

**VITOR MULLER ANUNCIATO**

**EFEITOS DO GLYPHOSATE NO CRESCIMENTO E REPRODUÇÃO DE  
BIÓTIPOS DE *DIGITARIA INSULARIS* RESISTENTE OU SUSCETÍVEL A ESTE  
HERBICIDA**

**Botucatu**

**2018**



**VITOR MULLER ANUNCIATO**

**EFEITOS DO GLYPHOSATE NO CRESCIMENTO E REPRODUÇÃO DE  
BIÓTIPOS DE *DIGITARIA INSULARIS* RESISTENTE OU SUSCETÍVEL A ESTE  
HERBICIDA**

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

Orientador: Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari

**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)

A636e Anunciato, Vitor Muller, 1991-  
Efeitos do glyphosate no crescimento e reprodução de biótipos de *Digitaria insularis* resistente ou suscetível a este herbicida / Vitor Muller Anunciato. - Botucatu: [s.n.], 2018  
67 p.: fots. color., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2018  
Orientador: Caio Antonio Carbonari  
Inclui bibliografia

1. Capim-amargoso. 2. Hormese. 3. Resistência a herbicidas. 4. Florescimento. I. Carbonari, Caio Antonio. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. 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: *EFEITOS DO GLYPHOSATE NO CRESCIMENTO E REPRODUÇÃO DE BIÓTIPOS DE *Digitaria insularis* RESISTENTE OU SUSCETÍVEL A ESTE HERBICIDA*

**AUTOR: VITOR MULLER ANUNCIATO**

**ORIENTADOR: CAIO ANTONIO CARBONARI**

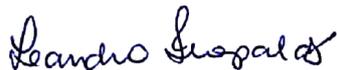
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI  
Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP



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

Botucatu, 23 de fevereiro de 2018.



*Ao meu primeiro filho Hernani, a minha noiva Luana e  
aos meus pais Claudio e Cristina Dedico.*



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por impor desafios a minha vida e me permitir seguir nos caminhos corretos dessa estrada.

Aos meus pais Claudio Anunciato Filho e Cristina Muller Anunciato, noiva Luana Denise Prestes e irmãos Leonardo e Pedro Muller Anunciato por estar ao meu lado nesta conquista.

Ao Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari, pela amizade, orientação, ensinamentos e dedicação, fundamentais para execução dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini e Dra. Giovanna Larissa Gimenes Cotrick Gomes, pela disponibilidade, prestatividade e auxílio na realização dos trabalhos.

Ao Dr. Dionísio L.P. Gazziero, por toda a amizade, paciência, conselhos e apoio que estão clareando o caminho para atingir os meus objetivos profissionais.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Proteção de Plantas) da Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu-Unesp, pela oportunidade e formação.

A todos os amigos do NUPAM, em especial ao Leandro Bianchi, Tiago Gazola, Gabrielle De Castro Macedo, Renan Fonseca Nascentes, Jonas Leandro Ferrari e Plínio Saulo Simões que contribuíram diretamente na execução dos trabalhos.

Aos amigos técnicos do laboratório NUPAM, José Guilherme Cordeiro, José Roberto Marques da Silva e Luiz Marcelo Siono pela amizade, aprendizado e colaborações nas atividades realizadas.

Aos amigos do clã Dragon Force, em especial João Vitor Galego, Joabe Santos, Vitor Amorim, Marcos Felipe Cardoso, Guilherme de Lucas Nogueira, Rafael Orletti, João Victor Moinho Giroto por me ajudarem a descontrair e voltar com mais foco a pesquisa.

Aos meus ex-companheiros de república, Diego Marinho, Rafael Marcom, Renam de Souza Pedracini e Ricardo Henrique Motta.

**Muito Obrigado!**



**“A ciência não é só compatível com a espiritualidade; é uma profunda fonte de espiritualidade.”**

**(Carl Sagan)**



## RESUMO

Muito já foi e ainda vem sendo estudado sobre os efeitos clássicos de dose-resposta dos herbicidas e uma outra vertente que vem surgindo são as respostas bifásicas, que incluem hormesis, caracterizada por doses baixas de um herbicida que causa estímulo e inibição em dose elevada. Assim como o estímulo pode ser benéfico na agricultura em algumas aplicações, porém quando ocorre em plantas não alvo, o efeito de hormesis pode-se tornar um problema. Nesse trabalho foram realizados quatro experimentos. Um experimento de curva dose-resposta para biótipo resistente e suscetível de *Digitaria insularis*, resistente ao herbicida glyphosate, avaliando-se altura das plantas, massa fresca e seca e fitotoxicidade (%) aos 7, 14 e 21 dias após a aplicação. Houve também a repetição do mesmo, um experimento com subdosagem de glyphosate para averiguar o efeito das subdosagens no florescimento, avaliando-se o número de panículas emitidos após a aplicação dos tratamentos e o quarto experimento que foi a verificação da germinação, índice de velocidade de germinação e peso de sementes provindas do terceiro experimento. O efeito de estímulo das subdoses foram constatados em todos os experimentos sendo que diferentes faixas de doses causaram o efeito de hormesis nos biótipos de *D.insularis*, resistente e suscetível havendo aumento de altura, massa, peso de sementes e velocidade de germinação e diminuição do tempo necessário para emissão das inflorescências. Esses efeitos podem conceder uma grande vantagem para a disseminação dessa espécie, auxiliando a alteração da flora de plantas infestantes.

**Palavras-chave:** hormesis, capim-amargoso, resistência a herbicidas, florescimento.



## ABSTRACT

Currently much has been studied about the classic dose-response effects of herbicides and another aspect that is emerging are the biphasic responses, which include hormesis, a biphasic dose-response phenomenon characterized by low dose stimulation and high dose inhibition. Just as the stimulus may be beneficial in agriculture in several applications, when this stimulus occurs in non-target plants, the effect of hormesis can become a problem. In this work, a dose-response curve experiment was performed for resistant and susceptible biotypes of *Digitaria insularis*, resistant to the glyphosate herbicide and evaluating plant height, fresh and dry mass and phytotoxicity (%) at 7, 14 and 21 days after application. The second experiment was the repetition of the first. An experiment with subdoses of glyphosate are performed to investigate the effect of the subdoses on flowering, evaluating the number of panicles emitted after the application of the treatments and the fourth experiment that was the verification of the germination, germination speed index and seed weight from the third experiment. The effect of subdoses stimulation was observed in all the experiments, with different dose ranges causing the stimulus in the *D.insularis* biotypes, resistant and susceptible, increasing height, mass, seed weight and germination speed and reduced the time required for inflorescence emission. These effects can give a great advantage to the spread of this species, helping to change the flora of weeds.

**Keywords:** hormesis, sourgrass, resistance to herbicides, flowering.



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Hormesis.....	19
2.2	Biologia e ecologia do <i>D. insularis</i> e a resistência.....	22
2.3	O Herbicida glyphosate.....	24
2.4	Manejo da resistência de <i>D. insularis</i> ao glyphosate.....	26
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.2	Isolamento dos biótipos e coleta de sementes.....	28
3.3	Estudo de exposição de <i>D. insularis</i> a subdose de glyphosate.....	28
3.4	Estudo efeito do estímulo de subdose de glyphosate no florescimento de <i>Digitaria insularis</i> .....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1	Estudo exposição de <i>D. insularis</i> a subdose de glyphosate.....	35
4.2	Estudo efeito do estímulo de subdose de glyphosate no florescimento de <i>Digitaria insularis</i> .....	47
4.3	Estudo efeito do estímulo de subdose de glyphosate no peso e germinação de sementes de <i>Digitaria insularis</i> .....	54
5	CONCLUSÕES.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58



## 1 INTRODUÇÃO

O glyphosate é um herbicida de ação sistêmica, largo espectro, não seletivo (KRUSE et al., 2000), que atua na inibição da enzima EPSPs, bloqueando a síntese de aminoácidos aromáticos e compostos secundários derivados desses aminoácidos. Atualmente muito vem sendo estudado sobre os efeitos clássicos dose-resposta dos herbicidas e outra vertente que vem surgindo são as respostas bifásicas, que incluem hormesis (CEDERGREEN et al 2009; CALABRESE e BLAIN 2009 ). Hormese é um fenômeno de dose-resposta bifásica, caracterizado por dose baixa estimulação e inibição em dose elevada (CALABRESE 2008). O efeito de hormesis em plantas cultivadas vem sendo estudado há algum tempo, foram realizados estudos que demonstram efeito hormético em espécies como soja, eucalipto, pinus, milho, café, citrus (VELINI et al. 2008).

Sabendo-se que todos os compostos são potencialmente tóxicos e podem apresentar resposta estimulante aos organismos, sendo essa estimulação em média entre 30 e 60% acima da testemunha (CALABRESE e BLAIN, 2005; CALABRESE, 2008, 2010). Para herbicidas os valores encontrados na literatura variam entre 20 e 30% de estímulo em comparação com a testemunha sob condições controladas e de 10 a 25% em condições de campo.

O glyphosate é o herbicida mais estudado com relação aos efeitos horméticos (SCHANBENBERGER et al., 1999 a; WAGNER et al., 2003; VELINI et al., 2008; CEDERGREEN et al., 2009; CEDERGREEN e OLESEN et al., 2010; BELZ et al., 2011; BELZ e LEBERLE, 2012; CARVALHO et al., 2013; BELZ e DUKE, 2014; BRITO et al., 2017).

Apesar de existir diversos trabalhos estudando o efeito de hormesis em plantas cultivadas porém pouco foi estudado sobre o efeito de hormesis dos herbicidas em plantas daninhas e o impacto econômico que esse efeito pode trazer a rentabilidade dos cultivos.

É conhecida a dificuldade do controle de plantas daninhas principalmente aquelas que apresentam resistência aos herbicidas. Atualmente no Brasil já foram encontradas biótipos de *Amaranthus palmeri*, *Chloris elata*, *Conyza sumatrensis*, *Conyza bonariensis*, *Conyza canadensis*, *Digitaria insularis*, *Eleusine indica* e *Lolium perenne ssp. multiflorum* resistentes aos inibidores da EPSPS (HEAP,2018). Não é conhecido se doses comerciais de glyphosate podem beneficiar esses biótipos de plantas daninhas

resistentes aos herbicidas inibidores da EPSPS. Sendo o efeito hormético provavelmente relacionado ao sítio de ação do glyphosate, uma vez que o efeito não foi observado em plantas transgênicas resistentes ao glyphosate, que possuem alteração na enzima EPSPS que torna a mesma insensível ao inibidor (VELINI et al., 2008).

No caso de plantas daninhas com resistência não relacionadas ao sítio de ação, onde os herbicidas chegam em quantidades reduzidas no sítio de ação (absorção e/ou translocação reduzida ou aumento da inativação metabólica), a dose que causa hormesis aumenta na proporção em que a dose tóxica aumenta (BELZ e DUKE, 2014). Portanto o efeito hormético pode favorecer o desenvolvimento dos biótipos resistentes em uma população após a aplicação da dose recomendada do herbicida.

Estudos recentes evidenciaram que doses sub-letais de glyphosate (90 a 360 g e.a. ha<sup>-1</sup>) podem estimular e aumentar o florescimento, a produção de sementes e a altura das plantas em populações resistentes de *Conyza sumatrensis*. Assim a antecipação do florescimento e aumento da produção de sementes em plantas daninhas resistentes ao glyphosate que não sejam controladas eficientemente com doses adequadas poderão apresentar uma maior habilidade competitiva do que as plantas suscetíveis em uma população, conseqüentemente, a mudança de composição da flora suscetível pela resistente ocorrerá em uma escala de tempo muito menor, com domínio das plantas resistentes em um curto espaço de tempo (GOMES, 2014).

Buscando-se entender fatores que favorecem a disseminação dos biótipos de *D. insularis* resistente nos campos de cultivo brasileiro, objetivou-se nesse trabalho comparar o efeito de diferentes doses de glyphosate sobre o desenvolvimento e crescimento, florescimento e peso de sementes de populações resistentes e susceptíveis de *D. insularis*. Uma vez que esses fatores como plantas maiores podem evitar sombreamento da planta daninha pelas plantas cultivadas e antecipação do florescimento pode acelerar o ciclo dessas plantas acelerando a sua disseminação.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Hormesis

Algumas substâncias, embora tóxicas em doses mais elevadas, podem ser estimulantes ou mesmo apresentar algum benefício em doses baixas. Paracelsus, o pai da toxicologia, é muitas vezes parafraseado dizendo que o veneno está na dose ("*Alle Ding sind Gifft und nichts ohn Gifft. Allein die Dosis macht das ein Ding kein Gifft ist.* "). Todas as coisas são venenosas e não são venenosas; apenas a dose faz algo ser tóxico ou não. A hormesis pode ser causada por muitos fatores, como substâncias e até mesmo radiação, sendo também característico de muitos herbicidas e outras fitotoxinas (DUKE et al., 2006; CEDERGREEN, 2008). As respostas estimuladoras do crescimento das plantas a baixas doses de estresse químico foram observadas em plantas há décadas. De fato, um dos primeiros herbicidas, MCPA, foi desenvolvido com o objetivo de aumentar o rendimento nas culturas (ALLEN et al., 1978).

Entre os herbicidas que causam hormesis o glyphosate é o mais estudado por ser o herbicida mais utilizado em todo o mundo (SCHABENBERGER et al., 1999; CEDERGREEN, 2008; VELINI et al., 2008; BRITO et al., 2017). Comparado com o clássico, relação monotônica entre a dose de uma toxina e o resultante padrões de resposta, redução de crescimento, perda de volume e/ou morte da planta, a resposta bifásica é caracterizada por um aumento na resposta a baixas doses conhecida como efeito de estímulo ou hormesis e que muda para a inibição em doses mais elevadas. Existem grandes controvérsias quanto à interpretação desses estímulos, acreditando-se que é uma resposta geral ao estresse que pode ocorrer para todos os produtos químicos, podendo ser também resultantes de controle ineficiente do herbicida.

Um dos primeiros estudos voltados para a pesquisa de hormesis nas plantas foi publicado por Wiedman e Appleby em 1972. Eles estudaram o efeito de 16 herbicidas em plantas de aveia e pepino e encontraram hormesis no peso seco de raiz resultante da resposta de subdoses de vários herbicidas inibidores do fotosistema II. Mas não conseguiram associar o aumento da biomassa das raízes a mudanças na respiração, na fotossíntese ou pelo conteúdo de proteínas, aminoácidos livres ou carboidratos solúveis (WIEDMAN e APPLEBY, 1972). Outros

estudos, no entanto, descobriram que os níveis subtóxicos de herbicidas inibidor de PSII, tinham efeitos hormonais (COPPING et al., 1972) e melhoraram o metabolismo do nitrogênio (RIES et al., 1967). O ceticismo e falta de estudos para o maior entendimento do efeito faz muitos pensarem que o efeito de hormesis é simples alocação de nutrientes para o local onde está ocorrendo o estresse, em uma “tentativa” da planta de contornar o problema. Sabe-se que as plantas alocam suas raízes em manchas do solo onde o ambiente é favorável em termos de água e nutrientes, enquanto evitando manchas de solo mais desfavoráveis (KLEIJN & VAN GROENENDAEL, 1999; WIJESINGHE & HUTCHINGS, 1999). Concentrações subletais de herbicidas em solos pode, portanto, induzir uma maior alocação de biomassa de raízes para promover a busca por ambientes mais favorável para as raízes. Porém estudos mostram que o aumento de biomassa devido a subdose de glyphosate, varia de 10-25% de peso seco dentro de uma semana ou mais, para que isso seja possível a simples alocação de nutrientes não é o suficiente, uma vez que as plantas ganham até 25% do seu peso total em comparação a testemunha. Para isso, as plantas devem aumentar as taxas fotossintéticas ou diminuir as taxas de respiração em resposta às doses baixas de glyphosate (BELZ et al., 2011).

Os mecanismos fisiológicos por trás desse aparente efeito é contra intuitivo e atualmente desconhecido. Do ponto de vista teórico, é improvável que as taxas de respiração diminuam, uma vez que as adições de xenobióticos geralmente induzem processos de desintoxicação que exigem muita energia (COLE, 1994). Um aumento nas taxas de fixação de carbono podem ser causadas pelo aumento na eficiência de captação de luz, o que estimula o crescimento sob limitação da radiação solar em condições de crescimento, ou pelo aumento da eficiência da fixação de carbono. A eficiência das taxas de fixação de carbono poderia aumentar através de um aumento no número de estômatos ou da condutância dos mesmos (PURRINGTON et al., 1999). A condutância do estômato é principalmente regulada por fito-hormônios como o ácido abscísico, citocininas e giberelinas (LARCHER, 2003). Um aumento da atividade da enzima de carboxilação primária ribulose-bifosfato carboxilase / oxigenase (rubisco), aumento das taxas de rotação do substrato de Rubisco ribulose-bifosfato (RuBP) ou uma taxa de uso aumentada de triose fosfato também pode aumentar a eficiência da fixação de carbono (SHARKEY et al., 2007).

Avaliada a partir de uma perspectiva energética e evolutiva, as respostas estimulantes observadas em subdoses de herbicidas, pode estar associado a um

custo de resposta ao estímulo. Ficando à custa do desenvolvimento de um parâmetro diferente daquele em que o efeito é aparente. No entanto, poucos estudos mediram mais de uma característica para testar se essa alocação de recursos ocorre. Ou também pode ser pago ao longo do tempo, de modo que ocorre um estímulo inicial seguido por uma diminuição do efeito, podendo ficar abaixo do normal (testemunha) com o passar do tempo. Isso foi observado para hormesis em teste com animais (CALABRESE, 2005).

Hormesis não é necessariamente benéfico ou prejudicial para agricultura. Para os herbicidas esses valores variam em média entre 20% e 30% em condições mais controladas e entre 10% e 25% em condições de campo, mas esta faixa média pode se exceder até 200% de estimulação dependendo de vários fatores, como compostos, condições de desenvolvimento das plantas, tempo, ou o design do estudo em geral (CALABRESE, 2009; VELINI et al., 2008).

