

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

TOLERÂNCIA DE *Digitaria ciliaris*, *Digitaria horizontalis* e *Digitaria nuda* A HERBICIDAS USADOS EM CANA-DE-AÇÚCAR

LEANDRO TROPALDI

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

BOTUCATU - SP

Junho 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

TOLERÂNCIA DE *Digitaria ciliaris*, *Digitaria horizontalis* e *Digitaria nuda* A HERBICIDAS USADOS EM CANA-DE-AÇÚCAR

LEANDRO TROPALDI

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini

Co-orientador: Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari

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

BOTUCATU – SP

Junho 2012

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

T856t Tropaldi, Leandro, 1987-
Tolerância de *Digitaria ciliaris*, *Digitaria horizontalis* e *Digitaria nuda* a herbicidas usados em cana-de-açúcar / Leandro Tropaldi. - Botucatu : [s.n.], 2012
vii, 58 f. : gráfs. (alguns color.), tabs., fotos. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2012

Orientador: Edivaldo Domingues Velini

Co-orientador: Caio Antonio Carbonari

Inclui bibliografia

1. Capim-colchão. 2. Fluorescência. 3. Herbicidas. 4. Intoxicação. 5. Plantas - Efeito dos herbicidas. 6. Taxa de transferência de elétrons (ETR). I. Velini, Edivaldo Domingues. II. Carbonari, Caio Antonio. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

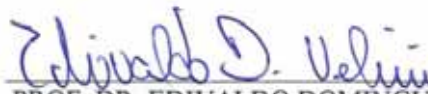
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: TOLERÂNCIA DE *Digitaria ciliaris*, *Digitaria horizontalis* e *Digitaria nuda*
A HERBICIDAS USADOS EM CANA-DE-AÇÚCAR

ALUNO: LEANDRO TROPALDI

ORIENTADOR: PROF. DR. EDIVALDO DOMINGUES VELINI
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. CAIO ANTONIO CARBONARI

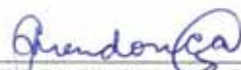
Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. EDIVALDO DOMINGUES VELINI



PROF. DR. FERNANDO TADEU DE CARVALHO



PROF^a DR^a CRISTIANE GONÇALVES DE MENDONÇA

Data da Realização: 29 de junho de 2012.

*“Ninguém e nada cresce sozinho; sempre é preciso um olhar de apoio,
uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão,
uma atitude de amor...”*

Aos meus amados pais *Tertuliano Tropaldi* e *Dirce Zili Tropaldi*, e
ao meu querido irmão *Uélito Tropaldi* que em vossa
simplicidade, dedicaram amor e carinho...

à vocês...

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo conforto espiritual, por permitir tantos “encontros” responsáveis por aprendizado, alegria e encantamento por esta caminhada.

Ao Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini, pelo voto de confiança no aceite da orientação, sendo um grande mentor em minha formação e neste trabalho. Ao Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari pela co-orientação sempre presente. A Dr^a. Maria Lúcia Bueno Trindade pela colaboração e carinho.

Aos meus colegas de trabalho e grandes amigos: Rosilaine Araldi, Marcelo Giroto, Natália Corniani e Ilca Puertas de Freitas Silva, muito obrigado pela receptividade, auxílio nas atividades, compreensão nas dificuldades e pela partilha de saberes.

Aos colegas de laboratório (NUPAM): José Roberto Silva, José Guilherme Cordeiro, Marcelo Siono, Samir Paulo Jasper, Giovanna Larissa Gimenes Cotrick Gomes, Maria Rosecler Miranda Rossetto, Luis Rodrigo Miyamoto Barberis, Marcelo Rocha Corrêa, Eduardo Negrisoli, grato pelos ensinamentos e ajuda na execução deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Cristiane Gonçalves de Mendonça (UEMS - Aquidauna, MS) e ao Prof. Dr. Fernando Tadeu de Carvalho (Unesp - Ilha Solteira, SP) pelas sugestões neste trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (AGRICULTURA), e à Faculdade de Ciências Agrônômicas, representada pelos seus funcionários e colaboradores, pela oportunidade de formação.

Ao CNPq que através do edital Edital MCT/CNPq N° 70/2009, concedeu a bolsa de mestrado.

Aos funcionários do Herbário de Botucatu, Dr^a. Suzana Bissacot Barbosa e Nice, pela ajuda na confecção das exsiccatas. À Prof^a. Dr^a. Thais Scotti do Canto-Dorow (UFMS – Santa Maria, RS) por ter confirmado as espécies. Ao Dr. Marcelo Nicolai (Esalq – Piracicaba, SP) e graduando Marcelo Rodrigues Alves de Figueiredo pelos esclarecimentos durante a identificação das espécies.

Aos meus grandes amigos Rubiana Falopa Rossi, Diógenes Martins Bardivieso, Andre Júnior Andrade Peres e Luis Lessi dos Reis, cuja convivência confirmou a cumplicidade. Obrigado por terem tornado as dificuldades do dia a dia suportáveis.

A companhia agradável, a paciência em ouvir e a descontração que fortalecer a esperança só é possível na presença de amigos. Susiane Moura Cardoso, Adriano Selpis, Elder Cândido Mattos, Cristiano Dantas de Almeida, Adriana Tanaka, Deise de Paula Silva, Carlos Gonçalves, Augusto Ferreira Souza, Valdir Zucarelli, Marli Tieme Koyanagui obrigado pelos momentos.

Aos professores, Dr.^a Cristiane Gonçalves de Mendonça, Dr.^a. Stela Maris Kulckzinski (UFSM – Frederico Westphalen, RS), Dr.^a. Cristina Gonçalves de Mendonça (UFPR – Curitiba, PR), Dr. Antonio Corrêa de Oliveira Filho (UEMS – Aquidauana, MS) que muito me incentivaram para esta caminhada.

A todos os meus queridos familiares que acreditaram e sempre me acalentaram.

E todos que direta e indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

A todos meus sinceros agradecimentos

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
SUMMARY	2
1. INTRODUÇÃO	4
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
2.1. Cenário da cana-de-açúcar.....	7
2.2. Ocorrência de plantas daninhas na cana-de-açúcar	8
2.3. Gênero <i>Digitaria</i> spp.....	9
2.4. Utilização de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar.....	12
2.4.1. Herbicidas Inibidores do FSII.....	13
2.4.1.1. Fotossíntese	13
2.4.1.2. Atuação dos herbicidas inibidores do FSII.....	14
2.4.1.3. Sítios de ligação dos herbicidas inibidores FSII.....	15
2.4.1.4. Fluorescência	18
2.4.2. Herbicidas inibidores de carotenóides na cultura da cana-de-açúcar	21
2.4.2.1. Função dos carotenóides.....	22
2.4.2.2. Atuação dos herbicidas inibidores da síntese de carotenóides	22
2.5. Controle químico do complexo de <i>Digitaria</i> em cana-de-açúcar.....	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. Obtenção e purificação de sementes, e classificação das espécies.....	25
3.2. Eficácia de herbicidas inibidores do FSII em pré-emergência.....	27
3.3. Eficácia de herbicidas inibidores do FSII em pós-emergência.....	28
3.4. Eficácia de herbicidas inibidores de carotenóides em pré-emergência	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1. Eficácia de herbicidas inibidores do FSII em pré-emergência.....	32
4.2. Eficácia de herbicidas inibidores do FSII em pós-emergência.....	35
4.3. Eficácia de herbicidas inibidores de carotenóides em pré-emergência	49
5. CONCLUSÃO.....	51
6. REFERÊNCIAS	52

RESUMO

O setor sucroalcooleiro atualmente enfrenta dificuldades no manejo de plantas daninhas em áreas com ocorrência de capim-colchão, principalmente devido à predominância de *Digitaria nuda*, considerada tolerante a alguns herbicidas usados em cana-de-açúcar. Dessa forma o trabalho teve como objetivo verificar a eficácia de herbicidas inibidores do fotossistema II (FSII) e da síntese de carotenóides em três espécies de capim-colchão (*D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*). Assim, três ensaios foram conduzidos. No primeiro ensaio estudou-se a eficácia de herbicidas inibidores do FSII em dosagem única (em g i.a ha⁻¹) em pré-emergência: ametrina (3000), hexazinona (300), amicarbazone (1050), diuron+hexazinona (1170+330), diuron (2400) e tebuthiuron (800) nas três espécies de capim-colchão, com avaliação do nível de controle aos 30 dias após a aplicação (DAA). O segundo envolveu a utilização dos herbicidas: ametrina, hexazinona, amicarbazone, diuron e tebuthiuron em sete dosagens (0, 12,5, 25, 50, 100, 200, 400% da dosagem utilizada no primeiro ensaio) aplicados em pós-emergência em cada uma das espécies; realizou-se o monitorado da taxa de transferência de elétrons (ETR) às 6 horas e aos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 15, 21 DAA, e aos 21 DAA, atribuiu-se notas visuais para os níveis de intoxicação e massa seca total da parte aérea. No terceiro ensaio, para cada espécie utilizou-se dosagens de 0, 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400% da dosagem de 112,5 g i.a ha⁻¹ de isoxaflutole e 1200 g i.a ha⁻¹ de clomazone, e aos 30 DAA realizou-se avaliação visual de controle. O primeiro ensaio foi disposto em esquema fatorial considerando três espécies de capim-colchão e seis tratamentos, enquanto que o demais foram conduzidos de forma independente para cada espécie e herbicida. Todos os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os herbicidas inibidores do FSII ametrina, hexazinona, amicarbazone e diuron+hexazinona quando aplicados em pré-emergência foram eficazes no controle das três espécies, enquanto que diuron e tebuthiuron não controlaram a *D. nuda*. Já em pós-emergência, obteve-se ineficácia de controle da *D. nuda* com a utilização de amicarbazone, diuron e tebuthiuron, sendo os demais herbicidas eficientes para controle de todas as espécies. Enquanto que os herbicidas inibidores da síntese de carotenóides (isoxaflutole e clomazone) foram eficazes no controle das três espécies, constituindo uma alternativa para o manejo de *D. nuda*.

Palavras - chave: capim-colchão, fluorescência, taxa de transferência de elétrons (ETR), intoxicação de herbicidas.

TOLERANCE OF THE *Digitaria ciliaris*, *Digitaria horizontalis* AND *Digitaria nuda* TO HERBICIDE USED IN THE SUGARCANE CROP. Botucatu, 2012. 58 p. (Master in Agronomy/Agriculture) – Faculty of Agronomic Sciences, State University of São Paulo.

Author: LEANDRO TROPALDI

Adviser: Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

Co-Adviser: Dr. CAIO ANTÔNIO CARBONARI

SUMMARY

The sugarcane sector currently is difficulties in the weed management n areas with occurrence of crabgrass, mainly due to predominance of *Digitaria nuda*, considered tolerant to some herbicides used in sugarcane. The study aimed to verify the efficacy of herbicides inhibitors of photosystem II (PSII) and synthesis of carotenoids in in three species of crabgrass (*D. ciliaris*, *D. nuda* and *D. horizontalis*). Thus, three assays were conducted. In the first assay was studied the efficacy of the PSII inhibitor herbicides in a single dosage (g ai ha^{-1}) pre-emergence: ametryn (3000), hexazinone (300), amicarbazone (1050), diuron + hezaxinona (1170 +330), diuron (2400) and tebuthiuron (800) in three species of crabgrass, with evaluation of the control level at 30 days after application (DAA). The second assay involved the use of herbicides: ametryn, hexazinone, amicarbazone, diuron and tebuthiuron in seven doses (represented by 0, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400% of reference dosage used in the assay above) of each herbicide applied in post-emergence for each specie individually. The effect was observed with the monitoring of ETR to 6 hours and at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 15, 21 days after application. At the end of 21 DAA were evaluated the intoxication levels, using visual grading, and also the total dry mass of shoots. In the third assay, for each specie were used increasing doses of the herbicides, represented by 0, 12.5, 25, 50, 100, 200 and 400% of dosage of $112.5 \text{ g ai ha}^{-1}$ of ixoxaflutole and $1200 \text{ g ai ha}^{-1}$ of clomazone, respectively. The visual control level evaluation was performed 30 DAA. The first assay was arranged in a factorial scheme using three species of crabgrass and seven different treatments while the second and third were conducted independently for each species and herbicide. All experiments were conducted in a completely randomized design with four replications. The inhibitors of PSII herbicides ametryn, hexazinone, diuron + hexazinone and amicarbazone when applied in pre-emergence were effective controlling the three species, while diuron and tebuthiuron did not control the *D. nuda*. In post-emergence the herbicides amicarbazone, diuron

and tebuthiuron were ineffective in the *D. nuda* control, but the other herbicides were effective in the control of all species. The herbicides inhibitors of the carotenoids synthesis (isoxaflutole and clomazone), were effective controlling the three species, what provides alternatives for the management of *D. nuda*.

Key Words: crabgrass, fluorescence, electron transport rate (ETR), herbicide intoxication.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, com uma produção que representa cerca de 37 % dos quase 1,8 bilhões de toneladas produzidas no mundo ao ano (CANA, 2012). Enquanto que nacionalmente o Estado de São Paulo é o maior produtor, representando 52 % da área cultivada com cana-de-açúcar no país (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2012). Entretanto as usinas do Estado de São Paulo estão encontrando dificuldade no manejo de diversas espécies de plantas daninhas em diferentes sistemas de produção.

Na maioria das áreas de produção de cana-de-açúcar a ocorrência do complexo de capim-colchão (*Digitarias* spp.) é comum, e o manejo adotado pelas usinas é fundamentado na utilização de herbicidas. Porém, têm sido observado falhas de controle nestas áreas, principalmente naquelas com uso frequente de herbicidas inibidores de fotossíntese (inibidores do fotossistema II). Dias et al. (2005) relatam que este problema é devido a mudança da predominância das espécies de capim-colchão nas áreas, onde ocorreu a substituição de espécies suscetíveis (*Digitaria horizontalis*, *D. ciliaris* e *D. sanguinalis*), por outra espécie tolerante (*D. nuda*), decorrente à pressão de seleção específica forçada pelo uso repetitivo de herbicidas de espectro de controle similar. Porém nem sempre a espécie tolerante é detectada na área, pois as espécies do gênero *Digitaria* são morfologicamente semelhantes entre si, o que favorece a erros frequentes de identificação em nível de campo.

Entre os herbicidas inibidores do fotossistema II, tem-se observado diferenças entre os grupos químicos que atuam neste mecanismo de ação. Evidências demonstram que a *Digitaria nuda* é tolerante a ação do grupo das uréias substituídas e comporta-se de forma suscetível ao das triazinas e triazinonas (DIAS et al., 2007). O que torna necessário conhecer a eficácia de controle dos herbicidas, tanto em aplicações em pré quanto em pós-emergência dos vários herbicidas, a fim de estabelecer estratégias alternativas para controle de capim-colchão na cultura da cana-de-açúcar.

O mecanismo responsável pela tolerância da espécie de *D. nuda* aos herbicidas, ainda não está completamente elucidado. O uso de herbicidas inibidores do fotossistema II provoca o bloqueio do fluxo de elétrons, com isso uma porção maior de energia de excitação absorvida é remetida como fluorescência (RICHARD JUNIOR et al., 1983). Dessa forma, através de um fluorômetro é possível mensurar a taxa de fluorescência, e a partir desses dados calcular a taxa de transferência de elétrons no fotossistema II. Assim a fluorescência é considerada como um método eficiente para quantificar a interferência dos herbicidas na planta (BAKER, 2008; ARALDI et al., 2011; DAYAN; ZACCARO, 2012). Norsworthy et al. (1998) enfatiza a possibilidade de acompanhar o movimento de herbicidas no fotossistema II, de estudar a desintoxicação metabólica do herbicida e a inibição do transporte de elétrons no fotossistema II.

