

LEANDRO BIANCHI

**EFEITO DE GLYPHOSATE E CLETHODIM ISOLADOS E EM MISTURA EM
*DIGITARIA INSULARIS***

Botucatu

2018

LEANDRO BIANCHI

**EFEITO DE GLYPHOSATE E CLETHODIM ISOLADOS E EM MISTURA EM
*DIGITARIA INSULARIS***

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Agricultura).

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Bianchi, Leandro, 1991-
B577e Efeito de glyphosate e clethodim isolados e em mistura em *Digitaria insularis* / Leandro Bianchi. - Botucatu: [s.n.], 2018
77 p.: fots. color., ils., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2018
Orientador: Edivaldo Domingues Velini
Inclui bibliografia

1. Plantas daninhas - Resistência a herbicidas. 2. Plantas daninhas - Controle. 3. Gramíneas. 4. Efeito sinérgico. I. Velini, Edivaldo Domingues. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

Elaborada por Ana Lucia G. Kempinas - CRB-8:7310

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

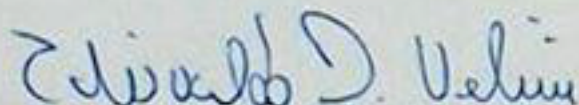
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EFICÁCIA DE GLYPHOSATE E CLETHODIM, ISOLADOS OU EM MISTURA, NO CONTROLE DE
Digitaria insularis

AUTOR: LEANDRO BIANCHI

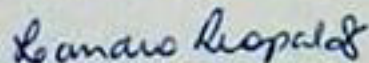
ORIENTADOR: EDIVALDO DOMINGUES VELINI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA
(AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:



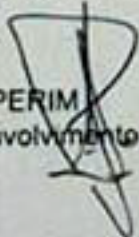
Prof. Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal / FCA / UNESP de Botucatu/SP



Prof. Dr. LEANDRO TROPALDI

Coordenadoria de engenharia Agrônômica / FCAT/Unesp Dracena



Prof. Dr. LUCAS PERIM

Pesquisa e Desenvolvimento / Dow AgroSciences Industrial Ltda

Botucatu, 22 de fevereiro de 2018.

A minha amada avó Marilena (in memoriam)

A Deus, Cristo e Nossa Senhora Aparecida

Aos meus pais amados, Jean e Edna

A minha querida irmã Rafaela

A todos meus familiares

Por serem importantes em minha trajetória

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo;

Aos que mais amo em minha vida, Jean, Edna e Rafaela;

Ao Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini pela orientação, atenção e conselhos em minha pós-graduação;

Ao Prof. Dr. Caio Antônio Carbonari pela contribuição e ajuda;

Prof. Dr. Paulo Roberto de Lima Meirelles pela colaboração;

Ao meu padrinho Luiz Antônio Bressan Gatto e meu tio Luiz Antônio Bianchi que me aconselharam e apoiaram em momentos difíceis de minha vida;

Aos meus familiares, em especial ao meu avô Laercio, minhas avós Alice e Marilena por fazerem parte da minha vida;

Aos amigos do Laboratório Nupam, José Guilherme Cordeiro, José Roberto Marques da Silva e Luiz Marcelo Siono pela amizade, paciência, risadas, aprendizado e colaborações nas atividades realizadas;

A equipe do Laboratório de Bromatologia e todos os funcionários de FCA em especial ao químico Thiago Marcelo Ribeiro Gianeti pelo apoio;

Aos meus amigos da república Murilo Massufaro Giffu, Gabriel Henrique Germino, Lucas Domingos Miranda, Daniel Martins de Souza, Caio Parra e Rafael de Matties por terem se tornado uma segunda família;

A todos os amigos do NUPAM, em especial Vitor Muller Anunciato, Tiago Gazola, Jonas Leandro Ferrari, Vinícius Molina, Roque de Carvalho Dias, Saulo Simões, Gabrielle Macedo, Renas Fonsceca Nascentes que foram fundamentais para produção deste trabalho;

Aos meus amigos da faculdade Ana Laura Favoreto, Ramon Argentini Rizzieri, Victória Paciléo Trevisan, Olavo Candolo, Júlio Zanella, Thiago Beneton, Bruna Ferregutti, Julia Ifanger Faria e a todos os integrantes da república Xilindró pelas risadas e ótimos momentos de descontração em todos esses anos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), grande financiadora deste projeto;

A Faculdade de Ciências Agronômicas por ser minha formadora;

Obrigado!

“Livros não mudam o mundo,
quem muda o mundo são as pessoas.
Os livros só mudam as pessoas”.

Mario Quintana

RESUMO

Devido ao uso frequente do glyphosate na agricultura, o capim-amargoso (*Digitaria insularis*) tornou-se uma das plantas daninhas mais problemáticas no Brasil, por adquirir resistência a esse herbicida. Biótipos resistentes em estádios iniciais são facilmente controlados por graminicidas, porém em estágio mais avançado o controle é reduzido. O herbicida clethodim é um graminicida com alta eficiência, portanto, verificar o controle de biótipos resistentes ao glyphosate em diferentes estádios, com o uso isolado de clethodim e em mistura com o glyphosate é fundamental para auxiliar no manejo desta invasora. Assim o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de glyphosate, clethodim e glyphosate + clethodim, em biótipo de *D. insularis* resistente e suscetível. O ensaio foi realizado em casa de vegetação, inteiramente casualizado, com quatro repetições e repetido em duas épocas do ano. As aplicações foram realizadas em estágio inicial (15 – 20 cm) e em florescimento. Avaliou-se o controle aos 21 dias e o peso da biomassa seca. Para a mistura dos produtos, foi verificada a interação entre os herbicidas: efeito sinérgico, antagônico ou aditivo. No ensaio com plantas em estágio inicial, avaliou-se a concentração de lipídeos na biomassa seca. De forma geral, a aplicação de clethodim aplicado isoladamente controlou o biótipo resistente em estágio inicial, porém em florescimento a eficácia foi reduzida. A mistura mostrou-se eficiente para controle de biótipo resistente em estágio inicial e em florescimento. Considerando as avaliações visuais de controle, a interação entre glyphosate e clethodim apresentou efeito sinérgico para doses intermediárias e aditivo para as maiores doses considerando o estágio inicial; em plantas florescidas, predominaram os efeitos aditivos para todas as doses. Para massa seca, a mistura teve interação sinérgica em todas as doses e estádios avaliados. As menores doses dos dois herbicidas reduziram os teores de lipídeos.

Palavras-Chave: capim-amargoso, resistência a herbicidas, efeito sinérgico, extrato etéreo

ABSTRACT

Due to frequent use of glyphosate in agriculture, sourgrass (*Digitaria insularis*) has become one of the most problematic weeds in Brazil for purchase resistance to this herbicide. Resistant biotypes in initial stages are easily controlled by graminicides, but in a more advanced stage the control is reduced. The herbicide clethodim is a graminicide with high efficiency, therefore, to check the control of resistant biotypes of glyphosate in different stages, with the isolated use of clethodim and in mixture with the glyphosate is fundamental to assist in the management of this weed. Thus the experiment was aimed at evaluate the action of glyphosate, clethodim and glyphosate + clethodim, in a resistant and susceptible biotype of *D. insularis*. The experiment was carried out in a greenhouse, completely randomized, with four replications and repeated at two times of the year. The applications were performed in the initial stage (15 - 20 cm) and flowering. Plants were evaluated at 21 days after application (DAA) and dry biomass weight. For the mixture of products, the interaction between the herbicides was also verified: synergistic, antagonistic or additive effect. In the experiment with plants at the initial stage, was evaluated the lipid concentration in the dry biomass. In general, the application of clethodim applied alone controlled the resistant biotype at the initial stage, but in flowering the efficiency was reduced. The mixture showed to be efficient for control of resistant biotype in initial and flowering stages. Considering the visual evaluations of control, the interaction between glyphosate and clethodim showed synergic effect for intermediate doses and additive for the highest doses considering the initial stage; in flowered plants, with the additive effects predominating for all as doses, the additive effect prevailed for all doses. For dry mass, the mixture had synergistic interaction at all doses and evaluated stages. Lower doses of both herbicides reduced lipid levels.

Key-words: sourgrass, herbicide resistance, synergistic effect, ethereal extract

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Biologia e resistência de capim-amargoso ao glyphosate	19
2.2	Modo de ação do glyphosate.....	21
2.3	Modo de ação de ACCase	25
2.4	Manejo de <i>Digitaria insularis</i>	27
2.5	Sinergismo e Antagonismo	29
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1	Curva de dose-resposta de glyphosate em biótipo resistente e suscetível de <i>Digitaria insularis</i>	35
3.2	Curva de dose-resposta de clethodim em biótipo resistente e suscetível de <i>Digitaria insularis</i>	36
3.3	Avaliação da resposta de biótipo resistente e suscetível de <i>Digitaria insularis</i> a aplicação de glyphosate + clethodim.....	36
3.4	Interação entre glyphosate e clethodim.....	37
3.5	Concentração de extrato etéreo	38
3.6	Análise Estatística	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1	Curva de dose-resposta de glyphosate em biótipo resistente e suscetível de <i>Digitaria insularis</i>	43
4.2	Curva de dose-resposta de clethodim em biótipo resistente e suscetível de <i>Digitaria insularis</i>	49
4.4	Interação entre glyphosate e clethodim.....	61
4.5	Extrato Etéreo	67
5	CONCLUSÕES	69
	REFERÊNCIAS	70

1 INTRODUÇÃO

Resistência das plantas daninhas a herbicidas é um problema de grande importância na agricultura nos dias atuais. O uso inadequado, excessivo e/ou sucessivo de um ou mais ingredientes ativos com mesmo mecanismo de ação pode selecionar biótipos em uma população com capacidade de sobreviver a doses que os controlariam em condições normais de aplicação. No mundo, existem inúmeras plantas daninhas resistentes a diversos herbicidas. Atualmente no Brasil existem 49 casos de resistência em 28 espécies de plantas daninhas (HEAP, 2018).

Dentre estas plantas, *Digitaria insularis* (L.) Mez ex Ekman destaca-se por ser resistente ao herbicida de maior uso na agricultura, o glyphosate, responsável por inibir a enzima enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase (EPSPs) que sintetiza os aminoácidos (triptofano, fenilalanina e tirosina) em plantas (DUKE; POWLES, 2008).

A interferência destas plantas pode causar redução na produtividade das culturas. O capim-amargoso pode reduzir o rendimento da soja em 23% e 44% na presença de 1 a 3 plantas m⁻² e 4 a 8 plantas m⁻² respectivamente (GAZZIERO, 2012).

Existem duas categorias de mecanismos que conferem resistência de plantas daninhas aos herbicidas: relacionadas ao sítio de ação; e não relacionadas ao sítio de ação. No primeiro grupo se enquadra quando o herbicida tem absorção e translocação limitada, metabolização ou compartimentalização no vacúolo. No segundo, pode ocorrer mudança no sítio de ação ou superexpressão da enzima alvo. O primeiro caso de resistência de *D. insularis* foi relatado em 2005 no Paraguai, atingindo o Brasil em 2008 no Paraná em lavouras de soja e milho (HEAP, 2018), de acordo com Carvalho et al. (2012) os mecanismos de resistência desta planta daninha estão relacionados com baixa absorção inicial, translocação limitada, degradação do glyphosate em compostos não tóxicos e através da mutação com mudança de aminoácidos.

Para realizar o controle de *D. insularis* resistente há opções de diferentes herbicidas com outros mecanismos de ação, como por exemplo, o clethodim, um inibidor da síntese de lipídeos (graminicida), podendo atingir bons níveis de controle isoladamente, em mistura e em aplicação sequencial (LICORINI, et al. 2015; GEMELLI, et al. 2013; MELO, et al. 2012).

A mistura de herbicidas pode trazer alguns benefícios como a diminuição de custos, menor movimentação de máquinas na lavoura, menor compactação do solo, além de auxiliar tanto no manejo de plantas daninhas resistentes, como na prevenção para o aparecimento de novas resistências (GUIMARÃES, 2014). Estádio de aplicação, química do produto, doses utilizadas, entre outros, são fatores que atuam na interação da mistura, podendo causar efeitos antagônicos (menor do que o esperado), efeitos sinérgicos (maior do que o esperado) ou efeito aditivo (igual ao esperado).

O objetivo foi avaliar o desempenho do glyphosate, clethodim e da mistura entre glyphosate + clethodim aplicados em biótipos de *D. insularis* suscetível e resistente ao glyphosate. Bem como, verificar a interação entre a mistura de glyphosate + clethodim.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biologia e resistência de capim-amargoso ao glyphosate

Uma das ferramentas mais utilizadas mundialmente para o manejo de plantas daninhas é o controle químico com herbicidas. Porém, o manejo de plantas daninhas não se resume a uma receita pré-determinada, há necessidade de conhecer a biologia, a fenologia e as características morfológicas e reprodutivas destas plantas para entender como se comportam no ambiente, sendo então possível realizar através da combinação de métodos o manejo sustentável e correto delas.

O capim-amargoso (*Digitaria insularis*) é nativo de regiões subtropicais e tropicais da América. É herbácea, entouceirada, rizomatosa e pode atingir até 150 cm de altura. Pertence à família Poaceae com metabolismo fotossintético tipo C4 e se desenvolve nas regiões Centro-Oeste, Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil, podendo ser dispersa tanto por partes vegetativas como pela produção de sementes (MOREIRA; BRAGANÇA, 2010; GAZZIERO, 2006).

Suas sementes são revestidas por pelos que auxiliam na disseminação pelo vento a longas distâncias, em uma mesma touceira ocorrem vários fluxos de florescimento, sendo que, cada fluxo pode produzir em média 6,5 mil a 50 mil sementes por planta, ou seja, é considerada uma planta com alta capacidade disseminação (LORENZI, 2000; KISSMANN; GROTH, 1997).

A germinação de sementes pode ou não ser influenciada por ausência e presença de luz. Mondo et al. (2010) constatou que em temperaturas constantes ao redor de 20° C e 30° C a germinação de *D. insularis* dependia da presença de luz, em contrapartida em temperaturas com uma amplitude maior, em torno de 15° C a 35° C a germinação pode ocorrer tanto na ausência quanto na presença da luz, podendo atingir 90% de germinação após 10 dias. Tais dados foram corroborados por Martins (2013), que relatou alta taxa de germinação em temperaturas de 20, 25 e 30°C em presença de luz.

A profundidade também afeta germinação tanto de biótipos suscetíveis quanto de resistentes ao glyphosate, sendo que em profundidades superficiais (1 a 3 cm) a germinação pode alcançar níveis de 80% e, à medida que profundidade aumenta, a taxa de germinação diminui, podendo atingir 10% em 4 cm e até mesmo não germinar entre 7 a 10 cm (MARTINS, 2013).

Outra característica de grande importância do capim-amargoso é o seu desenvolvimento, inicialmente entre 35 a 45 dias após sua emergência (DAE), por não ter rizoma, seu crescimento é lento, deixando-o menos competitivo em relação a outras invasoras. Porém, dos 45 aos 105 DAE é marcado por um crescimento exponencial, no qual ocorre o desenvolvimento de rizomas, tornando-a mais vigorosa e competitiva (MACHADO et al., 2008).

A variabilidade genética em uma população denota que há diferentes características entre as plantas de uma mesma espécie. Além da resistência ao glyphosate, biótipos de *D. insularis* possuem outras características que lhes conferem vantagens em relação aos biótipos que são considerados suscetíveis, como por exemplo: em condições de estresse hídrico os biótipos resistentes possuem maior capacidade de germinação, seu crescimento é mais acelerado e florescerem antes do que biótipos suscetíveis (MARTINS, 2013).

Apesar de ser classificada como uma planta autógama, o capim-amargoso apresenta taxa de polimorfismo em torno de 56% (MARTINS, 2013), caracterizando alta variação na sequência genética entre biótipos suscetíveis e resistentes. Essa variabilidade genética pode ser explicada pelo fato do capim-amargoso apresentar também uma taxa de fecundação cruzada (em torno de 8%). O poliformismo pode implicar em diferenças morfológicas, fisiológicas e genéticas, as quais foram observadas por Machado (2008), podendo alterar significativamente sua resistência ao herbicida glyphosate e aos demais herbicidas, como por exemplo, resistência múltipla a clodinafop e glyphosate na Bolívia (FRANCO; CONDORI; FLORES, 2015).

Duas categorias podem classificar os mecanismos com conferem resistência a plantas daninhas: mecanismos não relacionados ao sítio de ação (absorção e translocação limitada, metabolização e compartimentalização no vacúolo) e mecanismos relacionado ao sítio de ação (mudança no sítio de ação e superexpressão da enzima alvo).

Absorção e translocação limitada do herbicida podem ocorrer por diferenças na morfologia e anatomia foliar das plantas ou pelo acúmulo de herbicidas no vacúolo. A metabolização do herbicida leva a inativação deste, sendo menos específica e com fator de resistência geralmente não tão alto, porém com maior chance de causar resistência múltipla. A compartimentalização do herbicida pode ocorrer em função de seu sequestro no vacúolo das células ou tecidos, mesmo estando distante do sítio de ação. A mudança no sítio de ação geralmente provoca um fator de

resistência extremamente alto, com alta especificidade. E a superprodução da enzima alvo é uma maior expressão do gene (POWLES; YU, 2010; CHRISTOFFOLETI; FILHO; SILVA, 1994).

O primeiro caso mundial de resistência do capim-amargoso ao herbicida glyphosate foi relatado em 2005, no Paraguai, em lavouras de milho, soja e algodão. No Brasil, em 2008, relatou-se o primeiro caso no Paraná, em lavouras de milho e soja. Mais recentemente, em 2016, foi relatada resistência de capim-amargoso aos herbicidas fenoxaprop e haloxyfop em lavouras de soja do Mato Grosso (HEAP, 2018).

O fator de resistência de *D. insularis* ao glyphosate encontrado por alguns autores gira em torno de 5,6 a 8,0, sendo considerados relativamente baixos (CARVALHO, 2011; CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEREJO, 2008). Dentre os cinco mecanismos de resistências alguns estudos demonstram que o capim-amargoso possa ter resistência por absorção, translocação, metabolização, ou mudança no sítio de ação do herbicida.

De acordo com Machado et al. (2008), em relação à absorção e translocação, biótipos resistentes possuem algumas características anatômicas que prejudicam a absorção, como baixa quantidade de estômatos, maiores quantidade de xilema em relação ao floema e cutícula mais espessa e com maior quantidade de cera.

Carvalho (2011) detectou também que biótipos resistentes são capazes de metabolizar rapidamente o glyphosate em AMPA, glioxilato e sarcosina. No entanto, não foi mensurada a atividade das enzimas envolvidas neste processo. E alterações enzimáticas na enzima EPSPs nos biótipos resistentes foram relatadas, com mudança nos aminoácidos na posição 182 e 310, substituindo uma prolina por treonina e tirosina por cisteína, respectivamente, o que reduz a afinidade da EPSPs pelo glyphosate, prejudicando a ação do herbicida.

2.2 Modo de ação do glyphosate

Devido ao seu amplo espectro de ação, o glyphosate era utilizado apenas para o controle de plantas daninhas em culturas de plantas perenes, pois seu custo era elevado. Posteriormente após a queda do preço desta molécula, outras aplicações começaram a ser feitas, como uso no plantio direto, cultivo mínimo em florestas de eucalipto, integração lavoura-pecuária, eliminação de soqueiras, maturador de cana-

de-açúcar, uso em áreas não agrícolas e uso em culturas transgênicas resistentes ao glyphosate (VELINI et al., 2012).

Características como alta eficiência no controle de plantas invasoras, baixo custo, baixa toxicidade para o ser humano, baixo impacto e poluição ambiental, além de proporcionar um aumento de produtividade de diversas culturas, fizeram com que o glyphosate se tornasse o herbicida mais utilizado e estudado no mundo (GIANESSI, 2004; GALLI, 2009; DUKE; POWLES, 2008).

Essa molécula é responsável pelo bloqueio da produção da enzima 5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase (EPSPs), que catalisa a síntese de três aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano e tirosina), fundamentais para o desenvolvimento das plantas. Foi descoberta em 1950, no entanto, somente em 1971 o glyphosate começou a ser utilizado como herbicida, (LUCHINI, 2009).