Um exemplo de doses subtóxicas de glyphosate utilizado atualmente na agricultura são as subdoses de glyphosate utilizadas para aumentar a sacarose na cana-de-açúcar (MCDONALD et al., 2001). Esse efeito é altamente benéfico para os agricultores. Mas, assim como a estimulação de uma certa característica em uma cultura pode ser de importância econômica para um agricultor, mudanças no recurso alocado de uma planta daninha exposta a uma subdose podem trazer prejuízos. Velini et al. 2008, não observaram um efeito de hormesis do glyphosate em soja RR, enquanto que na soja convencional (não resistente), observou-se estimulação notável (aumentos de 22% no peso seco total a uma taxa de 23 g a.e. glyphosate ha<sup>-1</sup>). Já a planta daninha resistente ao glyphosate *Conyza sumatrensis*, em taxas de glyphosate variando de 90 a 360 g a.e. ha<sup>-1</sup> aumentaram a altura da planta e o número de flores e sementes por planta (GOMES, 2014). Baixas concentrações variando 4-32 g a.e. ha<sup>-1</sup> de glyphosate causou hormesis em *Coronopus didymus* (Mastruço-do-brasil), *Chenopodium album*, *Rumex dentatus* e *Lathyrus aphaca* o crescimento promovido foi mantido ao longo do tempo e causou aumentos significativos na produção de sementes dessas plantas daninhas (ATHER NADEEM et al., 2017).

## 2.2 Biologia e ecologia do *D. insularis* e a resistência

O capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Mez ex Ekman) é uma planta nativa de regiões tropicais, possui folhas estreitas, colmos e panículas características da família *poaceae*. São plantas perenes que formam touceiras de 0,5m a 1,5m, acumulando perfilhos emitidos em diferentes épocas, que tendem a produzir flores. Devido a desuniformidade da emissão dos perfilhos as, panículas, são formadas durante todo o ano, com maior concentração no início da primavera, atribuindo a essa planta característica de produzir sementes, praticamente o ano todo. Cada fluxo pode produzir, em média, entre 6,5 a 50 mil sementes por planta, que podem germinar o ano todo, sendo o período mais favorável de fevereiro a maio (LACERDA, 2003).

As sementes de *D. insularis* são cariopses, recobertas por pêlos, que associado ao seu tamanho e peso reduzido facilitam sua disseminação à grandes distâncias, através da anemocoria, e, ainda, possuem alto percentual germinativo, permitindo que populações de *D. insularis* se instale rapidamente em novas áreas (KISSMANN, 1997).

As sementes de *D. insularis* são insensíveis ao fotoperíodo para a germinação, mas a sua germinação é favorecida quando há luz e em temperatura de 35°C (MONDO et al., 2010; MENDONÇA et al., 2014). Porém quando a germinação ocorre com fotoperíodo crescente, na primavera, o capim-amargoso vegeta por mais tempo e leva mais tempo para florescer, 80 a 100 DAE, quando fotoperíodo é decrescente, o período vegetativo é menor, florescendo aos 63 e 70 DAE e conseqüentemente acumula menor quantidade de massa seca (MACHADO et al., 2006). Além da reprodução sexuada através de sementes, o capim-amargoso também se propaga vegetativamente, o que pode se tornar um problema quando é realizado manejo mecânico ou químico de contato, no qual a parte aérea é removida, e os rizomas que permanecem, pois não são afetados, ocorrendo o rebrote (TIMOSSI, 2009). Os rizomas de capim-amargoso são morfológicamente semelhantes ao colmo, funcionando como estrutura de reserva e propagação, além de serem ricos em amido, ou seja, reserva energética, a presença de amido em quantidade elevada pode ser responsável pela menor eficiência do glyphosate, dificultando a translocação do herbicida no interior da planta, resultando em menor acumulação no sítio de ação, possibilitando o que os meristemas se desenvolvam e

ocorra a rebrota da parte aérea de plantas tratadas com o herbicida. Assim como ocorre em *Commelina diffusa*, as brotações de *D. insularis* originadas de rizomas também são mais difíceis de serem controladas com o glyphosate provavelmente pelo mesmo motivo que *C. diffusa* o que a torna uma espécie de difícil controle (TUFFI SANTOS, 2004; MACHADO, 2008).

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas é um fenômeno natural que ocorre espontaneamente em suas populações, sendo o manejo errôneo das plantas daninhas potencializou a seleção dos indivíduos resistentes que se encontram em baixa frequência inicial (CHRISTOFFOLETI; LOPEZ-OVEJERO, 2008). Naturalmente só existem espécies de plantas que são tolerantes ao herbicida glyphosate e espécies que são sensíveis ao glyphosate, variando muito pouco o grau de resposta ao herbicida, o que indica uma pequena variabilidade funcional da enzima EPSPS, sendo a resistência um fator derivado de uma seleção artificial, não intencional realizada pelo homem (VARGAS; ROMAM., 2006)

A EPSPS está associada à rota de produção de aminoácidos aromáticos e ácido chiquímico o qual é responsável pela produção de três aminoácidos essenciais que são: triptofano, fenilalanina e tirosina, além de vários outros compostos fenólicos que derivam desses aminoácidos. (TAN et al., 2006; TAIZ ; ZEIGER, 2013). Os primeiros relatos de resistência em capim-amargoso foram no Paraguai em 2005, seguido do relato do primeiro caso no Brasil relatado em 2008, após a constatação do não controle de biótipos *Digitaria insularis* expostos a doses comerciais de glyphosate em lavouras de soja no município de Guaíra-PR, os relatos de biótipos de *Digitaria insularis* resistentes ao glyphosate, deram-se em áreas agrícolas onde a utilização do herbicida era intensa (HEAP, 2017). Essa resistência é um fenômeno que pode interferir nas práticas agronômicas de manejo de plantas daninhas, sendo que *Digitaria insularis* é uma planta muito adaptada aos sistemas de produção do Brasil, presente na maioria dos campos brasileiros, essa característica da planta associada a utilização sucessiva do herbicida glyphosate foram os responsáveis pelo aparecimento de biótipos de *D. insularis* resistentes a glyphosate.

A resistência ao glyphosate nas culturas e nas ervas daninhas se desenvolve através de dois mecanismos primários denominados resistência não associados ao sítio de ação (absorção e translocação reduzida, sequestro no vacúolo e metabolização) e resistência ao "sítio alvo" (mutação e amplificação de genes) (CRUZ-HIPOLITO, 2011).

Os mecanismos que conferem resistência a essa planta estão relacionados à mais lenta absorção de glyphosate por plantas do biótipo resistente, assim como com a rápida metabolização do glyphosate em AMPA (Ácido aminometilfosfônico), glioxilato e sarcosina (DA SILVA et al., 2013). Além disso, a translocação é muito menor em plantas do biótipo resistente em relação ao susceptível, mesmo em plantas novas, com 3 a 4 folhas (CARVALHO et al., 2012). Neve e Powles (2005) estudando biótipos resistentes de *Lolium multiflorum* a ACCase, notaram que quando a resistência aparece gradativamente e com diferentes fatores de resistência. Essa resistência tende a ser poligênica, ou seja, alteração de mais de um gene para que ocorra a resistência, esse tipo de resistência tende a estar associada a herbicidas que são usados em baixa dose, quando o herbicida é utilizado em doses altas a resistência tende a ser monogênica, específica, não havendo diferentes fatores de resistência na população. A alteração dos aminoácidos nas posições 182 e 310 da enzima EPSPS de plantas de *D. insularis* resistentes (CARVALHO et al., 2012), os diferentes mecanismos de resistência e fatores de resistência corroboram com a ideia de que a resistência desta espécie seja poligênica, e portanto, abrange diferentes mecanismos, sendo muito difícil determinar o tipo de resistência que cada população apresenta em uma determinada lavoura (GEMELLI et al., 2012).

### **2.3 O herbicida glyphosate**

Uma das tecnologias que auxiliaram a aumentar a produção agrícola é o uso de herbicidas. Dentre esses podemos destacar o glyphosate (N-fosfonometil)glicina), pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas e classificado como herbicida de amplo espectro de ação e sistêmico, sua alta eficiência, baixo risco toxicológico, preço acessível e os eventos de transgenia que tornaram plantas de interesse comercial resistentes a esse herbicida fizeram com que o glyphosate se tornasse o herbicida mais importante do século XX e XXI.

Segundo Hess (1993) o glyphosate é um inibidor não competitivo e competitivo, respectivamente, com os dois substratos. A molécula de glyphosate atua na rota do ácido chiquímico, competindo pelo mesmo sítio ativo na 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) e diminui a síntese de enolpiruvil chiquimato fosfato, produto desta enzima (STEINRÜCKEN; AMRHEIN, 1980). A enzima EPSPs é codificada no núcleo e desempenha sua função no cloroplasto (STAUFFER et al., 2001),

catalisando a ligação dos compostos chiquimato-3-fosfato e fosfoenolpiruvato, produzindo o enolpiruvilchiquimato-3-fosfato e fosfato inorgânico (PETERSON et al., 1996).

O bloqueio da síntese de EPSPS resulta no acúmulo de chiquimato e na perda de aminoácidos aromáticos necessários para a formação de proteínas importantes para o crescimento da planta, que por sua vez são precursores de outros compostos essenciais como hormônios e flavonoides (ROSS; CHILDS, 1995).

Como a inibição do enolpiruvil chiquimato fosfato induzida pelo glyphosate mata plantas ainda não é inteiramente claro. Vários compostos produzidos a partir de aminoácidos aromáticos estão envolvidos com a regulação do crescimento, qualidade da madeira, efeitos alelopáticos e resistência a pragas e doenças. Alguns compostos envolvidos são o ácido indolacético, a lignina e o ácido salicílico (VELINI et al. 2010).

Muitos assumem que a falta aminoácido aromáticos, que são produzidos na rota metabólica do ácido chiquímico, são essenciais para a síntese proteica, quando bloqueada sem as proteínas a planta entra em colapso, sendo esse o efeito primário, e isso é consistente com o lento desenvolvimento de sintomas (DUKE; POWLES, 2008). Evidências sustentam que o aumento de carbono que flui para a rota do ácido chiquímico, causado pela desregulação da mesma via de inibição da EPSPS resulta em escassez de carbono para outras rotas metabólicas essenciais (SIEHL, 1997). Também se verificou que o glyphosate afeta os mecanismos fisiológicos da planta, como a fotossíntese, metabolismo de carbono, nutrição mineral e eventos oxidativos. Além de perturbar as interações planta-microrganismo (KREMER; MEANS, 2009; KIELAK et al., 2011; ZOBIOLE et al., 2012). Os efeitos do glyphosate na fotossíntese, nutrição mineral e eventos oxidativos também estão presentes em plantas resistentes ao glyphosate, porém mais atenuado (ZOBIOLE et al., 2010, 2012). Além disso, a AMPA, produto da degradação do glyphosate, é uma fitotoxina reconhecida (REDDY et al., 2004), mas com mecanismo de ação ainda não completamente elucidado. Uma vez presente nos tecidos vegetais, a AMPA pode contribuir para os efeitos do glyphosate nos processos fisiológicos.

## 2.4 Manejo da resistência de *D. insularis* ao glyphosate

O controle de *Digitaria insularis* em pós-emergência é facilitado quando feito em estádios iniciais, podendo ser superior a 85%, diferente de quando feito em estágios mais avançados, onde o controle gira em torno de 50% (ADEGAS et al., 2010). Por esses motivos, os herbicidas disponíveis são geralmente recomendados para aplicação em estádios precoces de desenvolvimento ou em pré-emergência, relatos existem de vários mecanismos de ação que possuem eficácia sobre *D.insularis* nessa modalidade, incluindo os herbicidas inibidores de divisão celular, inibidores do fotossistema II, inibidores da síntese de carotenoides, inibidores da ALS, inibidores da protox.

O estudo de aplicações de herbicidas de diferentes mecanismos de ação com o mesmo espectro de controle (sobreposição de espectro de ação na planta daninha alvo), tornando-a uma estratégia que deve ser utilizada na agricultura (CHRISTOFFOLETI et al., 2012). Essa diversificação de manejo pode ser feita através de herbicidas em associação, sequência ou rotação, podendo ser associado a métodos culturais.

A mistura em tanque de glyphosate com herbicidas de diferentes mecanismos de ação, visando à ampliação do espectro de controle tem sido realizado, apesar de ainda não ser regularizada no Brasil. Adegas et al. (2010) estudaram o controle de capim-amargoso na cultura da soja com o uso de herbicidas pós-emergentes alternativos ao glyphosate, e constataram que na fase inicial de desenvolvimento, os herbicidas clethodim, fluazifop-p-buthyl, fenoxaprop-p-ethyl, tepraloxymid, clethodim + fenoxaprop-p-ethyl, paraquat, haloxyfop-methyl e imazapyr resultaram em controle eficiente e em estágio mais avançado de desenvolvimento. No estudo, o grupo de tratamentos mais eficiente foi formado por clethodim, fluazifop-p-buthyl, tepraloxymid, haloxyfop-methyl e paraquat. Entretanto, quando ocorre a rebrota, esse controle é reduzido para a média de 50% (PROCÓPIO et al., 2006), confirmando que o controle de plantas perenizadas é mais difícil (FORNAROLLI et al., 2011). Parreira et al. (2010) consideraram insatisfatório controle de *Digitaria insularis*, para todas as associações de glyphosate e haloxyfop-methyl. Melo et al. (2012) obtiveram resultados mais satisfatórios, e constataram em média um controle acima de 90% de capim-amargoso, observando inclusive um efeito sinérgico da mistura glyphosate + clethodim, segundo os critérios estabelecidos por Colby (1967). Constantin et al.

(2007), cita três sistemas de manejo químico de plantas daninhas na pré-semeadura: dessecação antecipada, aplicação entre sete e dez dias antes da semeadura e o aplique-plante. A dessecação antecipada consiste na aplicação de um herbicida sistêmico não seletivo, 20 dias antes da semeadura, diminuindo a massa vegetal sobre o solo. Esta aplicação é seguida de uma segunda aplicação na véspera da semeadura, com um produto de ação de contato, para controlar possíveis rebrotas e possibilitar a semeadura no limpo. A aplicação entre sete e dez dias antes a semeadura, permitindo que se inicie a fitointoxicação e que haja um maior rendimento na semeadura. No aplique-plante é feita a aplicação dos herbicidas imediatamente antes da semeadura da cultura, ganhando tempo no processo produtivo.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos 4 experimentos no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas - FCA/UNESP Campus de Botucatu/SP, durante os meses de setembro de 2016 a dezembro de 2017.

#### 3.1 Isolamento dos biótipos e coleta de sementes

Para os experimentos foram isolados dois biótipos de *D. insularis*, a partir de plantas matrizes mantidas em estufas e de sensibilidade ao herbicida previamente conhecida. A coleta de sementes de *D. insularis* começou com o isolamento das panículas antes da emissão e eventual troca de gametas entre as plantas, que ocorre em cerca de 5% dos casos devido a espécie ser autógama (DE MELO et al. 2015). O isolamento foi realizado com saco de papel vedado com fita adesiva, após o desenvolvimento completo das panículas foram cortadas as hastes das mesmas e retirado as sementes, para cada biótipo separadamente. Após as sementes foram acondicionadas em câmara fria com temperatura e umidade controlada ( $\pm 16^{\circ}\text{C}$  e  $20 \pm \text{U.R.}\%$ ).

#### 3.2 Estudo de exposição de *D. insularis* a subdose de glyphosate

Experimentos foram conduzidos em delineado inteiramente casualizado, com dois biótipos de *Digitaria insularis*, um suscetível e um resistente ao herbicida glyphosate, 10 tratamentos (doses de glyphosate) e 5 repetições, sendo avaliado separadamente os biótipos resistentes e suscetíveis.

Foram utilizadas diferentes faixas de doses para os biótipos suscetíveis e resistente devido a diferença de sensibilidade entre eles. Assim sendo as doses aplicadas ao biótipo suscetível foram: (0; 11,25; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720; 1440; 2880 g.e.a de glyphosate  $\text{ha}^{-1}$ ) enquanto que para o biótipo resistente as doses utilizou-se as seguintes doses: (0; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720; 1440; 2880; 5760 g.e.a de glyphosate  $\text{ha}^{-1}$ ), a mesma faixa de doses foi aplicada nas duas repetições dos experimentos, que foram conduzidos em épocas distintas.

O primeiro experimento com os dois biótipos foram conduzidos utilizando-se vasos plásticos com capacidade para 0,35 L<sup>-1</sup>, etiquetados com os respectivos identificadores de tratamento, biótipo e repetição, os vasos foram preenchidos com 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 mS cm<sup>-1</sup> ± 0,3; pH 5,5; densidade 155 kg m<sup>-3</sup>; capacidade de retenção de água 55%. Após o preenchimento foram semeadas em 12/01/2017, ±30 sementes de *D. insularis* por vaso e 10 dias após foi realizado o raleio e deixado 1 planta por vaso.

A pulverização foi realizada em 10/02/2017, quando as plantas apresentavam ± 3 perfilhos, com pulverizador estacionário (Figura 1), que possui estrutura em metal para suporte da barra de pulverização de 2 metros de comprimento que desloca-se por uma área útil de 6,0 m<sup>2</sup> no sentido do seu comprimento e é impulsionada com auxílio de um motor elétrico, como uma velocidade de trabalho, estabelecida a aproximadamente 3,6 km h<sup>-1</sup>, controlada por um modulador de frequência. A barra de pulverização conta com quatro bicos de pulverização (XR 11002 VS), espaçadas a 0,5 metros e com altura de 0,5 metros em relação às plantas. A pressão de trabalho adotada foi de 196,13 kPa, que gerou um consumo de calda de 200 L ha<sup>-1</sup>. O produto comercial utilizado foi o Roundup Original® da fabricante Monsanto, na formulação de sal de isopropilamina com concentração de 360 g.e.a. L<sup>-1</sup>, no momento da pulverização a temperatura e umidade relativa média estavam em 26°C e 57%, respectivamente.