O desconhecimento do mecanismo de tolerância da *D. nuda* a alguns herbicidas inibidores do transporte de elétrons contribui na dificuldade encontrada atualmente para traçar uma estratégia de manejo de plantas daninhas para as áreas problemáticas do noroeste paulista. Os trabalhos envolvendo a *D. nuda* ainda são escassos e a falta de maiores informações fortalece a necessidade de elucidar o mecanismo de tolerância da espécie a alguns herbicidas inibidores do transporte de elétrons.

Outro ponto importante a ser considerado no estabelecimento do manejo das áreas de produção é a disponibilidade de utilizar herbicidas alternativos, que apresentem controle satisfatório sobre a espécie considerada problemática para uma área e/ou região (GRESSEL; SEGEL, 1990), em virtude desta constatação, as estratégias de manejo podem apresentar algumas alterações.

De acordo com FRANCONERE (2010) os herbicidas inibidores do fotossistema II, são os mais utilizados nas áreas de produção de cana-de-açúcar, e em segundo lugar com 21 % da participação no mercado estão os herbicidas inibidores da síntese de

carotenóides, que no período de 2004 e 2009 apresentaram um aumento de 8 % na participação, em detrimento dos herbicidas inibidores do fotossistema II.

Dessa forma o trabalho teve como objetivo verificar eficácia de herbicidas inibidores do fotossistema II e da síntese de carotenóides em três espécies de capim-colchão (*D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*) comumente encontradas em áreas de produção de cana-de-açúcar.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cenário da cana-de-açúcar

A cultura da cana-de-açúcar introduzida Brasil no século XVII, encontrou ótimas condições de cultivo e tornou-se uma das culturas mais importantes do país, produzindo matéria-prima para a indústria sucroalcooleira e co-geração de energia elétrica. Atualmente o país é o maior produtor mundial, com uma produção que representa cerca de 37 % dos quase 1,8 bilhões de toneladas produzidas no mundo ao ano (CANA, 2011).

A cultura é cultivada em mais de 8 milhões de hectares brasileiros, distribuídos pelas diferentes regiões do país, entretanto a Região Centro-sul (macroregião que engloba as regiões sudeste, centro-oeste e sul) representa 90 % de toda área cultivada com cana-de-açúcar. Dentre os estados, São Paulo é o maior produtor com 52 % da área cultivada (CONAB, 2012).

Atualmente são muitas as regiões do país que o setor sucroalcooleiro é a principal fonte de renda e emprego para a população, assim vem sendo realizado um maior aporte em incentivos fiscais e a estruturação de uma política direcionada ao setor. O que tem favorecido a expansão do setor para outras regiões não tradicionalmente produtoras de cana-de-açúcar, como é o caso do Centro-oeste. Além da estruturação e fortalecimento das usinas tradicionais a recente

expansão da lavoura no país tem sido atribuída principalmente ao aumento da área cultivada e as novas usinas que estão entrando em funcionamento (CONAB, 2012).

2.2. Ocorrência de plantas daninhas na cana-de-açúcar

Apesar de algumas áreas produtoras de cana-de-açúcar apresentarem alta produtividade, da ordem de 120 toneladas por hectare, a média da produção brasileira é inferior, girando em torno de 70 a 85 toneladas de cana-de-açúcar por hectare (CANA, 2011). Demonstrando que a cultura pode ser fortemente influenciada por diversos fatores que culminam na redução de sua produtividade, sejam eles abióticos ou bióticos.

Dentre os fatores bióticos, a presença de plantas daninhas apresenta grande importância, devido principalmente a ampla diversidade de espécies nas áreas agrícolas e a facilidade de ocorrência de infestantes no período de desenvolvimento inicial da cultura, pois na maioria das situações, a brotação e o crescimento inicial é lento (KUVA et al., 2003). A infestação de plantas daninhas pode interferir no desenvolvimento e na produtividade da cultura, sendo relatadas reduções na quantidade e qualidade dos colmos, além da diminuição do número de cortes viáveis, da dificuldade de colheita e transporte, e do aumento no custo de produção (PROCÓPIO et al., 2003). Alguns estudos apontam reduções na produtividade de 48 a 82 % devido à interferência das plantas daninhas (CONSTANTIN, 1993; KUVA et al., 2001), o que demanda necessariamente o controle das mesmas.

A comunidade de plantas daninhas nas áreas de cultivo de cana-de-açúcar é bastante diversificada, Oliveira e Freitas (2008) citam 74 gêneros diferentes. Carvalho et al. (2005) menciona que existe cerca de 1000 espécies de plantas daninhas que habitam o agroecossistema da cana-de-açúcar em todo o mundo. Espécies como capim-braquiária, capim-marmelada, capim-colchão, capim-camalote, grama-seda apresentam alta ocorrência provocando grandes prejuízos à cultura, além de outras espécies como a corda-de-viola, tiririca e picão-preto (PROCÓPIO et al., 2003).

No entanto, dentre as diversas espécies infestantes atualmente a ocorrência do gênero *Digitaria* spp. vem despertando atenção especial nas áreas canavieiras. Dias et al. (2003) relatou que as usinas tem observado falhas no controle de capim-colchão, o que tem despertado interesse no estudo deste gênero (DIAS et al., 2003; DIAS et al., 2004; DIAS et al., 2005; DIAS et al., 2007; VIEIRA, 2007; SOUZA, 2011).

2.3. Gênero *Digitaria* spp.

Distribuído pelas regiões tropicais e subtropicais e, em menor número, nas regiões temperadas, são cerca de 300 espécies em todo o mundo que pertence ao gênero *Digitaria* da família Poaceae (KISSMANN, 1997; CANTO-DOROW, 2001). O Brasil possui a ocorrência de 36 espécies já confirmadas (CANTO-DOROW, 2001), distribuídas em praticamente todas as regiões, com maior predominância nas regiões Sul, Sudeste, Centro-oeste e Nordeste, ou seja, nas principais regiões produtoras de cana-de-açúcar. Estas espécies habitam normalmente formações abertas como campos naturais, cerrados, restingas, campos rupestres, sendo comuns em locais alterados, como as áreas agrícolas e urbanas destacando-se por serem denominadas como plantas daninhas (CANTO-DOROW; LONGHI-WAGNER, 2001).

Não apenas a cultura da cana-de-açúcar apresenta relatos da ocorrência deste gênero interferindo negativamente, conforme apresentado por Kuva et al. (2007), em outras culturas é restrito a ocorrência deste gênero ocupando altos índices de densidade, frequência e abundância, como em feijão (SILVA et al., 2005), milho (DUARTE et al., 2007), soja (FIALHO, 2011).

Uma vez presente na área as espécies pertencente ao gênero *Digitaria* estabelecem uma relação de competição com a cultura pelos fatores do meio, além de serem hospedeiras de pragas e doenças. São plantas altamente agressivas como infestantes, sendo relatadas como problemática em 60 países, infestando mais de 30 culturas de importância econômica. Essas espécies são particularmente hábeis no processo de competição, causando danos nas culturas em condição de seca, além de apresentarem efeitos alelopáticos sobre várias plantas cultivadas (KISSMANN, 1997; DIAS et al., 2007).

As digitarias brasileiras formam um complexo de espécies com características morfológicas e hábitos bastante semelhantes entre si, o que torna sua identificação visual bastante difícil. Na identificação é comum, considerar apenas informações regionais de ocorrência da espécie ou se restringe à identificação ao nível de gênero (KISSMANN, 1997), o que não raramente leva a erros em termos de identificação da espécie alvo e de recomendação de herbicidas. Assim, plantas do gênero *Digitaria* são normalmente referidas como “complexo de

capim-colchão”, devido a sua grande quantidade de espécies que podem se desenvolver em comunidades mistas.

De forma geral, o gênero *Digitaria* está presente em praticamente todas as áreas de produção agrícola, normalmente referenciada como as espécies *Digitaria horizontalis*, *D. ciliaris* e *D. sanguinalis*. Porém, apenas no Estado de São Paulo foi relatado 14 espécies diferentes de capim-colchão, sendo primeiramente relatadas 13 espécies, *Digitaria corynotricha*, *D. neesiana*, *D. insularis*, *D. eriantha*, *D. fuscescens*, *D. connivens*, *D. sejunta*, *D. filiformis*, *D. violascens*, *D. horizontalis*, *D. bicornis*, *D. sanguinalis* e *D. ciliaris* (CANTO-DOROW, 2001), e posteriormente em 2003, Dias et al. descreveram a ocorrência da *D. nuda* em áreas cultivadas com cana-de-açúcar.

Dentre estas espécies, algumas são muito parecidas entre si, e suas características diferenciais não se encontram de forma constante, havendo tipos intermediários (DIAS et al., 2007). Nas áreas de produção de cana-de-açúcar as espécies *D. horizontalis*, *D. ciliaris*, *D. bicornis* e *D. nuda* são facilmente encontradas no Estado de São Paulo (LORENZI, 2000; DIAS et al., 2003; DIAS et al., 2007), porém estas espécies são muito parecidas morfológicamente e, no campo sua distinção é comprometida, pois existe a necessidade do uso de uma lente de aumento, para visualizar as diferenças, uma vez que a diferenciação baseia-se principalmente nas características morfológicas da espiguetas, a forma de inserção, formato, desenho da gluma II e da lema estéril, assim como a pilosidade (CANTO-DOROW, 2001)

Dias (2004) cita que três espécies (*D. horizontalis*, *D. nuda* e *D. ciliaris*) são mais predominantes nas áreas de produção de cana-de-açúcar e que também são morfológicamente muito semelhantes entre si, o que torna a identificação a campo difícil e passível de erro. Esta mesma autora elaborou uma tabela (Tabela 1) onde reúne informações acerca das diferenças entre as espécies que se assemelham, embasada em Canto-Dorow (2001).

A espécie *D. ciliaris* é uma planta anual com reprodução sexuada apresentando número de cromossomos $2n=27$. É mencionada como originária da ilha de Taiwan (KISSMANN, 1997). As espiguetas em número de dois por nó medem (2,2)2,5-3,2(3,4) mm de comprimento, 0,7-0,9(1,1) mm de largura, lanceoladas; gluma inferior presente, 0,3-0,4(0,6) mm de comprimento, aguda; gluma superior 1,6-2,1 mm comprimento, 0,3-0,5 mm de largura, 1/2-3,4 do comprimento do lema inferior, aguda, pilosa, tricomas agudos, esbranquiçados, densos; lema inferior (2,2)2,5-3,2(3,4) mm de comprimento 0,7-0,9(1,1) mm de largura, agudo, piloso nas

margens e entre as nervuras laterais, tricomas agudos, densos ou esparsos, não ultrapassando o ápice do lema; pálea inferior ausente; antécio superior (2,1)2,4-3,2(3,3) mm de comprimento, 0,5-0,8 mm de largura, com flor bissexuada, lanceolado, agudo, com papilas em fileiras longitudinais, castanho claro na maturidade. Anteras 0,7-1,1 mm de comprimento. Cariopse medindo 1,7-2,1 mm de comprimento, 0,6-0,8 mm de largura, zona do embrião menor do que 1/2 do comprimento da cariopse (CANTO-DOROW, 2001).

A *D. horizontalis* é nativa nas regiões da América, como características apresenta espiguetas binadas, lanceoladas, homomorfas, pubescentes, tricomas agudos e esbranquiçados presentes na gluma superior e lema inferior; gluma inferior ausente ou reduzida de até 0,1 mm aguda; gluma superior de 0,8-1,0 mm, obtusa, atingindo até metade do comprimento do lema inferior, lema inferior de 1,9-2,2 mm, agudo, nervuras laterais glabras, glabro em ambos os lados da nervura central e alternadamente pubescente e glabro em ambos os lados da nervura central e alternadamente pubescente e glabro em ambos os lados da nervura central e alternadamente pubescente e glabro nas demais regiões entre as nervuras, margens pubescentes, tricomas não ultrapassando o ápice; antécio superior de 1,9-2,1 mm, castanho-claro na maturação (CANTO-DOROW, 2001).

A *D. nuda* ocorre em regiões tropicais de todos os continentes, ocorrendo com maior frequência na África, onde foi originalmente descrita. É uma planta anual, decumbente, 14-70 cm de altura. Suas espiguetas em número de dois por nó, medem 2-2,4 mm de comprimento, 0,6-0,7 mm de largura, lanceoladas; gluma inferior ausente; gluma superior 0,9-1,2 mm de comprimento, 0,3-0,5 mm de largura, até metade do comprimento do lema inferior, aguda, pilosa, tricomas agudos, esbranquiçados, esparsos, nas margens e entre as nervuras, ultrapassando o ápice da gluma; lema inferior 2-2,1 mm de comprimento 0,6-0,7 mm de largura, aguda, pilosa nas margens e entre as nervuras laterais, tricomas agudos, densos, ultrapassando o ápice do lema em 0,2-0,4 mm; pálea inferior ausente; antécio superior 1,8-2,2 mm de comprimento, 0,4-0,6 mm de largura, com flor bissexuada, lanceolado, agudo, com papilas em fileiras longitudinais, castanho claro na maturidade. Anteras 0,3-0,4 mm de comprimento. Cariopse 1,2 mm de comprimento, 0,4-0,6 mm de largura, lanceolada, zona do embrião metade do comprimento da cariopse. Pelas dimensões das espiguetas assemelha-se com *D. horizontalis* (CANTO-DOROW, 2001).

2.4. Utilização de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar

A abundância de plantas daninhas nas extensas áreas de cultivo de cana-de-açúcar exige a adoção de um manejo que possibilite a redução da interferência negativa que estas possam exercer sobre a cultura, assim Constantin (2001) recomenda a associação entre práticas culturais, mecânicas e químicas ao manejo. Devido às extensas áreas de produção de cana-de-açúcar, o problema de escassez de mão-de-obra, facilidade de aplicação, custo e eficácia do tratamento, o controle químico o uso de herbicidas é um método complementar as outras estratégias de manejo de plantas daninhas (ROSSI, 2004).

Os herbicidas representam de mais de 68 % do mercado de defensivos agrícolas na cultura da cana-de-açúcar (KLEFFMANN, 2009 citado por FRANCONERE, 2010), o controle químico com o uso de herbicidas representa 10 % do total de custo de produção da cultura (CANA, 2011).

O controle químico de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar possui mais de 207 formulações de herbicidas registradas no Brasil, com indicação a diversas espécies de plantas daninhas em várias condições de aplicação (BRASIL, 2003). Existindo vários tipos de herbicidas disponíveis, porém, muitos deles apresentam características comuns, o que possibilita que eles sejam agrupados de várias formas. Percival e Baker (1991) mencionam que os herbicidas são classificados quanto ao seu composto químico, quanto as suas características fisiológicas ou a sua seletividade.