É um herbicida empregado em pós-emergência, sistêmico, com amplo espectro de ação (controla tanto plantas eudicotiledôneas como monocotiledôneas), podendo ser translocado tanto via xilema como via floema, porém preferencialmente pelo floema. Considerado um ácido fosfônico fraco, pertence ao grupo das glicinas, e possui características como meia vida aproximada de 22 dias em condições anaeróbicas ou ao redor de 96 dias em condições aeróbicas e alta solubilidade em água (DICK; QUINN, 1995). Ainda apresenta K_{ow} (coeficiente de partição octanol-água) relativamente baixo, baixa bioacumulação, por possuir elevado coeficiente de adsorção no solo, e pode ser inativado ou rapidamente degradado por ação de uma grande gama de microrganismos presentes no solo (FRANZ; MAO; SIKORSKI, 1997; LINDERS et al., 1994).

Há duas formas de entrada do glyphosate nas células das plantas: de forma passiva (sem gasto de energia), ou através de um sistema ativo (com gasto de energia), podendo ou não ter auxílio de um carreador, o mesmo utilizado pelo fósforo (SHANER, 2009). Após a absorção do herbicida, como possui caráter sistêmico, irá se translocar na planta até atingir seu sítio de ação, para assim inibir a enzima específica e posteriormente causar os sintomas, que geralmente levam a morte. No caso do glyphosate, embora possua rápida translocação para raízes e partes meristemáticas, seus sintomas evoluem de maneira lenta, variando muito o período de controle de acordo com o estágio e espécie da planta. De maneira geral, ocorre primeiramente a clorose foliar, podendo ainda apresentar em alguns casos folhas

com aspectos de coloração arroxeadada em algumas espécies e posterior necrose e morte da planta (MONQUERO et al., 2004).

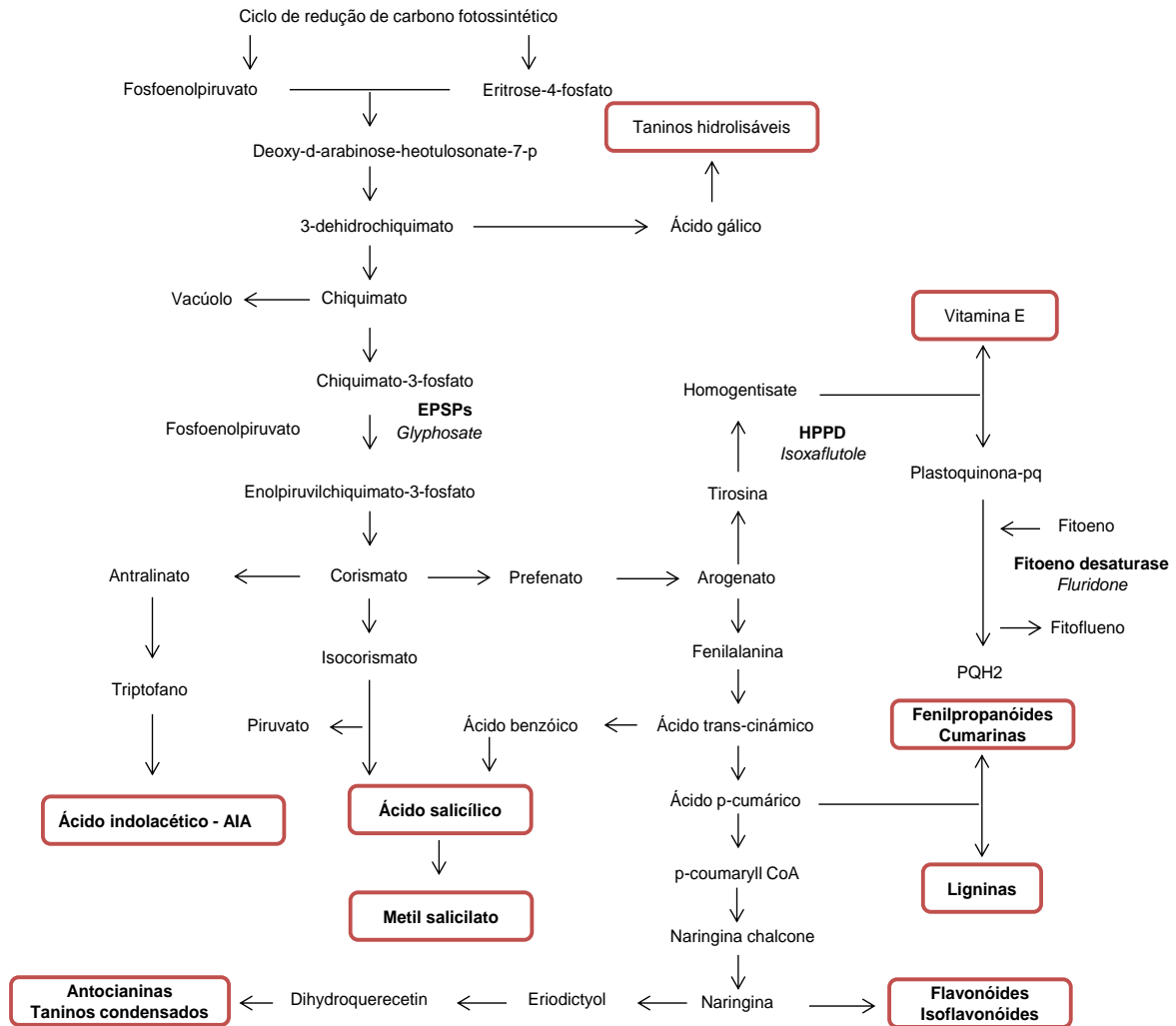
Para que um herbicida consiga ter uma boa ação na planta, Velini et al. (2009) citam alguns fatores que são importantes desde o contato da gota com a folha até sua ação final, como: concentração da dose aplicada, quantidade de absorção e penetração, translocação até o ponto alvo e inativação do herbicida.

A rota do ácido chiquímico produz um composto denominado corismato, o qual é precursor da formação de aminoácidos aromáticos, que atuam tanto como protetores como mediadores de crescimento nas plantas. Antes do corismato ser sintetizado, existem etapas que também são importantes na rota do ácido chiquímico (Figura 1). Inicialmente ocorre a combinação do fosfoenolpiruvato (PEP) com a eritrose-4-fosfato (E4P), da via pentose-fosfato, formando o metabólito 3-Deoxi-D-Arabino-Heotulose-7-fosfato (DAHP), que por sua vez forma o composto 3-desidroquinato (DHQ), podendo sintetizar taninos hidrolisáveis a partir da formação de ácido gálico, ou formar o corismato através da produção do chiquimato (TAIZ; ZEIGER, 2013; RIPPERT et al., 2004; OSSIPOV, 2003).

Após a produção de chiquimato por intermédio da enzima chiquimato quinase em uma reação de fosforilação, é formado o chiquimato-3-fosfato (S3P), que por sua vez se liga a enzima EPSPs para formar o complexo EPSPs-S3P. Posteriormente, um outro PEP entra na rota do ácido chiquímico para se ligar ao complexo EPSPs-S3P, produzindo enolpiruvilchiquimato-3-fosfato e fosfato inorgânico. EPSPs é produzida no núcleo e atua no cloroplasto, e como citado anteriormente, a molécula de glyphosate age na inibição desta enzima, atuando de maneira não competitiva pelo S3P e competitiva pelo PEP (HESS, 1993), tendo uma afinidade 75 vezes maior pelo complexo EPSPs-S3P em relação ao PEP (REAM et al., 1992).

Algumas substâncias na rota do ácido chiquímico são produzidas inicialmente antes da formação do corismato, a exemplo dos taninos hidrolisáveis, originados a partir do ácido gálico, não tendo sua formação comprometida pelo bloqueio da EPSPs. Em contrapartida, a produção de taninos condensados é afetada por esse bloqueio, por justamente diminuir a disponibilidade de seu precursor, fenilalanina (VELINI et al., 2009). Os taninos são importantes para animais e microrganismos, e podem formar até 50% da massa seca de alguns vegetais (MILA; SCALBERT; EXPERT, 1996).

Figura 1 - Rota do ácido chiquímico e produção de aminoácidos aromáticos e alguns compostos fenólicos.



Fonte: Velini et al., 2012.

Não é possível generalizar que, mesmo após a ação do glyphosate na planta, os produtos distantes do local de ação do herbicida serão altamente reduzidos, pois sistemas de controle da rota podem compensar a menor síntese de alguns compostos. Quanto menor for a quantidade de reações necessária para produzir um determinado composto após o sítio de ação, maior será a eficiência do herbicida em reduzir a produção deste. Os três aminoácidos aromáticos produzidos pela rota do ácido chiquímico (triptofano, fenilalanina e tirosina) tem grande importância tanto no desenvolvimento dos vegetais como auxiliar na proteção de plantas e atuam como agentes de defesa. Todas as enzimas são direta ou indiretamente dependentes destes aminoácidos, fundamentais para processos metabólicos e eventos

bioquímicos, ou seja, sua redução afetará indiretamente todos esses processos (VELINI et al., 2012).

A inibição destes aminoácidos afeta a produção de compostos como: antocianinas, lignina, ácido salicílico, compostos fenólicos, isoflavonóides, flavonoides, ácido indolacético (AIA), entre outros. Estes compostos possuem diversas características importantes para as plantas, podendo auxiliar na proteção à ação da luz e mecanismo de defesa (LOPES et al., 2007), neutralizar radicais livres (BRENNAN; PAGLIARINI, 2001; ZHENG; WANG, 2001), promover crescimento meristemático (VENDE BROEK; VANDERLEYDEN, 1995), dentre outras funções.

Atualmente, com o advento de culturas geneticamente modificadas resistente ao glyphosate, e o uso excessivo deste herbicida, diversos biótipos resistentes de plantas daninhas foram selecionadas. Até o momento foram relatadas no Brasil oito espécies resistentes ao glyphosate: buva (*Conyza bonariensis*, *Conyza sumatrensis*, *Conyza canadensis*); capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*); azevém (*Lolium multiflorum*); capim-branco (*Chloris elata*); capim-amargoso (*Digitaria insularis*); e caruru (*Amaranthus palmeri*) (HEAP; DUKE, 2017).

2.3 Modo de ação de ACCase

Os herbicidas que compõem os inibidores da ACCase estão presentes basicamente em dois grupo: os Ariloxifenoxipropionatos (APPs), introduzidos na década de 70, também conhecidos como “fops”, e os pertencentes ao grupo das Ciclohexanodionas (CHDs) introduzidos na década de 80, também conhecidos como “dims”. Alguns exemplos de herbicidas do grupo dos APPs são: haloxyfop, fluazifop, quizalafop e diclofop; e dos herbicidas das CHDs são: clethodim, sethoxydim, clefoxydim e tepraloxym. Além destes dois grupos existe também um terceiro, denominado fenilpirazolinás (PPZ), tendo como único ingrediente ativo registrado o pinoxaden, que foi introduzido no mercado em 2006 (OVEJERO et. al., 2016).

O modo de ação inicia-se desde o contato do herbicida até sua ação final, ou seja, desde absorção até os sintomas que as plantas apresentam e geralmente culmina em sua morte. No caso dos inibidores de ACCase, os herbicidas são absorvidos via foliar, translocados pelo floema e com baixa persistência no solo (OLIVEIRA JR, 2011). Para ocorrer absorção nas folhas o caminhar do produto é mais difícil do que quando absorvido pela raiz, pois existe uma camada

impermeável nas células da epiderme, denominada cutícula. Esta é composta por cutina (hidrofóbica), ceras (hidrofóbica), pectinas (hidrofílica) e celulose (hidrofílica), revestindo a epiderme, tricomas e os estômatos. Além da cutícula a última e mais importante barreira à absorção é a membrana, que regula a entrada de compostos através da permeabilidade seletiva (RODRIGUES, 2009).

Estes herbicidas atuam na rota de produção de lipídios, que por sua vez são moléculas orgânicas que são resultantes da associação de ácidos graxos e desempenham um papel importante na estrutura de alguns constituintes das plantas, compostos por uma molécula de glicerol e três de ácidos graxos, podem atingir até 10% do peso das plantas. São constituintes de ceras, cutinas e suberinas e possuem papéis específicos na fotossíntese (clorofilas, carotenoides e pastoquinonas), além de compor a estrutura das membranas (fosfolipídios) (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Para ocorrer a síntese de lipídeos, a enzima Acetil-Coenzima A carboxilase (ACCase) tem o papel de acelerar a carboxilação de Acetil coenzima A (acetil-CoA) em Malonil coenzima A (malonil-CoA), portanto quando o herbicida atua nessa enzima a produção de lipídeos fica comprometida, afetando a estrutura das membranas, o que leva ao extravasamento de metabólitos e conseqüentemente a morte das plantas. As plantas não tem a capacidade de transportar ácidos graxos, geralmente cada célula sintetiza os próprios ácidos graxos, que são formados predominantemente nos plastídios. A primeira reação que ocorre para produção de lipídeos é o acetato mais piruvato que gera a acetil-CoA. Posteriormente a acetil-CoA é convertida à malonil-CoA através da adição de um CO₂ e da ação da ACCase, que é uma enzima específica que realiza o catabolismo desta conversão, sendo encontrada no estroma dos plastídeos ou no citosol. (ROMAN, et al. 2007).

A ACCase é uma enzima dependente de uma vitamina (Biotina), a qual liga-se a uma lisina da ACCase e atua como grupo prostético dessa enzima. A ACCase é composta por três domínios funcionais (TONG, 2013):

- BCCP ou BCC: proteína carregadora de carboxil-biotina
- BC: biotina carboxilase
- CT: carboxil transferase (subunidades α e β)

Em células eucarióticas, os domínios BC, CT e BCCP da ACCase dispõem-se em apenas um único polipeptídeo multifuncional, considerada uma enzima com

multidomínios, porém em células procarióticas são divididas em três subunidades (NELSON, D. L.; COX, M. M. 2011; TONG, 2013).

Existem dois tipos da enzima ACCase: heteromérica e homomérica. As dicotiledôneas possuem as duas formas, heteromérica presente nos plastídios, similar a de células procarióticas, e a homomérica no citosol, similar a ACCase de multidomínios dos eucarióticos, porém a família das gramíneas possuem apenas a forma homomérica tanto no plastídio como no citosol. ACCase heteromérica é composta de 4 subunidades, BCCP, BC, CT α e CT β . A homomérica é composta de simples polipeptídeo com três domínios funcionais (BCCP, BC e CT sem as subunidades) (SASAKI; NAGANO, 2004).

Os herbicidas que inibem a ACCase atuam apenas na forma homomérica, inibindo assim a síntese de lipídeos das gramíneas e conseqüentemente controlando-as, já a forma heteromérica das dicotiledôneas é suficiente para que ocorra a produção de malonil-CoA, e portanto, para sua sobrevivência. ACCase é uma enzima que usa energia para adicionar o bicarbonato a uma cadeia de carbonos. Os domínios BC e CT são responsáveis pelas atividades catalíticas, que dependem de ATP, Mg²⁺ e HCO₃⁻, resultando na carboxilação de acetil-CoA para formação de malonil-CoA. Malonil-CoA formada nos plastídeos é usada para a síntese de novos ácidos graxos, e a malonil-CoA citosólica é utilizada na elongação dos ácidos graxos de cadeia muito longa e formação de metabólitos secundários, como flavonoides e suberinas (DÉYLE, 2005).

A última etapa do modo de ação são os sintomas que as plantas apresentam. No caso dos inibidores da ACCase, a intoxicação geralmente ocorre em regiões meristemáticas. Em gramíneas a atividade da ACCase é maior na bainha e na base das folhas jovens em crescimento, sendo característica a paralização do crescimento, meristemas destacados com facilidade e efeito lento. Meristemas próximos ao entrenó também podem tornar-se marrons, podendo até se desintegrarem, e as folhas muitas vezes adquirem coloração arroxeadada ou cloróticas quando são recém-formadas (OLIVEIRA JUNIOR., 2011; ROMAN, et al. 2007).

2.4 Manejo de *Digitaria insularis*

Por serem de difícil controle, plantas daninhas resistentes além de afetar diretamente a desempenho das culturas, também aumentam o custo no manejo. No

ano agrícola 2016-2017, os custos para controle de plantas daninhas foram de, aproximadamente, US\$ 40 a 120 ha⁻¹, porém podem aumentar US\$ 25 a 84 ha⁻¹ quando plantas daninhas resistentes estão presentes na área cultivada (ADEGAS et al., 2017)

Em relação o capim-amargoso, estudos de mapeamento de biótipos resistentes realizados por Melo (2016) demonstraram a presença desta espécie em municípios do estado de São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso, sendo o Paraná o estado com maior número de biótipos encontrados, 39.

A presença de biótipos resistentes ao glyphosate em diversas lavouras é realidade nos sistemas de produção do Brasil e ter o conhecimento de como maneja-los é fundamental para evitar prejuízos na produtividade. Uma das alternativas que podem ser adotadas para o controle é a aplicação de herbicidas em pré-emergência, como por exemplo, s-metolachlor e flumioxazim + imazethapyr aplicados na cultura do feijão (DREHMER et al., 2015).

Outras maneiras também podem ser tomadas, como o uso da palhada das culturas de entressafra (GAZZIERO et al., 2013), ou ainda o uso de graminicidas aplicados em estágio iniciais na pós-emergência, sendo que uma das principais ferramentas utilizadas são os inibidores de ACCase, os quais apresentam bons resultados no controle em mistura com o glyphosate quando aplicados em biótipo resistente de capim-amargoso (ADEGAS et al., 2010). Em biótipos de azevém (*L. multiflorum*) resistente, Rizzardi et al. (2006) obtiveram controle eficaz com aplicação de inibidores de ACCase (quizalafop e clethodim), o mesmo obtido em *D. insularis* com aplicação de clethodim a partir de 0,4 L ha⁻¹ (SPADER; MATERA, 2010).

Porém o maior problema ocorre quando o capim-amargoso pereniza, dificultando o controle desta daninha. Uma solução para esta situação é o uso da mistura de herbicidas, que é considerado uma pratica ilegal no Brasil (MINGUELA; CUNHA, 2010), porém as moléculas utilizadas na defesa fitossanitária na agricultura não possuem amplo espectro de ação ao ponto de controlarem um conjunto de problemas fitossanitários, o que leva os agricultores a realizarem a prática da mistura de produtos em suas propriedades. Recentemente foi enviada uma sugestão de “Instrução Normativa para Regulamentação das Misturas em Tanques”, a qual permitirá a regulamentação da mistura de produtos, e conseqüentemente poderá trazer benefícios e informação mais precisas para o agricultor, entretanto ainda não foi aprovada por órgãos legais (GAZZIERO, 2017).

Mistura pode ser definida como associação de produtos fitossanitários e afins no tanque de um equipamento de aplicação, imediatamente antes da pulverização (GAZZIERO, 2015a). Diversos aspectos podem ser vantajosos a partir da formação da mistura, como redução do impacto ambiental, através da menor persistência de alguns produtos pelo fato de serem utilizadas doses menores que as recomendadas, diminuição da quantidade da circulação de máquinas na lavoura, dos custos de aplicação, do combustível e do volume de água usada na calda, além de proporcionar menor compactação do solo, reduzir a exposição do aplicador ao produto e prevenir a ocorrência de resistência (GUIMARÃES, 2014). Em pesquisa sobre as práticas adotadas nas propriedades, Gazziero (2015b) constatou que geralmente são utilizados de dois a cinco produtos em apenas uma aplicação.

Nesta condição, o uso de mistura entre diversos herbicidas recomendados para controle de amargoso combinados com glyphosate são uma excelente opção, Barroso et al. (2014) obtiveram níveis satisfatórios de controle com aplicação de glyphosate combinado com haloxyfop, clethodim ou quizalafop aplicados em plantas com 3 a 4 perfilhos. Entretanto somente com aplicação sequencial é possível obter controle quando o amargoso está em estágio de pleno florescimento, como observado por Zobiolo et al. (2016) com diversas doses de haloxyfop combinado com glyphosate, ou clethodim combinado com glyphosate e posteriormente acrescentado uma aplicação sequencial com glyphosate + clethodim.

Portanto, a mistura de outros herbicidas com o glyphosate tem se mostrado uma excelente opção para auxiliar no manejo de plantas resistente e especialmente, os inibidores de ACCase em gramíneas, como o clethodim. Entretanto essas combinações podem gerar resultados positivos ou negativos, que precisam ser elucidados para realizar um bom manejo de planta daninha.