**Figura 1** - Pulverizador estacionário com as unidades experimentais no momento da aplicação. Botucatu – SP, 2018



Para a segunda repetição dos experimentos foi realizada a semeadura em vasos de 1,7 L<sup>-1</sup>, preenchido com o mesmo tipo de substrato do experimento anterior sendo que a semeadura foi realizada no dia 18/04/2017. O desbaste deixou apenas uma planta por vaso, unidade experimental, foi realizado no dia 18/04/2017 e a pulverização foi realizado no dia 04/05/2017, quando as plantas estavam com  $\pm 3$  perfilhos. Com temperatura e umidade relativa média estavam em 29°C e 66%, respectivamente, os tratamentos foram os mesmos utilizados na primeira repetição.

Para todos os experimentos foram realizadas 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 das plantas, conforme Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (1995). Aos 21 DAA foi realizado a medição da altura das plantas (cm), com auxílio de uma régua com 2 m de comprimento e escala a cada cm, também foi cortada as plantas na base do colmo e pesado em balança de precisão de três casas. Após a mensuração de massa as mesmas.

Os dados de altura, massa fresca e seca foram transformados em porcentagem em relação a testemunha, tendo o valor médio da testemunha de cada variável considerado como 100% e os demais valores calculados em relação a essa média.

Os modelos estatísticos utilizados foram os de Brain e Coussens (1989); Streibig (1980). Para ambos os modelos o parâmetro “c” que equivale a assintótica mínima foi fixado com o valor da média do tratamento com a maior dosagem (HOEKSTRA; VAN EWIJK. 1993).

Modelo de Brain e Coussens (1989), BC.4, “c” fixado:

$$f\hat{x} = c + \frac{d - c + f}{1 + \exp(b(\log(x) - \log(e)))}$$

Modelo de Streibig (1980), LL.4, “c” fixado:

$$f\hat{x} = c + \frac{d - c}{1 + \exp(b(\log(x) - \log(e)))}$$

Os parâmetros “c” e “d” são os limites inferior, fixado, e superior, “b” é a inclinação relativa em torno de “e”, e o parâmetro “e” é o logaritmo do ponto de inflexão. Os modelos usados são diferentes em apenas um coeficiente adicional “f”. O parâmetro “f” é o valor de hormesis que ocorreu, sendo que se pode considerar verdadeiro o estímulo de hormesis quando esse parâmetro for diferente de 0 a 5% de probabilidade (SCHABENBERGER et al., 1999; KNEZEVIC et al., 2007).

Para definição do modelo melhor ajustado aos dados foi usados a diferença da soma de quadrado médio da regressão entre os modelos, diferença essa associada a inclusão do parâmetro “f” na equação. Desta forma é possível testar o quadrado médio associado à inclusão, com um grau da liberdade. Quanto maior for valor deste quadrado médio, em relação ao quadrado médio do outro modelo mais simples, mais significativo é o ajuste do modelo, e a hipótese  $f=0$  foi rejeitada, se o quadrado médio do modelo “BC.5” for maior do que do modelo “LL.4”, e a ocorrência de um estímulo de hormesis é aceita. Quando o valor deste quadrado médio não era significativo, a hipótese que  $f=0$  foi aceita e assim se concluiu que não havia efeito de hormesis e foi utilizado o um modelo logístico de quatro parâmetros modelo “LL.4” (VELINI, et al., 2008).

Os dados de fitotoxicidade (%) foram modelados com o modelo de Streibig (1980), fixando-se o valor do parâmetro “c” em 0, modelo “LL.3”. Junto com o ajuste dos modelos foi estimado o CR 50% e o GR 50%, equivalente a dose que promove 50% de controle das plantas e 50% de redução da massa. Sabendo-se o CR50% e

GR50% é possível calcular o fator de resistência dos biótipos, a fórmula utilizada para o cálculo foi  $(FR = R/S)$  que expressa o número de vezes em que a dose necessária CR50% ou GR50% do biótipo resistente é superior a dose CR50% ou GR50% do biótipo suscetível (HALL et al., 1998). Encontrando-se assim o fator de resistência com base no CR50% e GR50%, a resistência é confirmada quando  $FR > 1,0$  (SAARI et al., 1994).

Todos os testes estatísticos, ajustes do modelo e gráficos foram realizados através do software estatístico R® em conjunto pacote “drc” (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008; RITZ; STREIBIG, 2016).

### **3.3 Estudo efeito do estímulo de subdose de glyphosate no florescimento de *Digitaria insularis***

Esse ensaio foi realizado com o objetivo de verificar o efeito das subdosagem do herbicida glyphosate no florescimento de *D. insularis*, foram utilizados os mesmos biótipos dos ensaios de curva dose resposta, as sementes foram semeadas em vasos plásticos de 1,7 L<sup>-1</sup> de capacidade preenchido com substrato Carolina II ® já descrito suas características no item anterior. As sementes foram semeadas no dia 03/04/2017, do dia 13/04/2017 mais de 50% dos vasos já apresentavam plantas emergidas, foi feito o raleio deixando apenas uma planta por vaso no dia 27/04/2017, constituindo uma unidade experimental. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições, a pulverização do herbicida glyphosate foi realizada no dia 11/05/2017, as doses foram as mesmas tanto para o biótipo susceptível quanto para o biótipo resistente ao herbicida glyphosate (0; 1,4; 2,8; 5,6; 11,25; 22,5; 45; 90; 180; 360; 720 g. e. a. do herbicida glyphosate ha<sup>-1</sup>) totalizando 11 tratamentos. Foi realizada avaliação visual de fitotoxicidade a cada 7 dias após o tratamento até os 43 dias após aplicação (DAA) seguindo a escala percentual de controle, em que “0” corresponde a nenhum controle e “100” significa a morte das plantas, conforme Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (1995). Também foi realizado a contagem do número de panículas a cada dois dias após o tratamento, iniciando a contagem aos 10 DAA para o biótipo resistente e aos 16 DAAA para o biótipo susceptível finalizando a contagem de ambos aos 64 DAA, junto com a contagem das panículas foi realizado a coleta das sementes dessas panículas, as sementes foram coletadas utilizando-se sacos de papel separando-se

tratamento e repetição, as panículas eram agitadas dentro do saco de papel sendo que somente as sementes “maduras” se desprendiam das panículas, essas sementes foram armazenadas em câmara fria para posterior realização de experimento de germinação das mesmas.

Os dados foram ajustados o modelo de Gompertz, desenvolvido por Gompertz (1825), seguindo procedimentos adaptados por Velini (1995):

$$Y = e^{[a - e^{(-b - c * x)}]}$$

em que a, b e c correspondem aos parâmetros da equação. A assíntota máxima do modelo é representada pela expressão “ea”, o deslocamento da curva ao longo do eixo x pelo parâmetro "b", e a inclinação ou concavidade da curva em relação ao número de panículas, pelo parâmetro "c" (VELINI, 1995). Para melhor visualização, optou-se por apresentar a florescimento não-acumulado, que corresponde à primeira derivada do modelo de acordo com a equação:

$$Y = c * e^{(a - b - c * x - e^{(-b - c * x)})}$$

Também com base no modelo de Gompertz, foram determinadas as medidas de posição (moda, média e mediana) e de dispersão (coeficiente de variação) dos dados analisados. As médias aritméticas foram calculadas, enquanto que os valores de moda foram estimados pelos parâmetros da equação, segundo Velini (1995), com a fórmula:

$$Y = - \frac{b}{c}$$

E para as estimativas dos valores de mediana utilizou-se a equação:

$$Y = - \frac{\ln \left( a - \left( \ln \left( \frac{e^a}{2} \right) \right) \right) + b}{c}$$

As análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, SAS Institute, version 9.1.3., Carry, North Carolina, USA), sendo os gráficos elaborados pelo Sigmaplot (SYSTAT SOFTWARE, versão 12.0, San Jose).

### 3.4 Estudo efeito do estímulo de subdose de glyphosate no peso e germinação de sementes de *Digitaria insularis*

Para o experimento de germinação e peso de sementes foram utilizadas as sementes providas do experimento de florescimento descrito no item 3.3, constituindo um experimento totalmente ao acaso com dois biótipos, seis doses para o susceptível e nove para o resistente e quatro repetições, totalizando 200 sementes por tratamento. As doses que foram coletas as sementes foram (0; 1,4; 2,8; 5,6; 11,25; 22,5 g.e.a. glyphosate ha-1) para o biótipo susceptível e (0; 1,4; 2,8; 5,6; 11,25; 22,5; 45; 90; 180 g.e.a. glyphosate ha-1) para o biótipo resistente. Foram colocadas 50 sementes de *D. insularis* separadas equidistantemente, cinco fileiras com dez sementes, em gerbox esterilizado com hipoclorito de sódio a 1% com 2 folhas de papel borrão esterilizado a 110°C por 24h, em B.O.D a 25°C, com fotoperíodo 8h, não foi realizado tratamento para quebra de dormência das sementes, devido a não necessidade do mesmo. As parcelas foram inicialmente molhadas com 12 ml água destilada (2,5x o peso seco do papel), e diariamente era verificado e repostado a umidade das parcelas com água destilada. O experimento foi conduzido durante quatorze dias sendo a primeira contagem de sementes germinadas realizada aos sete dias e a última contagem aos quatorze dias, sendo realizado contagem diária de sementes germinadas, as sementes foram consideradas germinadas quando apresentavam radícula com 4mm de comprimento e epicótilo de 4mm de comprimento e retiradas as sementes germinadas, deixando no gerbox apenas sementes não germinadas, o experimento de germinação seguiu as normas propostas pela (RAS) regras para análise de sementes (MAPA, 2009). Foi calculado o índice de velocidade de germinação (IVG) (MAGUIRE, 1962).

$$IVG = \Sigma(n/t)$$

t: número de dias da semente à primeira até à última contagem. n: número de plântulas normais computadas na primeira contagem até a última contagem.

E também foi calculado a porcentagem de germinação (G%), dividindo o número total de sementes colocados para germinação pelo número de sementes germinadas, ambos os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste de F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para o peso das sementes pesadas 100 sementes de cada tratamento provenientes dos tratamentos do experimento anterior, os dados foram submetidos ao teste t a 5%.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estudo exposição de *D. insularis* a subdose de glyphosate

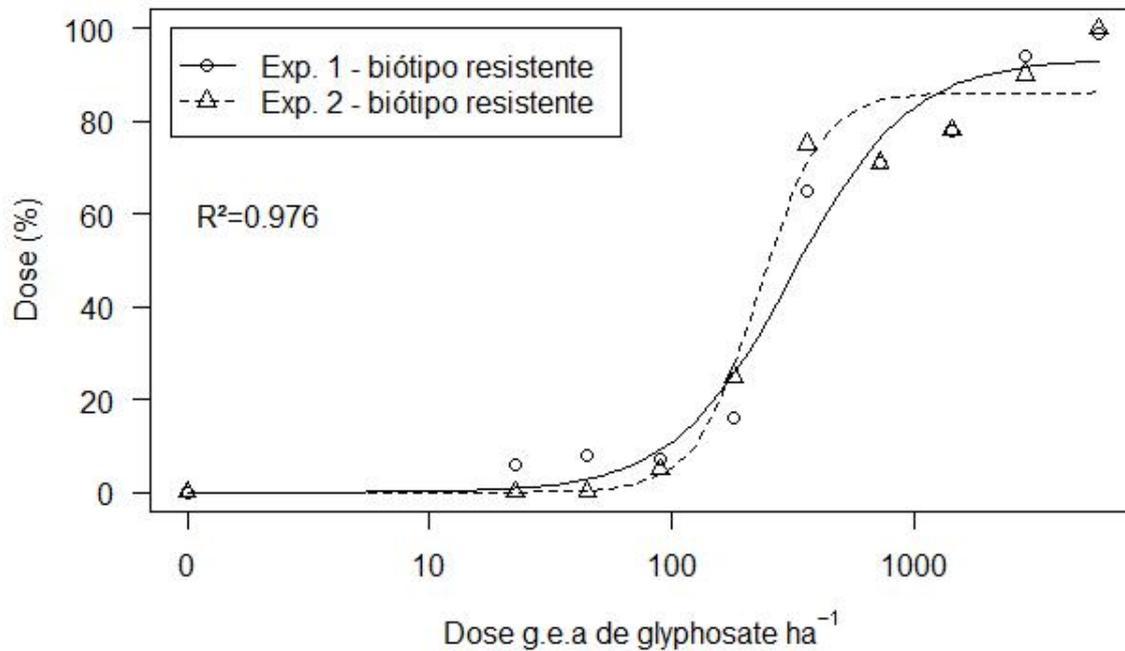
As diferenças de controle encontradas são grandes entre os biótipos resistente e suscetíveis, o controle tem de ser superior a 80% para que um herbicida seja classificado como eficiente para o controle de determinada espécie (GAZZIERO, 1995). Para os biótipos resistentes só foi possível observar controle superior a 80% nas doses 2880 e 5760 g e.a. ha<sup>-1</sup> equivalente a 8 e 16 litros de produto comercial (p.c.) ha<sup>-1</sup> (Figura 2 e 3). As plantas de *D. insularis* resistentes apresentaram boa tolerância à aplicação de subdoses do herbicida, pois causaram baixíssima fitointoxicação aos 21 DAA até 180 g.e.a. ha<sup>-1</sup> não diferindo das menores doses, equivalente a 0,5L p.c. de glyphosate (Figura 4). Já em biótipos suscetíveis 90 g e.a. ha<sup>-1</sup> e 180 g. e.a. ha<sup>-1</sup> aos 21 DAA foram suficientes para obter um controle acima de 80% (Figura 5). Correia et al.(2010) encontraram dados muito similares estudando a respostas de diferentes populações de *Digitaria insularis* provindas de diferentes regiões do Brasil. Os parâmetros utilizados para ajuste da curva estão descritos na (Tabela 1).

**Tabela 1** - Valor dos parâmetros e o erro padrão, para ajuste do modelo de controle aos 21 dias após a aplicação dos tratamentos dos experimentos com biótipos resistentes e suscetíveis de *Digitaria insularis* exposta a doses de glyphosate

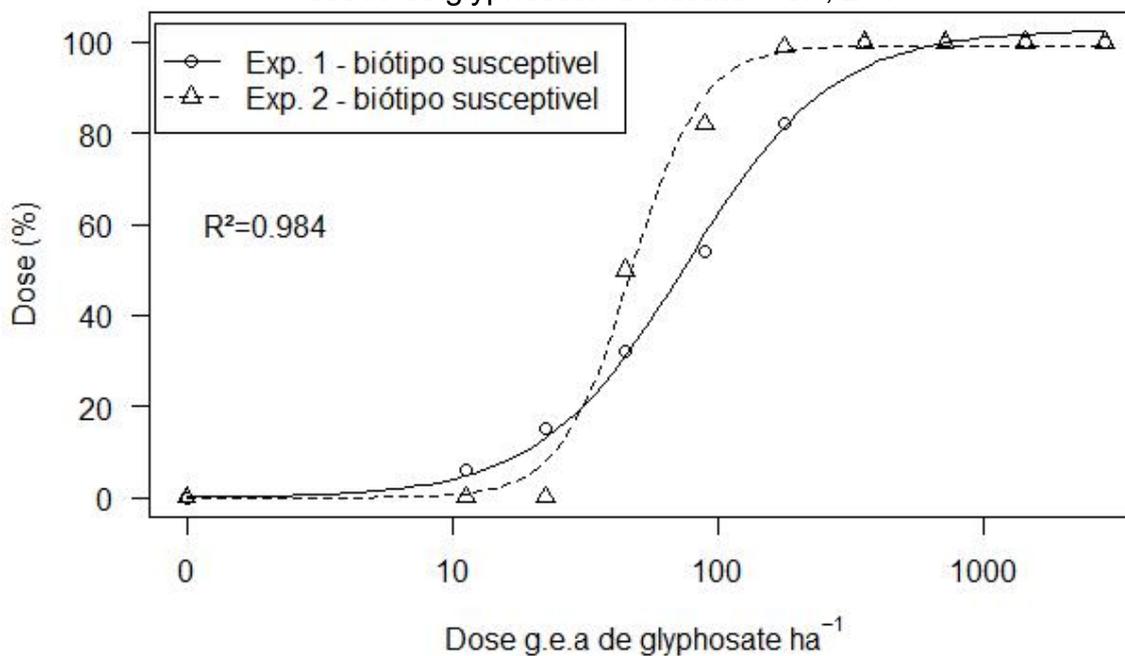
Experimentos	Parâmetros do modelo LL.3		
	b	d	e
Suscetível experimento 1	-1,57**±0,13	102,72**±2,14	76,59**±5,1
Suscetível experimento 2	-3,27**±0,43	99,25**±1,65	47,53**±2,14
Resistente experimento 1	-1,78**±0,33	93,31**±3,72	312,86**±31,58
Resistente experimento 2	-3,32**±0,74	86,11**±2,26	228,26**±13,48

\*\*São significativamente diferentes de 0 a 1% de probabilidade, segundo o teste t-student. Equação LL.3 ( $f(x) = 0 + \frac{d-0}{1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))}$ ).