Embora existam várias formas de classificarem os herbicidas, nenhuma delas é completamente adequada, devido a grande diversidade de uso, sítios de ação e famílias químicas, fato que possibilite que todas as formas de classificação sejam utilizadas conforme sua utilidade (ZIMDAHL, 2007). Porém, a classificação ou agrupamento dos herbicidas em função de sua estrutura química e/ou seu mecanismo de ação são mais comum (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Assim, os herbicidas podem ser agrupados conforme sua estrutura química, pois normalmente os herbicidas que pertencem à mesma família química desencadeiam sintomas semelhantes entre as plantas suscetíveis, e apresentam o mesmo mecanismo de ação, ou seja, o primeiro ponto do metabolismo das plantas em que os herbicidas atuam é comum entre as

moléculas de estrutura química similar (OLIVEIRA JUNIOR, 2011). Porém, nem sempre esta relação entre a estrutura química do herbicida e seu comportamento bioquímico é existente, havendo exceções (ZIMDAHL, 2007).

Nas áreas de produção de cana-de-açúcar em 2009, cerca de 46% das áreas foram tratadas com herbicidas cujo seu mecanismo de ação é devido a inibição do fotossistema II (FSII) e 18% de herbicidas que inibem primeiramente a síntese de carotenóides levando as plantas a morte (FRANCONERE, 2010). Estes dois mecanismos de ação representam 64 % das áreas tratadas com herbicidas, enquanto que no restante outros mecanismos de ação são utilizados em proporções menores (FRANCONERE, 2010).

2.4.1. Herbicidas Inibidores do FSII

2.4.1.1. Fotossíntese

De forma bastante genérica, fotossíntese é o processo que converte energia luminosa em energia química, utilizando-se CO_2 e liberando O_2 , processo este, particular das plantas e organismos fotossintetizantes. Didaticamente este processo é comumente dividido em duas fases, a primeira denominada de fase fotoquímica (reação de Hill) e a segunda de fase bioquímica (ou ciclo de Calvin) (DAYAN; ZACCARO, 2012).

A fase fotoquímica é considerada a fase onde ocorrem as reações primárias da fotossíntese, nos complexos de proteínas denominados de fotossistemas I e II (FSI e FSII), que estão localizados nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos (RENGER, 1993).

Estas reações denominadas de primárias são diretamente dependentes da luz, e envolvem a quebra da molécula de água em oxigênio, prótons e elétrons. Os elétrons por sua vez são energizados pela energia da luz contida nos centros de reação e canalizada através do sistema de transporte de elétrons para produção de NADPH (DAYAN; ZACCARO, 2012).

A quebra da molécula de água (oxidação da água) ocorre no complexo FSII e é de fundamental importância para todo o processo. O FSII é um complexo de membrana composto por múltiplas subunidades de proteínas que são codificadas por genomas oriundos do núcleo e do próprio cloroplasto (BARBER, 1998). Dentre todas as proteínas que o compõem, duas proteínas codificadas pelo cloroplasto, de massa molecular de 32 kDa, atualmente

conhecidas por proteínas D1 e D2 apresentam importância especial no transporte de elétrons (BARBER, 1998). Juntamente às proteínas D2 e D1, uma clorofila doadora primária, clorofilas adicionais, carotenoides, feofitinas e plastoquinonas (Q_A e Q_B), estão ligadas ao FSII, formando o complexo (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A fase fotoquímica é conduzida pelo processo de oxido-redução com elétrons oriundo da oxidação da molécula de água através do transporte de elétrons até a redução do NADP. É no FSII que durante a fotossíntese, a energia de excitação absorvida pelo complexo de captação de luz (localizado em torno do centro de reação) é transferida para uma clorofila especial no centro de reação, conhecida como P_{680} . Quando o P_{680} é excitado ocorre a ejeção de um elétron que por consequência reduz uma feofitina, que está mais próxima. Esta feofitina reduzida será oxidada pelo primeiro aceptor de elétrons, um ligante plastoquinona chamada Q_A , localizada na proteína D2. Na sequência, o elétron é então transferido de Q_A para outra plastoquinona na proteína D1, conhecida como plastoquinona Q_B (JONES, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Depois de duas transferências sucessivas de elétrons de Q_A para Q_B , Q_B é reduzida a plastoquinona móvel (PQ_B^{2-}), e posteriormente na porção hidrocarbonada da membrana a PQ_B^{2-} recebe dois prótons advindos do estroma, se tornando uma plastohidroquinona (PQH_2) completamente reduzida (JONES, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2009). Após essa etapa ela se dissocia e transfere seus elétrons para o complexo citocromo b_6/f , e este transfere os elétrons para o FSI, que por sua vez reduzirá o $NADP^+$ a NADPH no estroma. O H^+ , é então conduzidos para o lúmen do tilacóide, contribuindo para o aumento do pH do lúmen e consequente ativação da ATPase e a produção de ATP (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Dessa forma, a fase fotoquímica é a responsável pela produção da energia química necessária as reações subsequentes como a síntese de açúcares, base para inúmeras outras reações.

2.4.1.2. Atuação dos herbicidas inibidores do FSII

O desempenho do FSII e consequentemente a capacidade de conversão da energia luminosa em carboidratos pode ser alterada por um série de estresses, como por exemplo

temperatura, luminosidade, além de algumas substâncias específicas inibidoras do FSII, como é o caso de alguns herbicidas (DAYAN; ZACCARO, 2012).

No processo de transporte de elétrons entre os FSII e fotossistema I (FSI), a plastoquinona desempenha um papel chave. Em condições normais a plastoquinona se liga em seu sítio específico na proteína D1 do FSII, denominado de sítio Q_B , e com a sua ligação precede-se o fluxo de elétrons normalmente entre o FSII e o complexo do citocromo b_6/f . No entanto, este sítio de ligação Q_B na proteína D1 no FSII, é considerado não seletivo, pois podem acomodar várias outras substâncias inibidoras do FSII, como é o caso de alguns herbicidas (FUERST; NORMAN, 1991; DAYAN; ZACCARO, 2012).

Muitos herbicidas de vários grupos químicos inibem a fotossíntese pelo mesmo mecanismo de ação. Estes herbicidas atuam como análogos as plastoquinonas, competindo com as próprias plastoquinonas para se ligarem a proteína D1 do FSII no sítio de ligação Q_B (FUERST; NORMAN, 1991; HESS, 2000; POWLES; YU, 2010). Consequentemente o transporte de elétrons é inibido, pois embora a Q_A esteja reduzida mediante a iluminação, esta não pode ser oxidada pela plastoquinona (Q_B), pois o sítio de ligação está ocupado pelo herbicida (JONES, 2005). Por fim, resulta na paralização de produção de NADPH e ATP e interrompe a fixação de carbono, levando a inanição de carboidratos e ao estresse oxidativo (POWLES; YU, 2010).

No Brasil, vários grupos químicos de herbicidas que inibem o fluxo de elétrons no FSII são registrados com indicação para a cultura da cana-de-açúcar, como os herbicidas pertencentes ao grupo das triazinas (atrazina, ametrina), das triazinonas (hexazinona e metribuzin), das triazolinonas (amicarbazone) e das uréias (diuron e tebuthiuron) (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

2.4.1.3. Sítios de ligação dos herbicidas inibidores do FSII

Embora todos os herbicidas inibidores do FSII compitam com as plastoquinonas para a ligação do sítio Q_B , cada herbicida pode apresentar sua orientação específica dentro do sítio de ligação, podendo com isso, se ligar de forma diferente na proteína D1, (PEREZ-JONES et al., 2009), pois o elemento essencial de um grupo de herbicidas pode não

se ligar ao mesmo aminoácido, como o de outro grupo (TREBST, 1991; PEREZ-JONES et al., 2009).

Entre todos os grupos químicos dos herbicidas inibidores do FSII, o grupo das triazinas é o mais estudado e conhecido, fato observado a partir de 1950 quando o atrazina passou a ser amplamente utilizado em cultivos de milho, e principalmente após 1970 com o relato do primeiro caso de resistência de plantas daninhas a herbicida, a partir desta constatação, foi identificado a proteína D1 e também o sítio de ligação do herbicida á proteína D1 (TREBST, 2008).

A proteína D1, onde a Q_B é reduzida pela Q_A , é codificada pelo gene *psbA* do cloroplasto herdado da mãe (POWLES; YU, 2010; MENGISTU et al., 2000). A partir do sequenciamento deste gene, atualmente, sabe-se que a proteína possui cerca de 345 aminoácidos, sendo que deste total, cerca de 60 aminoácidos fazem parte do sítio de ligação Q_B , começando com uma metionina na posição 214 (Met²¹⁴) e é finalizada com uma leucina na posição 275 (Leu²⁷⁵) (TREBST, 2008).

A definição da ligação dos herbicidas na proteína D1 foi embasada em informações de mutações ocorridas na sequência de aminoácidos referente ao sítio de ligação Q_B (MENGISTU et al., 2000). Quando ocorre a substituição de algum aminoácido dentro desta região, pode provocar tolerância a ligação de herbicidas.

O gene *psbA* foi sequenciado de *Amaranthus* sp. tolerante a atrazina em 1983, e na região considerada sítio de ligação Q_B foi encontrado uma mudança de bases que levou a substituição de uma serina na posição 264 por uma glicina (Ser²⁶⁴Gli) (TREBST, 2008; POWLES; YU, 2010). Embora as triazinas e a plastoquinona compitam pelo mesmo sítio de ligação, a mutação Ser²⁶⁴Gli impede a ligação da triazina, porém ainda permite a ligação da plastoquinona mesmo que em menor intensidade (POWLES; YU, 2010). Com base nesta informação um modelo de ligação de herbicidas foi elaborado e é usada de forma genérica na tentativa de compreender a ligação dos herbicidas que atuam como análogos as plastoquinonas.

Dessa forma, sabe-se que a estrutura molecular e estrutural do FSII demonstra que no sítio de ligação Q_B na proteína D1, a Ser²⁶⁴ fornece uma ligação de hidrogênio que é importante para a ligação da plastoquinona e também para o herbicida, que é perdida quando este aminoácido é substituído por uma glicina (POWLES; YU, 2010). A plastoquinona (Q_B) dentro do sítio de ligação Q_B , se liga aos aminoácidos Ser²⁶⁴ e histidina na posição 215

(His²¹⁵), por meio de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas com o aminoácido fenilalanina de posição 255 (Fen²⁵⁵). Agora o herbicida atrazina por sua vez, se liga ao sítio de ligação Q_B, por uma ligação de hidrogênio entre a Ser²⁶⁴ e Fen²⁶⁵ e através de interações hidrofóbicas com a Fen²⁵⁵ (evitando a ligação da plastoquinona no sítio de ligação), ocasiona o bloqueio do transporte de elétrons (POWLES; YU, 2010; FUERST; NORMAN, 1991). Mais recentemente cinco outras mutações no sítio de ligação Q_B foram relatadas com os herbicidas que competem pelo sítio de ligação da plastoquinona no FSII, porém cada uma com padrão de resistência cruzada (BECKIE; TARDIF, 2012).

As mutações que ocorre na proteína D1 na região considerada sítio de ligação da Q_B de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores do FSII atualmente relatadas são: um aminoácido serina da posição 264 sendo substituído pelo aminoácido glicina (Ser²⁶⁴Gli) ou treonina (Ser²⁶⁴Tre), na posição 266 o asparagina é substituído por um treonina (Asn²⁶⁶Tre), na posição 219 o valina por um isoleucina (Val²¹⁹Ile), na posição 251 o alanina por um valina (Ala²⁵¹Val) e na posição 255 o fenilalanina pelo isoleucina (Fen²⁵⁵Ile) (BECKIE; TARDIF, 2012).

O alto grau de resistência de plantas daninhas observada aos herbicidas triazinas tem sido apontado pela mutação Ser²⁶⁴Gli ou então pela mutação Ser²⁶⁴Tre. A resistência ao grupo das triazinonas foi observada por várias mutações como a Ser²⁶⁴Gli, Asn²⁶⁶Tre, Val²¹⁹Ile, Ala²⁵¹Val e Fen²⁵⁵Ile. Em plantas resistentes aos herbicidas do grupo das uréias observaram três mutações das seis relatadas até hoje (Ser²⁶⁴Gli, Ser²⁶⁴Tre, Val²¹⁹Ile). Enquanto que a resistência a herbicidas nitrilas foi documentada apenas em *Senecio vulgaris* apresentando a mutação Asn²⁶⁶Tre (BECKIE; TARDIF, 2012).

Uma única mutação na proteína D1 (Ser²⁶⁴Tre) do FSII nas plantas de *Portulacaceae oleraceae* conferiu resistência aos grupos das triazinas e das uréias (MASABNI; ZANDSTRA, 1999), esta mutação foi responsável pelo bloqueio parcial da entrada dos herbicidas triazinas e uréias no sítio de ligação Q_B ou interferindo nas interações hidrofóbicas com o Fen²⁵⁵ (POWLES; YU, 2010).

Em plantas de *Amaranthus powellii* e *Kochia scopariai* relatou-se a mutação Val²¹⁹Ile como a responsável por conferir resistência aos herbicidas do grupo químico das triazinonas e uréias (MENGISTU et al., 2005; MENGISTU et al., 2000). Enquanto que em plantas de *Chenopodium album* e *Amaranthus retroflexus* a mutação Ala²⁵¹Val foi a responsável

pela alta resistência aos herbicidas do grupo das triazinonas (MECHANT e BULCKE, 2006; MECHANT et al., 2008; PARK e MALLORY-SMITH (2006). É sabido que o aminoácido alanina²⁵¹ se liga ao grupo tiometil do metribuzin (grupo químico das triazinonas), no entanto quando em contato com Val a ligação é fraca, o que resulta em resistência (OETTMEIER, 1999).

Park e Mallory-Smith (2006) encontraram a mutação Asn²⁶⁶Tre em *Senecio vulgaris* com baixa resistência as triazolinonas e alta resistência a nitrilas. E em *Capsella bursa-pastoris* a mutação Fen²⁵⁵Ile proporciona resistência a triazinonas e uréias.

As diferenças na resistência ao mesmo grupo químico indica que existem diferenças na afinidade das ligações dentro dos próprios grupos. Mesmo podendo usar os dados obtidos de mutações para definir os sítios de ligação dos vários herbicidas que competem com a plastoquinona para a ligação no sítio Q_B, é perfeitamente claro que nenhum deles há um padrão comum de ligação (KARUKSTIS et al., 1992). Desta forma, atualmente a exata forma de ligação não está totalmente estabelecida para cada grupo químico de herbicidas que competem com a plastoquinona.

2.4.1.4. Fluorescência

A técnica de fluorescência da clorofila vem sendo amplamente utilizada em estudos de ecofisiologia vegetal, pois os dados de fluorescência complementam os estudos sobre o desempenho fotossintético das plantas (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Este fato tem sido atribuído por diversos autores, devido ao desenvolvimento de equipamentos mais sofisticados, e também em virtude da técnica ser relativamente simples, considerada como um método não invasivo, altamente sensível, rápido e facilmente mensurável, e contém informações valiosas a respeito do funcionamento do aparato fotossintético (BARBAGALLO et al., 2003; ABBASPOOR et al., 2006).

O princípio da análise de fluorescência da clorofila é relativamente simples. No aparato fotossintético, quando a energia radiante do sol é interceptada pelas folhas, uma porção é refletida, outra é transmitida através da folha, e por fim, outra parte é absorvida pela folha (RITCHIE, 2006). São as moléculas de clorofila da folha que absorvem esta energia de excitação, sendo que esta energia poderá tomar três destinos diferentes, a fim de evitar danos

devido o excesso de energia, ou seja, a energia absorvida é utilizada ou então dissipada de alguma forma (RITCHIE, 2006).