2.5 Sinergismo e Antagonismo

A alteração ocasionada pela adição de outro composto no tanque de aplicação pode provocar mudanças na absorção, translocação e metabolização dos herbicidas, e conseqüentemente afetar o desempenho destes produtos. A interação de diferentes moléculas na calda de herbicida pode acontecer tanto após a aplicação como antes da aplicação, bem como fora ou dentro da planta (FIGUEIREDO, 2015).

Outros aspectos que podem ser levados em consideração ao tipo de interação entre herbicidas em uma mistura, é a espécie alvo e o estágio de aplicação. Por exemplo, o efeito antagônico apresentado em *Xanthium strumarium* e o efeito sinérgico em *Sida spinosa* com mistura de fomesafen ou acifluorfen com imazaquin (WESLEY; SHAW, 1992), ou o efeito sinérgico observado em *Digitaria insularis* em estágio inicial, e o efeito antagônico para a mesma espécie em estágio mais avançado com a mistura de glyphosate e sethoxydim (BARROSO et al., 2014).

Quando produtos são misturados, podem ocorrer três tipos de efeitos: antagônico, sinérgico e aditivo. Antagonismo é quando a mistura de produtos exerce ação inferior em relação à ação individual dos produtos, sinergismo é o inverso, a eficiência da mistura é superior comparada com a eficiência dos produtos isolada, e se efeito da soma dos produtos for igual ao efeito dos produtos isolados, é considerado efeito aditivo (COLBY, 1967).

Em herbicidas, o sinergismo é caracterizado quando há um aumento do controle de determinada planta daninha, isso pode ocorrer devido a uma maior absorção e translocação, ou seja, uma potencialização na eficiência de penetração do herbicida, capaz de alterar as propriedades da calda, isso ocorre geralmente com uso de adjuvantes e surfactantes, mas também em alguns casos a própria mistura com outros herbicidas podem causar esse efeito (WANG; LIU, 2007).

Existem quatro tipos de antagonismos causados por herbicidas: fisiológico, competitivo, químico e bioquímico. Quando há contradição entre o modo de ação dos herbicidas aplicados, o antagonismo é denominado fisiológico, podendo ocorrer, por exemplo, quando um herbicida é mais ativo do que o outro, assim anulando a ação do outro. Há antagonismo competitivo quando um herbicida liga-se a um sítio ativo e bloqueia a interação do outro herbicida. No antagonismo químico, como o próprio nome já diz, ocorre uma reação que modifica as propriedades físico-químicas da calda, o que leva o composto ficar menos ativo ou inativo. E o antagonismo bioquímico ocorre quando há redução da quantidade de herbicida que atinge o sítio de ação, tendo como principais características a diminuição da penetração e translocação, ou ainda pela inativação metabólica de algum dos herbicidas usados na mistura (GREEN, 1989; HATZIOS; PENNER, 1985).

Por ter um amplo espectro de controle, o glyphosate é combinado com diversos herbicidas diferentes para obter um melhor manejo. De maneira geral, a mistura de glyphosate com herbicidas de translocação sistêmica tende a ter efeito sinérgico,

pois favorece sua absorção e translocação em plantas, como exemplo os inibidores auxínicos e inibidores da ALS. Entretanto, quando ele é combinado com herbicidas de contato, geralmente ocorre antagonismo à mistura, pois a atuação destes herbicidas ocorrem nas membranas celulares das folhas, o que prejudica a absorção e translocação do glyphosate (VIDAL et al., 2016), com exemplo o diquat, que até possui uma relação sinérgica em relação a produção de lesões visuais rápidas, contudo, não apresenta controle a longo prazo e não previne a rebrota, caracterizando o antagonismo (WEHTJE; ALTLAND; GILLIANI, 2008).

Mesmo sendo considerados herbicidas sistêmicos, os inibidores de ACCase quando combinado com latifolicidas, geralmente mostram efeito antagônico, como por exemplo, o antagonismo apresentado pela mistura entre clodinafop-propargyl e 2,4-D em *Lolium multiflorum* (TREZZI et al., 2007). Dentre as espécies resistentes ao glyphosate no Brasil, quatro são gramíneas: *Eleusine indica*, *Chloris elata*, *Lolium multiflorum* e *Digitaria insularis*. Justamente para proporcionar um melhor controle delas, usa-se muito a mistura de glyphosate com inibidores da ACCase, que ao contrário do efeito com adição de 2,4-D, mostra-se uma excelente opção para manejo, como é o caso da mistura de glyphosate com clethodim ou quizalofop para *Lolium multiflorum* (ROCKENBACH; SCHNEIDER; BIANCHI, 2015).

O herbicida clethodim mesmo quando aplicado isoladamente obtém ótimo desempenho no controle de *D. insularis*, quando em estádios iniciais (MELO et al., 2012; BARROSO et al., 2014), sendo uma opção para manejo de biótipos resistentes. Porém, quando em estádios mais avançado, seu uso isolado não apresenta resultados satisfatórios (ZOBIOLE et al., 2016; FORNAROLLI et al., 2011). Assim a mistura entre clethodim e glyphosate vem a ser uma estratégia para controle tanto de *D. insularis* em estádios avançados de desenvolvimento, como também para biótipos resistentes. Barroso et al. (2014) encontraram antagonismo entre a mistura de glyphosate com clethodim. Entretanto, nesse caso, o equivalente ácido utilizado era o sal de potássio, sendo que para o sal de amônio o efeito foi aditivo e para o sal de isopropilamina ocorreu sinergismo. Embora existam alguns resultados com bom desempenho desta mistura em *D. insularis*, há a necessidade de mais informações para garantir boa performance da mistura.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de avaliações de controle foram conduzidos em casa-de-vegetação, no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA/UNESP campus de Botucatu/SP. Os biótipos de *Digitaria insularis* utilizados nos experimentos foram coletados entre os meses de Janeiro e Fevereiro de 2016, sendo um suscetível e um resistente ao herbicida glyphosate. O biótipo resistente foi coletado na área rural do município de Botucatu – SP, na latitude 22° 50' 27", longitude 48° 25' 26" e altitude 869 metros, e o biótipo suscetível foi coletado na área rural do município de Santa Cruz do Rio Pardo – SP, na latitude 22° 59' 46", longitude 49° 38' 12" e altitude 491 metros.

Após a coleta, os dois exemplares foram mantidos como matrizes para preservação dos genótipos. As plantas foram alocadas em vasos de 25 L, sendo preenchidos com solo de textura argilosa, devidamente adubados e corrigidos, com as seguintes características físico/químicas (Tabela 1):

Tabela 1 - Análise química e física do solo utilizado em casa de vegetação.

pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC	V%
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	mmol _c dm ⁻³							
4,9	22,5	15,5	1,8	47,5	1,4	22,5	10,5	35	82,5	40,5
Granulometria g dm ⁻³									Textura do Solo	
Areia			Argila			Silte				
245			552			199			Argiloso	

Foram utilizadas as sementes das matrizes dos biótipos de *Digitaria insularis* citados anteriormente. Estas foram semeadas em condição controlada em casa de vegetação em temperatura em torno de 28°C e umidade relativa aproximadamente de 70°C.

Foram conduzidos cinco experimentos: Curva de dose-resposta de glyphosate em biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis*; Curva de dose-resposta de clethodim em biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis*; Avaliação da resposta de biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis* a aplicação de glyphosate + clethodim; Interação entre a mistura de glyphosate + clethodim; e Concentração de extrato etéreo.

Todos os experimentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com oito doses cada, realizadas aplicações em dois estádios diferentes, um em estágio inicial (15 – 20 cm ou 2 a 3 perfilhos) e outro no florescimento, com quatro repetições. As plantas em estágio inicial foram semeadas em vasos de 350 mL, posteriormente foram raleadas e deixadas apenas duas plantas por vaso. As plantas que receberam aplicação durante o florescimento foram semeadas em vasos com capacidade de 1,7 L, também deixada duas plantas por vaso. Em ambos os estádios foi utilizado o substrato Carolina II com as seguintes características físico/químicas: turfa de sphagnum, vermiculita expandida, casca de arroz torrefado, calcário dolomítico, gesso agrícola e traços de NPK; condutividade elétrica (CE) = $0,7 \text{ mS cm}^{-1} \pm 0,3$; pH 5,5; densidade 155 kg m^{-3} ; capacidade de retenção de água 55%.

Os experimentos foram repetidos duas vezes em épocas diferentes. Na primeira época, a semeadura foi realizada no dia 12 de Janeiro de 2017 para o estágio inicial, e todos os tratamentos foram aplicados em 10 de Fevereiro de 2017, com condições de 25°C de temperatura e 68% de umidade relativa (UR), já para plantas em florescimento, a semeadura foi feita no dia 30 de Janeiro de 2017, com aplicação no dia 24 de Março de 2017, tendo como condições de aplicação 25° C de temperatura e 68% de UR.

Na segunda época, as plantas foram semeadas em 21 de Abril de 2017 tanto para o estágio inicial quanto para plantas em florescimento, e aplicados em 29 de Maio de 2017 e 30 de Junho de 2017, com condições de 25°C e 74% de UR e 25°C e 62% de UR, respectivamente para estágio inicial e florescido.

Para as aplicações foi utilizado um pulverizador estacionário, com uma estrutura metálica para o suporte da barra de pulverização com 2 metros de comprimento. A barra percorre por 6 metros com auxílio de um motor elétrico e possui um modulador de frequência que controla a velocidade de trabalho. Foram utilizadas na barra quatro pontas XR 11002 VS, com espaçamento de 0,5 metros e altura de 0,5 metros em relação às plantas. A pressão de trabalho adotada foi de 150 kPa e velocidade de $3,6 \text{ km h}^{-1}$, que gerou um consumo de calda de 200 L ha^{-1} (Figura 2).

Figura 2 - A – Primeiro estágio e primeira época de aplicação; B - Segundo estágio e primeira época de aplicação; C – Primeiro estágio e segunda época de aplicação; D – Segundo estágio e segunda época de aplicação.



Após as aplicações, realizou avaliações visuais de controle das plantas aos 7, 14 e 21 dias após a aplicação (DAA), segundo escala percentual de controle, em que 0 corresponde a nenhum controle e 100 significa a morte total das plantas, de acordo com a Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (1995) (Tabela 2.). Após a avaliação de 21 dias as plantas foram cortadas, colocadas em estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura de 60°C por 72 horas e posteriormente pesada em balança de precisão 0,0001 g, os valores da massa seca foram transformados em porcentagem, tendo como 100% o peso médio da testemunha.

Tabela 2 - Descrição dos valores conceituais para avaliações visuais de controle aplicados na escala da SBCPD – Sociedade Brasileira da Ciência de Plantas Daninhas.

% de Controle ou injúria	Descrição conceitual
100 - 90 %	Controle excelente. Sem efeito sobre a cultura
89 - 80 %	Controle bom, aceitável para a infestação da área.
79 - 40 %	Controle moderado, insuficiente para a infestação da área.
39 - 10 %	Controle deficiente ou inexpressivo
< 10 %	Ausência de controle

3.1 Curva de dose-resposta de glyphosate em biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis*

No experimento de curva dose-resposta do glyphosate foi utilizada apenas a porcentagem de controle avaliada aos 21 DAA e a porcentagem de biomassa seca, sendo aplicadas as seguintes doses (Tabela 3):

Tabela 3 - Doses de glyphosate aplicadas em biótipos resistente e suscetível de *D. insularis* em estágio inicial e florescimento.

Dose	*glyphosate (g e.a. ha⁻¹)**	*glyphosate (g p.c. ha⁻¹)***
1	0	0
2	67,5	0,1875
3	135	0,375
4	270	0,75
5	540	1,5
6	1080	3
7	2160	6
8	4320	12

*produto comercial utilizado foi Round up original (360 g e.a. ha⁻¹); ** e.a.= equivalente ácido; *** p.c.= produto comercial.

3.2 Curva de dose-resposta de clethodim em biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis*

No experimento de curva dose-resposta do clethodim também foi utilizada apenas a porcentagem de controle avaliada aos 21 DAA e a porcentagem de biomassa seca, sendo aplicadas as seguintes doses (Tabela 4):

Tabela 4 - Doses de glyphosate aplicadas em biótipos resistente e suscetível de *D. insularis* em estágio inicial e florescimento.

Dose	**clethodim (g i.a. ha ⁻¹)	*clethodim (g p.c. ha ⁻¹)
1	0	0
2	6	0,025
3	12	0,05
4	24	0,1
5	48	0,2
6	96	0,4
7	192	0,8
8	384	1,6

*produto comercial utilizado foi Select (240 g i.a. ha⁻¹), e acrescentado 0,5% de Lanza na calda; ** i.a.= ingrediente ativo; *** p.c.= produto comercial.

3.3 Avaliação da resposta de biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis* a aplicação de glyphosate + clethodim

Para as análises dos dados de controle e massa seca da mistura (glyphosate + clethodim) foi utilizado esquema fatorial de 8x2, sendo oito doses da mistura e dois biótipos utilizados (resistente e suscetível) (Tabela 5).

Tabela 5 - Doses de glyphosate + clethodim aplicadas em biótipos resistente e suscetível de *D. insularis* em estágio inicial e florescimento.

Dose	glyphosate + clethodim (g e.a. ha ⁻¹) (g i.a. ha ⁻¹)*	glyphosate + clethodim (g p.c. ha ⁻¹)**
1	0	0
2	67,5 + 6	0,1875 + 0,025
3	135 + 12	0,375 + 0,05
4	270 + 24	0,75 + 0,1
5	540 + 48	1,5 + 0,2
6	1080 + 96	3 + 0,4
7	2160 + 192	6 + 0,8
8	4320 + 384	12 + 1,6

*produto comercial utilizado foram Round up Original (360 g e.a. ha⁻¹) e Select (240 g i.a. ha⁻¹), e acrescentado 0,5% de Lanza na calda; ** e.a. = equivalente ácido, i.a.= ingrediente ativo; *** p.c.= produto comercial.

3.4 Interação entre glyphosate e clethodim

Os dados de todas as épocas de avaliação de controle e de porcentagem de biomassa seca obtidos a partir do experimento da avaliação da resposta de biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis* a aplicação de glyphosate + clethodim, foram analisados quanto às interações pelo modelo proposto por Colby (1967) para verificar a interação entre os herbicidas (eq. 2):

$$E = 100 - \frac{(100 - X) \times (100 - Y)}{100} \quad (\text{eq. 2})$$

Tendo como, **E** a porcentagem de controle ou porcentagem da massa seca esperada pela mistura, **X** e **Y** são a porcentagem de controle ou a porcentagem de massa seca obtidas de glyphosate e clethodim aplicados isoladamente, respectivamente.

Foi feito um gráfico com controle ou massa seca esperada (E) e com o controle e massa seca observada para a mistura (glyphosate + clethodim), foi traçada uma regressão simples para os dados esperados e plotado os resultados observados pela mistura em ordem crescente das doses utilizadas, de maneira que, os pontos que estiverem abaixo da reta são considerados como efeito antagônico, os pontos que estiverem acima da reta representam sinergismo e os pontos próximos à reta significam efeito aditivo.

3.5 Concentração de extrato etéreo

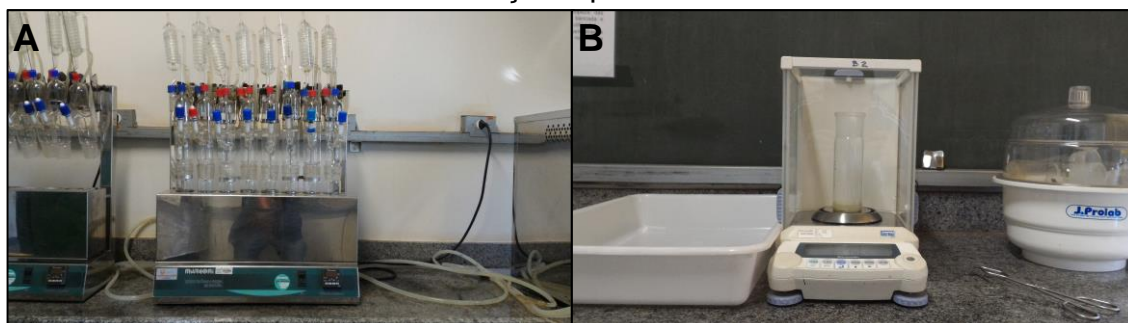
Para determinar a quantidade de lipídeos, foram utilizadas as plantas da primeira época quando em estágio inicial, do ensaio de curva de dose-resposta. O método utilizado foi de Soxhlet (método a frio) de determinação da gordura bruta ou extrato etéreo proposto por Silva (1990), o qual extrai todas as substâncias apolares presentes na planta, inclusive o conteúdo total de lipídeos. Aos 21 dias após a aplicação, as plantas foram coletadas e secadas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C, durante 72 horas para obter massa constante, e posteriormente foram moídas.

Figura 3 - A - Balança de alta precisão com pesa-filtro; B – Moinho; C - pesafiltro na forma de cartucho.



Inicialmente foram pesados 2 a 3 gramas de amostra em um cadinho previamente pesado e levado para estufa a 105°C durante um período de 3 horas. Depois de 30 minutos esfriando no dessecador, foi retirada uma alíquota entre 0,5 a 1 grama, embrulhada em um pesa-filtro em forma de cartucho (Figura 3), a qual foi levada ao aparelho de extração (Soxhlet) (Figura 4). Colocou-se um frasco de vidro previamente limpo e de peso conhecido com 40 mL de éter de petróleo no condensador e foi adicionado dentro do frasco o cartucho com a alíquota da amostra. Liga-se a água do condensador e o deixa funcionando entre 4 a 6 horas.

Figura 4 – A - Extrator de extrato etéreo (Soxhlet); B- frasco com gordura na balança de precisão.



Após completar a extração, foi removida a amostra do recipiente e o éter do frasco foi mantido no condensador para ser volatilizado. Posteriormente restou gordura e uma quantidade mínima de éter no frasco, a qual foi levada para estufa de 60°C para eliminar o resto de éter. A diferença de peso do frasco com gordura com o frasco limpo foi correspondente à quantidade de lípidos (Figura 3).

3.6 Análise Estatística

Foi realizada uma análise conjunta das diferentes épocas de avaliação, para justificar a união dos dados, ou seja, os resultados apresentados representam a média para dois experimentos, totalizando oito repetições experimentais (Tabela 6, 7, 8).

Tabela 6 - Análise conjunta das diferentes épocas de avaliação de controle e massa seca de *D. insularis* com aplicação de glyphosate.

Biótipo	Estádio de aplicação	Avaliação	Valor de F dose	CV (%) ¹
Resistente	Estádio inicial	controle	193,582**	20,94
		massa seca	20,368**	31,05
	Florescimento	controle	64,468**	32,1
		massa seca	85,540**	44,12
Suscetível	Estádio inicial	controle	122,031**	15,54
		massa seca	4,381**	25,04
	Florescimento	controle	277,71**	10,01
		massa seca	36,033**	19,87

¹= CV: coeficiente de variação; **p<0,01.

Tabela 7 - Análise conjunta das diferentes épocas de avaliação de controle e massa seca de *D. insularis* com aplicação de clethodim.

Biótipo	Estádio de aplicação	Avaliação	Valor de F dose	CV (%) ¹
Resistente	Estádio inicial	controle	408,775**	9,07
		massa seca	93,679**	24,17
	Florescimento	controle	225,221**	15,27
		massa seca	1,596 ^{ns}	50,88
Suscetível	Estádio inicial	controle	293,717**	10,67
		massa seca	55,787**	22,1
	Florescimento	controle	210,294**	14,66
		massa seca	6,	33,57

¹= CV: coeficiente de variação; **p<0,01; ns- não significativo.

Tabela 8 - Análise conjunta das diferentes épocas de avaliação de controle e massa seca de *D. insularis* com aplicação de glyphosate + clethodim.

Biótipo	Estádio de aplicação	Avaliação	Valor de F dose	CV (%)¹
Resistente	Estádio inicial	controle	259,048**	7,35
		massa seca	101,161**	30,33
	Florescimento	controle	401,041**	12,78
		massa seca	9,163**	38,21
Suscetível	Estádio inicial	controle	249,909**	5,9
		massa seca	46,636**	39,39
	Florescimento	controle	345,79**	8,08
		massa seca	27,752**	25,16

¹= CV: coeficiente de variação; **p<0,01.