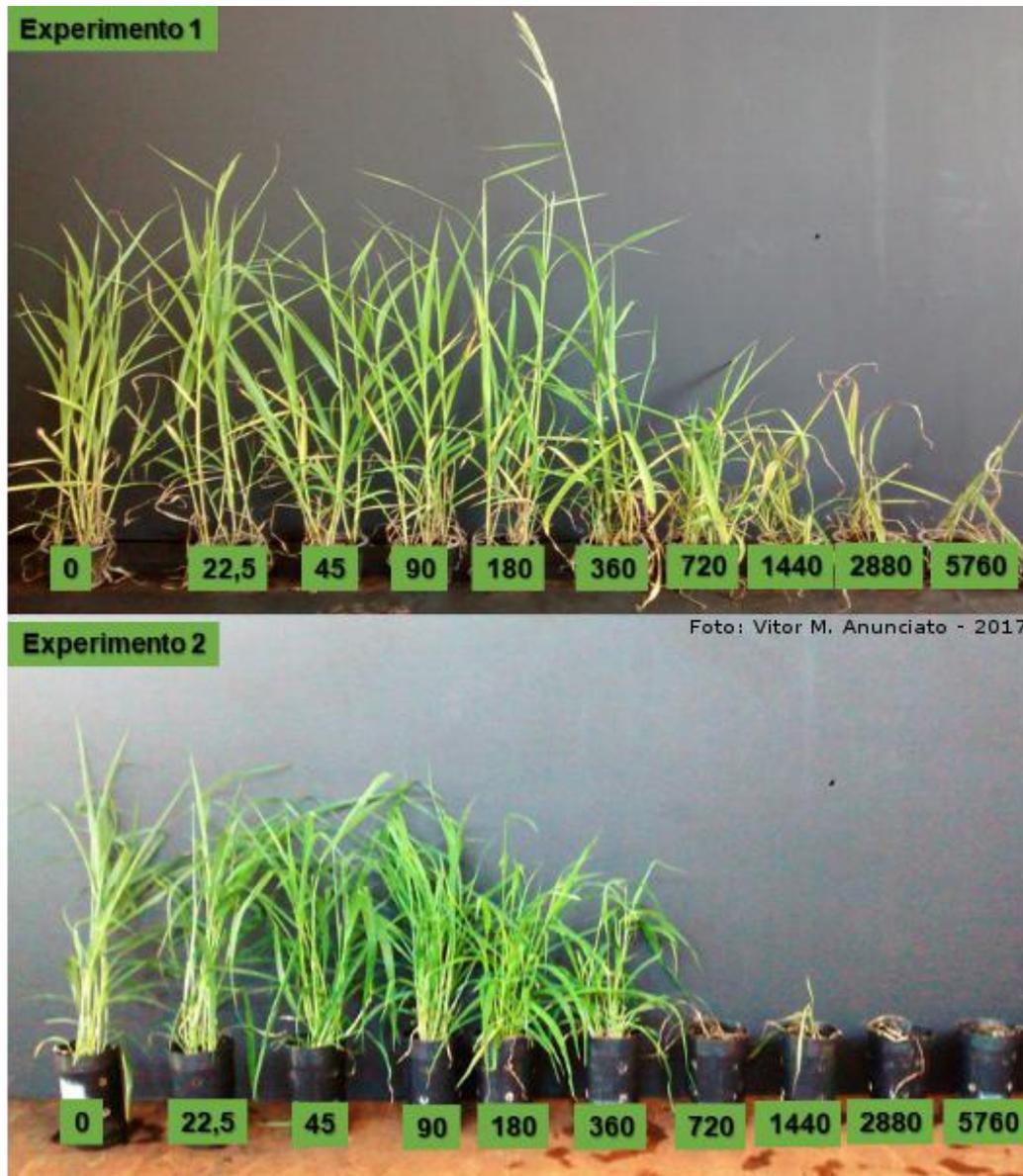
**Figura 2** - Curva de controle em porcentagem aos 21 dias após a aplicação (DAA) de glyphosate, obtida a partir de biótipos resistentes de *Digitaria insularis* expostos a doses de glyphosate. Botucatu – SP, 2018



**Figura 3** - Curva de controle em porcentagem aos 21 dias após a aplicação (DAA) de glyphosate, obtida a partir de biótipos suscetíveis de *Digitaria insularis* expostos a doses de glyphosate. Botucatu – SP, 2018



**Figura 4** - Avaliação visual de fitointoxicação aos 21 DAA de plantas resistentes de *D. insularis* dos experimento 1 e 2 expostas a diferentes doses de glyphosate em gramas de equivalente ácido por hectare (g.e.a.ha-1). Botucatu-SP, 2018



**Figura 5** - Avaliação visual de fitointoxicação aos 21 DAA de plantas suscetíveis de *D. insularis* dos experimento 1 e 2 expostas a diferentes doses de glyphosate em gramas de equivalente ácido por hectare (g.e.a.ha<sup>-1</sup>). Botucatu-SP, 2018



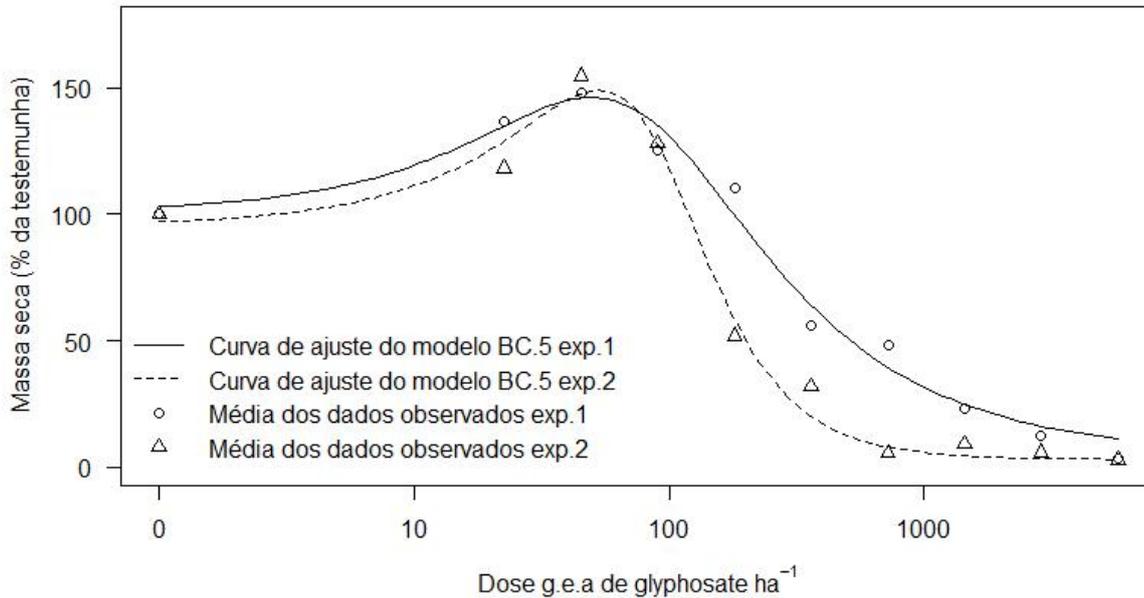
O CR 50% e o GR 50% foi calculado com base nas curvas dose-resposta apresentadas (Figura 2 e 3) e nas curvas de massa seca (Figura 6 e 7), CR 50% é equivalente a dose que promove controle de 50% dos indivíduos expostos ao tratamento, e o GR50% é a dose necessária para redução de 50% da matéria seca em relação a testemunha (Tabela 2). Os fatores de resistência dos biótipos foram calculados com base no CR 50% e GR 50% (Tabela 2), as diferenças dos fatores de resistência encontrados podem estar associadas as condições climáticas em que se desenvolveu os biótipos após a aplicação dos tratamentos.

**Tabela 2** - CR 50%, GR 50% e fatores de resistência calculados com base nesses dois fatores dos biótipos de *Digitaria insularis* resistente e suscetível ao herbicida glyphosate

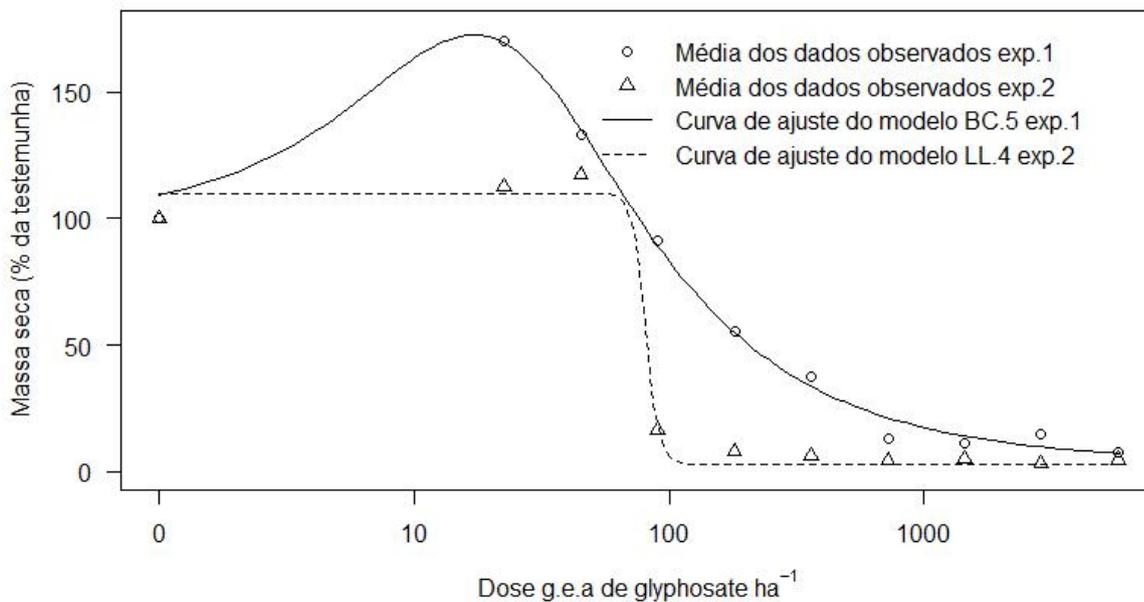
	Resistente		Suscetível	
	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2
CR 50%	312,8 ± 31,58	228,2 ± 13,4	76,59 ± 5,1	47,53 ± 2,1
GR 50%	481,1 ± 55,66	202,2 ± 30,4	178,5 ± 23,7	80,77 ± 8,5
Fator de resistência (CR 50%)	4,08	4,8	-	-
Fator de resistência (GR 50%)	2,69	2,5	-	-

Gazola, 2017 apresentou dados de CR50% muito similares aos encontrados nesse experimento especialmente para os biótipos suscetíveis. A dose necessária para reduzir em 50% a massa seca de *Digitaria insularis* suscetível foi 93,6 g e.a. ha<sup>-1</sup>, já para populações resistentes foram necessário 1.249,2 g e.a. ha<sup>-1</sup> (LACERDA e VICTORIA-FILHO, 2004; ADEGAS et al., 2010). O biótipo resistente utilizado no experimento necessitou de aproximadamente um terço dessa dose para que houvesse o controle de 50%, não descaracterizando o biótipo resistente desse experimento como não resistente, apenas existe uma diferença de resistência sendo que o biótipo que necessitou de 1,249 g e.a. ha<sup>-1</sup> apresenta um fator de resistência maior do que o utilizado nesses experimentos. Essas diferenças podem estar relacionadas a absorção, translocação, sítio de ação, metabolização e compartimentalização do glyphosate pelas plantas de capim-amargoso explicando a variabilidade de resposta dos indivíduos à ação do produto. Podendo existir diferenças entres os mecanismos de resistência de cada biótipo avaliado em diferentes pesquisas.

**Figura 6** - Ajuste das curvas do modelo BC.5 aos dados de massa seca (% em relação a testemunha) do primeiro experimento e segundo experimento de exposição de biótipos de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



**Figura 7** - Ajuste das curvas do modelo BC.5 e LL.4 aos dados de massa seca (% em relação a testemunha) do primeiro experimento e segundo experimento de exposição de biótipos de *Digitaria insularis* suscetíveis ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



Para elaboração das curvas de ajuste dos dados de massa seca foram utilizados os parâmetros presentes na (Tabela 3).

**Tabela 3.** Parâmetros das equações de regressão para massa seca (% em relação a testemunha) das plantas de *Digitaria insularis* resistentes e suscetíveis ao herbicida glyphosate, 21 dias após o tratamento (Experimento 1 e 2). Os valores representam parâmetros de regressão e o desvio padrão dos mesmos. Botucatu-SP, 2018

Massa seca (% em relação a testemunha)				
	Resistente		Suscetível	
	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2
<b>Hipótese f≠0</b>	44,7**	13,92**	59,22**	2,29
<b>Regressão</b>	12,38	25,14	14,9	18,32
<b>Modelo</b>	BC.5	BC5	BC5	LL.4
<b>R<sup>2</sup></b>	0,93	0,84	0,92	0,87
Parâmetros				
<b>b</b>	1,73** ± 0,06	2,69** ± 0,42	1,83** ± 0,09	19,1 ± 109
<b>c</b>	3,63	3,02	7,94	4.73
<b>d</b>	100,98** ± 5,7	95,43** ± 11	99,98** ± 6,94	109,9** ± 4,8
<b>e</b>	80,51** ± 14	93,42** ± 15,8	26,45** ± 6,51	80,7 ± 49,9
<b>f</b>	2,14** ± 0,52	1,6** ± 0,56	8,38** ± 2,86	

\*significativo a 5% teste t-student; \*\*significativo a 1% teste t-student; Modelo BC.5  $F(x) = ((k+f*x)/(1+(e^{(b*g)})*(x^b)))+d$ . LL.4  $(f(x) = c + \frac{d-c}{1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))})$ .

As doses que apresentaram estímulo de hormesis para a massa seca foram 22,5 e 45 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> para o experimento 1, e 22,5 a 90 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> para o experimento 2 para os biótipos resistentes, com estímulos de até 55% em relação a testemunha (Figura 6 e 7). É possível observar que o experimento 1 com biótipos suscetíveis apresentou um parâmetro “f” muito elevado (Tabela 3) e não por coincidência foi o experimento que apresentou maior estímulo de todo o trabalho, na dose de 11,25 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> houve incremento de até 70% em relação a testemunha, porém esse incremento não se repetiu no segundo experimento com o biótipo suscetível (Figura 7). Moraes, 2016 trabalhando com *U. decumbens* observou que a subdose de 11,25 g e.a. ha<sup>-1</sup> de glyphosate apresentou efeito de hormesis promovendo tanto estímulo, porém a mesma dose também provocou inibição de crescimento, demonstrando haver variabilidade de resposta das plantas na mesma dose. Diferentes respostas para mesma dose explica o por que da instabilidade de se encontrar o mesmo efeito repetidas vezes.

Essa variação também pode ser observada em todo o experimento, sendo que as doses de estímulo variam entre uma faixa de dose e o efeito de estímulo não é igual para a mesma dose nas diferentes repetições do experimento, em ordem de grandeza, porém as doses tendem causar estímulo independente da grandeza desse estímulo.

Os parâmetros para ajuste dos modelos dos dados de massa fresca são apresentados na (Tabela 4), para todos os modelos utilizados o parâmetro “c” da equação foi fixado, por esse motivo esse parâmetro não apresenta análise estatística, para verificação se o valor é divergente de 0.

**Tabela 4.** Parâmetros das equações de regressão para massa fresca (% em relação a testemunha) das plantas de *Digitaria insularis* resistentes e susceptíveis ao herbicida glyphosate, 21 dias após o tratamento (Experimento 1 e 2). Os valores representam parâmetros de regressão e o desvio padrão dos mesmos. Botucatu-SP, 2018

Massa fresca (% em relação a testemunha)				
	Resistente		Suscetível	
	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2
<b>Hipótese f≠0</b>	14,17**	11,99**	3,69	3,3
<b>Regressão</b>	11,74	25,14	17,62	15,12
<b>Modelo</b>	BC.5	BC5	LL.4	LL.4
<b>R<sup>2</sup></b>	0,93	0,84	0,88	0,91
Parâmetros				
<b>b</b>	1,8** ± 0,08	2,64** ± 0,42	2,77** ± 0,63	16,1 ± 57,19
<b>c</b>	1,46	1,43	3,17	0,46
<b>d</b>	100,36** ± 5,48	98,89** ± 11,3	113,08** ± 5,07	109,76** ± 4
<b>e</b>	76,4** ± 16,79	102,6** ± 19,7	159,3** ± 16,3	83,7 ± 21,3
<b>f</b>	1,52** ± 0,56	1,54* ± 0,01		

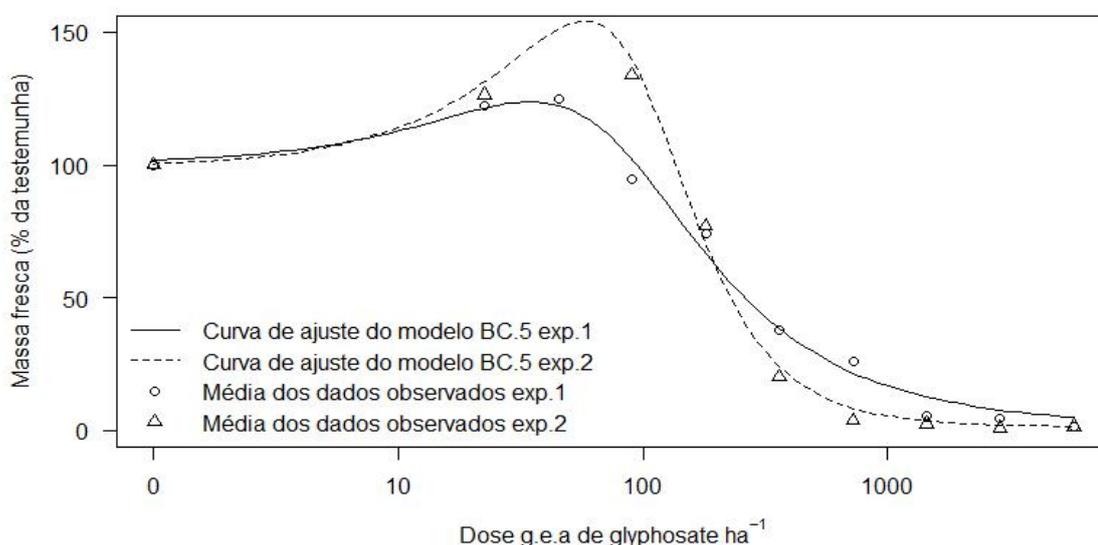
\*significativo a 5% teste t-student; \*\*significativo a 1% teste t-student; Modelo BC.5  $F(x) = \frac{(k+f*x)}{(1+(e^{(b*g)})*(x^b))}+d$ . LL.4  $(f(x) = c + \frac{d-c}{1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))})$ .