A primeira forma se refere ao processo em que a energia luminosa absorvida é convertida em energia química que será usada posteriormente na condução da fotossíntese (fase fotoquímica). Porém, normalmente a capacidade da planta em utilizar toda esta energia é inferior a quantidade absorvida, assim, o excesso de energia absorvida é dissipada na forma de calor, e o calor é a segunda forma de dissipação de energia absorvida. Entretanto, o excesso de energia, pode não apenas ser dissipado como calor, como também pode ser dissipado através da fluorescência das moléculas de clorofila, mas em menor proporção. Ambas as formas (calor e fluorescência) são também referidas como energia de dissipação não-fotoquímica (RITCHIE, 2006, MAXWELL; JOHNSON, 2000, BAKER, 2008).

Estes três processos são concorrentes de tal forma que qualquer aumento na eficiência de um resultará em redução no rendimento dos outros dois, tornando possível, que por meio de mensurações do rendimento de fluorescência da clorofila, a geração de informações sobre mudanças na eficiência fotoquímica e de dissipação de calor (MAXWELL; JOHNSON, 2000). Em condições ideais de baixa luz, a fotoquímica primária ocorre em alta eficiência, cerca de 95 % dos fótons absorvidos são utilizados na fotoquímica, e cerca de 4,5 % são transformados em calor e 0,5 % são reemitidos como luz fluorescente (BOLHÀR-NORDENKAMPF e OQUIST, 1993).

Embora a quantidade de fluorescência da clorofila seja muito pequena a medição é bastante fácil (MAXWELL; JOHNSON, 2000), por meio de equipamentos especiais que detectam este espectro de luz (fluorômetros). Para a obtenção de informações úteis sobre o desempenho fotossintético de uma planta a partir de mensurações de fluorescência da clorofila, é necessária a distinção entre a contribuição da energia de dissipação fotoquímica e não fotoquímica. (MAXWELL; JOHNSON, 2000).

Dentro dos processos fotoquímicos, vários parâmetros são determinados com base nos valores relativos detectados pelo equipamento. Dentre eles é calculado a eficiência fotoquímica FSII, que é um parâmetro que mede a porcentagem da luz absorvida pela clorofila associada ao FSII que é usada na fotoquímica. Esta por sua vez é determinante nos cálculos da taxa de transporte de elétrons (ETR) no FSII. Felizmente os fluorômetros modulados comerciais calculam automaticamente da ETR ($\mu\text{mols elétrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) = (Y).(PAR).(0,84).(0,5), onde é

equivalente a: (produção de quantum do FSII).(medidas da radiação fotossinteticamente ativa medida em $\mu\text{mols elétrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).(coeficiente de absorção da folha).(fração de luz absorvida pelo complexo antena do FSII) (ARALDI et al., 2011).

A ETR é uma medida da separação de cargas do centro de reação do FSII. Na equação são usados valores-padrão, porém ambos os coeficientes de absorção e fração da luz absorvida pelo FSII podem ser trocados. Embora 0,84 seja um valor médio para muitas espécies de plantas, trabalhos tem mostrado que o coeficiente de absorção da folha pode variar com a qualidade da luz, e espécie, conteúdo de clorofila e refletância da folha (ARALDI et al., 2011).

O parâmetro ETR permite detectar o efeito da atuação do herbicida em nível de concentração de 0,5 micromoles dm^{-3} , já o método tradicional, que inclui a medição do parâmetro Fv/m, permite detectar apenas em um nível de concentração, que é 100 vezes maior (KORRES et al., 2003; ABBASPOOR et al., 2006).

O efeito de um herbicida inibidor do FSII é verificado, pois quando o inibidor do FSII é ligado a proteína D1 e os centros de reação FSII se fecham a iluminação, a conversão de energia de excitação em energia química é bloqueada e o rendimento de fluorescência máximo é atingido, o que provoca um declínio na eficiência quântica do FSII e na taxa de transporte de elétrons (HAVAUX; NIYOGI, 1999; OSMOND, 1994).

Se todos os centros de reações do FSII estiverem fechados por um bloqueio da fotossíntese, como o proporcionado por alguns herbicidas, 95-97% da energia pode ser dissipada como calor e 2,5-5,0%, via fluorescência da clorofila (BOLHÀR-NORDENKAMPF; OQUIST, 1993). Assim a avaliação da fluorescência oferece muitas vantagens dentre elas a possibilidade de registrar o momento em que o herbicida está interferindo na transferência de elétrons, que é o sítio de ação dos herbicidas inibidores do FSII.

Dessa forma, Dayan et al. (2009) observaram que oito horas após aplicação de amicarbazone a ETR foi completamente inibida para capim-colchão (*Digitaria sanguinalis*) e capim-arroz (*Echinochloa crus-galli*), e em plantas de milho 24 horas após a ETR permaneceu correspondendo a cerca de 30%. Demonstrando assim, que o efeito da aplicação foliar de amicarbazone na ETR foi muito mais rápido nas plantas daninhas estudadas do que nas plantas de milho.

Skórska e Murkowski (2009), observaram uma considerável diminuição da ETR nas folhas de plantas de aveia selvagem (*Avena fatua*), com 26 % do valor da ETR em

relação a testemunha, enquanto que para a aveia cultivada (*Avena sativa*) não ocorreu mudança na ETR após serem tratadas com chlortoluron.

Estudos desenvolvidos com folhas destacadas de *Alopecurus myosuroides* tratadas com chlortoluron, demonstrou que as plantas resistentes apresentaram parcial a completa recuperação da inibição do transporte de elétrons, enquanto as plantas susceptíveis não mostram recuperação da ETR do FSII (Van OORSCHOT; Van LEEUWEN, 1991).

Plantas de *Ipomoea grandifolia*, *Brachiaria decumbens* e *Digitaria horizontalis* foram mantidas em solução com amicarbazone, e após 48 horas foram transferidas para solução sem herbicida, estas plantas apresentaram reduções da ETR da ordem de 55, 60 e 55 % após 24 horas a imersão do sistema radicular a solução herbicida, e após 192 horas as folhas que surgiram posteriormente apresentaram leve reduções da ETR com valores próximos ao período antecedente à aplicação (ARALDI et al., 2011).

2.4.2. Herbicidas inibidores da síntese de carotenóides na cultura da cana-de-açúcar

O uso de herbicidas inibidores de carotenóides aumentou sua participação em 8% dentre aqueles utilizados na cultura da cana-de-açúcar conforme um levantamento realizado entre o período de 2004 a 2009 (FRANCONERE, 2010). Demonstrando que a estratégia de manejo de plantas daninhas vem sofrendo alterações conforme a necessidade de cada região e período, e com isso, o herbicidas inibidores de carotenóides estão se tornando cada vez mais importantes no estabelecimento do manejo integrado de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar.

No Brasil, apenas quatro moléculas inibidoras da síntese de carotenóides são registradas, representadas por três grupos químicos: isoxazoles (isoxaflutole), tricetonas (mesotrione e tembotrione) e isoxazoidinonas (clomazone). Sendo que apenas o isoxaflutole, mesotrione e clomazone são os ingredientes ativos com recomendação para a cultura da cana-de-açúcar (RODRIGUES; ALMEIDA 2012).

Ao longo do ano as condições de umidade do solo, pluviosidade e temperatura são variáveis, o que podem interferir na eficácia dos mesmos. Dessa forma, é comum a designação de “herbicidas de época úmida” e “herbicidas de época seca” conforme as

propriedades que cada um apresenta. Dentre os herbicidas inibidores da síntese de carotenoides o isoxaflutole e clomazone são moléculas que apresentam propriedades que permitam sua aplicação em épocas semi-secas e secas. Fato importante, considerando que 80 % da safra de cana-de-açúcar o corte ocorre no período de baixas precipitações e a disponibilidade de moléculas herbicidas alternativas para o manejo de plantas daninhas neste período é de fundamental importância (AZANIA et al., 2008).

2.4.2.1. Função dos carotenóides

Diversos mecanismos de proteção são citados como importantes para prevenir danos nas plantas. Dentre eles os carotenóides protegem o aparelho fotossintético da fotodegradação, extinguindo o excesso de energia liberado da fotossíntese. As clorofilas após serem excitadas pelos fótons de luz são transformadas no estado singleto, mas algumas delas se tornam mais reativas e instáveis passando para o estado triplet, que é destrutivo a planta (DAYAN; ZACCARO, 2012; MONACO et al., 2002).

Os carotenóides agem transferindo a energia de excitação da clorofila triplet para outros estados de menor energia. Assim, quando os carotenóides não estão presentes, as clorofilas no estado triplet iniciam as reações de degradação, entre as quais ocorre a destruição das clorofilas e membranas pela peroxidação dos lipídios (FUERST; NORMAN, 1991; MONACO et al., 2002). Portanto, sem a presença dos carotenóides, as clorofilas não são capazes de se manterem funcionais e estáveis (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

2.4.2.2. Atuação dos herbicidas inibidores da síntese de carotenóides

O sintoma mais marcante em plantas tratadas com inibidores da síntese de carotenóides é a folha totalmente branca, todos os herbicidas deste grupo apresentam esta injúria, devido à despigmentação das folhas que é ocasionada pela fotodegradação da clorofila, decorrente do bloqueio da síntese de pigmentos carotenóides e ausência dos mesmos na proteção do aparato fotossintético (OLIVEIRA JUNIOR, 2011; MONACO et al., 2002).

Para os herbicidas isoxaflutole, mesotrione e tembotrione a síntese de carotenóides é inibida de forma similar. O sítio alvo das três moléculas é a enzima p-hidroxifenilpiruvato desidrogenase (HPPD), que é a responsável por catalizar a formação do ácido homogentisato, que é precursor chave de oito tococromanol diferentes (tocofenóis e tocotrienóis) e também da plastoquinona. A plastoquinona por sua vez, é um cofator essencial para fitoeno desaturase e sua atividade é necessária para a produção de carotenóides (DAYAN; ZACCARO, 2012).

Embora o mecanismo de ação do clomazone seja bastante questionado, quanto ao seu real sítio de atuação (VIDAL; MEROTTO JUNIOR, 2001; OLIVEIRA JUNIOR, 2011), o clomazone tem o alvo na enzima 1-desoxi-xilulose-5-fosfatase sintase (DOXP), enzima chave na fosfato metil-eritrol via isoprenoíde. Esta via é a responsável pela síntese de isoprenoídes plastídeos, como os carotenóides e fitol, e sua síntese dependente do ácido mevalônico dos terpenóides citosólicos e não é afetada por este herbicida (FERHATOGLU; BARRETT, 2006; DAYAN; ZACCARO, 2012).

2.5. Controle químico do complexo de *Digitaria* em cana-de-açúcar

A ocorrência de plantas daninhas denominadas de capim-colchão é comum nas áreas de produção de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. O manejo adotado frequentemente nestas áreas com predominância do complexo de Digitarias baseia-se na utilização de herbicidas de pré-emergência (com efeito residual adequado a cultura) e/ou pós-emergência inicial com recomendação agrônômica para as espécies de até então, maior predominância (*D. horizontalis*, *D. ciliaris* e *D. sanguinalis*), porém sem a distinção prévia das espécies deste gênero.

Dentre os herbicidas comumente presentes no manejo da cultura da cana-de-açúcar, os mais utilizados são aqueles cujo mecanismo de ação é a inibição no fotossistema II (FSII), como os que pertencem ao grupo químico das triazinas (ametryn, atrazine), das triazinonas (hexazinona, metribuzin), triazolinonas (amicarbazone) e uréias substituídas (diuron, tebuthiuron) (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011; BRASIL, 2003). Mas, também é frequente o uso de herbicidas que atuam em diversos outros mecanismos de ação, como por exemplo, os

inibidores da síntese de carotenóides (isoxaflutole e clomazone), inibidores da mitose (trifluralina), inibidores de ALS (imazapyr e imazapic) e inibidores da PROTOX (oxyfluorfen e sulfentrazone) (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011; BRASIL, 2003).

Lorenzi (2006) relata que as espécies de *D. horizontalis* e *D. ciliaris* são suscetíveis a ação de ametrina, clomazone, diuron, tebuthiuron, diuron+hexazinone, imazapic, imazapyr e isoxaflutole (LORENZI, 2006). Sendo confirmada a eficiência destes herbicidas no controle de *D. ciliaris*, por meio de ensaios em casa de vegetação e em campo (DIAS et al. 2003; 2005).

No entanto, Dias et al. (2003) relatam que as áreas de produção de cana-de-açúcar onde possuem a ocorrência de capim-colchão a espécie predominante é a *D. nuda*. A eficácia de controle de vários herbicidas foi estudada por Dias et al. (2005) concluindo que aqueles herbicidas que pertencem ao grupo químico das imidazolinonas (imazapyr e imazapic) e das uréias (diuron, tebuthiuron e diuron+hexazinona) não apresentam controle eficiente da espécie, e apenas os herbicidas do grupo químico das triazinas (ametryn), triazinonas (metribuzin e hexazinona) e isoxazolinonas (isoxaflutole) comportaram de forma eficiente.

Também tem sido observado falhas no controle de capim-colchão (*Digitaria* spp.) em áreas de produção de cana-de-açúcar nas usinas onde o controle vem sendo realizado há alguns anos, principalmente com os herbicidas do grupo químico das triazinas e uréias substituídas (DIAS et al., 2003; 2007). Esta dificuldade de controle nas áreas infestadas com o gênero de *Digitaria* ocorreu devido a substituição das espécies de alta suscetibilidade que antes eram predominante por outras espécies de maior tolerância, fato decorrente da pressão de seleção específica exercida pela aplicação repetitiva de herbicidas, principalmente os pertencentes ao grupo das triazinas e uréias substituídas, conforme Dias et al. (2003).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi direcionado à investigação da tolerância de diferentes espécies de capim colchão (*Digitaria* spp.) aos principais herbicidas usados na cultura da cana-de-açúcar quando aplicados em pré e pós-emergência. Os ensaios foram conduzidos no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia – Nupam, associado ao Departamento de Agricultura e Melhoramento Vegetal da FCA/Unesp – Botucatu, com os herbicidas: ametrina, hexazinona, amicarbazone, diuron, tebuthiuron, isoxaflutole e clomazone.

3.1. Obtenção e purificação de sementes, e classificação das espécies

As primeiras amostras de sementes das diferentes espécies de capim-colchão, foram obtidas em áreas de produção de cana-de-açúcar localizadas em Barra Bonita, SP e com predominância das espécies em estudo. Dessa forma, durante o mês de fevereiro de 2011 realizou-se a coleta individual de plantas com sementes suspeitas de serem as espécies *Digitaria ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*.

Para selecionar apenas as plantas de interesse, procedeu-se uma identificação taxonômica das plantas coletadas seguindo a chave analítica de identificação

proposta por Canto-Dorow (2001). Algumas dessas espécies são muito semelhantes entre si, o que torna necessário o uso de uma lupa de aumento para visualização das diferenças morfológicas da espiguetas, distinguindo-se assim as espécies semelhantes conforme a Tabela 1, como é o caso da *D. ciliaris*, *D. sanguinalis*, *D. nuda* e *D. horizontalis* (DIAS, 2004).

Com as plantas de interesse identificadas, suas sementes foram colhidas e cultivadas em vasos durante dois ciclos para obtenção de sementes puras de cada espécie e em quantidade para utilização nos ensaios subsequentes.

