	15,93	0,97
	Cabotiá	101,02	0,38	12,11		0,71
Estatuta	Pepino (*)	78,42	2,47	9,02	24,03	0,93
	Melancia (*)	45,03	-1,71	21,46	77,76	0,60
	Abobrinha					n.s.
	Beterraba (*)	47,70	6,81	12,87	40,84	0,92
	Cabotiá	109,23	297,22	29,41		0,90
Massa verde	Pepino	104,39	1,54	9,63		0,56
	Melancia	103,14	-7,74	25,36		0,48
	Abobrinha	93,25	2,00	8,31		0,84
	Beterraba	98,39	6,95	23,21		0,93
	Cabotiá	114,15	127,81	29,29		0,92
Massa seca	Pepino	105,16	0,82	11,18		0,31
	Melancia	93,71	0,96	20,88		0,83
	Abobrinha	101,67	1,83	17,18		0,56
	Beterraba	110,92	6,31	22,37		0,88
	Cabotiá	121,73	23,77	22,89		0,66

(*): Equação logística de quatro parâmetros: $y = d + ((a-d)/((1+(x/c)^b))$, em que: Y = variável dependente; x = concentração do herbicida; a = média da resposta da testemunha; b = declividade da curva; c = concentração que proporciona 50% do valor da variável dependente (I_{50}); d = média da resposta sob doses elevadas. Equação logística de três parâmetros: $y = a/(1+(x/c)^b)$. n.s.= não significativo ao nível de 5%.

Em relação ao estande de plantas aos 5, 10, 15 e 20 dias após a aplicação do herbicida (DAA) (Figura 1 A), constatou-se variação significativa das espécies em relação às doses de saflufenacil. A abobrinha e a cabotiá apresentaram baixa sensibilidade ao herbicida saflufenacil, totalizando aproximadamente 20 e 30% de redução no estande com a aspersão da maior dose (29,4 g i.a. ha⁻¹). As espécies pepino, melancia e beterraba mostraram sensibilidade média a alta ao saflufenacil, totalizando redução de aproximadamente 80, 50 e 75% no estande de plantas, respectivamente, com a utilização da maior dose.

A abobrinha não evidenciou diferença em sua estatura aos 5, 10, 15 e 20 DAA com o

incremento das doses de saflufenacil, indicando baixa sensibilidade a esse herbicida (Figura 1 B). A espécie cabotiá apresentou redução de estatura de aproximadamente 40%, somente com o uso da maior dose de saflufenacil (29,4 g i.a. ha⁻¹).

Pepino e beterraba foram as espécies que revelaram maior redução de estatura com a elevação das doses do produto, apresentando efeito já a partir da dose de 9,8 g ha⁻¹ de saflufenacil. O pepino evidenciou redução da estatura de, aproximadamente, 70% com a dose mais elevada (29,4 g i.a. ha⁻¹). A beterraba demonstrou maior suscetibilidade que a melancia, totalizando aproximadamente 55% de redução com a dose 29,4 g i.a. ha⁻¹ em relação à testemunha sem herbicida. A melancia apresentou sensibilidade ao saflufenacil em doses acima de 14,7 g i.a. ha⁻¹.

Sensibilidade contrastante para a abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) aos herbicidas residuais atrazina (3000 g ha⁻¹), cloransulam (40 g ha⁻¹), imazaquin (140 g ha⁻¹), metribuzin (1440 g ha⁻¹) e s-metolaclo (1920 g ha⁻¹) foi constatada por Nunes e Vidal (2009). Enquanto a abobrinha se mostrou potencial quantificadora da presença de metribuzin, atrazina e imazaquin, resultando em elevada redução na estatura e área foliar, s-metolaclo não causou efeito às plântulas. A elevada suscetibilidade de pepino aos herbicidas também foi constatada por Guerra *et al.* (2011), empregando os produtos trifloxissulfuro-m-sódico e piritiobaque-sódico para selecionar plantas para o monitoramento de baixas concentrações desses herbicidas no solo.