As subdoses de glyphosate que causaram estímulo em massa fresca estão dentro da mesma faixa de dose em que ocorreu estímulo de massa seca, 22,5 e 45 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> para o experimento 1, e 22,5 a 90 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> para o experimento 2 para os biótipos resistentes, chegando a incrementos de até 50% (Figura 8). Silva et al., 2015 encontrou resultados divergentes estudando o efeito de subdose de glyphosate em plantas de picão preto (*Bidens pilosa*), 0,45 e 3,15 g e.a. ha<sup>-1</sup> causaram reduções expressivas na biomassa, também foi

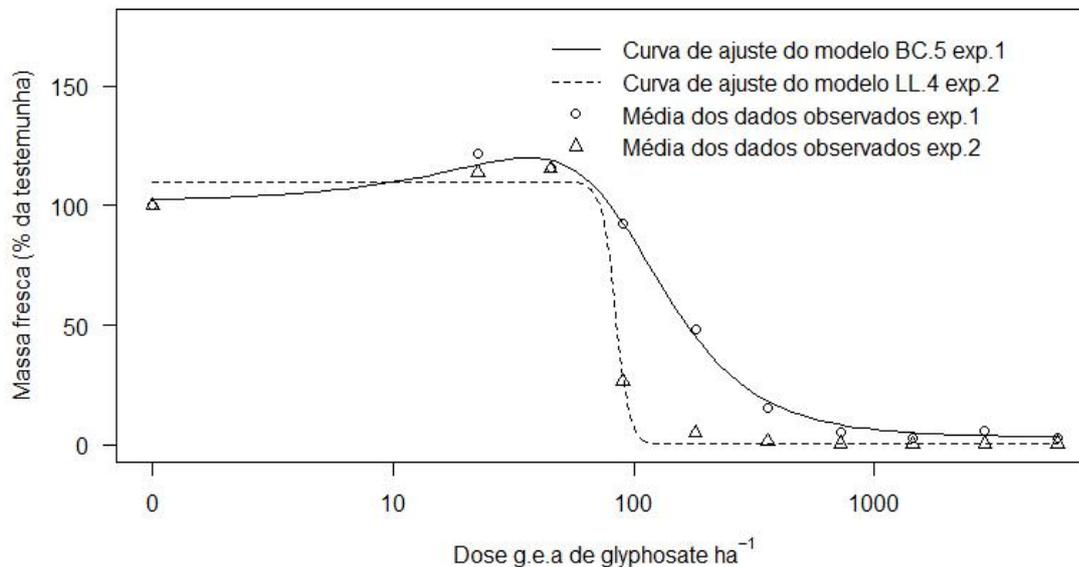
encontrado resultado similar em soja convencional exposta a subdoses de glyphosate (MELHORANÇA FILHO et al., 2010). Convergindo com os dados relatados nos experimentos, Nascentes et al., 2015 relatou incremento na produção de massa seca na subdose de 10,5 g e.a. de glyphosate  $\text{ha}^{-1}$  em *U. brizantha* proporcionando um aumento de 31,8% em relação ao controle e 12,62 g e.a. de glyphosate  $\text{ha}^{-1}$  promoveu aumento de 21,8% na produção de massa seca, os incrementos de massa encontrado apesar de não ser a mesma espécie tendem a seguir a mesma proporção de incremento de massa, sendo fácil a visualização desses incrementos.

Os experimentos com o biótipo suscetível não apresentou efeito de hormesis, sendo ajustado o modelo não linear logístico de quatro parâmetros “LL.4” (Figura 9). Divergindo do primeiro experimento de massa seca (% em relação a testemunha) do biótipo suscetível (Figura 7 e 9).

**Figura 8** - Ajuste das curvas do modelo BC.5 aos dados de massa fresca (% em relação a testemunha) do primeiro experimento e segundo experimento de exposição de biótipos de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



**Figura 9** - Ajuste das curvas do modelo BC.5 e LL.4 aos dados de massa fresca (% em relação a testemunha) do primeiro experimento e segundo experimento de exposição de biótipos de *Digitaria insularis* suscetíveis ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



Os parâmetros utilizados para ajuste do modelo aos dados de altura (cm) dos experimentos realizados estão na (Tabela 5).

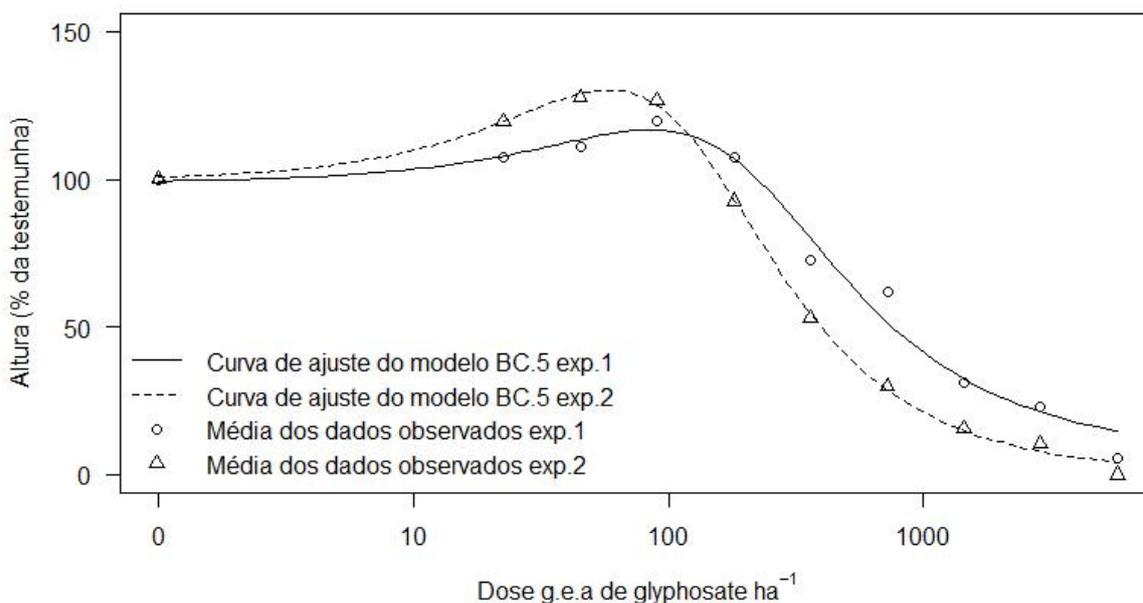
**Tabela 5.** Parâmetros das equações de regressão para Altura (% em relação a testemunha) das plantas de *Digitaria insularis* resistentes e suscetíveis ao herbicida glyphosate, 21 dias após o tratamento (Experimento 1 e 2). Os valores representam parâmetros de regressão e o desvio padrão dos mesmos. Botucatu-SP, 2018

Altura (% em relação a testemunha)				
	Resistente		Suscetível	
	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2
<b>Hipótese f≠0</b>	7,27**	18,78**	17,34*	8,27*
<b>Regressão</b>	13,49	14,72	12,01	8,67
<b>Modelo</b>	BC.5	BC5	BC.5	BC.5
<b>R<sup>2</sup></b>	0,88	0,91	0,94	0,96
Parâmetros				
<b>b</b>	1,72** ± 0,09	1,89** ± 0,11	2,38** ± 0,16	2,5** ± 0,19
<b>c</b>	5,46	0	0	0
<b>d</b>	98,96** ± 5,56	99,72** ± 6,46	100,98** ± 5,58	98,07** ± 3,9
<b>e</b>	203,19** ± 57,2	118,45** ± 24,23	83,43** ± 11,24	77,46** ± 8,95
<b>f</b>	0,5** ± 0,23	1,1** ± 0,01	1,41** ± 0,4	0,68* ± 0,2

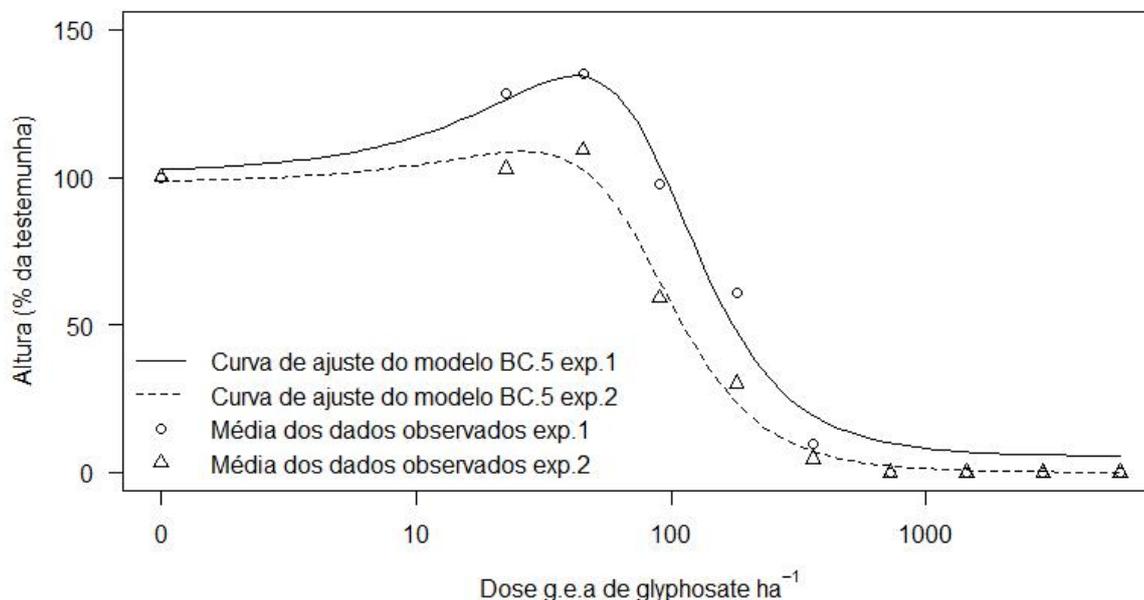
\*significativo a 5% teste t-student; \*\*significativo a 1% teste t-student; Modelo BC.5  $F(x) = \frac{(k+f*x)}{(1+(e^{(b*g)})*(x^b))}+d$ . LL.4  $(f(x) = c + \frac{d-c}{1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))})$ .

Para todos os experimentos quando avaliado a altura (% em relação a testemunha) das plantas o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o modelo que considera o efeito de hormesis, o modelo o modelo não linear logístico de cinco parâmetros “BC.5”. As doses que apresentaram estímulo de crescimento da parte área em (cm) para os experimentos com os biótipos resistente foram as doses 22,5; 45 e 90 g. e. a. ha<sup>-1</sup> para o primeiro experimento (Figura 10) e o segundo experimento houve estímulo nas mesmas doses do experimento 1 e também na dose de 180 g. e. a. ha<sup>-1</sup>, sendo a dose de maior estímulo 90 g. e. a. ha<sup>-1</sup> (Figura 11). para ambos os experimentos podendo representar um estímulo de crescimento de até 27% em relação a testemunha.

**Figura 10** - Ajuste das curvas do modelo BC.5 aos dados de Altura (% em relação a testemunha) do primeiro experimento e segundo experimento de exposição de biótipos de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



**Figura 11** - Ajuste das curvas do modelo BC.5 aos dados de Altura (cm) do primeiro experimento e segundo experimento de exposição de biótipos de *Digitaria insularis* suscetíveis ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



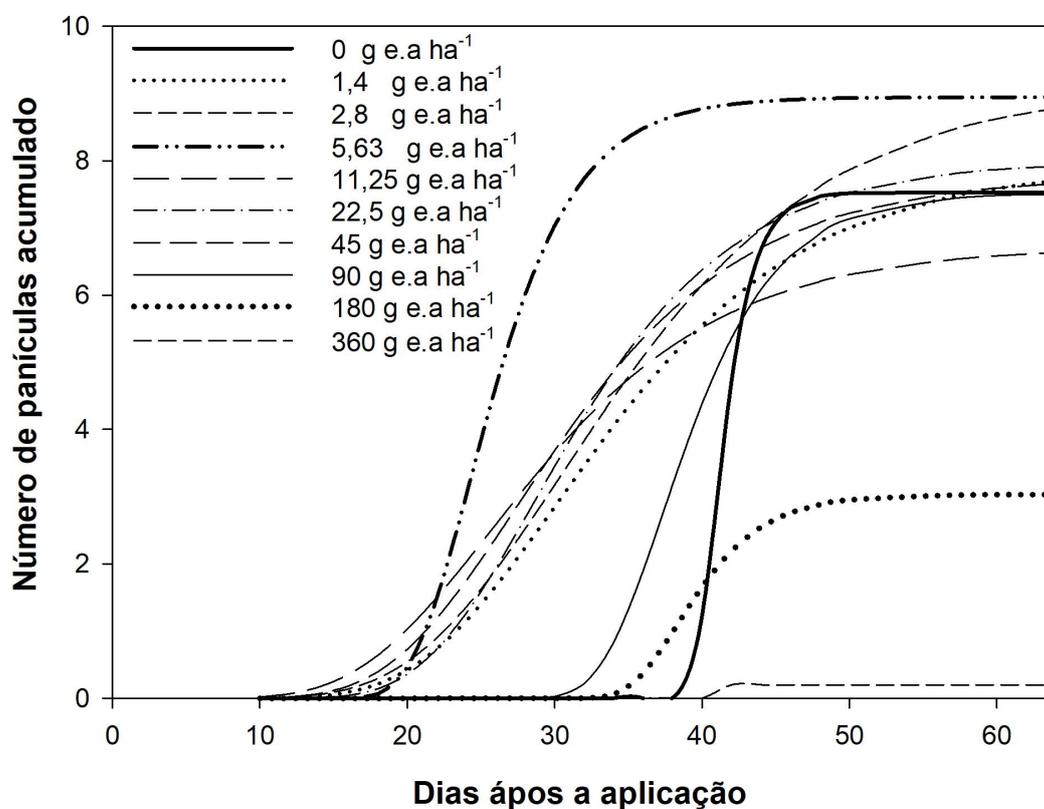
Valores próximos de estímulo foram encontrados em plantas de café, 21%, 18%, 28%, 39%, 24%, 31% e 27% em altura de planta, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar, massa fresca do caule, massa fresca da folha, além de aumentos na biomassa fresca total das plantas (CARVALHO et al., 2013). Doses acima dos valores citados diminuíram a massa seca da parte aérea, evidenciando o efeito herbicida do glyphosate.

Em todos os parâmetros avaliados é notável a diferença de faixas de dose em que ocorre o efeito de hormesis no biótipo suscetível e resistente, essa diferença é esperada até pelas características de resistência da espécie, que tendem a diminuir o acúmulo do herbicida no sítio de ação do mesmo (CARVALHO et al., 2012). Uma vez que as alterações que causam a resistência na *D.insularis* podem agir como um “filtro” diminuindo a dose que realmente chegaria no sítio de ação, assim uma dose mais elevada aplicada em um biótipo resistente equivaleria com uma menor dose aplicada em um biótipo suscetível. Não se pode atribuir o efeito de hormesis ao fato de existir resistência ou não, pois em ambos os biótipos apresentaram incremento tanto de altura, como de massa em grandezas semelhantes divergindo apenas as doses em que ocorre o efeito.

## 4.2 Estudo efeito do estímulo de subdose de glyphosate no florescimento de *Digitaria insularis*

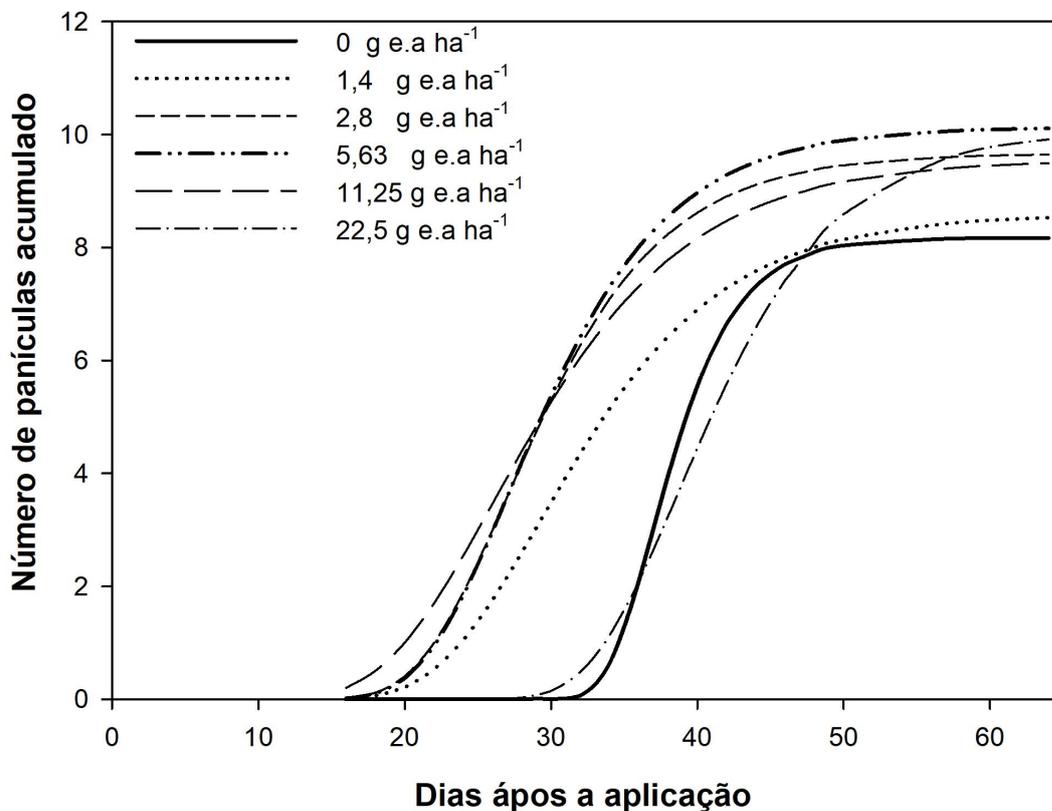
No experimento de curva dose-resposta foi notado que as plantas expostas a subdose além do estímulo de crescimento pareciam ter estímulo ao florescimento, para verificar tal hipótese foi elaborado esse experimento e foi constatado que as plantas expostas a subdose de glyphosate tendem a florescer primeiro que a testemunha, foi ajustado o modelo de Gompertz e verificado que as doses 5,625 e 11,25 g. e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> apresentaram a maior diferença de florescimento, adiantando o seu florescimento em até 18 dias em relação a testemunha. As doses 2,8 e 45 g. e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> adiantaram o florescimento em até 16 dias. A dose 22,5 e 90 g. e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> adiantaram o florescimento em 12 e 4 dias respectivamente para o biótipo resistente (Figura 12).