Tabela 1. Diferenças morfológicas da espiguetas de quatro espécies de *Digitaria*.

Características Morfológicas	Espécies			
	<i>D. ciliaris</i>	<i>D. sanguinalis</i>	<i>D. nuda</i>	<i>D. horizontalis</i>
Comprimento da espiguetas (mm)	2,2-3,2	2,5-3,2	2-2,4	2-2,2(2,7)
Gluma I	Sim	Sim	Não	Sim
Comprimento da gluma II (mm)	1,6-2,1	1,3-1,6	0,9-1,2	0,8-1,2
Indumento das espiguetas	Igual	Igual	Igual	Igual
Tricomas ultrapassando a espiguetas	Não	Não	Sim	Não
Tricomas nas ráquis	Não	Não	Sim/não	Não
Comprimento da lígula (mm)	1,5-3	0,5-1	0,6-2	1-2

Fonte: Dias (2004)

Para cada espécie foram confeccionadas exsicatas, depositadas posteriormente no acervo do Herbário Irina Delanova Gemtchujnicóv que é vinculado ao Departamento de Botânica do Instituto de Biociência da UNESP-Campus de Botucatu, sob o número de registro: BOTU 28.278 (*D. ciliaris*); BOTU 28.257 (*D. horizontalis*); e BOTU 28.258 (*D. nuda*) (Figura 1).

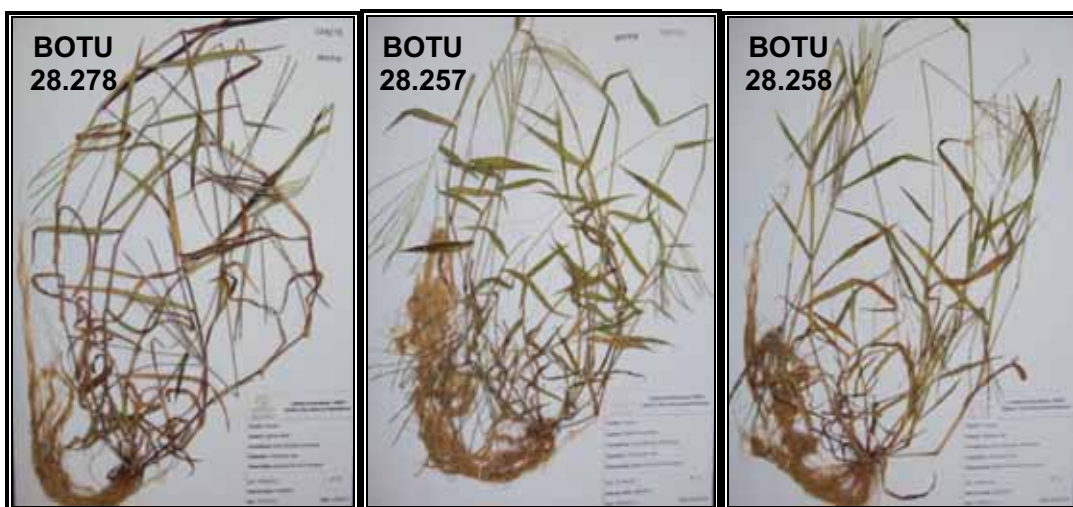


Figura 1. Fotos das exsicatas depositadas no Herbário Irina Delanova Gemtchujnicóv.

Botucatu, SP, 2012.

3.2. Eficácia de herbicidas inibidores do FS II em pré-emergência

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação, com temperatura média de 28°C e umidade relativa do ar de 70%, durante o período de fevereiro a abril de 2012. As unidades experimentais foram representadas por vasos com capacidade de 4 l (10x30x10cm) preenchidos com solo de textura média (Tabela 2). Para todos os vasos o solo utilizado foi corrigido com a adição de calcário, além de fertilizantes com Nitrogênio, Fósforo e Potássio em quantidades determinadas de acordo com a análise química de fertilidade do solo.

Tabela 2. Atributos físico-químicos do solo utilizado nos experimentos.

pH	M.O.	Presina	Al ³	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S
CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³	-----mmolc/dm ³ -----						mg/dm ³		
4	21	1	13	70	0,2	4	1	5	75	7	14
Areia Total			Argila			Silte			Textura do solo		
-----g/kg-----			-----g/kg-----			-----g/kg-----			-----g/kg-----		
654			305			41			Média		

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial considerando como variáveis três espécies de capim-colchão (*D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*) e sete diferentes tratamentos quanto ao controle das mesmas, sendo um tratamento testemunha e outros seis tratamentos com diferentes herbicidas. Foram utilizados os seguintes herbicidas e dosagem (g i.a ha⁻¹): ametrina (3000), hexazinona (300), amicarbazone (1050), diuron+hexazinona (1170+330), diuron (2400) e tebuthiuron (800).

As espécies foram semeadas nas unidades experimentais, utilizando-se 0,2 gramas de sementes, procedendo-se posteriormente a irrigação. No dia subsequente a aplicação dos herbicidas foi realizada com o auxílio do equipamento estacionário instalado em ambiente fechado, provido de uma barra de pulverização constituída por quatro pontas de pulverização XR 11002 VS, espaçadas entre si em 0,5 m e posicionadas a 0,5 m de altura em relação a superfície das unidades experimentais. O sistema foi operado com velocidade de deslocamento de 3,6 km h⁻¹, com volume de calda de 200 l ha⁻¹, pressão constante de 1,5 bar, pressurizado por ar comprimido.

Logo após a pulverização, as unidades experimentais receberam simulação de chuva com lâmina d'água proporcional a uma precipitação de 5 mm, sendo então transportados novamente para a casa de vegetação onde permaneceram por 30 dias, durante este período a irrigação foi efetuada conforme a necessidade, atentando-se para que não ocorresse irrigação em excesso que pudesse causar escoamento pelo fundo do vaso.

A eficácia dos tratamentos sobre as diferentes espécies de capim-colchão foi verificada por meio da avaliação da nota visual de controle realizada aos 30 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas, considerando-se zero para ausência de sintoma (controle) e 100 % para o controle total, representado pela morte da planta, quando comparado à testemunha sem aplicação de herbicidas (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 1995).

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de probabilidade, e a comparação das médias foi feita pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

3.3. Eficácia de herbicidas inibidores do FS II em pós-emergência

O estudo envolveu a avaliação da eficácia de controle de herbicidas inibidores do FS II quando aplicados em pós-emergência em diferentes espécies de capim-colchão. O mesmo foi desenvolvido em casa de vegetação, com temperatura média de 28°C e umidade relativa do ar de 70 %, durante o período de fevereiro a abril de 2012.

As unidades experimentais corresponderam a recipientes plásticos com capacidade de 300 mL, contendo uma mistura na proporção de 1:1 de solo (Tabela 2, devidamente corrigido conforme ensaio anterior) e substrato comercial para produção de mudas. Em cada unidade experimental, foram semeadas 20 sementes de cada uma das espécies de capim colchão, e duas semanas após a semeadura procedeu-se o desbaste do excesso de plantas emergidas, deixando apenas duas plantas por recipiente, conduzindo-as em casa de vegetação até apresentarem de 3 a 4 folhas e/ou início de perfilhamento.

O delineamento experimental adotado em cada experimento foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Dessa forma, para cada espécie (*D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*) utilizou-se doses crescentes de cada herbicida, representadas por 0, 12,5,

25, 50, 100, 200 e 400 % de sua dosagem recomendada para uso na cultura da cana-de-açúcar. Os herbicidas estudados e as dosagens de referência consideradas foram: ametrina (3000 g i.a ha⁻¹), hexazinona (300 g i.a ha⁻¹), amicarbazone (1050 g i.a ha⁻¹), diuron (2400 g i.a ha⁻¹) e tebuthiuron (800 g i.a ha⁻¹) sendo aplicados em pós-emergência nas três espécies de capim-colchão. Em todos os tratamentos a calda de aplicação recebeu a adição do surfactante Aterbane (mistura de um condensado de alcoolfenóis com óxido de eteno e sulfonatos orgânico – 46,6% m/v) na proporção de 0,2% v/v.

A pulverização dos herbicidas nas plantas foi realizada conforme descrito no ensaio de herbicidas inibidores do FSII em pré-emergência (Item 3.2). Após a pulverização, as unidades experimentais foram transportadas novamente para a casa de vegetação onde permaneceram por 21 dias. Durante este período a irrigação foi efetuada conforme a necessidade, porém cuidado especial foi tomado para que as folhas não fossem molhadas, e não houvesse a lavagem dos herbicidas depositados sobre as folhas.

Os efeitos dos tratamentos herbicidas sobre as diferentes espécies de capim-colchão foram avaliados monitorando-se a taxa de transferência de elétrons (ETR), notas visuais de intoxicação aos 21 DAA, e massa seca total da parte aérea de plantas coletadas também aos 21 DAA.

Taxa de transferência de elétrons (ETR): foi monitorada às 6 horas e aos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 15 e 21 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas, com o uso de um fluorômetro portátil Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer OS5p. Para a leitura da ETR utilizou-se o protocolo Yield que é otimizado para um estado de fotossíntese adaptado a luz, previamente ajustado com um PAR (Radiação Fotossinteticamente Ativa) de 500 Mols elétrons m⁻² s⁻¹, conforme descrito por Araldi et al. (2011). Nas avaliações de 6 horas, 1, 2 e 3 DAA, a mensuração foi realizada na parte mediana da terceira folha das plantas de capim-colchão (folhas bem expandidas e que receberam o produto durante a aplicação), após o 3 DAA as avaliações passaram a ser realizada na parte mediana de folhas superiores que não haviam recebido produto durante a aplicação, pois ainda não haviam sido desenvolvidas. Os valores da ETR foram expressos em porcentagem do valor médio da ETR da testemunha sem aplicação de herbicidas.

Nota visual de intoxicação: aos 21 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas, considerando-se zero para ausência de sintoma (controle) e 100 % para o controle total, representado pela morte da planta, quando comparado a testemunha sem aplicação de herbicidas (SBCPD, 1995).

Massa seca total da parte aérea aos 21 DAA: obtida pela pesagem das plantas das unidades experimentais (apenas os tecidos vivos da parte aérea foram considerados), após a coleta, por meio do corte rente ao solo das plantas e posterior secagem até massa constante em estufa de circulação de ar forçado com temperatura de 55°C. Os dados foram convertidos em porcentagem de redução em relação a dosagem zero (testemunha).

Para os dados de ETR, foram calculadas as médias dos tratamentos e determinados os intervalos de confiança pelo teste t a 10 % de probabilidade. Para determinar o intervalo de confiança, foi utilizado a seguinte expressão:

$$IC = \frac{(t \cdot desvpad)}{\sqrt{nr}}$$

Onde: IC = intervalo de confiança; t = valor de t tabelado, ao nível de 10 % de probabilidade; desvpad = desvio padrão; \sqrt{nr} = raiz quadrada do número de repetições.

Os dados de nota visual de intoxicação e massa seca, ambas aos 21DAA foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de probabilidade, e a comparação das médias foi feita pelo teste t a 10% de probabilidade.

3.4. Eficácia de herbicidas inibidores da síntese de carotenóides em pré-emergência

O estudo foi desenvolvido em casa de vegetação, com temperatura média de 28°C e umidade relativa do ar de 70%, durante o período de fevereiro a abril de 2012. As unidades experimentais foram representadas por vasos com capacidade de 2 l (10x10x10cm) preenchidos com solo de textura média (Tabela 2). Para todos os vasos o solo utilizado foi corrigido com a adição de calcário, além de fertilizantes com Nitrogênio, Fósforo e Potássio em quantidades determinadas de acordo com a análise química de fertilidade do solo.

O delineamento experimental adotado em cada experimento foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Dessa forma, para cada espécie (*D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*) utilizou-se doses crescentes de um herbicida, representadas por 0, 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 % de sua dosagem recomendada para uso na cultura da cana-de-açúcar. Os herbicidas estudados e as dosagens de referência (g i.a ha⁻¹) foram: isoxaflutole (112,5) e clomazone (1200), sendo aplicados em pré-emergência nas três espécies de capim-colchão.

As espécies foram semeadas nas unidades experimentais, utilizando-se 0,2 gramas de sementes, procedendo-se a irrigação posteriormente e no dia subsequente, a aplicação dos herbicidas foi realizada com auxílio do equipamento estacionário conforme descrito no ensaio Item 3.2. Após a pulverização, as unidades experimentais receberam simulação de chuva com lâmina d'água proporcional a uma precipitação de 5 mm, sendo então transportados novamente para a casa de vegetação onde permaneceram por 30 dias, durante este período a irrigação foi efetuada conforme a necessidade, atentando-se para que não ocorresse irrigação em excesso e então escoamento pelo fundo do vaso.

A eficácia dos tratamentos sobre as diferentes espécies de capim-colchão foi verificada por meio da avaliação da nota visual de controle realizada aos 30 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas, considerando-se zero para ausência de sintoma (controle) e 100 % para o controle total, representado pela morte da planta, quando comparado a testemunha sem aplicação de herbicidas (SBCPD, 1995).

Os dados, da avaliação visual de controle aos 30 DAA foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de probabilidade, e a comparação das médias foi feita pelo teste t a 10% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Eficácia de herbicidas inibidores do Fotossistema II (FSII) em pré-emergência

A eficácia dos herbicidas em pré-emergência para três espécies de capim-colchão (*D. ciliaris*, *D. horizontalis*, *D. nuda*) foi verificada através da nota visual de controle aos 14 e 30 dias após a aplicação (DAA), onde alguns herbicidas demonstram diferenças entre as espécies estudadas (Tabelas 3 e 4).

Os herbicidas inibidores do fotossistema II (diuron, tebuthiuron, amicarbazone, ametrina, hexazinona e diuron+hexazinona) são registrados para aplicação em pré e pós-emergência inicial no controle da espécie *Digitaria horizontalis*, no entanto, não existe recomendação destes herbicidas para outras espécies do gênero (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Assim, tanto aos 14 DAA, quanto aos 30 DAA, foi evidente a maior dificuldade em controle de *D. nuda* quando comparada as espécies *D. ciliaris* e *D. horizontalis* (Tabela 3 e 4).

Para os herbicidas ametrina, hexazinona, amicarbazone e também a mistura de diuron+hexazinona, independentemente da espécie de capim-colchão, foram eficazes no controle com níveis superiores a 95 % aos 14 e 30 DAA, confirmando assim a suscetibilidade das espécies *D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda* conforme encontrado por Dias et al. (2007); Dias et al. (2005); Christoffoleti et al. (2006), Lorenzi (2006), exceto para a mistura diuron+hexazinona que foi considerada de baixa eficácia no controle de *D. nuda* por Dias et al. (2007).

Por outro lado, baixa eficácia de controle da espécie *D. nuda* foi observado para os herbicidas diuron e tebuthiuron, enquanto que as espécies *D. ciliaris* e *D. horizontalis* foram controladas eficazmente. Controles correspondentes a 78 e 12,5 % foram obtidos para os herbicidas diuron e tebuthiuron aos 14 DAA, e 81 e 11% aos 30 DAA, respectivamente.