Para os experimentos de curva dose-resposta, os dados de controle e massa seca foram submetidos à análise de variância pelo teste de F, sendo significativo, construíram-se as curvas de dose-resposta. Para isso os dados foram ajustados ao modelo de regressão sigmoidal log-logístico de 3 parâmetros proposto por Streibig (1988) (eq. 1):

$$y = \frac{a}{1 + \left[\frac{x}{x_0} \right]^b} \quad (\text{eq. 1})$$

Em que: y = percentual de controle ou massa seca; x = dose do herbicida; a = assíntota entre o ponto máximo e mínimo da variável; x_0 = dose que proporciona 50% de resposta da variável e b = declividade da curva.

Os valores da dose que controla 50% da população (C_{50}) ou que promovem redução de 50% na massa seca (GR_{50}) foram utilizados para obter o fator de resistência ($FR = R/S$), que expressa o número de vezes em que a dose necessária para C_{50} ou GR_{50} da população resistente é superior a dose para EC_{50} ou GR_{50} da população suscetível (HALL et al., 1998). A resistência é confirmada quando $FR >$

1,0 (SAARI; COTTERMAN; THILL, 1994). As análises de regressão foram realizadas com auxílio do software estatístico Sigmaplot 12.5.

Para o experimento da avaliação da resposta de biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis* a aplicação de glyphosate + clethodim, os dados foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) pelo programa estatístico Asistat 7.7.

O teor de lipídeos foi avaliado em um único experimento e mesmo assim não foi possível realizar análise de variâncias, pois o método demanda quantidade expressiva de biomassa, tornando necessário agrupar todas as repetições. Procedimento alternativo fundamentado em NIR (infravermelho curto) que permitiria avaliar as repetições individualmente mostrou-se inviável para amostras contendo menos de 1% de lipídeos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Curva de dose-resposta de glyphosate em biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis*

A interação entre as doses de glyphosate e os biótipos foi significativa com 99% de confiabilidade ($p \leq 0,01$) (Tabela 9). Para ambos os biótipos, aos 21 dias após aplicação (DAA) a curva de dose-resposta indicou que o nível de controle aumentou em função da dose crescente de glyphosate em estágio inicial (15 - 20 cm) de *D. insularis* (Figura 6). Porém, para o biótipo suscetível a dose 176,8 g e.a. ha⁻¹ promoveu 50% de controle, enquanto para o resistente isso só ocorreu apenas na dose 852,4 g e.a. ha⁻¹, apresentando um fator de resistência (FR) de 4,82. Além disso, o controle satisfatório (C₈₀) ocorreu na dose 1897 g e.a. ha⁻¹ para o biótipo resistente, 4 vezes mais a dose do suscetível (Tabela 9).

Tabela 9 - Análise de variância do valor de F e da Regressão, e parâmetros da equação de regressão, para o controle 21 dias após a aplicação de glyphosate em estágio inicial em biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate.

	Biótipo Resistente	Biótipo Suscetível
Valor de F	300,70**	163,64**
Valor de F (R*S)	32,22**	32,22**
Regressão	57,46**	605,99**
R²	0,96	0,99
Constantes		
a	120,62	102,90
b	-1,28	-1,33
C ₅₀	852,40	176,80
C ₈₀	1897,00	473,40

a= assintota entre o ponto máximo e mínimo da variável; b= declividade da curva; C₅₀= dose que proporciona 50% de resposta da variável.
*p < 0,05 e **p < 0,01.

Figura 5 - Fotos do nível de controle de glyphosate aplicado aos 21 DAA em biótipo resistente e suscetível ao glyphosate em estágio inicial. A- 1ª época de aplicação, biótipo resistente; B- 1ª época de aplicação, biótipo suscetível; C- 2ª época de aplicação, biótipo resistente; D- 2ª época de aplicação, biótipo suscetível.

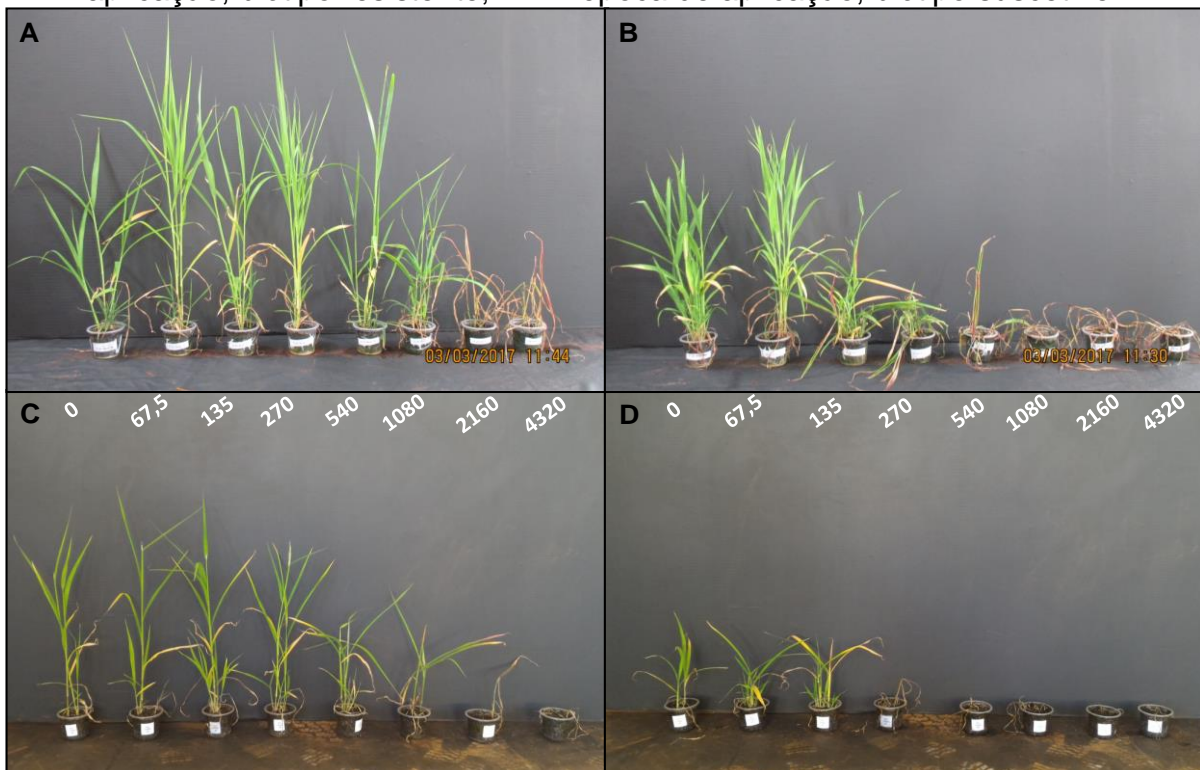
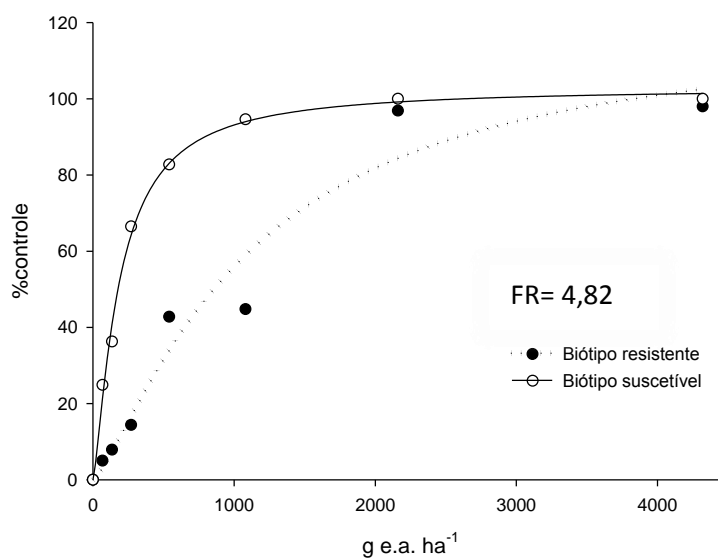


Figura 6 - Porcentagem de controle dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação do herbicida glyphosate em estágio inicial.



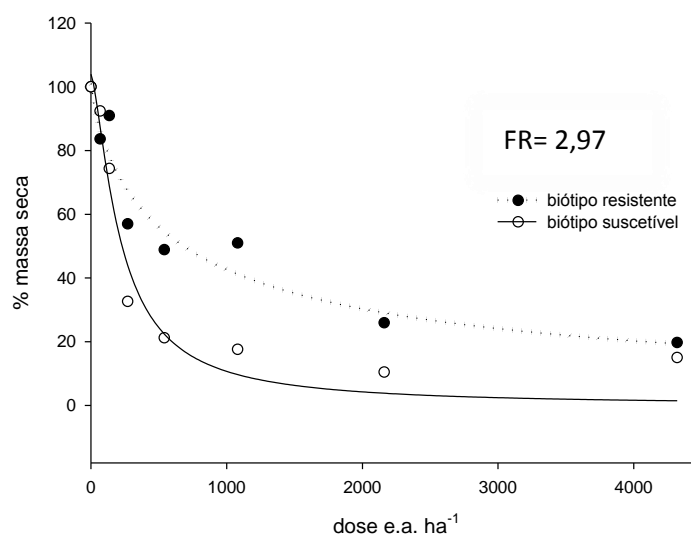
Houve redução na massa seca da parte aérea para os dois biótipos em estágio inicial, com aplicação de glyphosate (Figura 7). Para o biótipo resistente, a dose 683,15 g e.a. ha⁻¹ reduziu 50% da matéria seca, em contrapartida foi necessário apenas 229,40 g e.a. ha⁻¹ para o suscetível obter essa redução. Através do quociente entre a GR₅₀ dos biótipos resistente e suscetível, obteve-se um fator de resistência de 2,97, menor do que o FR calculado pelo controle (Tabela 10).

Tabela 10 - Análise de variância do valor de F e da Regressão, e parâmetros da equação de regressão, para a porcentagem de massa seca aos 21 dias após a aplicação de glyphosate em estágio inicial em biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate.

	Biótipo Resistente	Biótipo Suscetível
Valor de F	24,96 **	62,97**
Valor de F (R*S)	3,71**	3,71**
Regressão	34,01**	46,74**
R²	0,93	0,94
Constantes		
a	100,96	103,96
b	0,76	1,41
GR ₅₀	683,15	229,40
GR ₈₀	4096,70	600,50

a= assíntota entre o ponto máximo e mínimo da variável; b= declividade da curva; GR₅₀= dose que proporciona 50% de resposta da variável. *p < 0,05 e **p < 0,01.

Figura 7 - Massa seca da parte aérea dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação do herbicida glyphosate, em estágio inicial.



As doses comercialmente indicadas para controle de *D. insularis* variam entre 540 g e.a. ha⁻¹ para plantas jovens e 1440 g e.a. ha⁻¹ para plantas maiores e perenizadas, portanto em estágio inicial, o esperado é que a dose 540 g e.a. ha⁻¹ seja suficiente para o controle. Adegas et al. (2010) com essa mesma dose, atingiu apenas 40% de controle em *D. insularis* com aplicação de glyphosate em plantas com 10 cm de altura, resultado similar ao encontrado nesse experimento (Figura 5 e 6).

As sementes do biótipo resistente utilizadas por Gazola (2017) foram retiradas da mesma matriz desse estudo. Ele obteve C₅₀ de 644 g e.a. ha⁻¹ e GR₅₀ 351 g e.a. ha⁻¹, fatores mais baixos do que observados nesse experimento, o que leva a imaginar a provável existência de variabilidade entre as sementes de amargoso provenientes de uma mesma planta e de um mesmo fluxo de disseminação, ou seja, mesmo os descendentes sendo oriundos da mesma planta, eles podem apresentar características morfológicas e anatômicas diferentes, o que conseqüentemente seria capaz de gerar respostas diferentes a aplicação dos herbicidas, devido a alta taxa de polimorfismo já confirmado por Martins (2013).

Na Figura 8 e 9 nota-se que mesmo com a maior dose (4320 g e. a. ha⁻¹) de glyphosate, o biótipo resistente em fase de florescimento não alcançou 100% de controle, o qual foi obtido a partir da segunda maior dose (2160 g e.a. ha⁻¹) para o suscetível. A dose encontrada para controle satisfatório do resistente (C₈₀) foi 2465 g e.a. ha⁻¹, 1,69 vezes maior do que a necessária em estágio inicial. O fator de resistência calculado foi 5,91, também maior do que o apresentado em estágio inicial (Tabela 11).

Tabela 11 - Análise de variância do Valor de F e da Regressão, e parâmetros da equação de regressão, para o controle 21 dias após a aplicação de glyphosate no florescimento em biótipos de capim amargoso resistente e suscetível ao glyphosate.

	Bio R	Bio S
Valor de F	82,58**	323,75**
Valor de F (R*S)	24,19**	24,19**
Regressão	167,07 **	429,50**
R²	0,98	0,99
Constantes		
a	123,80	102,21
b	-0,97	-1,54
C ₅₀	886,50	149,90
C ₈₀	2465,00	354,30

a= assíntota entre o ponto máximo e mínimo da variável; b= declividade da curva; I₅₀ = dose que proporciona 50% de resposta da variável.
*p < 0,05 e **p < 0,01.

Figura 8 - Fotos do nível de controle de glyphosate aplicado em biótipo resistente e suscetível ao glyphosate em florescimento. A- 1ª época de aplicação, biótipo resistente; B- 1ª época de aplicação, biótipo suscetível; C- 2ª época de aplicação, biótipo resistente; D- 2ª época de aplicação, biótipo suscetível.

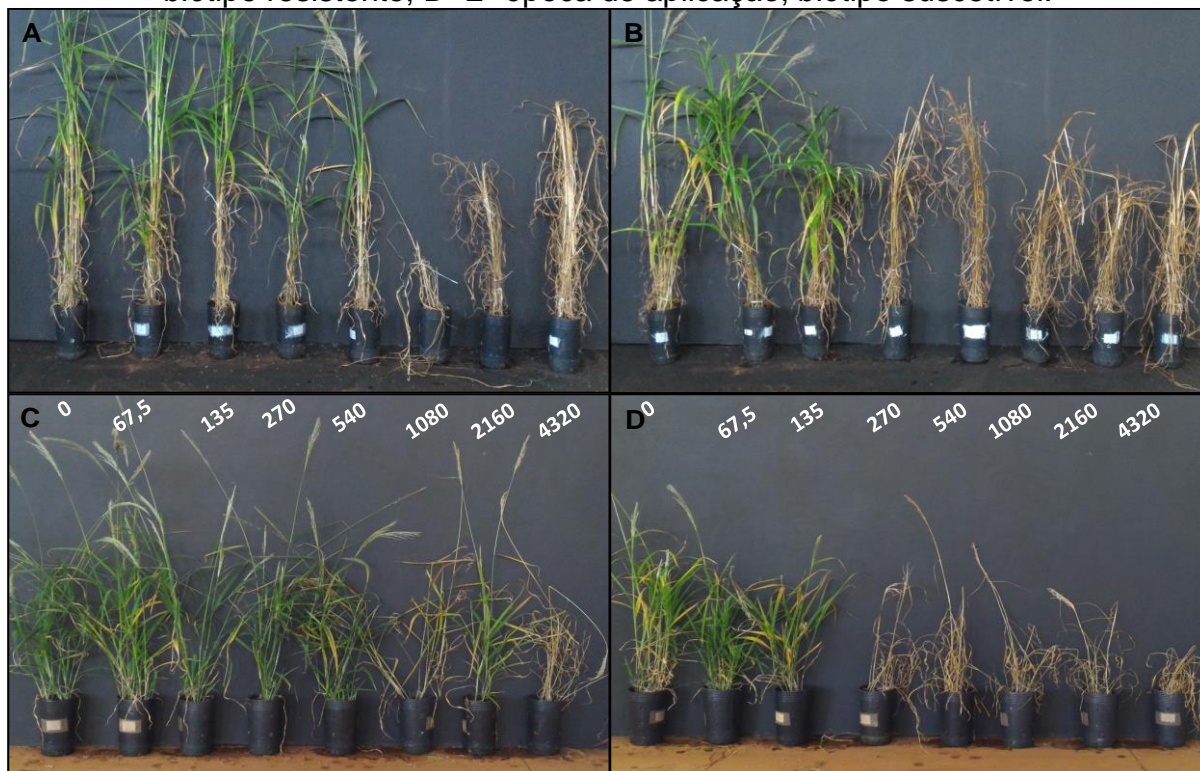
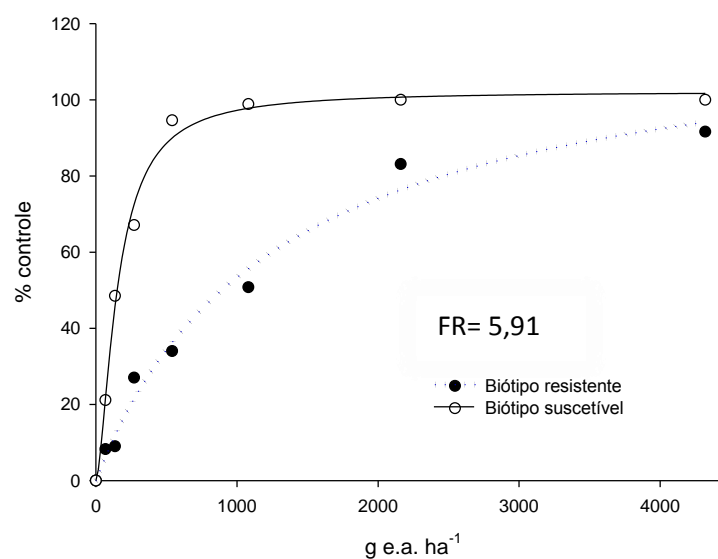


Figura 9 - Porcentagem de controle dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação do herbicida glyphosate no florescimento.



A Tabela 11 mostra que não houve interação entre os biótipos e doses utilizadas para a porcentagem de massa seca no florescimento com aplicação de glyphosate. O fator de resistência para a massa seca foi 4,74 nesse estágio, 1,59 vezes maior quando comparado com o FR da matéria seca em estágio inicial, muito semelhante ao aumento ocorrido no FR do controle entre o estágio inicial e o florescimento (1,69), ou seja, o aumento da resistência foi proporcional se comparar controle com massa seca. A matéria seca não foi reduzida mais do que 70%, mesmo com a maior dose (4320 g e.a. ha⁻¹) tanto para o biótipo resistente quanto para o suscetível (Figura 10).

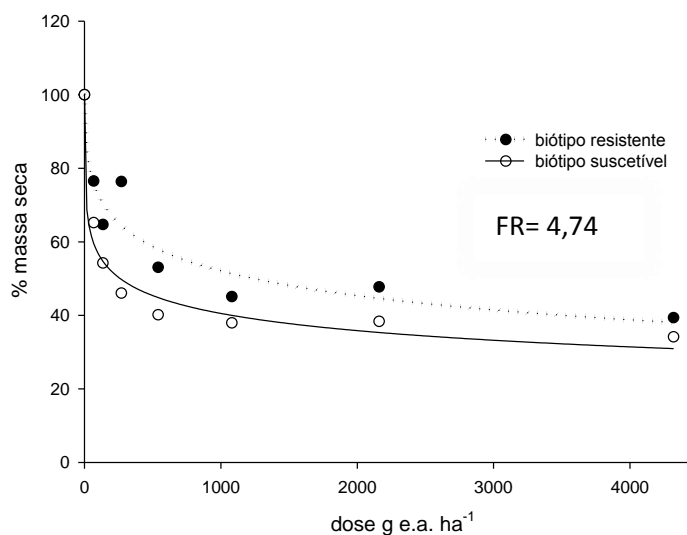
Plantas perenizadas com maior quantidade de perfilhos e maior altura possuem maior vigor, sendo que uma vez estabelecidas, com o aumento da touceira e formação de rizomas, produz uma maior quantidade de amido e conseqüentemente aumenta a reserva da planta, podendo resistir à aplicação de herbicidas. Porém nota-se que mesmo em estágio mais avançado, para biótipo suscetível, as doses necessárias para controlar 80% das plantas foram baixas (Tabela 12), o mesmo foi encontrado por Reinert; Prado; Christoffoleti (2013), que relatou C₈₀ de 257,13 g e.a. ha⁻¹ e GR₈₀ de 273,81 g e.a. ha⁻¹, diferentemente do obtido por Melo (2011), o qual constatou diferença entre os estágios de desenvolvimento também para biótipo suscetível.