**Figura 12** - Modelo de Gompertz ajustado para número de panículas acumulado, em plantas de *Digitaria insularis* resistente a glyphosate. Botucatu-SP, 2018.



Para o biótipo suscetível a dose 1,4 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> adiantou o florescimento em 8 dias e manteve a diferença de número de flores por mais 4 dias, a dose de 2,8 e 11,25 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> adiantaram o florescimento em 12 e 14 dias respectivamente e manteve a diferença por mais 6 dias, sendo que a dose que apresentou maior diferença foi a dose de 5,625 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> que floriu com 16 dias de antecedência e manteve a diferença de número de flores por mais 14 dias (Figura 13). Pode-se observar que a testemunha, sem efeito de nenhum tratamento floresceram por volta de 64 dias após a emergência esse florescimento condiz com o número de dias necessários para o florescimento encontrado de 64 ± 70 DAE (MACHADO et al., 2006). O efeito de estímulo para adiantamento do florescimento em ambos os biótipos foi de ±25% do tempo necessário para o florescimento da espécie após a emergência. Dayan et al., 2015 encontraram efeito ±300% para o florescimento de *Arabidopsis thaliana* sob efeito de subdose de glyphosate.

**Figura 13** - Modelo de Gompertz ajustado para número de panículas acumulado, em plantas de *Digitaria insularis* suscetível a glyphosate. Botucatu-SP, 2018

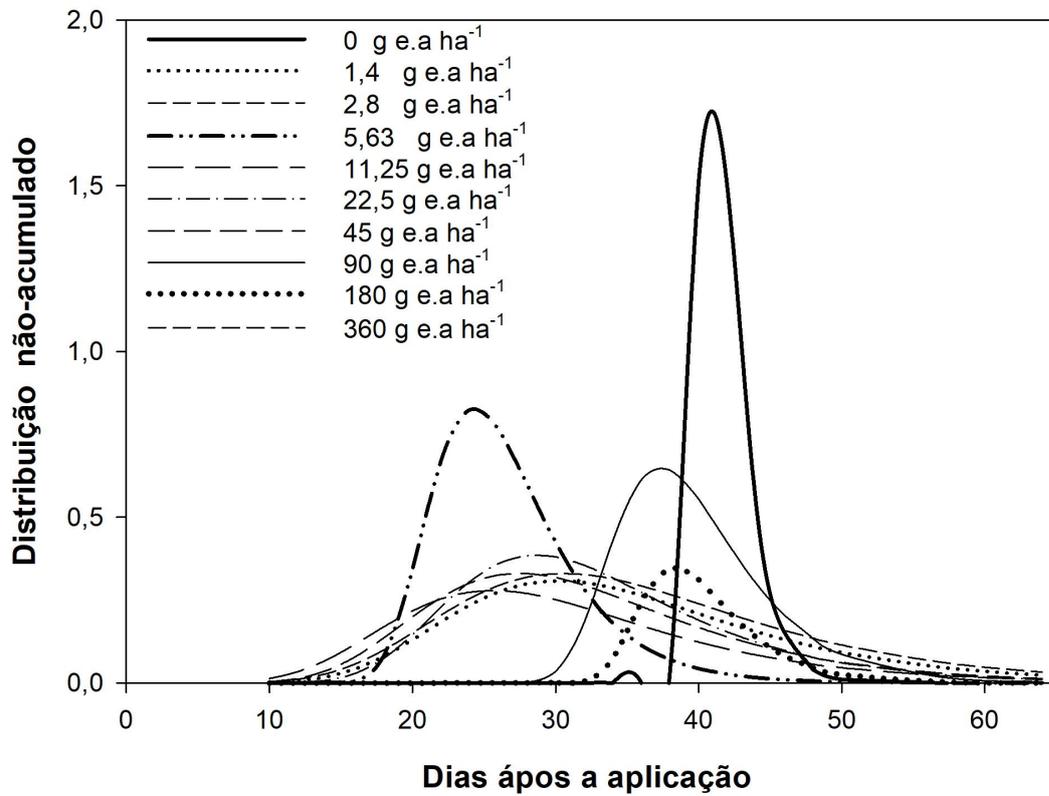


Apesar de se alterar o dias necessários para o florescimento adiantando o florescimento é notável que o número final de panículas tende a não se alterar, salvo os tratamentos com doses mais elevadas (180 e 360 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> ) que apresentaram menor numero de panículas.

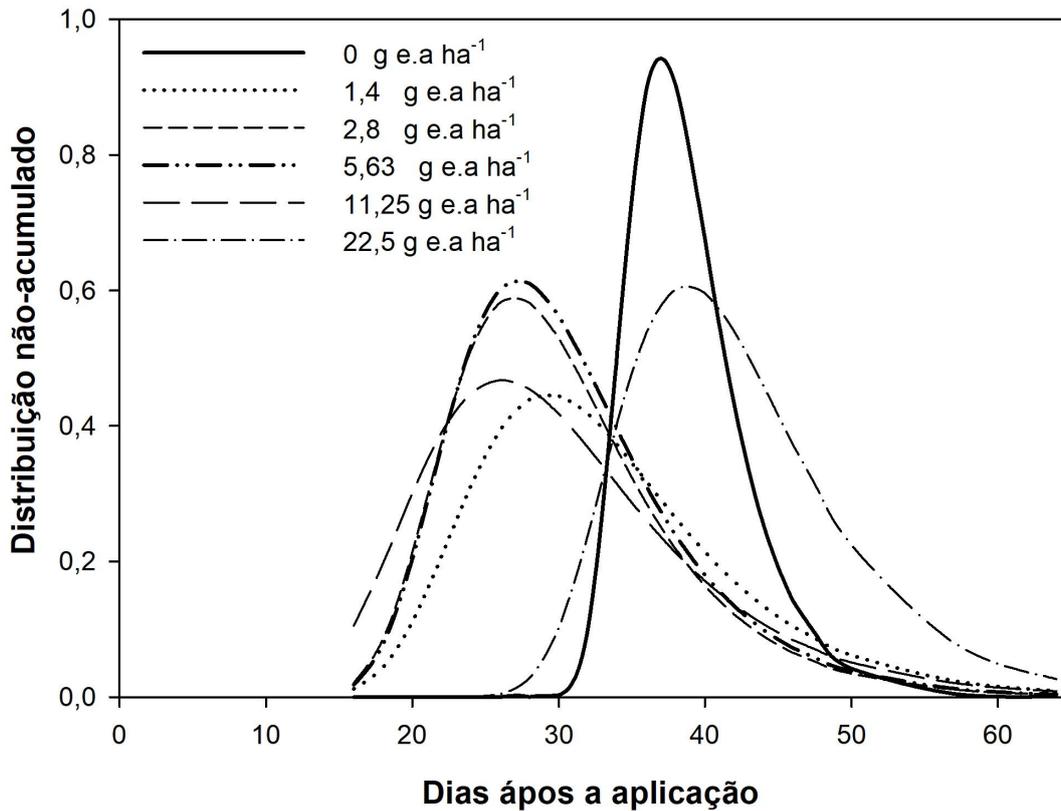
Outro efeito observável é a distribuição da emissão de panículas onde a testemunha tende a emitir, suas panículas em um período de tempo reduzido, concentrando o fluxo de emissão de sementes, enquanto as plantas que foram expostas aos tratamentos tendem a emitir suas panículas de forma mais esparsa e por consequência distribuindo ao longo do tempo o fluxo de sementes.

O biótipo resistente exposto aos tratamentos tendeu a não apresentar picos de concentração de emissão de panículas, apresentando uma melhor distribuição da emissão de panículas, salvo as doses 5,36 , 90 e 180 g.e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> (Figura 14). O biótipo suscetível tendeu a apresentar mais picos de concentração de emissão de panículas, mas mesmo assim a testemunha apresentou grande diferença na concentração dessa emissão, sendo a mesma mais concentrada do que os biótipos que foram expostos a doses de glyphosate (Figura 15). Os parâmetros para ajuste do modelo estão nas (Tabela 6 e 7).

**Figura 14** - Modelo de Gompertz ajustado para distribuição não-acumulada, em plantas de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate. Botucatu-SP, 2018



**Figura 15** - Modelo de Gompertz ajustado para distribuição não-acumulada, em plantas de *Digitaria insularis* suscetível ao glyphosate. Botucatu-SP, 2018



**Tabela 6** - Estimativas dos parâmetros do modelo de Gompertz ajustados para os dados de florescimento em plantas de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate. Botucatu-SP, 2018

Modelo	Dose de glyphosate em g e.a ha <sup>-1</sup>										
	0	1,4	2,8	5,63	11,25	22,5	45	90	180	360	
Estimativa dos parâmetros	a	2,02	2,07	2,21	2,19	1,91	2,08	2,05	2,02	1,11	-1,61
	b	-27,80	-3,19	-3,00	-6,11	-2,88	-3,75	-3,17	-8,77	-11,94	-310,90
	c	0,68	0,11	0,10	0,25	0,11	0,13	0,12	0,23	0,31	7,71
Moda	40,88	30,21	30,54	24,32	25,60	28,67	27,45	37,37	38,38	40,35	
Mediana	41,58	34,75	35,49	26,26	29,77	32,33	31,59	39,40	39,75	40,38	
Média	32,65	32,65	32,65	32,65	32,65	32,65	32,65	32,65	32,65	32,65	
R2	0,984	0,995	0,994	0,992	0,993	0,996	0,995	0,997	0,991	0,999	

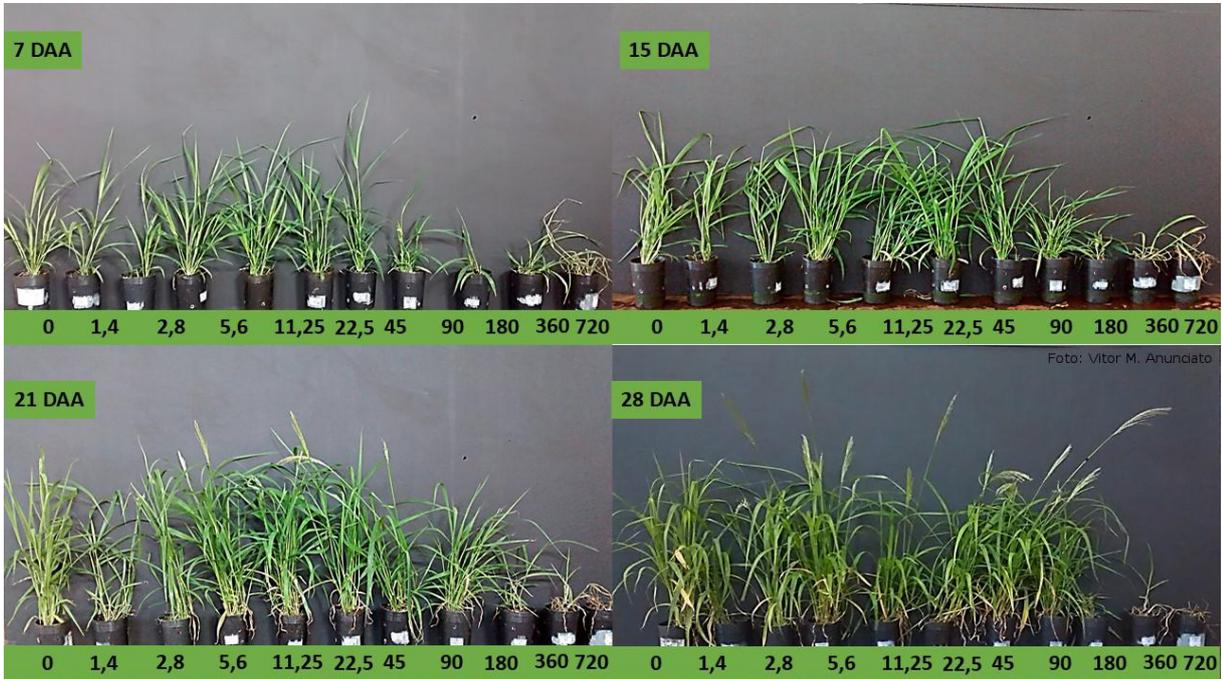
**Tabela 7** - Estimativas dos parâmetros do modelo de Gompertz ajustados para os dados de florescimento em plantas de *Digitaria insularis* suscetível ao glyphosate. Botucatu-SP, 2018

Modelo	Dose de glyphosate em g e.a ha <sup>-1</sup>						
	0	1,4	2,8	5,63	11,25	22,5	
Estimativa dos parâmetros	a	2,10	2,15	2,27	2,32	2,26	2,31
	b	-11,64	-4,13	-4,47	-4,49	-3,48	-6,35
	c	0,31	0,14	0,17	0,17	0,13	0,16
Moda	36,98	29,26	26,95	27,23	26,11	38,79	
Mediana	38,51	32,69	29,91	30,22	29,79	41,81	
Média	35,75	35,75	35,75	35,75	35,75	35,75	
R2	0,999	0,997	0,997	0,994	0,993	0,991	

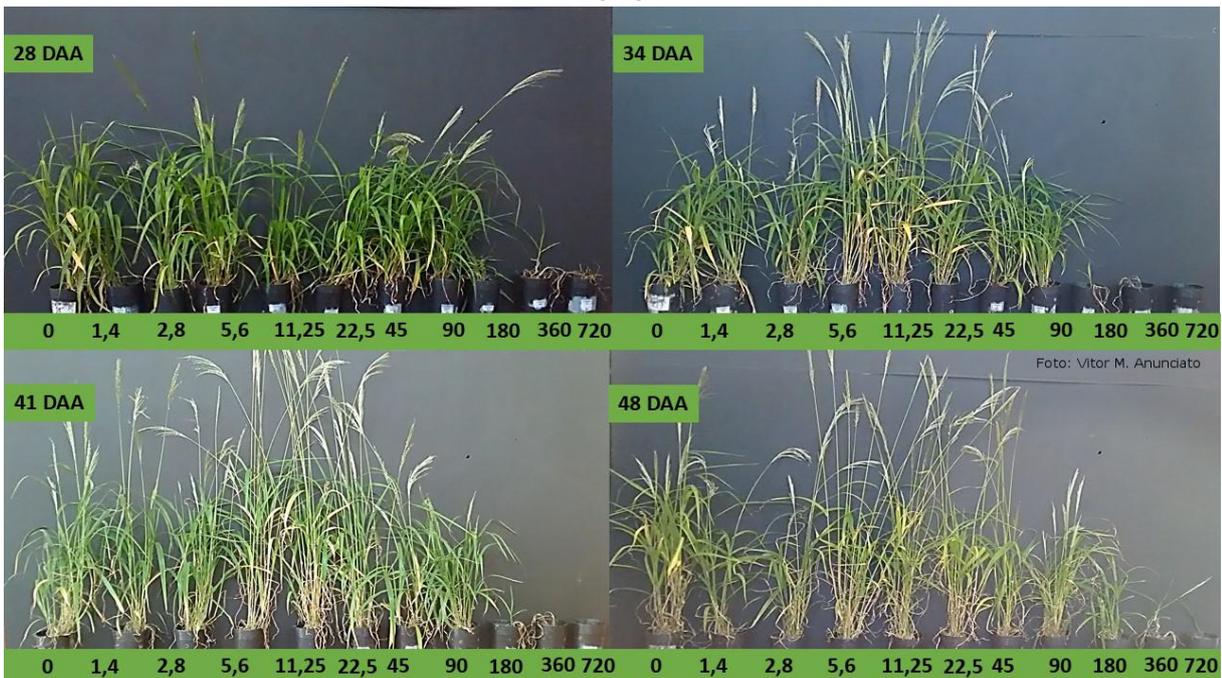
O efeito de estímulo ao florescimento pode ser também observado nas Figuras 16, 17, 18 e 19 que mostram fotos da evolução dos dias decorridos após a aplicação dos tratamentos e as unidades experimentais com a respectiva dose discriminada.

O biótipo resistente utilizado no experimento de florescimento apresentou sensibilidade muito superior aos outros dois experimentos de curva dose resposta (Figura 4, 16 e 17) esse fato pode estar associado ao momento de aplicação do glyphosate, onde o biótipo ainda não possuía seu mecanismo de resistência completo, ou até mesmo por fatores genéticos que podem ter apagado a resistência desse biótipo.