De forma geral, observou baixa eficácia de controle da espécie *D. nuda*, para os herbicidas pertencentes ao grupo químico das ureias (diuron e tebuthiuron), porém foram eficazes para o controle de *D. ciliaris* e *D. horizontalis*. Emquanto que para os demais herbicidas, ou seja, ametrina, hexazinona e amicarbazone, pertencente ao grupo das triazinas, triazinonas e triazolinonas, respectivamente, alta eficácia foram verificadas para todas as espécies.

Os herbicidas inibidores do FSII (amicarbazone, ametrina, hexazinona e diuron+hexazinona, diuron, tebuthiuron) são conhecidos por atuarem como análogos a plastoquinona, por se ligarem no sítio de ligação da plastoquinona na proteína D1 no FSII, ocasionando o bloqueio do transporte de elétrons, o que impede a produção de NADPH e ATP, conjuntamente ao bloqueio, uma série de reações são desencadeiadas promovendo a peroxidação dos lipídios das membranas celulares, o que leva a morte da planta (FUERST; NORMAN, 1991; PEREZ-JONES et al., 2009).

No entanto, a forma de ligação é variável entre os grupos químicos, que atuam se ligando ao sítio de ligação da plastoquinona. A classificação adotada atualmente foi proposta pela HRAC (*Herbicide Resistance Action Committee*) e dividem os herbicidas inibidores do FSII em três sub-grupos: sub-grupo C1 é composto pelos grupos das triazinas, triazinonas, triazolinonas, uracilas, piridazinonas e fenil-carbamatos; o sub-grupo C2 esta envolvido o grupo das uréias e amidas; e por fim o sub-grupo C3 com os grupos nitrilas, benzotiadiazinonas e fenil-piridazinas (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Resultados similares de eficiência dos herbicidas em *D. nuda* foram encontrados por Dias et al. (2007), Christoffoleti et al. (2006), onde ametrina e metribuzin foram eficientes e diuron e tebuthiuron obterão baixos índices de controle.

Quanto ao efeito da mistura diuron+hexazinona (Tabela 3 e 4), observa-se que foram eficazes no controle de *D. nuda*, controlando a espécie em pré-emergência. Porém, Dias et al.(2007), Dias et al. (2005), Dias (2004) mencionam que quando em mistura o controle de *D. nuda* não é garantido.

Tabela 3. Nota visual de controle aos 14 DAA após a aplicação de herbicidas em pré-emergência em *D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *Digitaria nuda*. Botucatu, SP, 2012.

Herbicidas	Dosagem (g i.a ha ⁻¹)	Espécies		
		<i>D. ciliaris</i>	<i>D. horizontalis</i>	<i>D. nuda</i>
ametrina	3000	98,5 aA	100,0 aA	98,0 aA
hexazinona	300	98,5 aA	95,0 aA	96,5 aA
amicarbazone	1050	98,2 aA	97,0 aA	98,0 aA
diuron+hexazinona	1170+330	99,2 aA	98,7 aA	98,7 aA
diuron	2400	99,2 aA	95,0 aA	78,7 bB
tebuthiuron	800	98,5 aA	99,2 aA	12,5 cB
F (E)			370,3**	
F (H)			219,4**	
F (E) x (H)			235,4**	
C.V (%)			2,8	
D.M.S (E) x (H)			5,4	

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste tukey (5%); ** significativo ao nível de 1% de probabilidade; C.V. (%) = coeficiente de variação; DAA = dias após a aplicação.

Tabela 4. Nota visual de controle aos 30 DAA após a aplicação de herbicidas em pré-emergência em *D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *Digitaria nuda*. Botucatu, SP, 2012.

Herbicidas	Dosagem (g i.a ha ⁻¹)	Espécies		
		<i>D. ciliaris</i>	<i>D. horizontalis</i>	<i>D. nuda</i>
Ametrina	3000	98,0 aA	98,0 aA	97,0 aA
Hexazinona	300	100,0 aA	100,0 aA	100,0 aA
Amicarbazone	1050	100,0 aA	100,0 aA	100,0 aA
diuron+hexazinona	1170+330	100,0 aA	100,0 aA	100,0 aA
Diuron	2400	100,0 aA	100,0 aA	81,5 bB
Tebuthiuron	800	100,0 aA	100,0 aA	11,2 cB
F (E)			896,9**	
F (H)			556,9**	
F (E) x (H)			572,9**	
C.V (%)			1,8	
D.M.S (E) x (H)			3,5	

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste tukey (5%); ** significativo ao nível de 1% de probabilidade; C.V. (%) = coeficiente de variação; DAA = dias após a aplicação.

A ineficácia de controle dos herbicidas do grupo das uréias em *D. nuda*, poder estar relacionada à ligação diferencial das uréias no sítio de ligação na proteína D1, quando comparado aos outros grupos químicos (DIAS et al., 2007, CHRISTOFFOLETI et al., 2006, DIAS et al., 2005). Além de outros mecanismos que podem estar envolvidos, como a baixa concentração dos herbicidas no sítio de ação, menor absorção e translocação do herbicida e maior metabolização e/ou detoxificação do herbicida em substâncias menos tóxicas (PRADO et al., 1990; SHERMAN et al., 1996).

Dessa forma, os herbicidas ametrina, hexazinona, amicarbazone e diuron+hexazinona foram eficazes para o controle de capim-colchão, independentemente das espécies de ocorrência. No entanto, os herbicidas que pertencem ao grupo das uréias (diuron e tebuthiuron) embora proporcionem eficiente controle de *D. ciliaris* e *D. horizontalis*, são ineficazes no controle das espécies *D. nuda*. Assim, o uso destes herbicidas nas áreas com ocorrência da espécie, deve ser evitado, pois *D. nuda* mostrou-se tolerante aos herbicidas do grupo das uréias.

4.2. Eficácia de herbicidas inibidores do FS II em pós-emergência

A interferência dos herbicidas foi acompanhada com o monitoramento da taxa de transferência de elétrons após a aplicação dos herbicidas inibidores do fotossistema II (FSII) (ametrina, hexazinona, amicarbazone, diuron e tebuthiuron) em três espécies de capim-colchão (*D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*), consideradas como mais problemáticas em áreas de cultivo.

Os herbicidas estudados são bastante utilizados nos sistemas de produção de cana-de-açúcar, com atuação devido a ligação da molécula herbicida ao sítio de ligação da plastoquinona no sítio de ligação da Q_B na proteína D1 do FSII na membrana do tilacóide dos cloroplastos. Como consequência desta ligação, ocorre o bloqueio a taxa de transferência de elétrons (ETR) do FSII, o que impede a produção de NADPH e ATP, e provoca conjuntamente uma série de reações que desencadeiam a peroxidação dos lipídios das membranas celulares,

provocando injúrias, e com a intensificação do processo a planta morre (FUERST; NORMAN, 1991; PEREZ-JONES et al., 2009).

A ETR foi monitorada até 21 dias após a aplicação (DAA) (Figuras 2, 3, 4, 5 e 6). Enquanto que a nota visual de intoxicação (Tabela 5) e massa seca total da parte aérea das plantas (Tabela 6 e Figura 7) foi realizada aos 21DAA para as três espécies de capim-colchão.

A suscetibilidade da *D. ciliaris* ao herbicida ametrina já foi relatada por Lorenzi (2006), Dias et al. (2005), Christoffoleti et al. (2006) e Souza (2011). A Figura 2 demonstra que a ametrina aplicada em pós-emergência foi absorvida via foliar e às seis horas após aplicação o fluxo de elétrons obteve uma redução superior a 85,0 %, possivelmente porque a molécula herbicida absorvida havia alcançado o sítio alvo, unindo-se a ele, e impedindo o fluxo de elétrons no fotossistema II (FSII). Este mesmo comportamento foi observado também para as folhas tratadas das plantas das espécies *D. horizontalis* e *D. nuda* pulverizadas com ametrina.

A partir do terceiro dia após a aplicação, os primeiros sintomas de fitointoxicação haviam sido iniciados nas folhas tratadas, tornando-as despigmentadas, amareladas e necróticas gradativamente. Com isso, o monitoramento da ETR passou a ser realizada na folha desenvolvida após a aplicação. De forma geral, para as três espécies, observou-se que as maiores dosagens provocaram a morte das plantas (valores da ETR reduzidos a zero). No entanto, para as dosagens menores (12,5 e 25,0 %), foram observados valores da ETR, que indicam que estas dosagens são insuficientes para promoverem a completa intoxicação da folha nova, enquanto que para as dosagens maiores a intoxicação da folha nova é maior.

O gradativo aumento da dosagem, além de ser demonstrado com as maiores reduções da ETR, também é observado pela intensificação da fitointoxicação das plantas (Tabela 5) e redução do crescimento detectado pelo decréscimo da porcentagem da massa seca total da parte aérea (Tabela 6 e Figura 7). Com indicação para uso em pré e pós-emergência na cultura da cana-de-açúcar, a ametrina, conforme esperado controlou eficientemente as três espécies de capim-colchão (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Assim como o ametrina, o hexazinona também é um herbicida indicado para a cultura da cana-de-açúcar no controle de diversas espécies de plantas daninhas, incluindo a *D. horizontalis* em pré ou pós-emergência (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). A Figura 3 demonstra que seis horas após a aplicação do hexazinona a folha tratada possui a ETR fortemente

reduzida. E em todas as espécies, independentemente da dosagem utilizada, com o comportamento bastante similar ao da ametrina (Figura 2). Porém os dados observados em folhas novas indicam a recuperação da ETR na planta, uma vez que valores próximos a 100% são observados e que as menores dosagens não foram suficientes para promover a intoxicação generalizada da planta. Os dados de fitointoxicação e a massa seca total da parte aérea apresentados na Tabela 6 e 7 e Figura 7, comprovam a eficácia de controle de hexazinona para as três espécies, assim como relatado por Dias et al. (2005) e Dias et al. (2007).

Juntamente com a ametrina e hexazinona, o amicarbazone está classificado no subgrupo C1, conforme a HRAC, considerando a similaridade da ligação desses herbicidas ao sítio de ligação Q_B (OLIVEIRA JUNIOR, 2011). A observação da ETR nas folhas tratadas com amicarbazone (Figura 4) nos períodos após a aplicação do herbicida revelou que diferentemente do comportamento observado para ametrina e hexazinona, o amicarbazone necessitou de um período maior para proporcionar as mesmas proporções de redução da ETR das folhas tratada nas espécies de *D. ciliaris* e *D. horizontalis*. E para a folha nova, a recuperação da ETR foi observada nas menores dosagens, com aumentos proporcionais ao acréscimo da dosagem, seguindo o mesmo padrão das Figuras 2 e 3.

Para a *D. nuda* os valores da ETR das folhas tratadas com amicarbazone não ocasionaram uma grande redução, como visto das Figuras 2 e 3. E para as folhas novas os valores da ETR permaneceram próximos a 100 %, indicando normalidade no fluxo de elétrons das plantas, ou seja, sem o efeito do herbicida nestas plantas, e os sintomas visuais de fotointoxicação não foram verificados (Tabela 5), exceto para a maior dosagem (400 % da dose de referência) que proporcionou uma redução do tamanho das plantas. Porém, não foi observado interferência no ciclo da planta, pois o florescimento ocorreu de forma generalizada para todas as plantas do ensaio a partir de 15 DAA. Os dados da Tabela 6 e Figura 7 também demonstram a baixa eficiência do amicarbazone no controle de *D. nuda* quando realizado em pós-emergência.

Dayan et al. (2009) comentam sobre evidências que o amicarbazone quando aplicado em *D. sanguinalis*, *Echinochloa crus-galli* e milho foi rapidamente absorvido pelas folhas e inibiu a fotossíntese de forma diferenciada para cada espécie. O mesmo autor ainda menciona que diferenças nas respostas entre espécies pode ser devido as diferenças na taxa de absorção e/ou metabolização, mas que permanecem para serem determinadas.

O comportamento de recuperação da ETR nas folhas desenvolvidas após a aplicação dos herbicidas, principalmente em menores dosagens, também foi observado por Araldi et al. (2011), constatando que as 192 horas após a aplicação de amicarbazone surgiu uma folha com valores da ETR elevados, muito próximo ao momento antes da aplicação do herbicida. Os autores justificam este fato, pela ausência do amicarbazone nas folhas novas da *D. horizontalis*.

Quanto a capacidade de recuperação que algumas espécies apresentam após a aplicação de herbicidas, Catunda et al. (2005) observaram uma queda na eficiência quântica do FSII de plantas de abacaxi aos cinco DAA, e com aumento da razão Fv/Fm a partir de 10 DAA, sugerindo que a aplicação de herbicida causa dano reversível ao aparato fotossintético, e que a planta pode conseguir se recuperar sem sintomas aparentes.

Nas tabelas 5 e 6 estão os valores médios da ETR em porcentagem da testemunha e estão comentados conjuntamente, devido a resposta similar das plantas estudadas. A redução da ETR das folhas tratadas evoluiu conjuntamente com o sintoma de intoxicação. Isto foi observado tanto para a aplicação de diuron, quanto para tebuthiuron nas duas espécies comumente referenciadas como suscetível (*D. ciliaris* e *D. horizontalis*) (DIAS et al.; 2003, DIAS et al., 2007; LORENZI, 2006).

Nas folhas novas de *D. ciliaris* e *D. horizontalis*, a redução da ETR foi observada, obedecendo à sequência que dosagens maiores, reduzem mais a ETR. O mesmo comportamento foi verificado também quanto a fitointoxicação indicando suscetibilidade das espécies *D. ciliaris* e *D. horizontalis* (Tabela 5 e 6, e Figura 7).

A *D. nuda* não é controlada pelos herbicidas diuron e tebuthiuron com aplicação em pós-emergência mesmo nas maiores dosagens. A ETR sofreu pequenas reduções iniciais nas folhas tratadas com os herbicidas, mas que posteriormente, foram recuperadas. Nas Tabelas 5 e 6, e Figura 7 também demonstram nenhuma ou pouca, fitointoxicação e redução de matéria seca. Assim, houve um indicativo de tolerância a estes herbicidas que pertencem ao grupo das uréias, em aplicação em pós-emergência, concordando com os relatos de produtores, e dos trabalhos desenvolvidos por Dias et al. (2003), Dias (2004), Dias et al. (2005), Christoffoleti et al. (2006), Dias et al. (2007).