Tabela 12 - Análise de variância do Valor de F e da Regressão, e parâmetros da equação de regressão, para a porcentagem de massa seca aos 21 dias após a aplicação de glyphosate no florescimento em biótipos de capim amargoso resistente e suscetível ao glyphosate.

	Bio R	Bio S
Valor de F	6,09**	70,22**
Valor de F (R*S)	1,03 ^{ns}	1,03 ^{ns}
Regressão	26,88**	89,66**
R²	0,91	0,97
Constantes		
a	100,12	100,32
b	0,38	0,28
GR ₅₀	1239,00	261,30
GR ₈₀	-	-

a = assintota entre o ponto máximo e mínimo da variável; b = declividade da curva; I₅₀ = dose que proporciona 50% de resposta da variável.
*p < 0,05 e **p < 0,01.

Figura 10 - Massa seca da parte aérea dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação do herbicida glyphosate no florescimento.



4.2 Curva de dose-resposta de clethodim em biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis*

Embora as curvas da Figura 12 sejam muito próximas, houve interação no controle entre os fatores (biótipos e doses) com aplicação de clethodim aos 21 DAA. O aumento gradativo das doses proporcionou o controle dos dois biótipos em estágio inicial (Figura 11 e 12). Menos de 30 g i.a. ha⁻¹ de clethodim foi necessário para obter 80% de controle para ambos os biótipos (Tabela 13), correspondente a 3,2 vezes menos a dose recomendada por bula (96 g i.a. ha⁻¹), portanto esses biótipos podem ser considerados extremamente sensíveis ao herbicida clethodim em estágio inicial de aplicação.

Tabela 13 - Análise de variância do Valor de F e da Regressão, e parâmetros da equação de regressão, para o controle 21 dias após a aplicação de clethodim em estágio inicial em biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate.

	Bio R	Bio S
Valor de F	267,50**	185,31**
Valor de F (R*S)	4,79**	4,79**
Regressão	38,73**	1386,54**
R²	0,93	0,99
Constantes		
a	101,68	100,58
b	-2,52	-2,78
C ₅₀	14,92	14,03
C ₈₀	25,37	22,95

a = assíntota entre o ponto máximo e mínimo da variável; b = declividade da curva; I₅₀ = dose que proporciona 50% de resposta da variável. *p < 0,05 e **p < 0,01.

Figura 11 - Fotos do nível de controle de clethodim aplicado em biótipo resistente e suscetível ao glyphosate em estágio inicial. A- 1ª época de aplicação, biótipo resistente; B- 1ª época de aplicação, biótipo suscetível; C- 2ª época de aplicação, biótipo resistente; D- 2ª época de aplicação, biótipo suscetível.

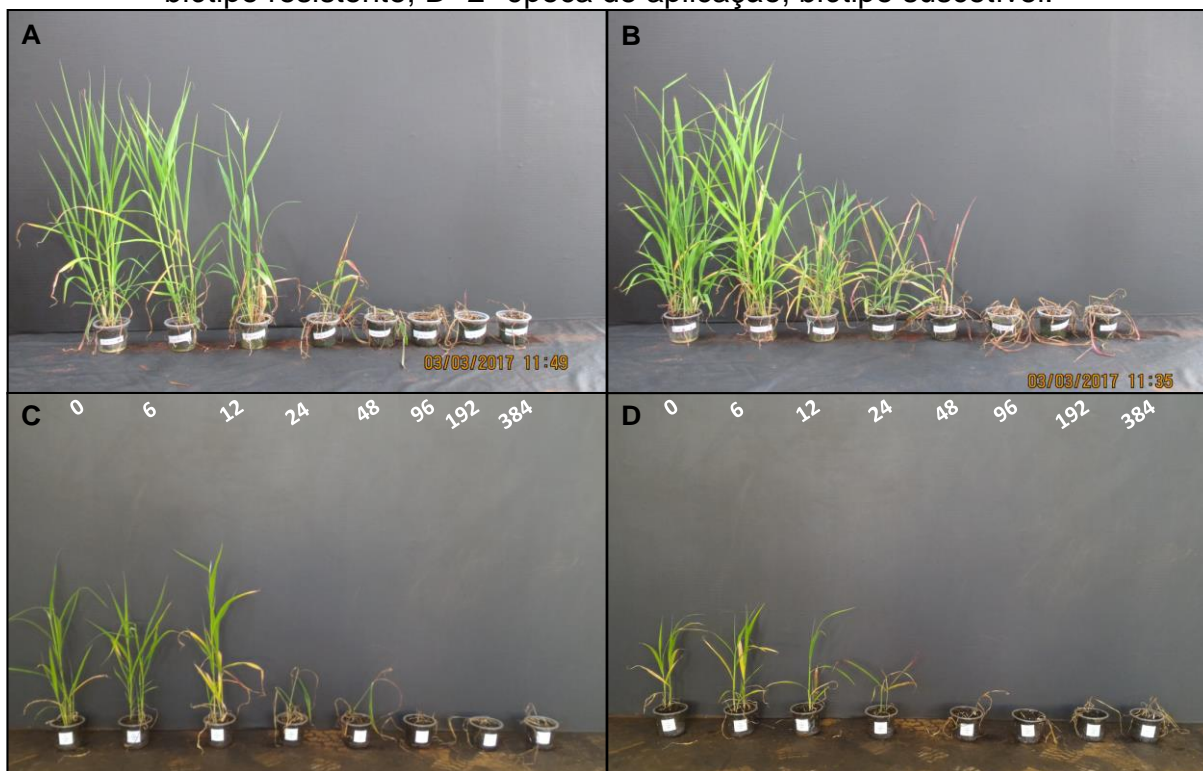
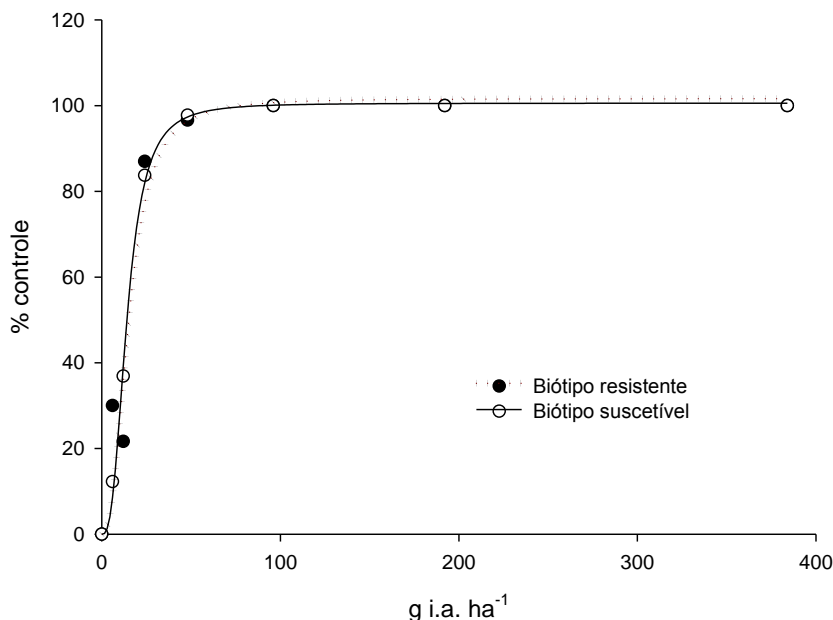


Figura 12 - Porcentagem de controle dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação do herbicida clethodim em estágio inicial.



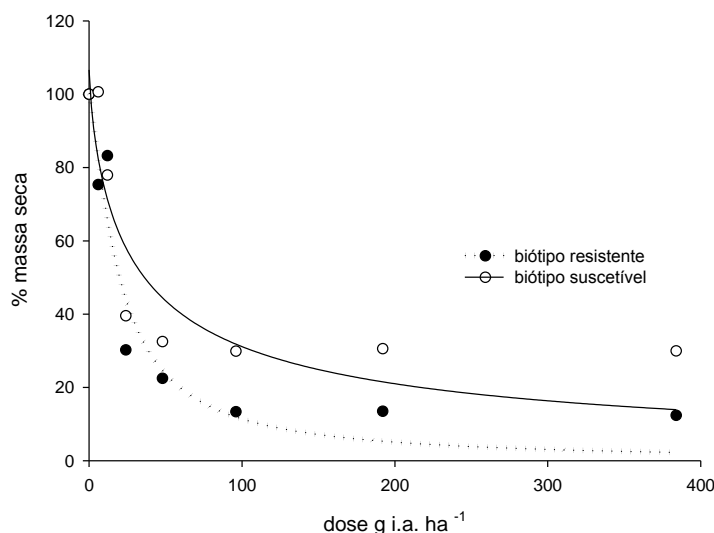
De acordo com a Figura 13, a porcentagem de massa seca em estágio inicial após aplicação do herbicida clethodim teve alta redução, atingindo mais de 60% de redução de massa para os dois biótipos na maior dose (384 g i.a. ha⁻¹). Entretanto, observa-se que as doses para a redução de 50% e 80% de massa seca (GR₅₀ e GR₈₀) entre os biótipos, não foram tão próximas quanto às obtidas na avaliação feita por controle (Tabela 13 e 14).

Tabela 14 - Análise de variância do Valor de F e da Regressão, e parâmetros da equação de regressão, para a porcentagem de massa seca 21 dias após a aplicação de clethodim em estágio inicial em biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate.

	Bio R	Bio S
Valor de F	82,35**	61,06**
Valor de F (R*S)	3,06**	3,06**
Regressão	29,15**	11,92*
R²	0,92	0,82
Constantes		
a	100,28	106,68
b	1,26	0,74
GR ₅₀	19,75	36,25
GR ₈₀	59,5	222,05

a = assíntota entre o ponto máximo e mínimo da variável; b = declividade da curva; l₅₀ = dose que proporciona 50% de resposta da variável.
*p < 0,05 e **p < 0,01.

Figura 13 - Massa seca da parte aérea dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação do herbicida clethodim em estágio inicial.



Fica claro, que o herbicida clethodim apresentou alta eficiência de controle quando aplicado nos estádios iniciais dos biótipos estudados. Adegas et al. (2010) em seu estudo, apresentou alternativas de controle para *D. insularis* resistentes ao glyphosate, relatando alta eficiência de diversos inibidores de ACCase, atingindo níveis próximos a 100% de controle e redução de massa seca com dose de 96 g i.a. ha⁻¹ de clethodim.

Contudo, Licorini et al. (2015) relatou que sob o mesmo estágio inicial (15 – 20 cm), houve tolerância distinta ao clethodim para biótipos coletados no Estado do Paraná, ou seja, embora seja uma alternativa viável para controle de *D. insularis* resistente, o uso de inibidores de ACCase deve ser racional e sustentável, para que posteriormente não venha a ocorrer resistência a este mecanismo de ação, como encontrado por Vargas et al. (2013) em *Lolium multiflorum* ao clethodim, ou ainda aos herbicidas haloxyfop e fenoxaprop em *D. insularis* (HEAP, 2018).

A segunda maior dose (192 g i.a. ha⁻¹) de clethodim, correspondente ao dobro da recomendada por bula, proporcionou 80% de controle de *D. insularis* em estágio de florescimento, porém nem mesmo a maior dose (384 g i.a. ha⁻¹) foi capaz de controlar 100% o capim-amargoso (Tabela 15, Figura 14 e 15).

Tabela 15 - Análise de variância do Valor de F e da Regressão, e parâmetros da equação de regressão, para o controle 21 dias após a aplicação de clethodim no florescimento em biótipos de capim amargoso resistente e suscetível ao glyphosate.

	Bio R	Bio S
Valor de F	215,34**	252,49**
Valor de F (R*S)	4,32**	4,32**
Regressão	243,07**	192,65**
R²	0,98	0,98
Constantes		
a	98,82	101,84
b	-1,18	-1,17
C50	47,75	35,75
C80	159,5	111,6

a = assíntota entre o ponto máximo e mínimo da variável; b = declividade da curva; I₅₀ = dose que proporciona 50% de resposta da variável.
*p < 0,05 e **p < 0,01.

Figura 14 - Porcentagem de controle dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação do herbicida clethodim no florescimento.

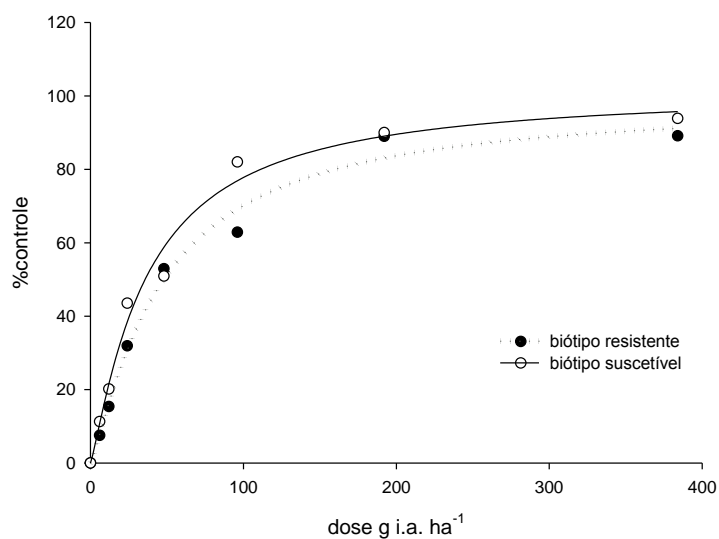
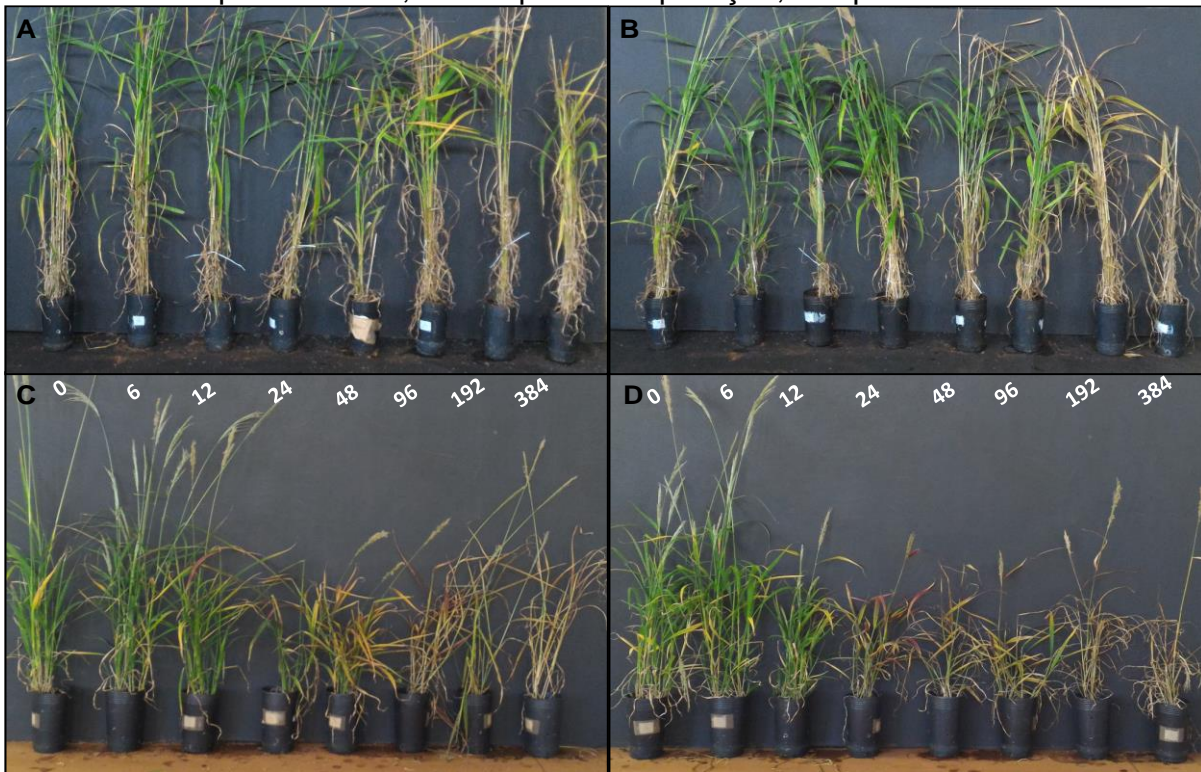


Figura 15 - Fotos do nível de controle de clethodim aplicado em biótipo resistente e suscetível ao glyphosate em florescimento. A- 1ª época de aplicação, biótipo resistente; B- 1ª época de aplicação, biótipo suscetível; C- 2ª época de aplicação, biótipo resistente; D- 2ª época de aplicação, biótipo suscetível.



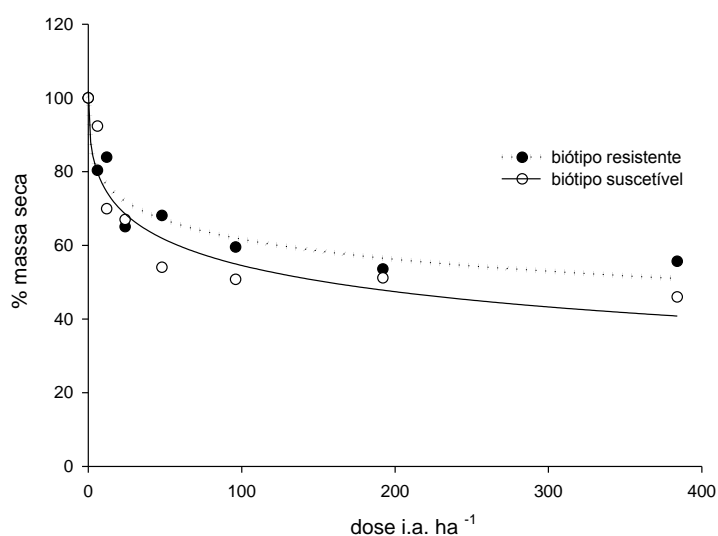
Não ocorreu interação com aplicação de clethodim no florescimento e não houve diferença significativa entre as doses utilizadas para a massa seca do biótipo resistente (Tabela 16). A porcentagem de redução de massa seca, não ultrapassou 60% mesmo com as doses mais elevadas (Figura 16). Como dito anteriormente, o estágio fenológico da planta influencia o desempenho do herbicida, devido às mudanças morfológicas e anatômicas.

Tabela 16 - Análise de variância do Valor de F e da Regressão, e parâmetros da equação de regressão, para a porcentagem de massa seca 21 dias após a aplicação de clethodim no florescimento em biótipos de capim amargoso resistente e suscetível ao glyphosate.

	Bio R	Bio S
Valor de F	1,33 ^{ns}	5,83 ^{**}
Valor de F (R*S)	0,30 ^{ns}	0,30 ^{ns}
Regressão	28,89 ^{**}	21,08 ^{**}
R²	0,92	0,89
Constantes		
a	100,53	101,93
b	0,32	0,40
GR50	433,05	155,50
GR80	-	-

a= assíntota entre o ponto máximo e mínimo da variável; b= declividade da curva; GR₅₀ = dose que proporciona 50% de resposta da variável. *p < 0,05 e **p < 0,01.

Figura 16 - Massa seca da parte aérea dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação do herbicida clethodim no florescimento.



Alguns trabalhos demonstram a ineficiência de clethodim em estádios avançados de capim-amargoso, como por exemplo, Melo et al. (2012), o qual não atingiu nem 20% de controle com a dose 108 g i.a. ha⁻¹ de clethodim e nem 30% de redução da massa seca quando comparado com a testemunha. Barroso et al. (2014) também em aplicação isolada de clethodim, obteve no máximo 69% de controle com a dose 96 g i.a. ha⁻¹ em plantas com 3 a 4 perfilhos, e Fornaroli et al. (2011) aos 25 DAA obteve 65 e 75% de controle com 120 e 180 g i.a. ha⁻¹ em pleno florescimento, respectivamente.

4.3 Avaliação da resposta de biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis* a aplicação de glyphosate + clethodim

A mistura entre glyphosate e clethodim não demonstrou diferença significativa entre as doses para avaliação visual de controle, quando aplicados em estágio inicial. A partir da dose 135 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate com 12 g i.a. ha⁻¹ de clethodim, o controle atingiu níveis acima de 80%, ou seja, a mistura mostrou-se uma excelente ferramenta para controle do biótipo resistente (Figura 17 e 18).