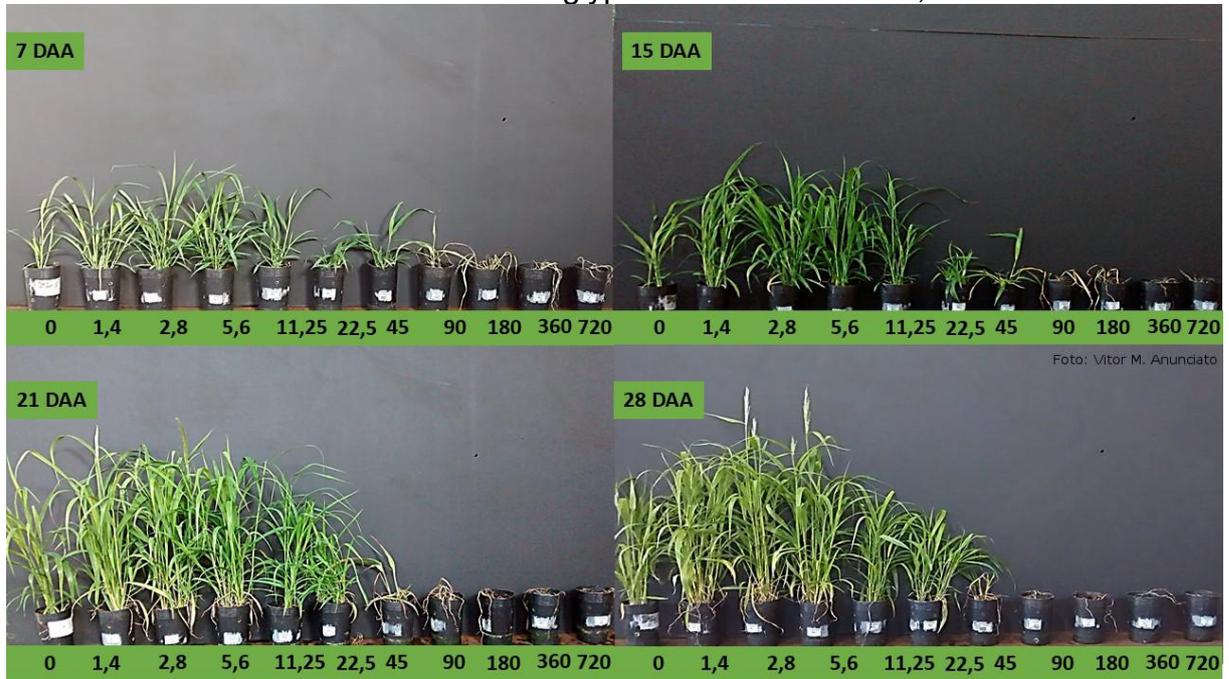
**Figura 16** - Evolução temporal (DAA: Dias após a aplicação dos tratamentos) dos efeitos da resposta bifásica ao herbicida glyphosate em biótipos de *Digitaria insularis* resistentes ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



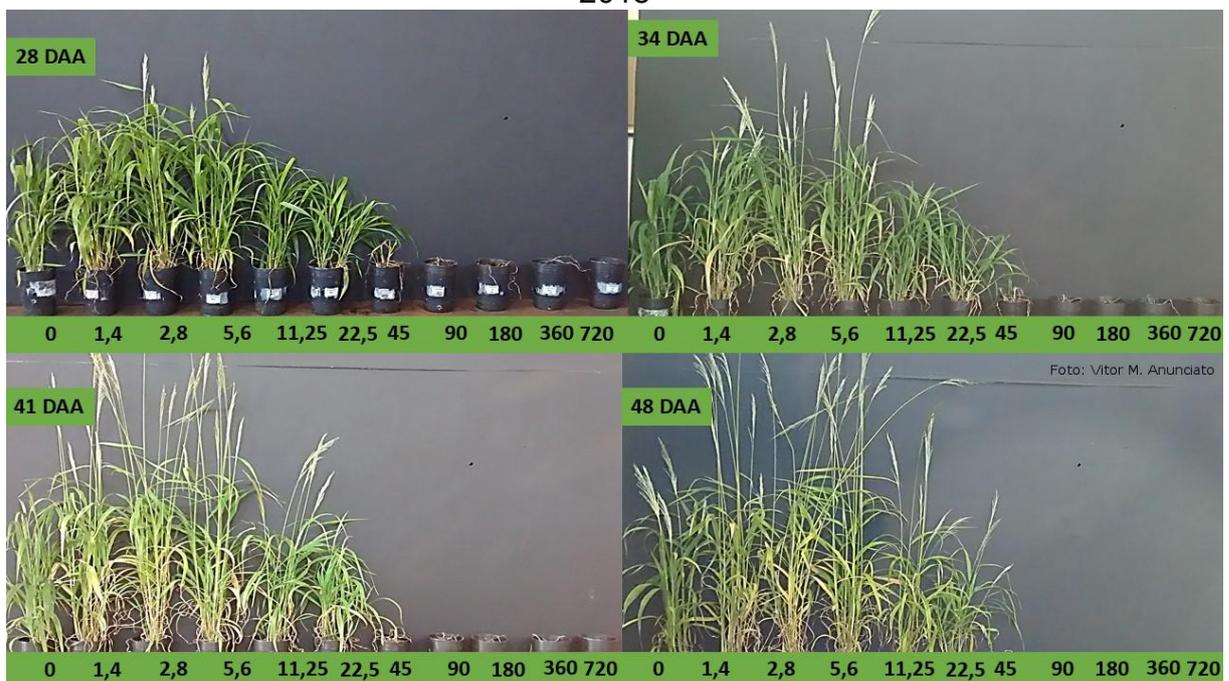
**Figura 17** - Evolução temporal (DAA: Dias após a aplicação dos tratamentos) dos efeitos da resposta bifásica ao herbicida glyphosate em biótipos de *Digitaria insularis* resistentes ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



**Figura 18** - Evolução temporal (DAA: Dias após a aplicação dos tratamentos) dos efeitos da resposta bifásica ao herbicida glyphosate em biótipos de *Digitaria insularis* suscetível ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



**Figura 19** - Evolução temporal (DAA: Dias após a aplicação dos tratamentos) dos efeitos da resposta bifásica ao herbicida glyphosate em biótipos de *Digitaria insularis* suscetível ao herbicida glyphosate. Botucatu-SP, 2018



### 4.3 Estudo efeito do estímulo de subdose de glyphosate no peso e germinação de sementes de *Digitaria insularis*

As sementes providas do experimento de influência de doses de glyphosate no florescimento, foram avaliadas o IVG e a germinação das mesmas encontrando-se diferença para o IVG nos dois biótipos sendo que a dose que mais divergiu da testemunha foi 11,25 g. e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> apresentando um IVG de 7,9 para o biótipo suscetível e 6,96 para o resistente. Já para a germinação não foi constatado diferença a 5% no teste de médias t student, para o biótipo suscetível, para o biótipo resistente foi encontrado diferença a 5% sendo que a dose que mais se destacou foi a dose de 11,25 g. e.a. de glyphosate ha<sup>-1</sup> (Tabela 8 e 9). Não foi encontrado na literatura dados similares de teste com sementes providas de plantas que sofreram efeito de estímulo.

**Tabela 8** - Índice de velocidade de germinação (IVG) e germinação de sementes de *D.insularis* suscetíveis ao glyphosate, providas de progênies que receberam o tratamento com subdoses de glyphosate. Submetidas ao teste de médias t a 5% de probabilidade. Botucatu-SP, 2018

Dose de glyphosate (g.e.a.ha <sup>-1</sup> )	IVG	Germinação (%)
0	5,12 c	61,5
1,4	7,1 ab	81
2,8	6,25 bc	69,5
5,6	6,4 abc	75
11,2	7,9 a	83,5
22,5	7,08 ab	82,5
F	2,9*	2,35 ns
CV%	17,07	14,97
DMS	1,69	
ER	0,66	6,29

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < .05$ ); ns não significativo CV%: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa; F: valor do teste f aplicado; ER: erro.

**Tabela 9** - Índice de velocidade de germinação (IVG) e germinação de sementes de *D.insularis* resistentes ao glyphosate, providas de progênies que receberam o tratamento com subdoses de glyphosate. Submetidas ao teste de médias t a 5% de probabilidade. Botucatu-SP, 2018

Dose de glyphosate (g.e.a.ha <sup>-1</sup> )	IVG	Germinação (%)
0	2,7 c	42 c
1,4	5,21 ab	64 abc
2,8	4,88 b	59,5 bc
5,6	6 ab	74,5 ab
11,2	6,96 a	85 a
22,5	5,73 ab	74,5 ab
45	5,42 ab	68 ab
90	5,55 ab	70 ab
F	2,88*	2,52*
CV%	26,61	23,87
DMS	2,06	23,36
ER	0,83	9,15

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < .05$ ); ns não significativo CV%: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa; F: valor do teste f aplicado; ER: erro.

O peso de sementes também apresentou diferença entre os tratamentos, o que pode explicar as diferenças de velocidade de germinação e germinação das sementes provenientes de plantas matrizes que floriram sob estímulo de subdose de glyphosate. Essa diferença de peso pode representar uma diferença energética entre as sementes que associado ao sistema de semeadura direta que é amplamente difundido e adotado no Brasil, no qual não é realizado revolvimento do solo favorece a *D. insularis* pois suas sementes possuem menor reserva energética do que as sementes de outras espécies que possuem sementes maiores como a *Urochloa plantaginea* (capim-marmelada). Essa diferença de reserva energética é um dos fatos que faz com que a população de *U.plantaginea* seja menor do que a população de *Digitaria insularis* em sistema de semeadura direta (GAZZIERO et al., 1998). Esse manejo influencia a diversidade do banco de sementes e altera a importância das espécies nas comunidades, desfavorecendo espécies de plantas daninhas que poderiam suprimir a emergência do *D. insularis* (MAYOR ; DESSAINT, 1998). Já na competição intraespecífica a diferença entre as sementes não são tão grandes quanto de uma semente de *D.insularis* e *U.plantaginea*, apesar de pequena a diferença de peso é o suficiente para apresentar maior índice de velocidade de germinação e maior germinação também.

Sendo que as sementes que apresentaram melhores IVG e G (%) foram as sementes que também apresentaram maior peso (11,2; 22,5 e 90 g.e.a.ha<sup>-1</sup>) par ao

biótipo resistente (Tabela 8 e 10). Já para o biótipo suscetível as sementes que apresentaram peso superior a testemunha, sementes provindas de plantas com estímulo na dose de 1,4 g.e.a.ha<sup>-1</sup> também apresentou maior IVG do que a testemunha, mas os outros tratamentos também tiveram IVG divergente da testemunha e não apresentaram peso superior em relação a testemunha (Tabela 9 e 10). El-Shahawy e Sharara (2011) encontraram aumento de peso e produção de sementes de *Vicia faba* L., var. *aquadulce*, na dose de 11,2 g.e.a.ha<sup>-1</sup> apesar de a planta ser suscetível ao glyphosate os dados condizem com o encontrado nesse experimento, eles não testaram parâmetros de germinação das mesmas.

**Tabela 10** - Peso médio (g) de 100 sementes de *Digitaria insularis* provenientes de progenitores resistentes e suscetíveis a glyphosate sob efeito de estímulo de subdose de glyphosate. Médias comparadas no teste t a 5%. Botucatu-SP, 2018

Dose de glyphosate (g.e.a.ha <sup>-1</sup> )	Peso médio de 100 sementes (g)	
	Biótipo Suscetível	Biótipo Resistente
0	0,00063 b	0,00062 d
1,4	0,00074 a	0,00074 bc
2,8	0,00059 c	0,00063 d
5,6	0,00065 b	0,00071 cd
11,2	0,00064 b	0,0008 ab
22,5	0,00059 c	0,00083 a
45	-	0,00079 abc
90	-	0,00064 d
F	19,5282**	6,7251**
CV	20,45	44,98
DMS	0,00004	0,00009
ER	0,000014	0,000033

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < .05$ ); ns não significativo CV%: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa; F: valor do teste f aplicado; ER: erro.

## 5 CONCLUSÕES

Existe efeito de hormesis em *D. insularis* resistente e suscetível ao herbicida glyphosate, apresentando diferença de doses, onde o resistente tem uma dose de estímulo maior do que o suscetível.

O estímulo não está associado a uma única dose e sim a uma faixa de dose.

O estímulo das subdoses de glyphosate se dá no aumento de massa (g) da parte aérea e a massa das sementes (g), altura (cm) e antecipação de florescimento.

Os efeitos das subdoses de glyphosate sofrido pelas progênies tendem a afetar a prole, favorecendo a germinação de sementes provindas de plantas que sofreram estímulo em resposta a subdoses de glyphosate.

## REFERÊNCIAS

- ADEGAS, F. S., GAZZIERO, D. L. P., VOLL, E., & OSIPE, R. 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.
- ALCORTA, M.; FIDELIBUS, M. W.; STEENWERTH, K. L.; SHRESTHA, A. Effect of vineyard orientation on growth and phenology of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, v. 59, n. 1, p. 55-60, 2011.
- ALLENDER, W. J., CRESSWELL, G. C., KALDOR, J., & KENNEDY, I. R. Effect of lithium and lanthanum on herbicide induced hormesis in hydroponically-grown cotton and corn. **Journal of Plant Nutrition**, v. 20, n. 1, p. 81-95, 1997.
- ALLEN, H. P. et al. Selective herbicides. **Fifty years of Agricultural Research** (1928-1978), p. 35-41, 1978.
- ATHER NADEEM, M., ABBAS, T., TANVEER, A., MAQBOOL, R., ZOHAIB, A., & SHEHZAD, M. A. Glyphosate hormesis in broad-leaved weeds: a challenge for weed management. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 63, n. 3, p. 344-351, 2017.
- BARBANY M, MORATA J, MEYER T, LOIS S, OROZCO M, DE LA CRUZ X. Characterization of the impact of alternative splicing on protein dynamics: the cases of glutathione S-transferase and ectodysplasin-A isoforms. **Proteins**, 80(9):2235-49, 2012.
- BELZ, R. G.; CEDERGREEN, Nina; DUKE, S. O. Herbicide hormesis—can it be useful in crop production?. **Weed research**, v. 51, n. 4, p. 321-332, 2011.
- BELZ, R. G.; DUKE, S.O. Herbicides and plant hormesis. **Pest Management Science**, v. 70, n. 5, p. 698-707, 2014.
- BELZ, R. G.; LEBERLE, C. Low dose responses of different glyphosate formulations on plants. **Julius-Kühn-Arch**, v. 434, p. 427–434, 2012.
- BETTS, K. J., EHLKE, N. J., WYSE, D. L., GRONWALD, J. W., & SOMERS, D. A. Mechanism of inheritance of diclofop resistance in italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). **Weed Science**, v. 40, n. 2, p. 184-189, 1992.

BRAIN, P.; COUSENS, R. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses. **Weed Research**, v. 29, n. 2, p. 93-96, 1989.

BRITO, I. P., TROPALDI, L., CARBONARI, C. A., & VELINI, E. D. Hormetic effects of glyphosate on plants. **Pest management science**, 2017.

CALABRESE EJ, BLAIN R. The occurrence of hormetic dose-responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 202: 289-301.2005.

CALABRESE, E. J. Hormesis is central to toxicology, pharmacology and risk assessment. **Human and Experimental Toxicology**, v. 29, n. 4, p. 249–261, 2010.

CALABRESE, E. J. Hormesis: why it is important to toxicology and toxicologists. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 27, n. 7, p. 1451–1474, 2008.

CALABRESE, EDWARD J.; BLAIN, ROBYN B. Hormesis and plant biology. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 1, p. 42-48, 2009.

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

CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A.; DUKE, S. O. Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 2, p. 813-822, 2013.

CASTRO, M. D. Pool of resistance mechanisms to glyphosate *Digitaria insularis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, n.2, p.615–622, 2012.

CEDERGEEN, N.; OLESEN, C. F. Can glyphosate stimulate photosynthesis? **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, n. 3, p. 140–148, 2010.

CEDERGREEN, N.; FELBY, C.; PORTER, J. R.; STREIBIG, J. C. Chemical stress can increase crop yield. **Field Crop Research**, v. 114, n. 1, p. 54–57, 2009.

CEDERGREEN, Nina. Herbicides can stimulate plant growth. **Weed Research**, v. 48, n. 5, p. 429-438, 2008.

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. Inovações na Prevenção e Manejo de Populações de Plantas Daninhas Resistentes a Herbicidas no Brasil. II Workshop HRAC-BR: Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas, SBCPD. Palestra oral, Setembro de 2012.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOPHER,

J. T.; PRESTON, C.; POWLES, S. B. Malathion antagonises metabolism-based chlorsulfuron resistance in *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 49, n. 3, p. 172-182, 1994.

COLBY, S. R. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations. **Weeds**, v. 15, n. 1, p. 20-22, 1967.

COLE, David J. Detoxification and activation of agrochemicals in plants. **Pest Management Science**, v. 42, n. 3, p. 209-222, 1994.

CONSTANTIN, J. et al. Interação entre sistemas de manejo e de controle de plantas daninhas em pós-emergência afetando o desenvolvimento e a produtividade do milho. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 25, n. 3, p.513-520, 2007.

COPPING, Leonard G.; DAVIS, D. E.; PILLAI, C. G. P. Growth regulator-like activity of atrazine and ametryne. **Weed Science**, v. 20, n. 3, p. 274-277, 1972.

CORREIA, N. M.; LEITE, G. J.; GARCIA, L. D. Response of different *Digitaria insularis* populations to glyphosate. **Planta Daninha**, v. 28, n. 4, p. 769-776, 2010.

CRUZ-HIPOLITO, HUGO, ROJANO-DELGADO, A., DOMÍNGUEZ-VALENZUELA, J. A., HEREDIA, A., DE CASTRO, M. D. L., & DE PRADO, R. Glyphosate tolerance by *Clitoria ternatea* and *Neonotonia wightii* plants involves differential absorption and translocation of the herbicide. **Plant and soil**, v. 347, n. 1-2, p. 221, 2011.

CUNHA, C. S. M. **Comparação de métodos na detecção de sementes de soja geneticamente modificada, tolerante ao glyphosate. 2004.** 24f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

DA SILVA CARPEJANI, Meirielly; DE OLIVEIRA JÚNIOR, Rubem Silvério. Manejo químico de capim-amargoso resistente a glyphosate na pré-semeadura da soja. **Campo Digital**, v. 8, n. 1, p. 26-33, 2013.