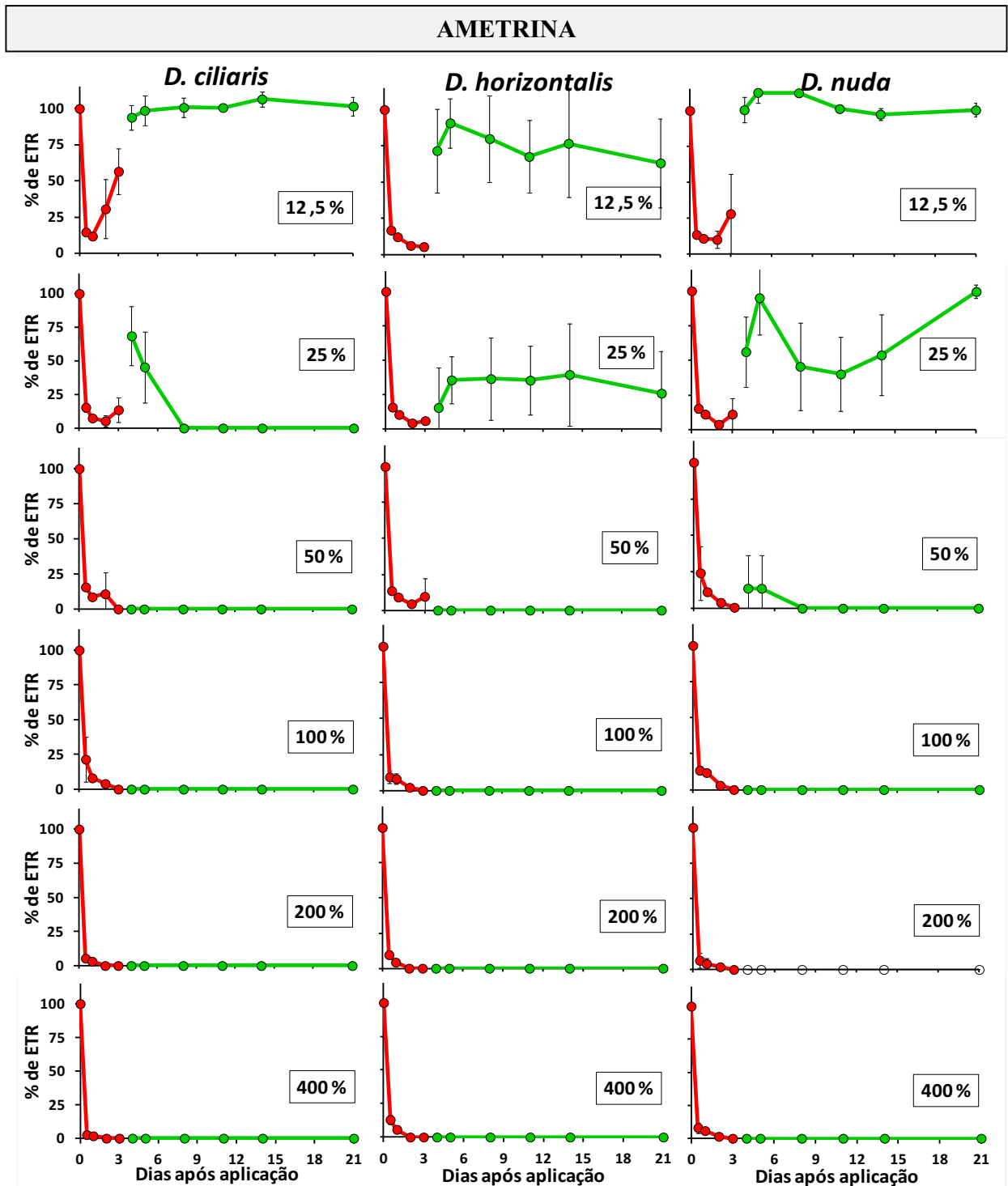


Figura 2. Médias da ETR de folhas tratadas (●) e folhas novas (●) em relação aos dias após aplicação de 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 % da dosagem de 3000 g i.a ha⁻¹ de ametrina nas espécies de *Digitaria ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*. Botucatu, SP, 2012.

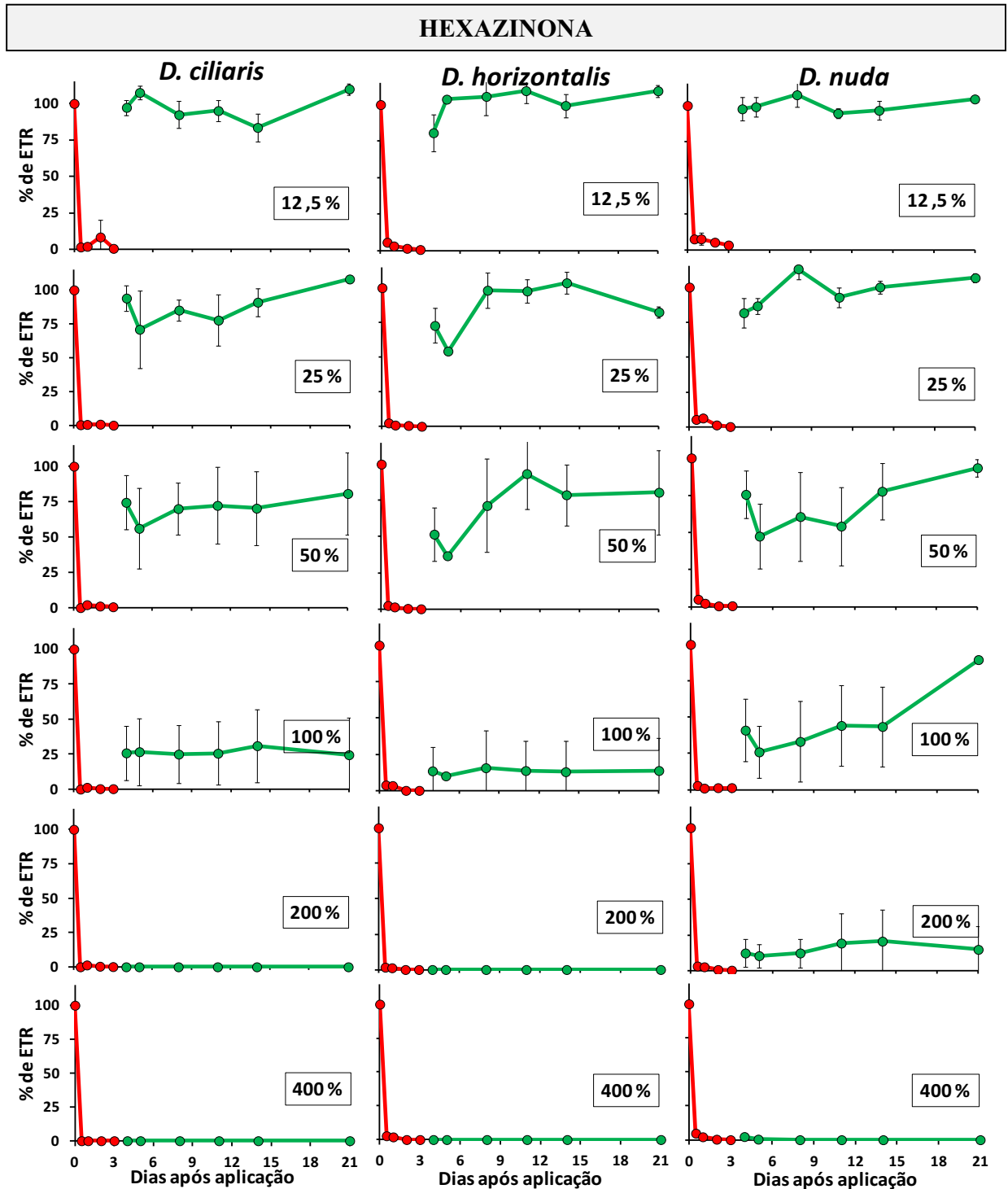


Figura 3. Médias da ETR de folhas tratadas (●) e folhas novas (●) em relação aos dias após aplicação de 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 % da dosagem de 300 g i.a ha⁻¹ de hexazinona nas espécies de *Digitaria ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*. Botucatu, SP, 2012.

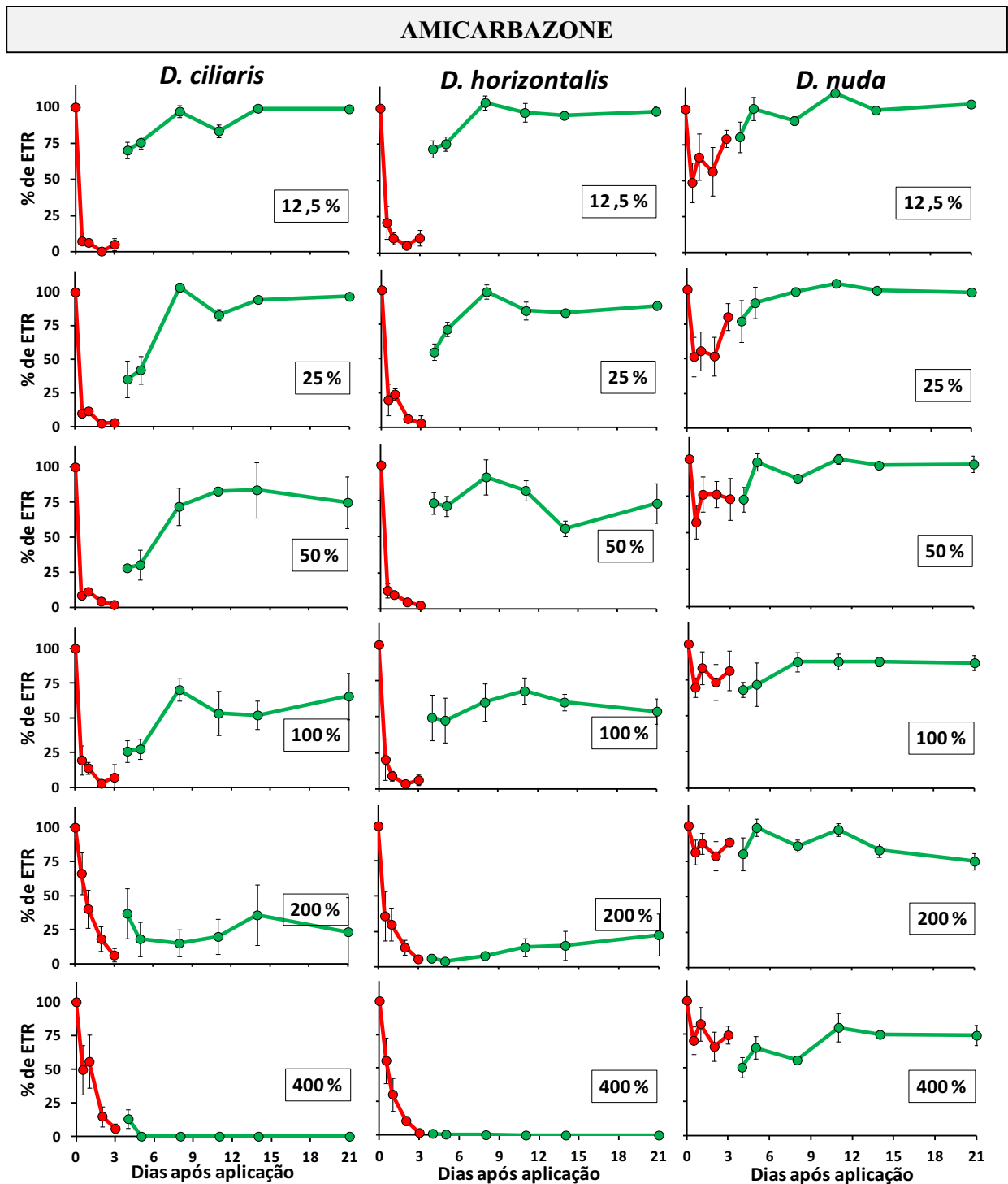


Figura 4. Médias da ETR de folhas tratadas (●) e folhas novas (●) em relação aos dias após aplicação de 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 % da dosagem de 1050 g i.a ha⁻¹ de amicarbazone nas espécies de *Digitaria ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*. Botucatu, SP, 2012.

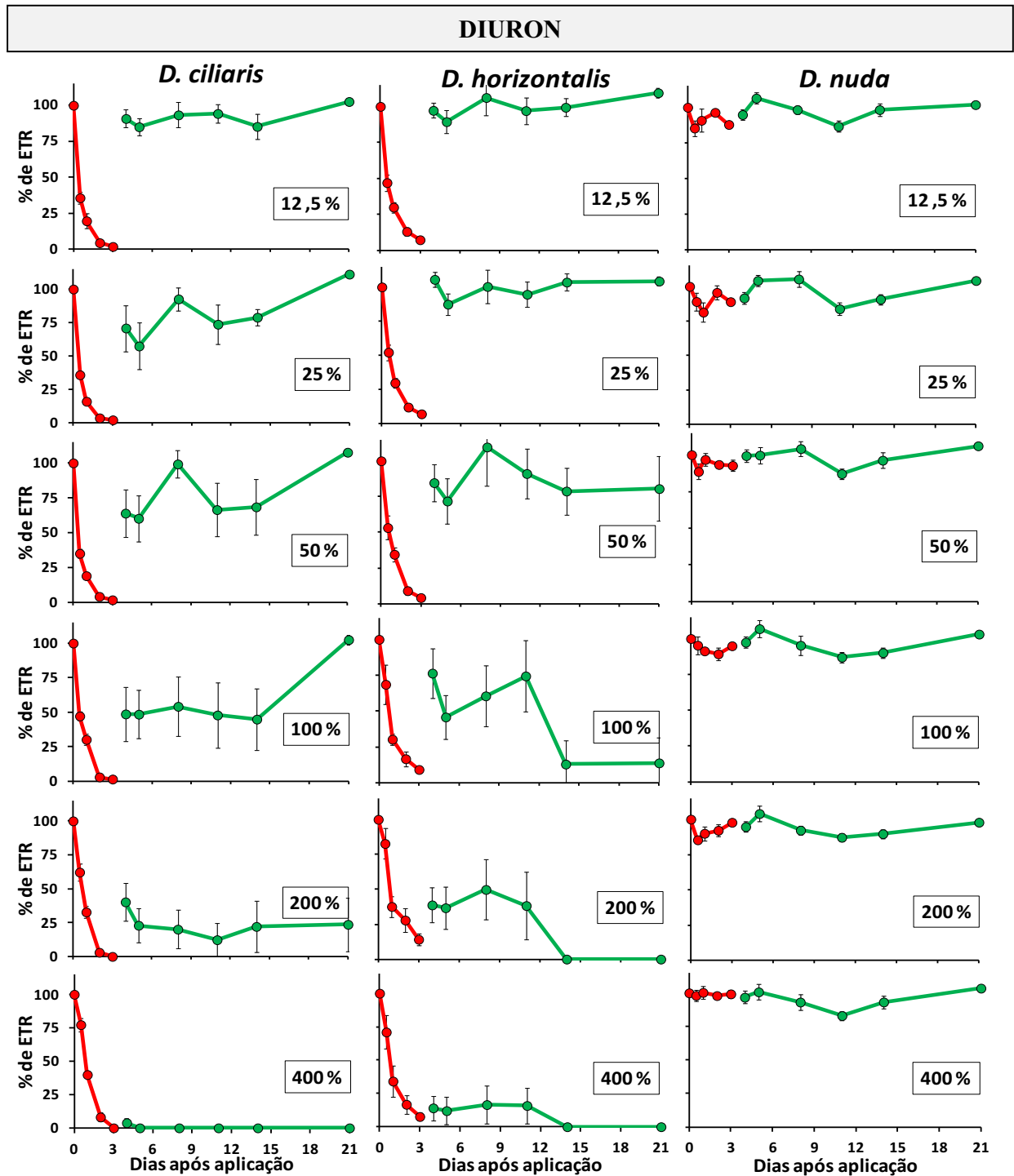


Figura 5. Médias da ETR de folhas tratadas (●) e folhas novas (●) em relação aos dias após aplicação de 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 % da dosagem de 2400 g i.a ha⁻¹ de diuron nas espécies de *Digitaria ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*. Botucatu, SP, 2012.