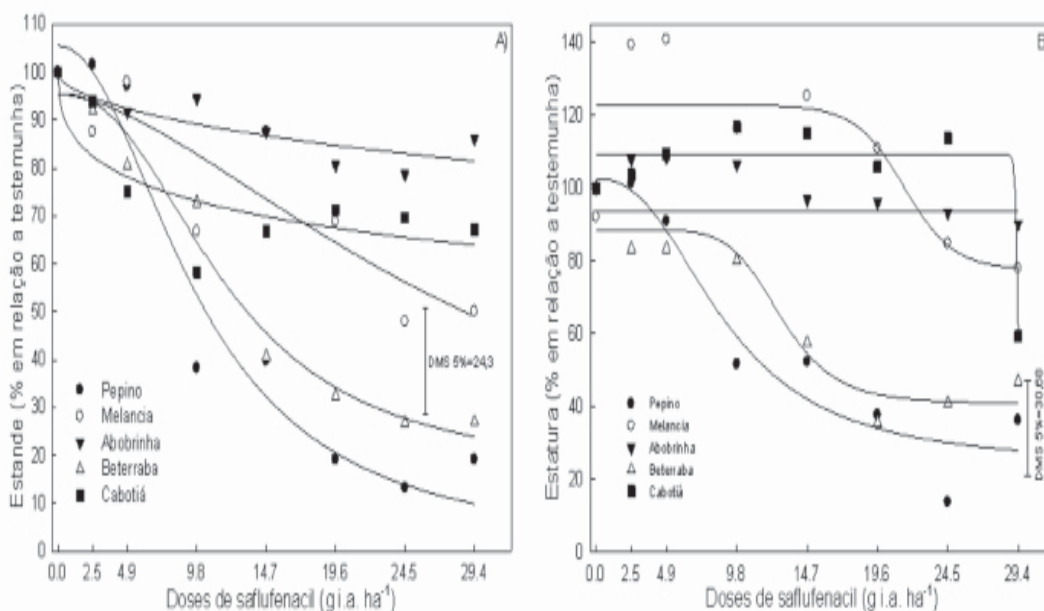


FIGURA 1 - ESTANDE DE PLANTAS (A) E ESTATURA (B) (% EM RELAÇÃO À TESTEMUNHA) DE DIFERENTES ESPÉCIES EM RESPOSTA À APLICAÇÃO DE DOSES DE SAFLUFENACIL EM PRÉ-EMERGÊNCIA, NA MÉDIA DE QUATRO PERÍODOS DE AVALIAÇÃO – UTFPR, PATO BRANCO/2012

No presente experimento não houve interação entre o período de avaliação e as doses de saflufenacil para as variáveis estande de planta e estatura, o que significa comportamento semelhante dessas duas variáveis entre os diferentes períodos de avaliação. Tal informação torna-se importante, pois indica que essas determinações podem ser feitas em diferentes períodos sem comprometer a relação de sensibilidade entre a espécie e a dose de saflufenacil.

Para as variáveis massa da parte aérea verde (MPAV) e massa da parte aérea seca (MPAS) houve significância para espécies x doses de saflufenacil. As espécies pepino, beterraba e melancia apresentaram as maiores reduções nas MPAV e MPAS (Figura 2A e B), enquanto abobrinha e cabotiá mostraram baixa sensibilidade às doses de saflufenacil com pequena redução das MPAV e MPAS.

O pepino apresentou redução expressiva já na dose 2,5 g ha⁻¹, tanto para MPAV quanto para MPAS. Em relação a MPAV (Figura 2A), a melancia demonstrou sensibilidade ao saflufenacil à partir da dose de 9,8 g i.a. ha⁻¹ até a maior dose aplicada, evidenciando sensibilidade de aproximadamente 80% na massa verde para a dose de 29,4 g i.a. ha⁻¹ comparativamente à testemunha. Em relação à MPAS (Figura 2B), verificou-se maior sensibilidade entre as doses de 19,6 e 24,5 g i.a. ha⁻¹ atingindo redução de aproximadamente 100%. Para a beterraba foram observadas reduções a partir das doses de 4,9 e 9,8 g ha⁻¹, respectivamente. As MPAV e MPAS da espécie cabotiá se mantiveram estáveis, apresentando queda expressiva, de 60%, apenas com a aplicação da dose mais elevada (29,4 g i.a. ha⁻¹).