DAVIS, V. M.; KRUGER, G. R.; STACHLER, J. M.; LOUX, M. M.; JOHNSON, W. G. Growth and seed production of horseweed (*Conyza canadensis*) populations resistant to glyphosate, ALS-inhibiting, and multiple (glyphosate+ALS-inhibiting) herbicides. **Weed Science**, v. 57, n. 5, p. 494-504, 2009.

DAYAN FE, CARBONARI CA, GOMES GLGC, VELINI ED, OWENS D, PAN Z **et al.**, Low dose effects of glyphosate on plant reproduction in **Arabidopsis thaliana**: A biological and transcriptomics approach, in Proceedings of the 250th American Chemical Society National Meeting, Boston. **AGRO Abstracts** **250**:5–6, 2015.

DE MELO, M. S. C., DA SILVA, D. C. P., ROSA, L. E., NICOLAI, M., & CHRISTOFFOLETI, P. J. Herança genética da resistência de capim-amargoso ao glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 14, n. 4, p. 296-305, 2015.

DE MELO, M. S. C., ROSA, L. E., BRUNHARO, C. A. D. C. G., NICOLAI, M., & CHRISTOFFOLETI, P. J. Alternativas para o controle químico de capim-amargoso

(Digitaria insularis) resistente ao glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, n. 2, p. 195-203, 2012.

DUKE, S. O., CEDERGREEN, N., VELINI, E. D., & BELZ, R. G. Hormesis: is it an important factor in herbicide use and allelopathy?. **Outlooks on Pest Management**, v. 17, n. 1, p. 29-33, 2006.

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

EL-SHAHAWY, F. A.; SHARARA, Faida AA. Hormesis influence of glyphosate in between increasing growth, yield and controlling weeds in faba bean. **J Am Sci**, v. 7, p. 139-144, 2011.

FERREIRA, E. A. et al. Glyphosate translocation in hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) biotypes. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 637-643, 2008.

FORNAROLLI, D., GAZZIERO, D., BONOTTO, A., dos SANTOS, B. C., DEBASTIANI, R., & BANDEIRA, S. Manejo de biótipos de digitaria insularis resistente ao herbicida glyphosate. In: **Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GLYPHOSATE, 3., 2011, Botucatu. Uso sustentável: trabalhos científicos. Botucatu: FEPAF, 2011., 2011.

FORTHOFFER, N.; HELVIG, C.; DILLON, N.; BENVENISTE, I.; ZIMMERLIN, A.; TARDIF, F.; SALAÜN, J. P. Induction and inactivation of a cytochrome P450 conferring herbicide resistance in wheat seedlings. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 26, n. 1, p. 9-16, 2001.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. Alguns aspectos da utilização do herbicida glyphosate na agricultura. **São Paulo: Monsanto do Brasil**, 2005. 60 p.

GAZOLA, Tiago. **Ação do herbicida glyphosate em biótipos de Digitaria insularis resistentes e suscetíveis**. 2017.

GAZZIERO, D. L. P. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Sociedade Brasileira da Ciência de Plantas Daninhas, 1995.

GAZZIERO, D. L. P.; MACIEL, C. D. G.; SOUZA, R. T.; VELINI, E. D.; PRETE, C. E. C.; OLIVEIRA NETO, W. Deposição de glyphosate aplicado para o controle de plantas daninhas em soja transgênica. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1. p. 173-181, 2006.

GAZZIERO, D.L.P Control of weeds in no-tillage cultivation. In: NO-TILLAGE CULTIVATION OF SOYBEAN AND FUTURE RESEARCH NEEDS IN SOUTH AMERICA, 1998, Foz do Iguacu. **Proceedings...** [S.l.]: JIRCAS, 1998. p.43-52.

GEMELLI, A., DE OLIVEIRA JUNIOR, R. S., CONSTANTIN, J., BRAZ, G. B. P., DE CAMPOS JUMES, T. M., DE OLIVEIRA NETO, A. M., BIFFE, D. F. Aspectos da

biologia de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate e implicações para o seu controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, n. 2, p. 231-240, 2012.

GOMES, G. L. G. C. **Caracterização bioquímica e morfofisiológica de populações de buva (*Conyza spp.*) resistentes ao glyphosate**. 2014. 112p. Tese (Doutorado em Agricultura). Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Botucatu.

GOMPERTZ, Benjamin. XXIV. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. In a letter to Francis Baily, Esq. FRS &c. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, v. 115, p. 513-583, 1825.

HASLAM, E. Shikimic Acid: Metabolism and Metabolites. Haslam. 1993.

HALL, Marshall. **Combinatorial theory**. John Wiley & Sons, 1998.

HEAP, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Disponível em: <http://www.weedscience.org>. Acesso em: 03 de janeiro de 2018.

HESS, F.D. **Herbicide effects on plant structure, physiology, struture, physiology, and biochemistry**. In: Altman, J. Pesticide Interactions in Crop Production Beneficial and Deleterious Effects. CRC Press, London. 1993, 579p.

HOEKSTRA, J. A.; VAN EWIJK, P. H. Alternatives for the no-observed-effect level. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 187-194, 1993.

KIELAK, E., SEMPRUCH, C., MIODUSZEWSKA, H., KLOCEK, J., & LESZCZYŃSKI, B. Phytotoxicity of Roundup Ultra 360 SL in aquatic ecosystems: Biochemical evaluation with duckweed (*Lemna minor L.*) as a model plant. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 99, n. 3, p. 237-243, 2011.

KISSMANN, G. K. Plantas daninhas e nocivas. **Plantas daninhas e nocivas**, 1997.

KLEIJN, David; VAN GROENENDAEL, Jan M. The exploitation of heterogeneity by a clonal plant in habitats with contrasting productivity levels. **Journal of Ecology**, v. 87, n. 5, p. 873-884, 1999.

KNEZEVIC, Stevan Z.; STREIBIG, Jens C.; RITZ, Christian. Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. **Weed Technology**, v. 21, n. 3, p. 840-848, 2007.

KREMER, ROBERT J.; MEANS, NATHAN E. Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. **European Journal of Agronomy**, v. 31, n. 3, p. 153-161, 2009.

KRUSE, Nelson D.; TREZZI, Michelangelo M.; VIDAL, Ribas A. Herbicidas inibidores da EPSPS: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 1, n. 2, p. 139-146, 2000.

LACERDA, A. L. S.; VICTORIA FILHO, R. Curvas dose-resposta em espécies de plantas daninhas com o uso do herbicida glyphosate. **Bragantia**, v. 63, n. 1, p. 73-79, 2004.

LACERDA, André Luiz de Souza. **Fluxos de emergência e banco de sementes de plantas daninhas em sistemas de semeadura direta e convencional e curvas dose-resposta ao Glyphosate**. 2003. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

LARCHER, Walter. **Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups**. Springer Science & Business Media, 2003.

MACHADO, A. F. L., Meira, R. M. S., Ferreira, L. R., Ferreira, F. A., Tuffi Santos, L. D., Fialho, C. M. T., & Machado, M. S. Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de *Digitaria insularis*. **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 1-8, 2008.

MACHADO, M. S. et al. Análise de crescimento de *Digitaria insularis*. 2006.

MAGUIRE, J.D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, p.176-177, 1962.

MAYOR, J. P.; DESSAINT, F. Influence of weed management strategies on soil seedbank diversity. **Weed Research**, v.38, n.2, 95-105, 1998.

MCDONALD, L. I. S. A.; MORGAN, TERRY; JACKSON, P. H. I. L. The effect of ripeners on the CCS of 47 sugarcane varieties in the burdekin. In: **Proceedings-Australian Society of Sugar Cane Technologists**. PK Editorial Services; 1999, 2001. p. 102-108.

MELHORANÇA FILHO, A. L. et al. Efeito de glyphosate sobre características produtivas em cultivares de soja transgênica e convencional. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n.3, p. 322-333, 2010.

MENDONÇA, G. S. D., MARTINS, C. C., MARTINS, D., & COSTA, N. V. D. Ecophysiology of seed germination in *Digitaria insularis* ((L.) Fedde). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 45, n. 4, p. 823-832, 2014.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Regras para análise de sementes. 2009.

MONDO, V. H. V., CARVALHO, S. J. P. D., DIAS, A. C. R., & MARCOS FILHO, J. Efeitos da luz e temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de plantas daninhas do gênero *digitaria*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 131-137, 2010.

MONSANTO (2016). BioDirect: Sustainable Solutions for Agriculture. Disponível em: <http://www.monsanto.com/products/pages/biodirect.aspx>. Acesso em: Abril/2017.

MORAES, Carolina Pucci de. Controle e hormesis de glyphosate em *Brachiaria decumbens*. 2016.

MOREIRA, M.S.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de Plantas daninhas aos herbicidas inibidores da EPSPs. **Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas aos herbicidas – HRCA-BR**, Piracicaba, 2008.

NASCENTES, R. F., FAGAN, E. B., SOARES, L. H., DE OLIVEIRA, C. B., & BRUNELLI, M. C. Hormesis de glyphosate em *Brachiaria brizanta* cv. Marandu. **Revista do Centro Universitário de Patos de Minas**. ISSN, v. 2178, p. 7662, 2015.

NEVE, P. & POWLES, S. Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.110, n.6, p.1154-1166, 2005.

PARREIRA, M. C., ESPANHOL, M., DUARTE, D. J., & CORREIA, N. M. Manejo químico de *Digitaria insularis* em área de plantio direto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 1, 2010.

PETERSON, M. L. et al. New simplified inhibitors of EPSP synthase: The Importance of ring size for recognition at the shikimate 3-phosphate site. **Bioorg. & medic. Chem.** v.6, n.23, p. 2853-58, 1996.

PITELLI, Robinson Antonio; DURIGAN, Julio Cezar; ROSSELLO, R. D. Ecologia das plantas daninhas no sistema de plantio direto. **ROSSELLO, RD Siembra directa en el cono sur. Montevideo: PROCISUR**, p. 203-210, 2001.

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

PRESTON, C.; POWLES, S. B. Amitrole inhibits diclofop metabolism and synergises diclofop-methyl in a diclofop-methyl-resistant biotype of *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 62, n. 3, p. 179-189, 1998.

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

PURRINGTON, Colin B.; BERGELSON, Joy. Exploring the physiological basis of costs of herbicide resistance in *Arabidopsis thaliana*. **the american naturalist**, v. 154, n. S1, p. S82-S91, 1999.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em <<http://www.r-project.org>>, 2008. Acesso em 01 jan. 2018.

REDDY, KRISHNA N.; RIMANDO, AGNES M.; DUKE, STEPHEN O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 16, p. 5139-5143, 2004.

RIES, S. K., CHMIEL, H., DILLEY, D. R., & FILNER, P. The increase in nitrate reductase activity and protein content of plants treated with simazine. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 58, n. 2, p. 526-532, 1967.

RITZ, Christian; STREBIG, Jens C.; RITZ, Maintainer Christian. Package 'drc'. 2016.

RITZ, Christian; STREIBIG, Jens C. Dose response curves and other nonlinear curves in Weed Science and Ecotoxicology with the add-on package drc in R. 2012.

ROSS, M. A.; CHILDS, D. J. Herbicide mode-of-action summary. **Weed science (West Lafayette, Ind.)(USA)**, 1995.

SAARI, L. L. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. **Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry**, p. 83-139, 1994.

SANTOS, LD Tuffi ; Meira, R. M. S. A., Santos, I. C., & Ferreira, F. A. . Efeito do glyphosate sobre a morfoanatomia das folhas e do caule de *Commelina diffusa* e *C. benghalensis*. **Planta Daninha**, p. 101-107, 2004.

SCHABENBERGER, O., THARP, B. E., KELLS, J. J., & PENNER, D. Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. **Agronomy Journal**, v. 91, n. 4, p. 713-721, 1999 b.

SCHABENBERGER, Oliver et al. Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. **Agronomy Journal**, v. 91, n. 4, p. 713-721, 1999 a.

SCHLOTZHAVER, S.D.; LITTLE, R.C. *System for elementary statistical analysis*. 2.ed. Cary, NC: **SAS Institute**, 1997. 441p.

SEBER, G. A. F., AND WILD, C. J. (1989), *Nonlinear Regression*, New York: Wiley

SHARKEY, T. D., BERNACCHI, C. J., FARQUHAR, G. D., & SINGSAAS, E. L. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. **Plant, cell & environment**, v. 30, n. 9, p. 1035-1040, 2007.

SHRESTHA, A.; HANSON, B. D.; FIDELIBUS, M. W.; ALCORTA, M. Growth, phenology, and intraspecific competition between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible horseweeds (*Conyza canadensis*) in the San Joaquin Valley of California. **Weed Science**, v. 58, n. 2, p. 147-153, 2010.

SHRESTHA, A.; STEINHAEUER, K. M.; MORETTI, M. L.; HANSON, B. D.; JASIENIUK, M.; HEMBREE, K. J.; WRIGHT, S. D. Distribution of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) in Central California and their phenological development. **Journal of Pest Science**, v. 87, n. 1, p. 201-209, 2014.

SIEHL, DANIEL L. Inhibitors of EPSP synthase, glutamine synthetase and histidine synthesis. **Reviews in Toxicology**, v. 1, p. 37-68, 1997.

SILVA, R. et al. Interferência de subdoses de glyphosate nas trocas gasosas em picão-preto e trapoeraba. **Global Science and Technology**, v. 8, n. 1, p. 31-39, 2015.

SOUZA, R. T.; VELINI, E. D.; PALLADINI, L. A. Aspectos metodológicos para análise de depósitos de pulverizações pela determinação dos depósitos pontuais. **Planta daninha**, v. 25, n. 1, p. 195-207, 2007.

STAUFFER, M. E.; YOUNG, J. K.; HELMS, G. L.; EVANS, J. N. S. Chemical shift mapping of shikimate-3-phosphate binding to the isolated N-terminal domain of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. **Federation of European Biochemical Societies**. v.499, n.2 p. 182-86, 2001.

STEINRÜCKEN, H. C.; AMRHEIN, N. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 94, n. 4, p. 1207-1212, 1980.

STREIBIG, J. C. Models for curve-fitting herbicide dose response data. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 30, n. 1, p. 59-64, 1980.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 4ed. **Porto Alegre: Artmed**, 2013.

TAN, S.; EVANS, R.; SINGH, B. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. **Amino Acids**, v.30, n.2, p.195-204, 2006.

TARDIF, F. J.; POWLES, S. B. Effect of malathion on resistance to soil-applied herbicides in a population of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). **Weed Science**, v. 47, n. 3, p. 258-261, 1999.

TIMOSSI, P. C. Manejo de rebrotos de *Digitaria insularis* no plantio direto de milho. **Planta Daninha**, v. 27, n. 1, p. 175-179, 2009.

TRAVLOS, I. S.; CHACHALIS, D. Relative competitiveness of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible populations of hairy fleabane, *Conyza bonariensis*. **Journal of Pest Science**, v. 86, n. 2, p. 345-351, 2013.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Efeito do glyphosate sobre a morfoanatomia das folhas e do caule de *Commelina diffusa* e *C. benghalensis*. 2004.

TURMAN CM, HATLEY JM, RYDER DJ, RAVINDRANATH V, STROBEL HW. Alternative splicing within the human cytochrome P450 superfamily with an emphasis on the brain: The convolution continues. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, 2(3):399-418, 2006.

VANEWIJK, P. H.; HOEKSTRA, J. A. Calculation of the EC50 and its confidence interval when subtoxic stimulus is present. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 25, n. 1, p. 25-32, 1993.

VARGAS, Leandro; ROMAN, Erivelton Scherer. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas: conceitos, origem e evolução**. Embrapa Trigo, 2006.

VELINI, E. D., ALVES, E., GODOY, M. C., MESCHEDE, D. K., SOUZA, R. T., & DUKE, S. O. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 489-496, 2008.

VELINI, E. D., TRINDADE, M. L., BARBERIS, L. R. M., & DUKE, S. O. Growth regulation and other secondary effects of herbicides. **Weed Science**, v. 58, n. 3, p. 351-354, 2010 a.

VELINI, E.D. et al. Growth Regulation and Other Secondary Effects of Herbicides. **Weed Science**, v.58, n.3, p.351-354. 2010 b.

VELINI, Edivaldo Domingues; JUNIOR, Enes Furlani; MACHADO, José Ricardo. Épocas de início da inundação do solo e altura da lâmina de água em arroz irrigado. Water application date and water depths in lowland rice. **Bragantia**, v. 54, n. 2, p. 413-418, 1995.

WAGNER, R.; KOGAN, M.; PARADA, A. M. Phytotoxic activity of root absorbed glyphosate in corn seedlings (*Zea mays* L.). **Weed Biology and Management**, v. 3, n. 4, p. 228-232, 2003.

WIEDMAN, STEVEN J.; APPLEBY, ARNOLD P. Plant growth stimulation by sublethal concentrations of herbicides. **Weed Research**, v. 12, n. 1, p. 65-74, 1972.

WIJESINGHE, Dushyantha K.; HUTCHINGS, Michael J. The effects of environmental heterogeneity on the performance of *Glechoma hederacea*: the interactions between patch contrast and patch scale. **Journal of Ecology**, v. 87, n. 5, p. 860-872, 1999.

ZOBIOLE, L. H. S., DE OLIVEIRA, R. S., HUBER, D. M., CONSTANTIN, J., DE CASTRO, C., DE OLIVEIRA, F. A., & DE OLIVEIRA, A. Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. **Plant and Soil**, v. 328, n. 1-2, p. 57-69, 2010.

ZOBIOLE, L. H. S., KREMER, R. J., & CONSTANTIN, J. Glyphosate effects on photosynthesis, nutrient accumulation, and nodulation in glyphosate-resistant soybean. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 175, n. 2, p. 319-330, 2012.