Figura 17 - Porcentagem de controle dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação da mistura de glyphosate e clethodim em estágio inicial. CV = coeficiente de variação.

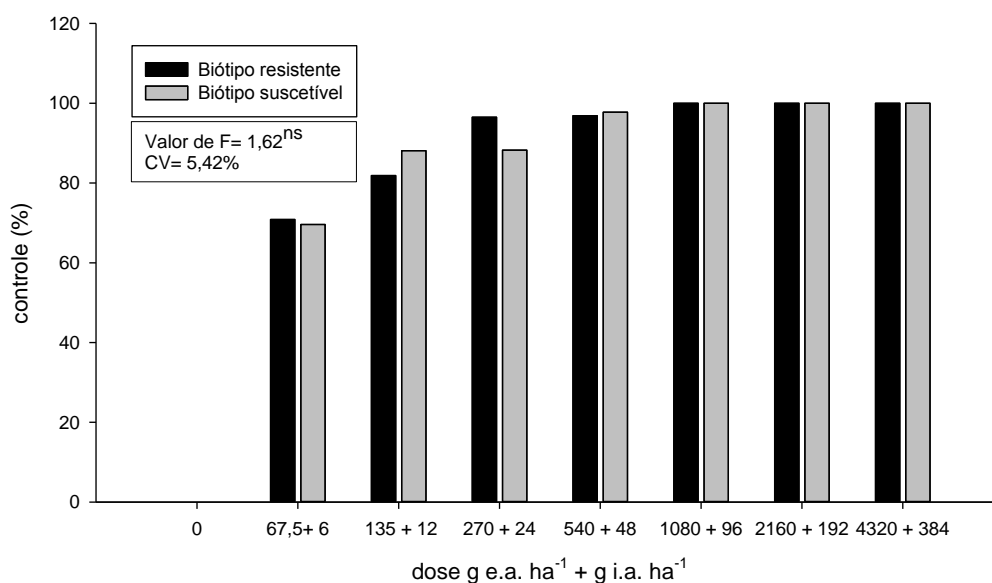


Figura 18 - Massa seca da parte aérea dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação da mistura de glyphosate e clethodim, em estágio inicial. CV = coeficiente de variação.

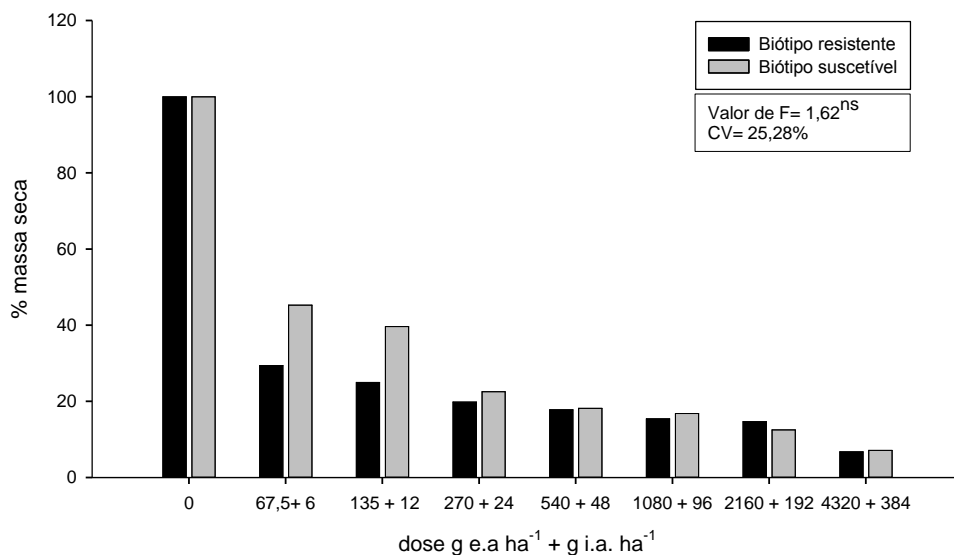
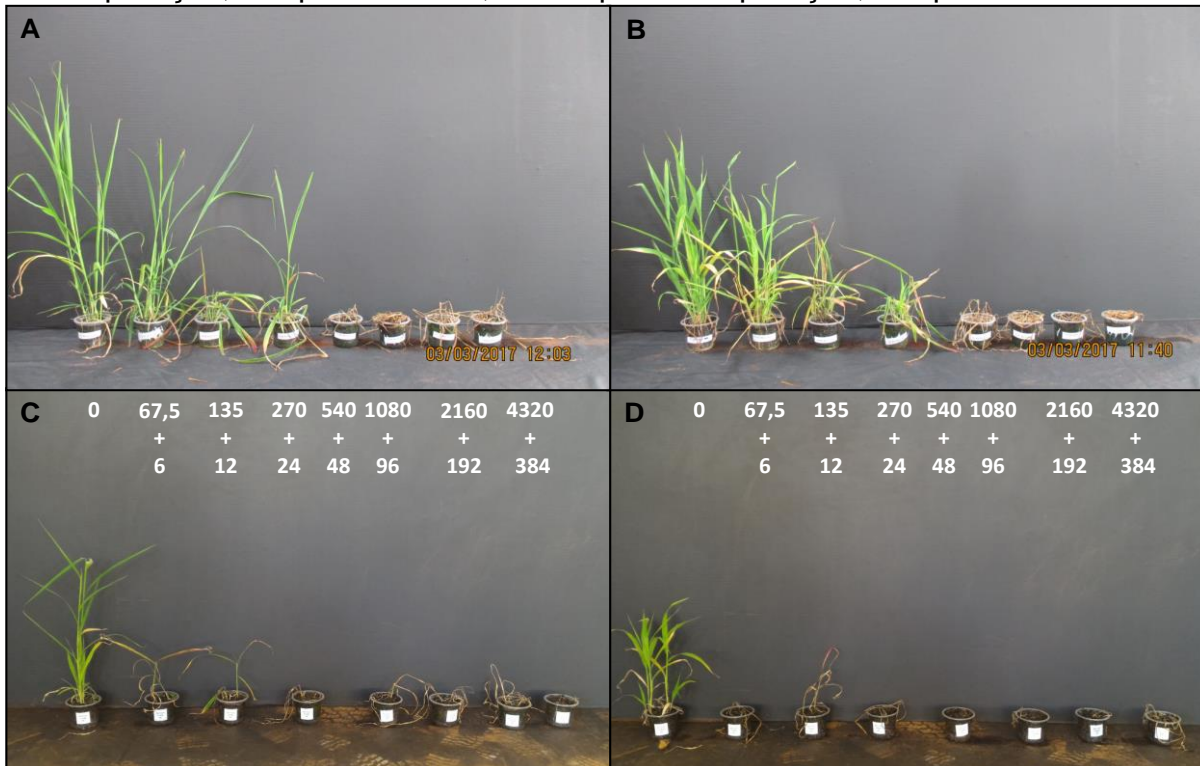


Figura 19 - Fotos do nível de controle de glyphosate+clethodim aplicado em biótipo resistente e suscetível ao glyphosate em estágio inicial. A- 1ª época de aplicação, biótipo resistente; B- 1ª época de aplicação, biótipo suscetível; C- 2ª época de aplicação, biótipo resistente; D- 2ª época de aplicação, biótipo suscetível.



Logo na primeira dose da mistura obteve-se alta redução de massa seca para ambos os biótipos em estágio inicial. Não ocorreu diferença entre os tratamentos, e

assim como o controle, a mistura apresentou bons resultados também para a redução de massa seca (Figura 19).

De maneira geral, a mistura de glyphosate com inibidores de ACCase são opções efetivas no manejo de biótipos resistentes, Barroso et al. (2014) além de estudar inibidores de ACCase de forma isolada, também testou combinações com diferentes sais de glyphosate em diversas doses, todos os tratamentos obtiveram controle satisfatório e redução de massa quando aplicados em estágio inicial, corroborando os dados da Tabela 17 e 18. Outros autores ainda testando outras misturas também encontraram bons resultados, como por exemplo, quizalofop com glyphosate (GOMES et al., 2017) e até mesmo a mistura entre inibidores de ACCase de diferentes família, como clethodim com fenoxaprop (ADEGAS et al., 2010).

Os melhores tratamentos para controle dos dois biótipos de capim-amargoso em estágio de florescimento foram as duas maiores doses da mistura. As doses 540 g e.a. ha⁻¹ + 48 g i.a. ha⁻¹ e 1080 g e.a. ha⁻¹ + 96 g i.a. ha⁻¹ da mistura foram diferentes estatisticamente entre o biótipo suscetível e resistente, sendo que para o suscetível, essas doses atingiram 100% de controle, e para o resistente, a dose 540 g e.a. ha⁻¹ + 48 g i.a. ha⁻¹ não alcançou 80% de controle, enquanto a dose 1080 g e.a. ha⁻¹ + 96 g i.a. ha⁻¹, mesmo apresentando diferença entre os biótipos, obteve controle visual satisfatório para o resistente, atingindo mais de 80% de controle (Figura 20).

Mesmo não ocorrendo interação entre os fatores, a dose 540 g e.a ha⁻¹ + 48 g i.a. ha⁻¹ reduziu mais do que 50% da massa seca para ambos os biótipos (Figura 20). Portanto nota-se que a mistura nas doses comerciais (540 g e.a. ha⁻¹ + 48 g i.a. ha⁻¹ e 1080 g e.a. ha⁻¹ + 96 g i.a. ha⁻¹) foram suficientes para controle do biótipo resistente (Figura 21).

Figura 20 - Porcentagem de controle dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação da mistura de glyphosate e clethodim no florescimento. Letras minúsculas e maiúsculas correspondem aos valores para o mesmo e diferentes biótipos, respectivamente; CV= coeficiente de variação; DMS= diferença mínima significativa (biótipo e dose respectivamente).

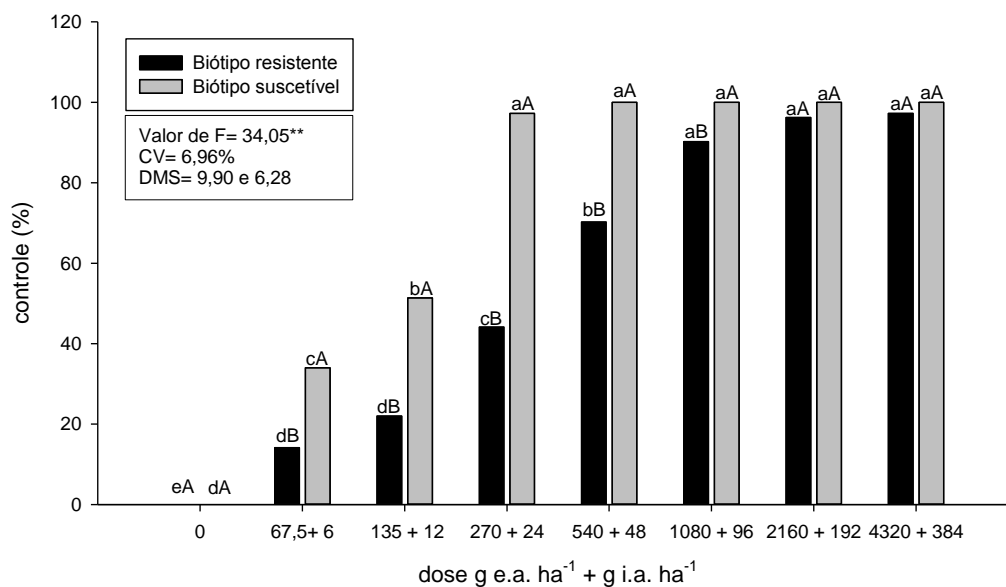


Figura 21 - Massa seca da parte aérea dos biótipos de capim-amargoso suscetível e resistente ao glyphosate, 21 dias após a aplicação da mistura de glyphosate e clethodim no florescimento. CV = coeficiente de variação.

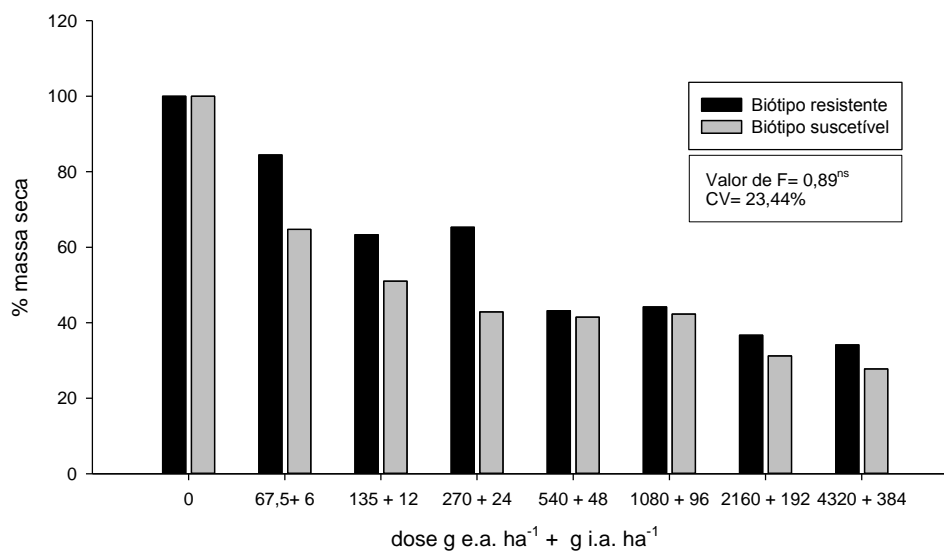
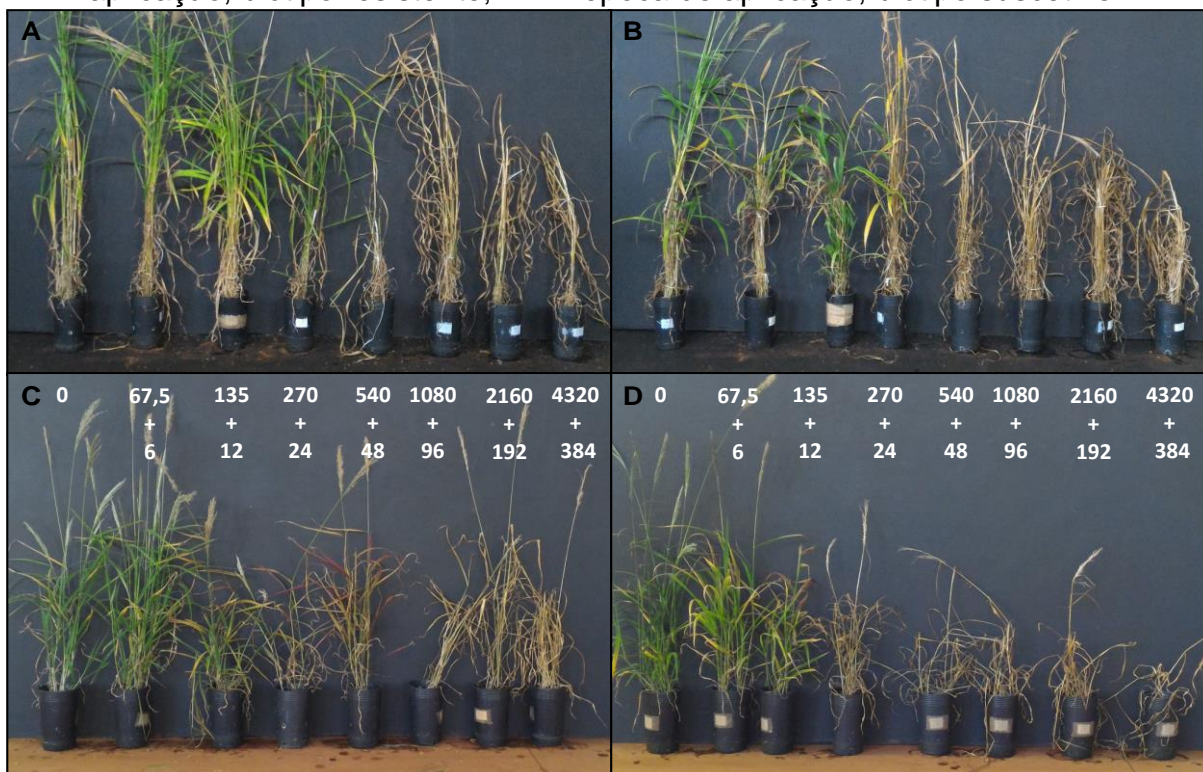


Figura 22 - Fotos do nível de controle de glyphosate+clethodim aplicado em biótipo resistente e suscetível ao glyphosate em florescimento. A- 1ª época de aplicação, biótipo resistente; B- 1ª época de aplicação, biótipo suscetível; C- 2ª época de aplicação, biótipo resistente; D- 2ª época de aplicação, biótipo suscetível.



Em virtude da dificuldade de controle em biótipo resistente com glyphosate e clethodim isolados em plantas florescidas, pode-se observar que a mistura destes dois herbicidas potencializam o controle e redução de massa (Figura 20, 21 e 22). Em situação semelhante, Melo et al. (2012) com dose 1440 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate e 108 g i.a. ha⁻¹ de clethodim também notou alto controle e redução de massa seca, sendo que nesse experimento não foi necessária dose tão altas para alcançar esses resultados.

Porém em condições de campo, onde as plantas de *D. insularis* estavam em estádios ainda mais avançados (36 perfilhos e 1,20 metros de altura), mesmo a mistura de glyphosate com clethodim, não foi suficiente para suprimir o desenvolvimento da planta, só houve o controle quando foi utilizada uma aplicação sequencial de glyphosate com clethodim (ZOBIOLE et al., 2016). Os resultados apresentado na Figura 22 deixam claro o controle do biótipo resistente com a mistura mesmo em situações de estágio mais avançado, porém a planta se torna mais vigorosa quando estiver estabelecida e perenizada no campo, sendo assim

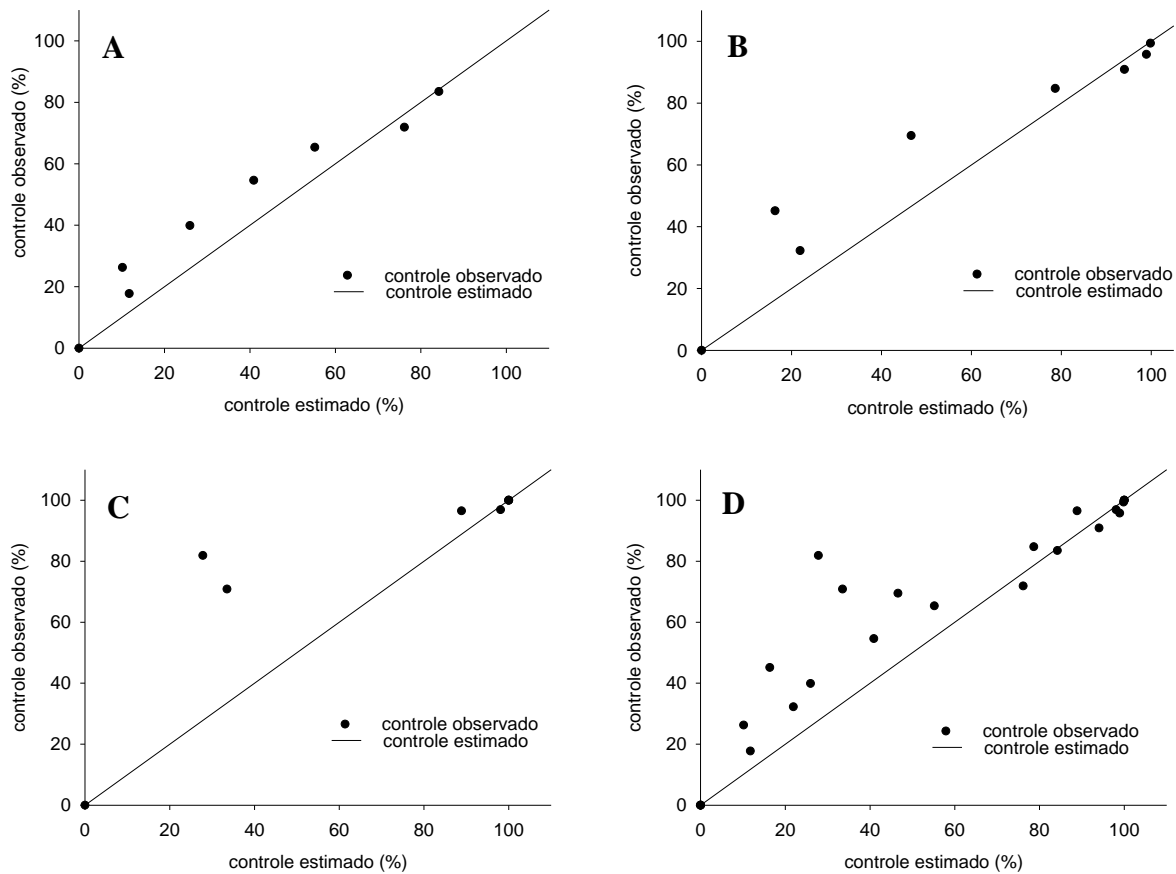
mesmo a mistura em doses altas não é capaz de ocasionar seu controle, portanto a escolha do estágio de aplicação é fundamental para obter sucesso de controle.