Os valores de I₅₀ para a variável estatura (Tabela 1) parecem descrever mais adequadamente, dentre todas as variáveis, a tolerância das espécies ao saflufenacil: abobrinha = cabotiá > melancia > beterraba = pepino.

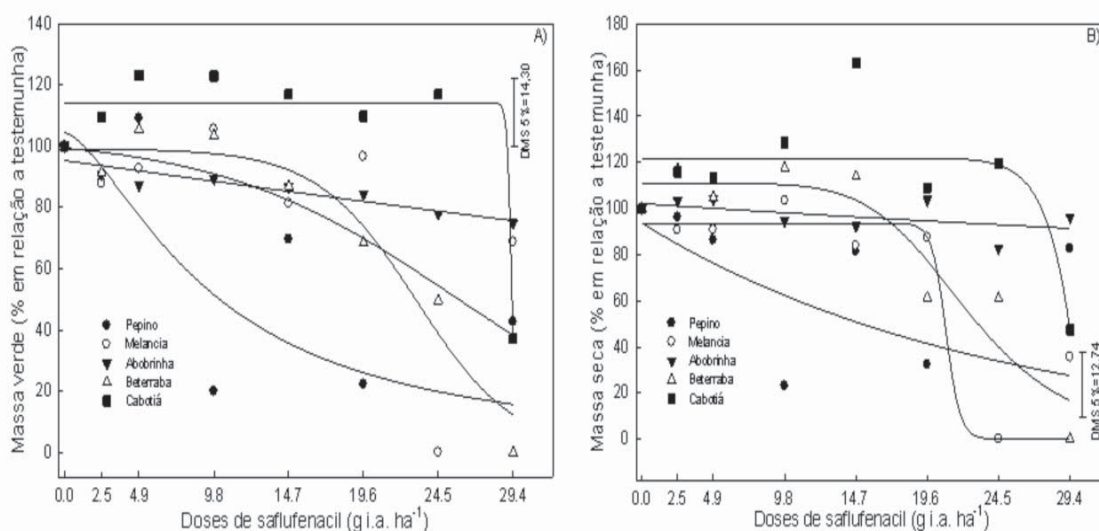


FIGURA 2 - MASSA DE PLANTA VERDE (A) E MASSA DE PLANTA SECA (B) EM RESPOSTA À APLICAÇÃO DE DOSES DE SAFLUFENACIL EM SOLO DE TEXTURA ARGILOSA EM PRÉ-EMERGÊNCIA DAS ESPÉCIES – UTFPR, PATO BRANCO/2012

4 CONCLUSÃO

Com este estudo foi possível selecionar espécies cultivadas para utilização como bioindicadoras da presença do herbicida saflufenacil no solo. As espécies que apresentaram maior sensibilidade ao saflufenacil foram o pepino e a beterraba, enquanto a abobrinha e a cabotiá se mostraram mais tolerantes. A melancia apresentou sensibilidade intermediária a esse herbicida.

ABSTRACT

SELECTION OF SPECIES OF CUCURBITACEAE AND CHENOPODIACEAE FAMILIES FOR INDICATION OF THE PRESENCE OF SAFLUFENACIL IN THE SOIL

The aim of this study was to select species of the Cucurbitaceae and Chenopodiaceae families for use as bioindicators of the presence of saflufenacil in the soil. The experiment was conducted in completely randomized

design with three replications in a factorial 5 x 8. The first factor was comprised saflufenacil concentrations (0, 2.45, 4.9, 9.8, 14.7, 19.6, 24.5 and 29.4 g ai ha⁻¹) and the second factor by the bioindicator species: cucumber, watermelon, cabotiá, Clarita hybrid squash (Cucurbitaceae) and sugar beet (Chenopodiaceae). Saflufenacil was applied in pre-emergence in Latossol. There were four assessments of plant stand and plant height and at the end of the experiment were determined fresh and dry matter of the species. It was possible to classify the species according to their level of tolerance to the herbicide saflufenacil zucchini = cabotiá > watermelon > sugar beet = cucumber.

KEY-WORDS: SAFLUFENACIL; BIOASSAYS; BIOINDICATOR SPECIES; PERSISTENCE.

REFERÊNCIAS

- 1 ANDRADE, S. R. B. *et al.* Lixiviação do ametryn em Argissolo Vermelho-Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo, com diferentes valores de pH. **Planta Daninha**, v.28, n.3, p.655-663, 2010.
- 2 BASF. Badische Anilin Und Soda-Fabrik. **Kixor a new kind of chemistry - a new kind herbicide**. Disponível em: <http://www.agproducts.basf.com/products/kixor-herbicide.html>. Acesso em: 12/03/2012.
- 3 BLANCO, F. M. G.; VELINI, E. D. Persistência do herbicida sulfentrazone em solo cultivado com soja e seu efeito em culturas sucedâneas. **Planta Daninha**, v.23, n.4, p.693-700, 2005.
- 4 BLANCO, F. M. G.; VELINI, E. D.; BATISTA FILHO, A. Persistência do herbicida sulfentrazone em solo cultivado com cana-de-açúcar. **Bragantia**, v.69, n.1, p.71-75, 2010.
- 5 DAYAN, F. E.; WATSON, S. B. Plant cell membrane as a marker for light-dependent and light-independent herbicide mechanisms of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.101 p.182-190, 2011.
- 6 EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Cnpso, 2006. 412 p.
- 7 FONTES, J. R. A.; SILVA, A. A.; VIEIRA, R. F.; RAMOS, M. M. Lixiviação de herbicidas no solo aplicados com água de irrigação em plantio direto. **Planta Daninha**, v.22, n.4, p.623-631, 2004.
- 8 GEIER, P. W.; STAHLMAN, P. W.; CHARVET, L. D. Dose response of five broadleaf weeds to saflufenacil. **Weed Technology**, v.23, p.313-316, 2009.
- 9 GUERRA, N. *et al.* Seleção de espécies bioindicadoras para os herbicidas trifloxysulfuron-sodium e pyriithobac-sodium. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.10, n.1, p.37-48, jan./abr.2011.
- 10 KNEZEVIC, S. Z.; DATTA, A.; SCOTT, J.; CHARVAT, L. D. Tolerance of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) to pre-emergence and post-emergence application of saflufenacil. **Crop Protection**, v.29, p.148-152, 2010.
- 11 MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A. R. **WinStat**: sistema de análise estatística para Windows. Versão Beta. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2005. (Software).
- 12 MARCHESAN, E. D.; DEDORDI, G.; TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A.; DICK, D. P. Seleção de espécies bioindicadoras para uso em bioensaios de lixiviação e persistência de atrazina no solo. **Pesticidas: revista ecotoxicológica e meio ambiente**, v.21, p.47-54, jan./dez. 2011.
- 13 NUNES, A. L.; VIDAL, R. A. Seleção de plantas quantificadoras de herbicidas residuais. **Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, v.19, p.19-28, jan./dez. 2009.
- 14 SIGMAPLOT for windows. Version 10.0. *Sine loco*: Systat Software Inc., 2006.
- 15 SIKKEMA, P. H.; SHROPSHIRE, C.; SOLTANI, N. Tolerance of spring barley (*Hordeum vulgare* L.), oats (*Avena sativa* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) to saflufenacil. **Crop Protection**, v.27, p.1495-1497, 2008.
- 16 SOLTANI, N.; SHROPSHIRE, C.; SIKKEMA, H. P. Sensitivity of leguminous crops to saflufenacil. **Weed Technology**, v.24, n.2, p.143-146, 2010.

17 WESTBERG, E. D. *et al.* Kixor herbicide (saflufenacil) performance profile university soybean trials. **North Central Weed Science Society Proc.**, v.63, p.188, 2008. Disponível em: < <http://www.ncwss.org/proceed/2008/abstracts/188.pdf>>. Acesso em 12 de setembro de 2012.