4.4 Interação entre glyphosate e clethodim

A seguir, nas figuras 23, 24, 25, 26 e 27, cada ponto corresponde a uma dose da mistura (glyphosate + clethodim), estando dispostos em ordem crescente, igual aos pontos das curvas de dose-reposta. A reta representa o controle estimado, o qual foi calculado pela metodologia de Colby (1967), todos os pontos acima da reta retratam controle observado maior que o estimado (efeito sinérgico), todos abaixo da reta representam controle observado menor que o estimado (efeito antagônico), e quando coincidem com a reta, são aditivos.

Observa-se que aos 7 DAA para biótipo resistente em estágio inicial, houve efeito sinérgico em doses menores, e efeito aditivo para doses maiores (Figura 23 – A). Aos 14 DAA as maiores doses obtiveram controle visual acima de 80%, ou seja, controle satisfatório, portanto mesmo os controles observados sendo menores do que os esperados não podem ser considerados como antagonismo, pois ocorreu o controle da planta do mesmo jeito (Figura 23 – B). Aos 21 DAA nota-se efeito sinérgico entre as duas menores doses da mistura (Figura 23 – C), e fica evidente o sinergismo para doses menores entre glyphosate e clethodim quando todas as épocas são alocadas em um mesmo gráfico, principalmente para doses intermediárias (Figura 23 – D).

Figura 23 - Controle de capim-amargoso resistente observado e interação esperada em resposta à mistura de glyphosate com clethodim aplicado em estágio inicial. A - 7 dias após aplicação (DAA); B - 14 DAA; C - 21 DAA; D - Todas épocas de aplicação.

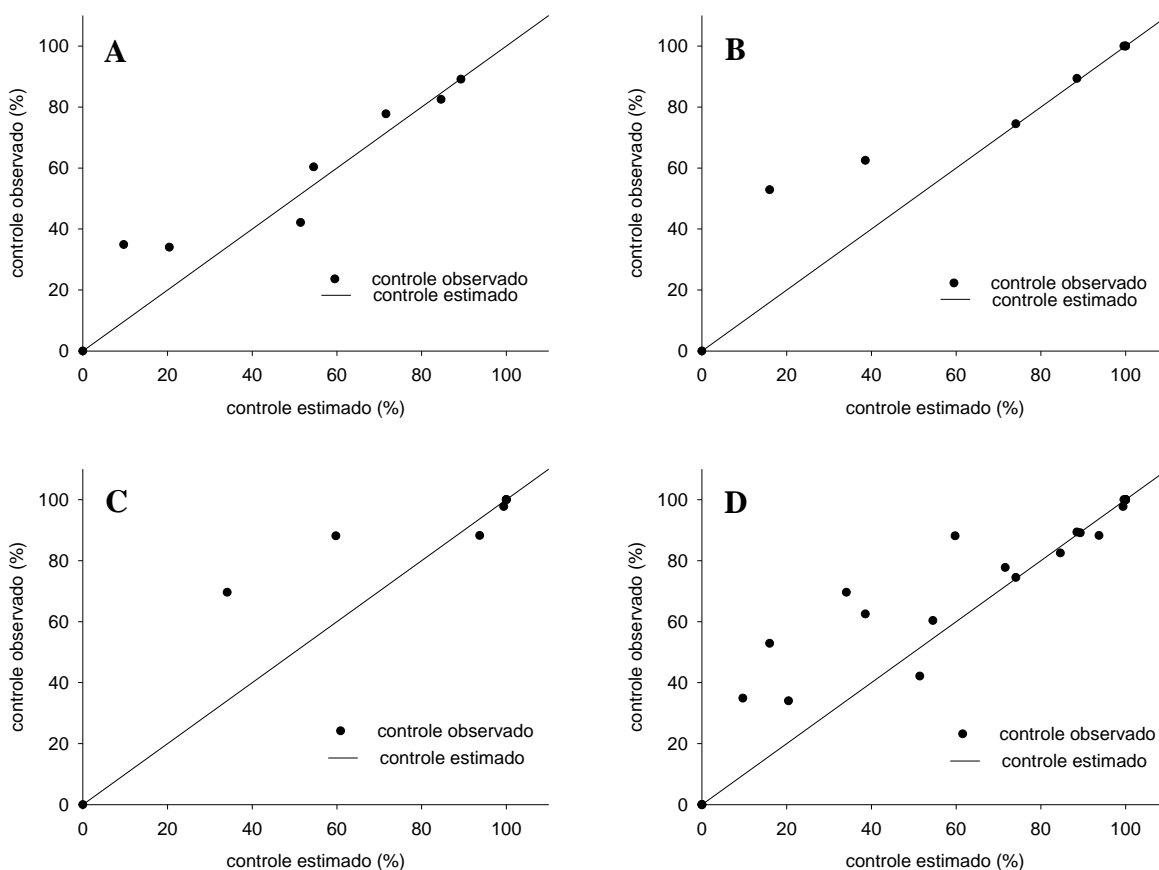


A interação entre glyphosate e clethodim no controle de biótipo suscetível em estágio inicial, foi semelhante ao obtido em biótipo resistente, com sinergismo para doses menores e efeito aditivo para doses maiores. As duas doses mais baixas ($67,5 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 6 \text{ g i.a. ha}^{-1}$ e $135 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 12 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) tiveram sinergismo em todas as épocas de avaliação, e a partir da dose 4 ($270 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 24 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) aos 14 DAA todas as demais doses foram aditivas tanto aos 14 DAA como aos 21DAA (Figura 24).

A resposta da mistura de outros herbicidas com glyphosate pode variar em função de diversos fatores como: compatibilidade entre os herbicidas, mecanismo de ação, espécie estudada, estágio de aplicação e quantidade da dose. Vidal et al. (2016) compilou diversos trabalhos mostrando a interação de glyphosate com outros herbicidas, e de maneira geral observou efeito antagônico quando o glyphosate foi misturado com herbicidas de contato e efeito sinérgico ou aditivo quando misturado com herbicidas de ação sistêmica.

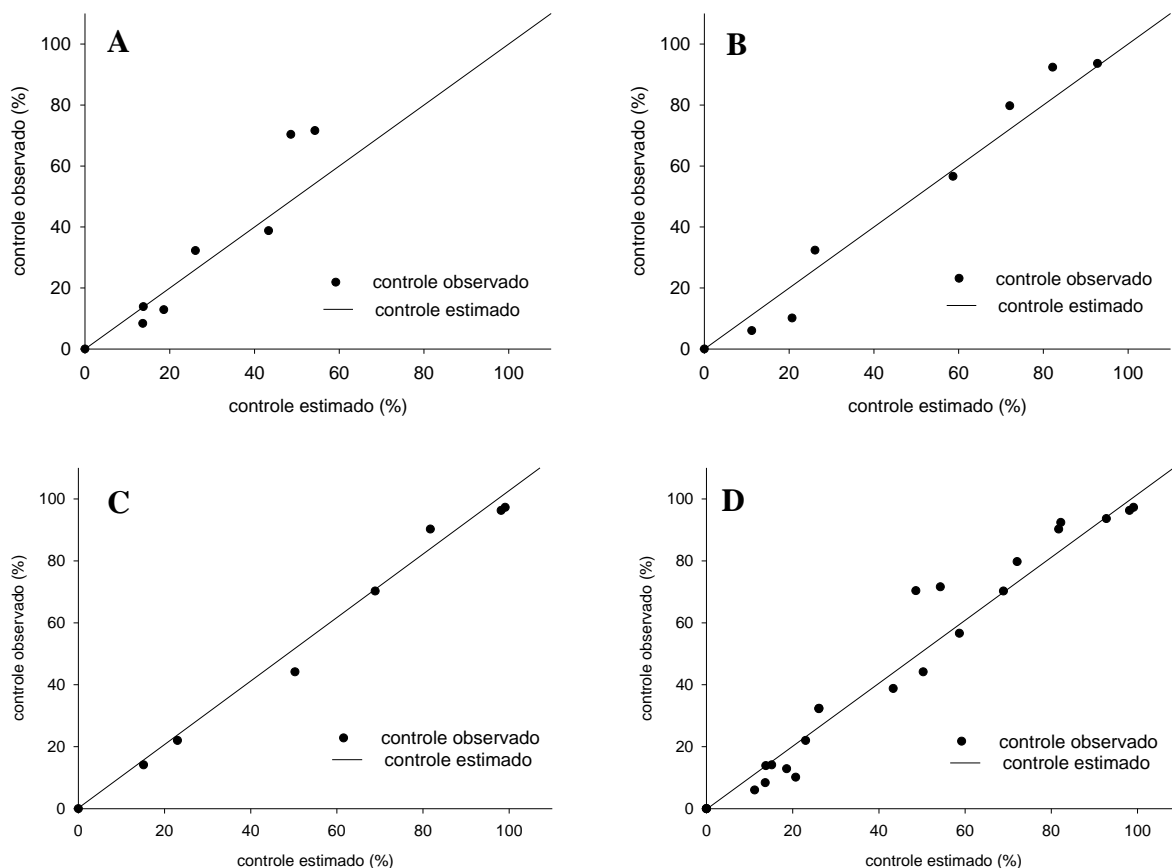
Os resultados observados na Figura 22 e 23 eram esperados, pois Nonemacher et al., (2017) testou várias misturas com glyphosate em controle de *Urochloa plantaginea* e *Digitaria ciliares*, uma delas foi a combinação com clethodim, e obteve controle acima de 90% para as duas plantas daninhas. Valores obtidos por Rockenbach; Schneider; Bianchi (2015) em *Lolium multiflorum*, aumentou a eficiência em 25% de controle com a mistura, quando comparado com glyphosate aplicado isoladamente na dose 720 g e.a. ha⁻¹ e mais de 5% quando comparado na dose 1440 g e.a. ha⁻¹.

Figura 24 - Controle de capim-amargoso suscetível observado e interação esperada em resposta à mistura de glyphosate com clethodim aplicado em estágio inicial. A - 7 dias após aplicação (DAA); B - 14 DAA; C - 21 DAA; D - Todas épocas de aplicação.



Verifica-se na Figura 25-D (todas as épocas de aplicação juntas), que a mistura aplicada no florescimento em biótipo resistente, o controle observado foi muito próximo da reta (controle esperado), portanto ocorreu efeito aditivo para todas as doses (Figura 25).

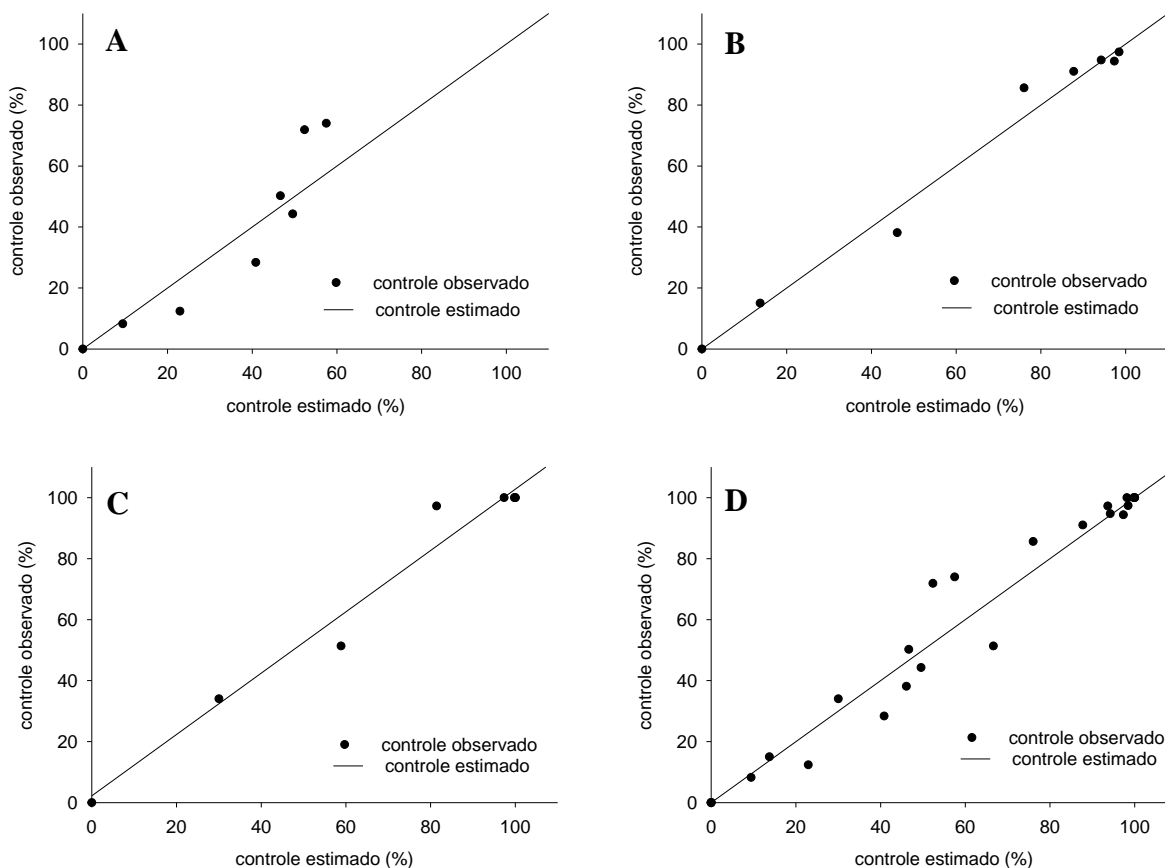
Figura 25 - Controle de capim-amargoso resistente observado e interação esperada em resposta à mistura de glyphosate com clethodim aplicado no florescimento. A - 7 dias após aplicação (DAA); B - 14 DAA; C - 21 DAA; D - Todas épocas de aplicação.



Com exceção das doses 3 ($135 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 12 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) e 4 ($270 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 24 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) aos 7 DAA, todas as outras doses em qualquer época de avaliação apresentaram predominantemente efeito aditivo em biótipo suscetível aplicado no florescimento (Figura 26).

Os resultados para doses comerciais dose 5 e 6 ($540 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 48 \text{ g i.a. ha}^{-1}$ e $1080 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 96 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) foram satisfatórios, diferente dos obtidos com a mistura de glyphosate + haloxyfop ($2160 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 60 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) e glyphosate + sethoxydim ($2160 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 368 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) em *D. insularis*, os quais não atingiram 60% de controle (PARREIRA et al., 2010), e semelhantes ao encontrado por Barroso et al. (2014), que relatou efeito aditivo na avaliação de controle para adição de clethodim em glyphosate (sal de isopropilamida) aplicados em *D. insularis* no estádio com 3 a 4 perfilhos.

Figura 26 - Controle de capim-amargoso suscetível observado e interação esperada em resposta à mistura de glyphosate com clethodim aplicado no florescimento. A - 7 dias após aplicação (DAA); B - 14 DAA; C - 21 DAA; D - Todas épocas de aplicação.



Em relação a porcentagem de massa seca, verifica-se que a mistura aplicada em estágio inicial, apresentou alto poder sinérgico, reduzindo altamente a massa de capim-amargoso em todas as doses, tanto para biótipo resistente quanto para suscetível (Figura 27).

Assim como observado em estágio inicial, para aplicação no florescimento, a mistura também obteve efeito sinérgico na redução da porcentagem de massa seca para todas as doses testadas em ambos os biótipos, ou seja, a adição de clethodim na calda de glyphosate potencializou a redução da massa seca dos biótipos de *D. insularis* testados (Figura 28).

Figura 27 - Massa da matéria seca da parte aérea de capim-amargoso observado e interação esperada em resposta à mistura de glyphosate com clethodim aplicado em estágio inicial. A- Biótipo resistente; B- Biótipo suscetível.

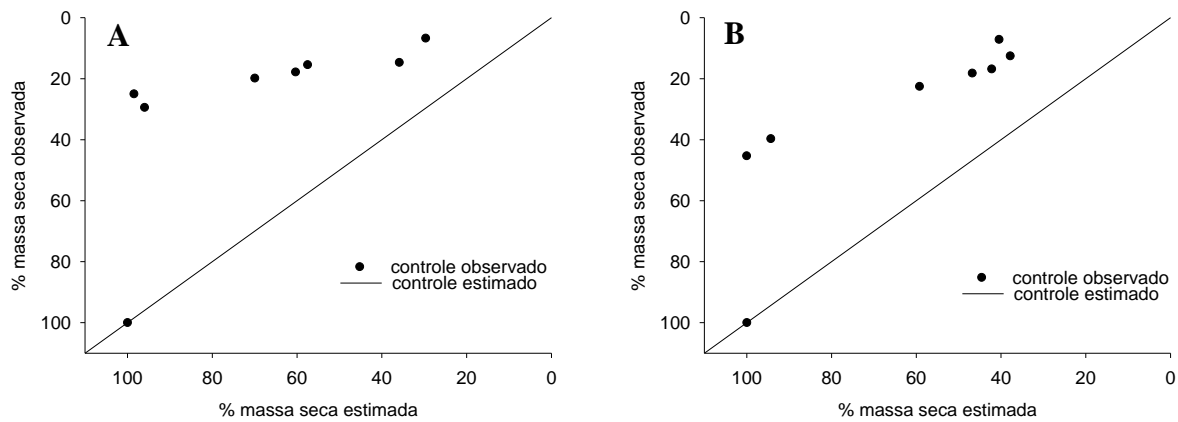
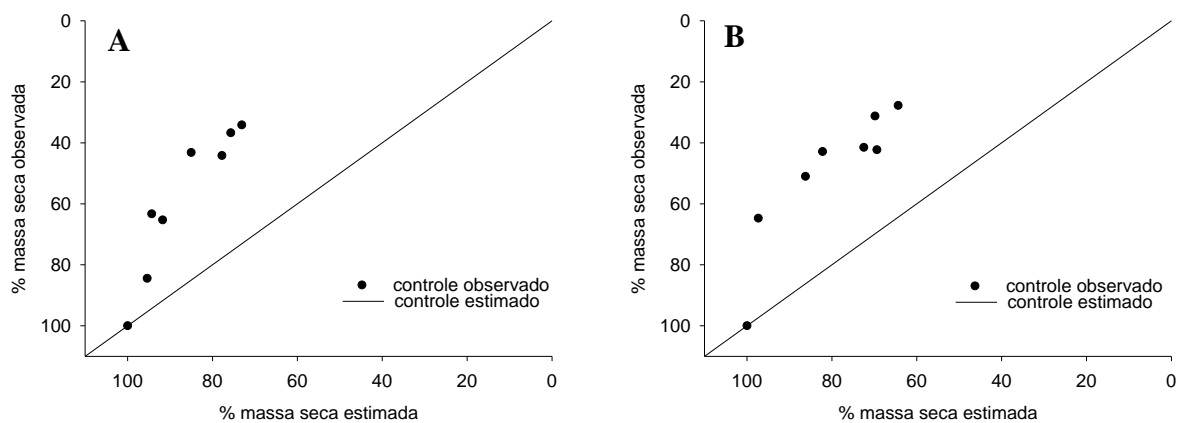


Figura 28 - Massa da matéria seca da parte aérea de capim-amargoso observado e interação esperada em resposta à mistura de glyphosate com clethodim aplicado no florescimento. A- Biótipo resistente; B- Biótipo suscetível.



Barroso et al. (2014) relatou antagonismo para redução de massa fresca em biótipo resistente com mistura de glyphosate + clethodim ($1080 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 108 \text{ g i.a. ha}^{-1}$), diferente dos resultados apresentados na Figura 26, onde foi calculado para a dose $1080 \text{ g e.a. ha}^{-1} + 96 \text{ g i.a. ha}^{-1}$ (dose comercial), uma redução de 57% e 42% na porcentagem de massa seca esperada, porém foi encontrado uma redução de 15% e 17% para massa seca observada, respectivamente para biótipo resistente e suscetível em estágio inicial, ou seja, com uma diferença sinérgica de 42% e 25%, enquanto para estágio florescido o esperado foi 77% e 69%, e observado 44% e 42% de massa seca, com uma diferença sinérgica de 33% e 27% para biótipo resistente e suscetível respectivamente (Figura 27).

4.5 Extrato Etéreo

O extrato etéreo extrai todas as moléculas apolares presentes nas plantas, portanto como os lipídeos são moléculas apolares, através dessa extração, o conteúdo total de lipídeo pode ser extraído por esse método. Na Tabela 17, verifica-se que, comparando com a testemunha, ocorreu redução na porcentagem de extrato etéreo em estágio inicial de capim-amargoso em algumas doses de glyphosate e clethodim aplicados isoladamente. As concentrações de extrato etéreo que foram superiores a concentração da testemunha (duas últimas doses de glyphosate em biótipo resistente e todas as doses da mistura) tiveram controle efetivo das plantas, sendo assim, possivelmente os processos de morte e decomposição das plantas foram acompanhados de aumento das concentrações de extrato etéreo e possivelmente lipídeos nas plantas. O método utilizado não permite determinar se houve produção de compostos apolares durante a decomposição ou se os compostos apolares tiveram decomposição mais lenta havendo enriquecimento da biomassa nos mesmos com o avanço da decomposição. Também deve ser considerada a possibilidade que os dois fenômenos tenham ocorrido e colaborado para os resultados observados.

Morte celular programada (MCP) é um processo em que as células individuais das plantas acionam a senescência, podendo ser iniciada diretamente pelas plantas, ou indiretamente, como ação de patógenos ou aplicação de pesticidas. Para ocorrer a MCP, existe um grupo específico de genes expressos pelas plantas, com função de desmontar os componentes celulares, levando a morte celular (DONALD, E. F. et al., 2013). Provavelmente alguns destes componentes celulares podem ter estrutura apolar e conseqüentemente explicaria o aumento da concentração de extrato etéreo

Tabela 17 - Porcentagem de extrato etéreo em estágio inicial de *Digitaria insularis*.
BR- Biótipo resistente; BS- Biótipo suscetível.

glyphosate			clethodim			glyphosate + clethodim		
Doses (g e.a. ha ⁻¹)	% Extrato Etéreo (BR)	% Extrato Etéreo (BS)	Doses (g i.a. ha ⁻¹)	% Extrato Etéreo (BR)	% Extrato Etéreo (BS)	Doses (g e.a. ha ⁻¹ + g i.a. ha ⁻¹)	% Extrato Etéreo (BR)	% Extrato Etéreo (BS)
0	1,2000	1,2900	0	1,2000	1,2900	0,	1,2000	1,2900
67,5	0,5783	0,2745	6	0,6661	0,5757	67,5 + 6	0,4180	1,0038
135	0,2727	0,2828	12	0,7728	0,6253	135 + 12	1,4554	0,9289
270	0,3143	0,3788	24	0,9275	0,9283	270 + 24	0,5744	1,1194
540	0,3595	0,2103	48	1,3090	0,9774	540 + 48	0,3118	1,9439
1080	0,4886	1,8578	96	1,9687	1,3804	1080 + 96	3,8235	0,9200
2160	0,7891	2,7556	192	1,6895	1,2502	2160 + 192	0,7714	0,6785
4320	0,9331	2,8729	384	2,1525	2,0568	4320 + 384	0,5184	0,8362

Clethodim, por ser um inibidor da ACCase (inibidor da síntese de lipídeos), era esperado a redução da porcentagem de extrato etéreo, corroborando os dados de Cataneo et al. (2013), que observou redução no conteúdo de lipídeo em quatro variedades de trigo com aplicação de fenoxaprop.

5 CONCLUSÕES

Os biótipos resistentes ao glyphosate apresentaram fator de resistência ao glyphosate de 4,82 (C_{50}) e 2,97 (GR_{50}) para aplicação em estágio inicial e 5,91(C_{50}) e 4,67 (GR_{50}) para aplicação no florescimento.

Em estágio inicial, o clethodim aplicado isoladamente controlou tanto o biótipo suscetível como o resistente ao glyphosate, porém quando a aplicação foi realizada no florescimento, não obteve controle.

A mistura entre glyphosate e clethodim controlou os dois biótipos tanto no florescimento como em estágio inicial.

Para controle, a interação apresentou efeito sinérgico para doses intermediárias e aditivo para as maiores doses em estágio inicial; em plantas florescidas, predominaram os efeitos aditivos para todas as doses.

Para massa seca, a mistura teve interação sinérgica em todas as doses e estádios avaliados.

Até doses que não culminaram no controle das plantas, todos os herbicidas usados de forma isolada ou em mistura, obtiveram redução da porcentagem de extrato etéreo.

REFERÊNCIAS

ADEGAS F. S. et al. **Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicida no Brasil**, Circular técnica 132, Embrapa, Brasil, p. 11, 2017.

ADEGAS, F. S. et al. Alternativas de controle químico de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glyphosate. In: **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., 2010, Ribeirão Preto. Responsabilidade social e ambiental no manejo de plantas daninhas. Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. p. 756-760. Trab. 161. 1 CD-ROM. CBCPD., 2010.

BARROSO, A. A. M. et al. Interação entre herbicidas inibidores da accase e diferentes formulações de glyphosate no controle de capim-amargoso. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 619-627, 2014.

BRENNA, O. V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 4841-4844, 2001.

CARVALHO, L. B. et al. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, v. 60, n. 2, p. 615-622, 2012.

CARVALHO, L. B. **Interferência de *Digitaria insularis* em *Coffea arabica* e Respostas destas Espécies ao Glyphosate**. 2011. 119 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

CATANEO, A. C. et al. Mefenpyr-diethyl action on fenoxaprop-p-ethyl detoxification in wheat varieties. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 31, n. 2, p. 387-393, 2013.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; et al. Resistência de plantas daninhas a herbicidas inibidores da EPSPs (Grupo G). In: In: CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 4 ed. - Piracicaba: ESALQ, 2016. cap. 11, p.186. 2016.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.) **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3 ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR), 2008. p.9-32.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; FILHO, R. V.; SILVA, C. B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 12, n. 1, p. 13-20, 1994.

COLBY, S.R. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicides combinations. **Weeds**, Ithaca, v.15, p.20-22, 1967.

CONSTATIN, J.; OLIVEIRA JUNIOR, J. C. Mistura de herbicidas contendo glyphosate: situação atual, perspectivas e possibilidades. In: VELINI, E. D. et al. **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. p. 211-258.

DÉLYE, C. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update. **Weed Science**, Champaign v. 53, n. 5, p. 728-746, 2005.

DREHMER, M. H. et al. Eficiência de herbicidas aplicados em pré-emergência para o controle de *Digitaria insularis* na cultura do feijão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina-PR, v. 14, n. 2, p. 141-147, 2015.

DICK, R. E.; QUINN, J. P. Glyphosate-degrading isolates from environmental samples: occurrence and pathways of degradation. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 43, n. 3, p. 545-550, 1995.

DONALD E. F. et al. Crescimento e desenvolvimento. In: TAIZ. L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. cap. 16, p. 484-487.

DUKE, S. O.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest management science**, v. 64, n. 4, p. 319-325, 2008.

FIGUEIREDO, M. R. A. **Interações entre os herbicidas 2, 4-D e glifosato: aspectos químicos, bioquímicos e fisiológicos**. 2015. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciências/Fitotecnia), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"-Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

FORNAROLLI, D. A. et al. Manejo de biótipos de *digitaria insularis* resistente ao herbicida glifosato. In: **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GLYPHOSATE, 3., 2011, Botucatu. Uso sustentável: trabalhos científicos. Botucatu: FEPAF, 2011.

FRANCO, P.; CONDORI, N.; FLORES, H. Resistencia múltiple a glifosato y herbicidas inhibidores de ACCasa en *Digitaria insularis* (L.) Mez ex Ekman y resistencia a glifosato de *Amaranthus quitensis* H.B.K. en Santa Cruz, Bolivia. In: **Proceedings of the XXII Congreso de la Asociación Latinoamericana de las Malezas**. Buenos Aires, Argentina: Asociación Latino-americana de Malezas. 2015. p. 264-264.

FRANZ, J. E.; MAO, M. K.; SIKORSKI, J. A.. **Glyphosate: a unique global herbicide**. Washington: American Chemical Society, 1997. 653 p.

GALLI, A. J. B. A molécula glyphosate e a agricultura brasileira. In: VELINI, E. D.; MESCHÉDE, D. K.; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B. **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. p. 17-20.

GAZOLA, T. **Ação do herbicida glyphosate em biótipos de *Digitaria insularis* resistentes e suscetíveis**. 2017. 85 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

GAZZIERO, D. L. P et al. **Manual de identificação de plantas daninhas da cultura da soja**. Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E), Londrina, 2006. 114 p.

GAZZIERO, D. L. P. et al. Efeitos da convivência do capim-amargoso na produtividade da soja. In: **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 28, 2012, Campo Grande. A ciência das plantas daninhas na era da biotecnologia: anais. Campo Grande: SBCPD, 2012. 6 p. Trab. 733., 2012.

GAZZIERO, D.L.P.; ADEGAS, F.S.; FORNAROLLI, D.; OVEJERO, R.F.L. **Capim-amargoso resistente ao glyphosate**. [S.l.]: Embrapa Soja, 2013.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 83-92, 2015 a.

GAZZIERO, D. L. P.; SOJA, Embrapa. Regulamentação das misturas em tanque de agrotóxicos. In: **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 7.; MERCOSOJA, 2015, Florianópolis. Tecnologia e mercado global: perspectivas para soja: anais. Londrina: Embrapa Soja, 2015 b.

GAZZIERO, D. L. P. **Mistura de agrotóxico em tanque**. EMBRAPA Soja. 2017. Disponível em: <<http://blogs.canalrural.com.br/embrapasoja/2017/03/10/mistura-de-agrotoxicos-em-tanque/>>. Acesso em: 17 jan. 2018.

GEMELLI, A. et al. Estratégias para o controle de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glyphosate na cultura milho safrinha. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, PR, v. 12, n. 2, p. 162-170, 2013.

GIANESSI, L. P. Economic and herbicide use impacts of glyphosate-resistant crops. **Pest management science**, Sussex, v. 61, n. 3, p. 241-245, 2005.

GOMES, L. J. P. et al. Chemical Control and Morphoanatomical Analysis of Leaves of Different Populations of Sourgrass. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 35, p. 1–11, 2017.

GREEN, J. M. Herbicide antagonism at the whole plant level. **Weed Technology**, Lawrence, v. 3, p. 217-226, 1989.

GUIMARÃES, G. L. Principais fatores comerciais condicionantes da disponibilidade de produtos isolados e em misturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 29., 2014, Gramado. **Palestra...** Gramado: 2014. CD ROM.

HALL, L. M. et al. Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false cleavers (*Galium spurium*). **Weed Science**, Champaign n. 46, p. 390-396, 1998.

HATZIOS; K. K.; PENNER; D. Interactions of herbicides with other agrochemicals in higher plants. **Weed Science**, Lawrence, v. 1, p. 1-63, 1985.

HEAP, I. A. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>. Acesso em: 15 jan. 2018.

HEAP, I.; DUKE, S. O. Overview of Glyphosate-Resistant Weeds Worldwide. **Pest management science**, 2017.

HESS, F. D. Herbicide effects on plant structure, physiology, and biochemistry. In: ALTMAN, J. **Pesticide interactions in crop production beneficial and deleterious effects**, London: CRC Press, 1993, 579 p.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: BASF, 1997. Tomo I. 825 p.

LICORINI, L. R. et al. Identificação e controle de biótipos resistentes de *Digitaria insularis* (L.) Fedde ao glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, PR, v. 14, n. 2, p. 148-154, 2015.

LINDERS, J. B. H. J. et al. Pesticides: **Benefaction or Pandora's Box?**: A synopsis of the environmental aspects of 243 pesticides. 1994. 204 p.

LOPES, T. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, RS, v. 13, n. 3, 2007.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3.ed. Nova Odessa: Plantarum, 2000, p. 608.

LUCHINI, L. C. Considerações sobre algumas propriedades físico-químicas do glyphosate. In: VELINI, E. D.; MESCHEDÉ, D. K.; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B. **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. p. 21-30.

MACHADO, A. F. L. et al. Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de *Digitaria insularis*. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 26, n. 1, p. 1-8, 2008.

MARTINS, J. F. **Aspectos ecofisiológicos e genético de biótipos de Digitaria insularis resistente e suscetível ao glyphosate**. 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção Vegetal) – Faculdade de Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

MELO, M. S. C. et al. Alternativas para o controle químico de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, PR, v. 11, n. 2, p. 195-203, 2012.

MELO, M. S. C. **Alternativas de controle, acúmulo de chiquimato e curva de crescimento de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suscetível e resistente ao glyphosate**. 2011. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências/Fitotecnia), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"- Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

MILA, I.; SCALBERT, A.; EXPERT, D. Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. **Phytochemistry**, Pergamon, v. 42, n. 6, p. 1551-1555, 1996.

MINGUELA, J. V.; CUNHA, J. P. A. R. **Manual de aplicação de produtos fitossanitários**. 1 ed. Viçosa: Aprenda Fácil, 2010. p. 588.

MONDO, V. H. V. et al. Efeitos da luz e temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de plantas daninhas do gênero *Digitaria*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 131-137, 2010.

MONQUERO, P. A. et al. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 22, n. 3, p. 445-451, 2004.

MOREIRA, H. J. C.; BRAGANÇA, H. B. N. **Manual de identificação de plantas infestantes: arroz**. Sao Paulo: FMC Agricultural Products, 2010. 853 p.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5 ed. São Paulo: Artmed, 2011, 1273 p.

NONEMACHER, F. et al. Herbicide association applied to control weeds in glyphosate-resistant soybean. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, PR, v. 16, n. 2, p. 152-162, 2017.

OLIVEIRA JUNIOR, R. S. Mecanismo de Ação de Herbicidas. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 141-192.

OSSIPOV, V. Gallic acid and hydrolysable tannins are formed in birch leaves from an intermediate compound of shikimate pathway. **Biochemistry Systematic and Ecology**, Oxford, v. 31, p. 3-16, 2003.

OVEJERO, R. F.; BELCHIOR, G. G.; MAYMONE, G. P. L. Resistência de Plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ACCase (grupo A). In: CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 4 ed. Piracicaba: ESALQ, 2016. cap. 5, p.77-98.

PARREIRA, M. C. et al. Manejo químico de *Digitaria insularis* em área de plantio direto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, PE, v. 5, n. 1, 2010.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual review of plant biology**, v. 61, p. 317-347, 2010.

- REAM, J. E. et al. EPSP synthase: binding studies using isothermal titration microcalorimetry and equilibrium dialysis and their implications for ligand recognition and kinetic mechanism. **Biochemistry**, Washington, v. 31, n. 24, p. 5528-5534, 1992.
- REINERT, C. S.; PRADO, A. B. C. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Curvas de dose-resposta comparativas entre os biótipos resistente e suscetível de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) ao herbicida glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, PR, v. 12, n. 3, p. 260-267, 2013.
- RIPPERT, P. et al. Engineering plant Shikimate pathway for production of tocotrienol and improve herbicide resistance. **Plant Physiology**, Washington, v. 134, p. 92-100, 2004.
- RIZZARDI, M. A. et al. Controle de azevém resistente ao herbicida glyphosate em pré-semeadura da cultura da soja. In: Congresso Brasileiro da Ciência de Plantas Daninhas, 25, 2006, Brasília. **Resumos...** Brasília, SBPCPD/UNB/Embrapa Cerrados, 2006. p.551.
- ROCKENBACH, A. P.; SCHNEIDER, T.; BIANCHI, M. A. Ryegrass control derived from isolated application with herbicides association. **Científica**, Jaboticabal, SP, v. 43, n. 1, p. 30-36, 2015.
- RODRIGUES, J. D. Absorção e transporte de solutos nas plantas. In: VELINI, E. D.; MESCHÉDE, D. K.; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B. **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009, cap. 4, p. 31- 112.
- ROMAN, E. D. et al. **Como funcionam os herbicidas**: da biologia à aplicação. Passo Fundo: BERTHIER, 2007, p. 59-67.
- ROSSETTI, M. L. R. Célula e seus constituintes moleculares. In: ZAHA, A.; FERREIRA, H. B.; PASSAGLIA, L. M. P. **Biologia molecular básica**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. cap. 1, p. 1-15.
- SAARI, L. L.; COTTERMAN, J. C.; THILL, D. C. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In: POWLES, S. B.; HOLTUM, J. A. M. **Herbicide resistance in plants**: biology and biochemistry. Boca raton: p. 83-139, 1994.
- SASAKI, Y.; NAGANO, Y. Plant acetyl-CoA carboxylase: structure, biosynthesis, regulation, and gene manipulation for plant breeding. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 68, n. 6, p. 1175-1184, 2004.
- SHANER, D. L. Role of translocation as a mechanism of resistance to glyphosate. **Weed Science**, Champaign, v. 57, n. 1, p. 118-123, 2009.
- SILVA, D. J. Determinação da gordura bruta ou extrato etéreo. In: SILVA, D. J. (Ed.). **Análise de alimentos**; métodos químicos e biológicos. 2.ed. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, UFV, 1990. p. 12-14.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS.

Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas. Londrina: SBCPD, 1995. 42 p.

SPADER, V.; MATERA, J. Controle de capim-amargoso tolerante e buva resistente ao herbicida glyphosate. In: Congresso Brasileiro da Ciência de Plantas Daninhas, 27. Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. n. 257.

STREIBIG, J. C. Herbicide bioassay. **Weed Research**, v. 28, n. 6, p. 479-484, 1988.

TAIZ. L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TONG, L. Structure and function of biotin-dependent carboxylases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 70, n. 5, p. 863-891, 2013.

TREZZI, M. M. et al. Antagonismo das associações de clodinafop-propargyl com metsulfuron-methyl e 2, 4-D no controle de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta daninha**, Viçosa, MG, vol. 25, n. 4, p. 839-847, 2007.

VARGAS, L. et al. Dose-response curves of *Lolium multiflorum* biotypes resistant and susceptible to clethodim. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 31, n. 4, p. 887-892, 2013.

VELINI E. D. et al. Modo de ação do glyphosate. In: In: VELINI, E. D.; MESCHEDE, D. K.; CARBONARI, C. A.; TRINDADE, M. L. B. **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. p. 113-134.

VELINI, E. D. et al. Características e usos do glyphosate. In: VELINI, E. D.; CARBONARI, C. A.; MESCHEDE, D. K.; TRINDADE, M. L. B. **Glyphosate: o uso sustentável**. Botucatu: FEPAF, 2012. cap. 1, p. 11-16.

VENDE BROEK, A. VANDERLEYDEN, J. The genetics of Azospirillum-plant root association. **Critical Reviews in Plant Science**, Boca Raton, v.14, p.455-466, 1995.

VIDAL, R. A. et al. Association of glyphosate with other agrochemicals: the knowledge synthesis. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, PR, v. 15, n. 1, p. 39-47, 2016.

WANG, C. J.; LIU, Z. Q. Foliar uptake of pesticides: present status and future challenge. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 87, p. 1-8, 2007.

WEHTJE, G.; ALTLAND, J. E.; GILLIAM, C. H. Interaction of glyphosate and diquat in ready-to-use weed control products. **Weed Technology**, Champaign, v.22, n.3, p.472-476, 2008.

WESLEY, M T.; SHAW, D. R. Interactions of diphenylether herbicides with chlorimuron and imazaquin. **Weed Technology**, Lawrence v. 6, n. 2, p. 345-351, 1992.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Chicago: v.49, p. 5165-5170, 2001.

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Controle de capim-amargoso perenizado em pleno florescimento. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, PR, v. 15, n. 2, p. 157-164, 2016.