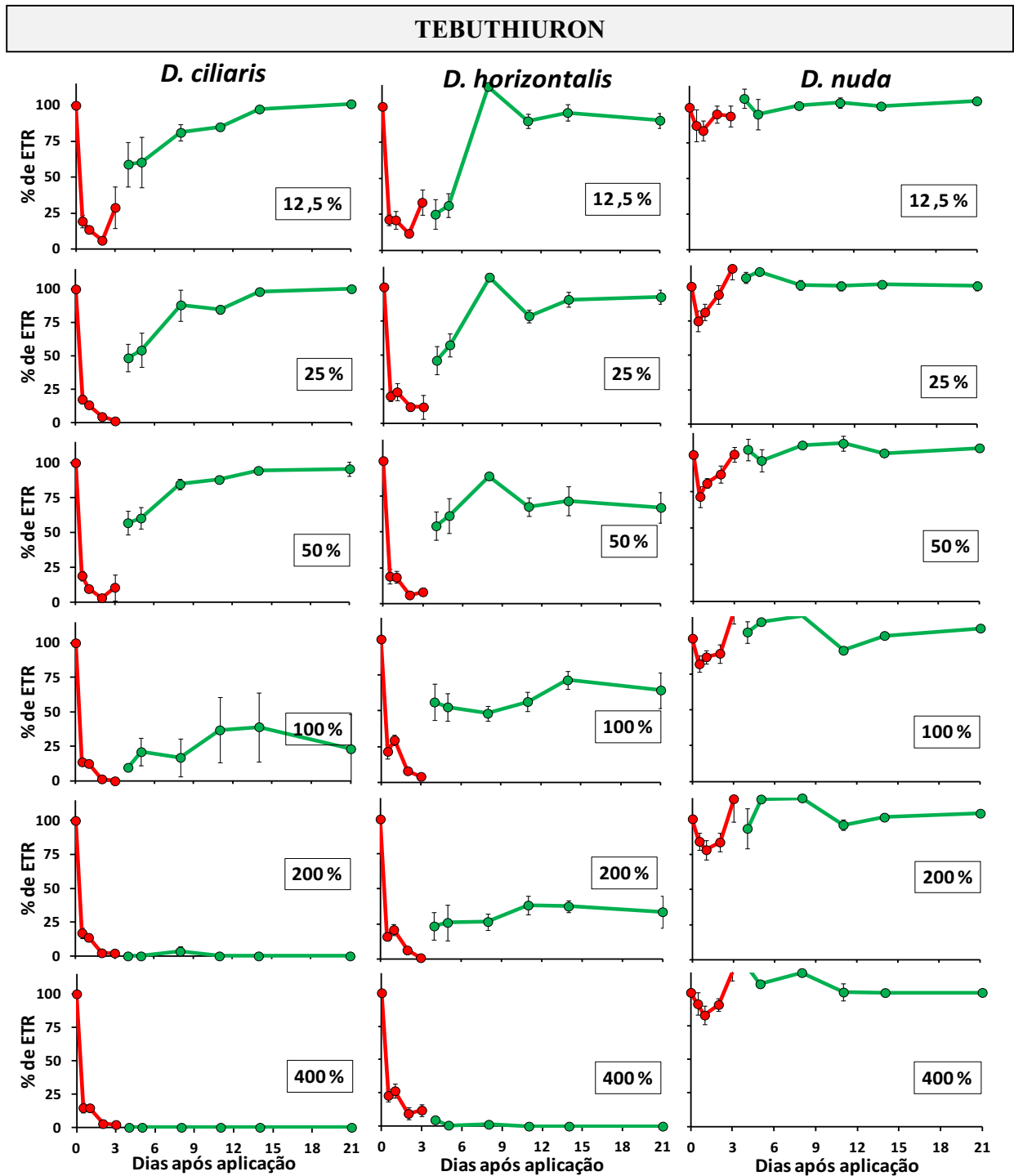


Figura 6. Média da ETR de folhas tratadas (●) e folhas novas (●) em relação aos dias após aplicação de 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 % da dosagem de 800 g i.a ha⁻¹ de tebuthiuron nas espécies de *Digitaria ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*. Botucatu, SP, 2012.

Tabela 5. Médias de nota visual de intoxicação de *Digitaria ciliaris*, *D. horizontalis* e *D.nuda* aos 21 DAA após a aplicação dos herbicidas (g i.a ha⁻¹): ametrina (3000), hexazinona (300), amicarbazone (1050), diuron (2400) e tebuthiuron (800) em pós-emergência. Botucatu, SP, 2012.

<i>Digitaria ciliaris</i>					
Dosagem	ametrina	hexazinona	amicarbazone	diuron	tebuthiuron
12,5	15,0	11,2	27,5	11,2	12,5
25	99,2	23,7	32,5	16,2	32,5
50	100,0	43,7	51,2	20,0	41,2
100	100,0	87,5	67,5	65,0	97,5
200	100,0	100,0	71,2	91,2	100,0
400	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Ftrat	1637,9**	110,3**	26,8**	226,5**	1209,8**
CV (%)	2,0	12,4	17,9	10,48	3,57
D.M.S.	1,1	4,8	6,6	3,4	1,4
<i>Digitaria horizontalis</i>					
Dosagem	ametrina	hexazinona	amicarbazone	diuron	tebuthiuron
12,5	32,5	0,0	5,0	0,0	8,7
25	97,5	11,2	11,2	12,5	11,2
50	100,0	23,7	17,5	16,2	17,5
100	100,0	97,5	38,7	19,7	55,0
200	100,0	100,0	81,2	36,2	82,5
400	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Ftrat	539,4**	1506,6**	73,6**	534,9**	810,2**
CV (%)	2,6	4,5	21,8	10,1	6
D.M.S.	1,5	1,6	5,9	1,9	1,7
<i>Digitaria nuda</i>					
Dosagem	ametrina	hexazinona	amicarbazone	diuron	tebuthiuron
12,5	16,2	10,0	0,0	0,0	0,0
25	87,5	17,5	0,0	0,0	0,0
50	100,0	42,5	0,0	0,0	0,0
100	100,0	70,0	0,0	0,0	0,0
200	100,0	91,2	0,0	0,0	0,0
400	100,0	100,0	62,5	10,0	5,0
Ftrat	864,2**	219,6**	1875,0**	1.0E+0009	1.0E+0009
CV (%)	2,7	9,2	11,3	0	0
D.M.S.	1,4	3,2	0,7	-	-

** = significativo a 1 % de probabilidade; ns = não significativo; C.V. (%) = coeficiente de variação; D.M.S. = diferença mínima significativa para teste t (10% de probabilidade).

Tabela 6. Porcentagem média de massa seca de *D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda* coletadas aos 21 DAA após a aplicação dos herbicidas (g i.a ha⁻¹): ametrina (3000), hexazinona (300), amicarbazone (1050), diuron (2400) e tebuthiuron (800) em pós-emergência. Botucatu, SP,

<i>Digitaria ciliaris</i>					
Dosagem (%)	ametrina	hexazinona	amicarbazone	diuron	tebuthiuron
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
12,5	46,4	46,9	51,2	62,5	64,9
25	0,0	30,3	41,9	24,5	52,3
50	0,0	18,5	27,6	22,4	30,6
100	0,0	7,1	14,5	22,5	2,5
200	0,0	0,0	4,7	1,4	0,0
400	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ftrat	582,2**	123,5**	81**	349,9**	251,9**
CV (%)	15,4	22,1	22,3	11,5	13,5
D.M.S.	2,0	4,1	4,9	2,4	3,1
<i>Digitaria horizontalis</i>					
Dosagem (%)	ametrina	hexazinona	amicarbazone	diuron	tebuthiuron
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
12,5	16,1	56,8	69,2	82,8	66,6
25	1,07	39,5	51,1	53,2	52,2
50	0,0	20,3	24,5	42,8	18,0
100	0,0	2,4	24,9	27,5	19,8
200	0,0	0,0	8,4	21,8	3,3
400	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ftrat	5730,5**	62,6**	91,8**	25,2**	166**
CV (%)	5,8	30,1	18,7	29,7	15,3
D.M.S.	0,6	6,0	4,7	8,93	3,67
<i>Digitaria nuda</i>					
Dosagem (%)	ametrina	hexazinona	amicarbazone	diuron	tebuthiuron
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
12,5	53,6	44,2	80,6	92,2	63,9
25	3,7	37,2	81,9	89,9	69,1
50	0,0	10,6	77,3	90,9	73,5
100	0,0	6,8	78,4	87,5	76,6
200	0,0	1,7	68,5	84,3	81,6
400	0,0	0,0	21,0	82,8	92,5
Ftrat	100,1**	83,8**	5,5**	0,9 ^{ns}	2,5**
CV (%)	35,1	27,4	28,8	13,3	20,3
D.M.S.	5,1	5,0	13,4	7,6	10,4

** = significativo a 1 % de probabilidade; ^{ns} = não significativo; C.V. (%) = coeficiente de variação; D.M.S. = diferença mínima significativa para teste t (10% de probabilidade).

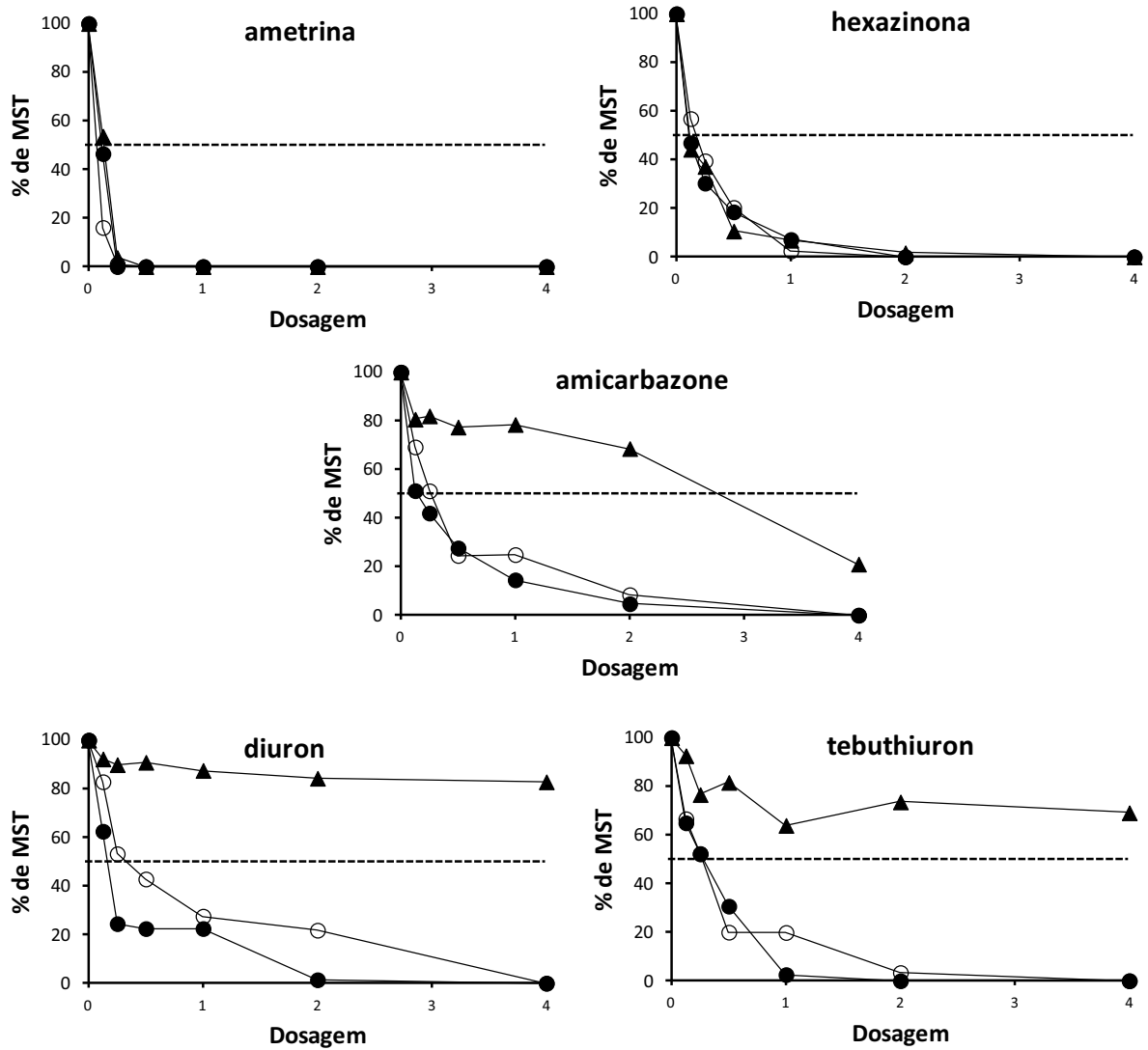


Figura 7. Médias da porcentagem de massa seca da parte aérea de plantas das espécies: *D. ciliaris* (●), *D. horizontalis* (○) e *D. nuda* (Δ) após a aplicação de diferentes dosagens dos herbicidas ametrina, hexazinona, amicarbazone, diuron e tebuthiuron. Botucatu, SP, 2012.

Diante desta constatação, percebe-se que após a aplicação, o tebuthiuron é absorvido e provoca uma redução da ETR variável, de 10 a 30 %, mas posteriormente é reestabelecida nas folhas de *D. nuda* tratadas.

Conforme já comentado, são quatro os mecanismos básicos que conferem tolerância de plantas daninhas a herbicidas, sendo, devido à baixa concentração do herbicida no local de ação, menor absorção e/ou translocação do herbicida, maior metabolização e/ou detoxificação do herbicida a substâncias menos tóxicas, além da perda de afinidade do herbicida pelo sítio de ação específico (PRADO et al., 1990; SHERMAN et al., 1996).

Plantas daninhas resistentes e/ou tolerantes devido à perda da afinidade do herbicida ao sítio de ação é decorrente a uma mutação que ocorre no sítio de ligação Q_B, é de ocorrência natural, porém com frequência muito baixa e variáveis nas populações de plantas daninhas (WARWICK, 1991). Estudos desta natureza são bem conhecidos para os herbicidas triazinas, uma mutação no gene codificante da proteína D1 (*psbA*), que resulta a substituição de uma serina na posição 264, por uma glicina (Ser²⁶⁴Gly), conferindo em elevadas taxas de resistências ao herbicida em plantas daninhas onde ocorre essa mutação. Outras mutações no gene *psbA* foram relatadas, por conferir resistência cruzada à algumas plantas daninhas.

A ocorrência da mutação Ser²⁶⁴Thr no gene codificante da proteína D1 confere resistência ao grupo químico das uréias e triazinas, e as mutações Val²¹⁹Ile e Phe²⁵⁵Ile ao grupo das triazinonas e ureias (BECKIE; TARDIF, 2012; MASABNI; ZANDSTRA, 1999; MENGISTU et al., 2005; MENGISTU et al., 2000; PARK; MALLORY-SMITH, 2006). Em virtude dessas mutações, alguns herbicidas não conseguem se ligar ao sítio de ligação Q_B da proteína D1 que sofreu à alteração, e resultou na perda da afinidade do sítio de ligação ao herbicida, e por consequência o efeito herbicida da molécula.

No entanto, a plastoquinona ainda continua se ligando, e com isso o transporte de elétrons não é interrompido, embora tenha alcançado a região do sítio alvo. Dessa forma, este mecanismo provavelmente não esteja relacionado a tolerância da *D. nuda* aos herbicidas do grupo das uréias (diuron e tebuthiuron), visto que foi encontrado níveis satisfatórios de controle é com o uso de herbicidas triazinonas, cuja a resistência cruzada foi relatada (BECKIE; TARDIF, 2012; MENGISTU et al., 2005; MENGISTU et al., 2000; PARK; MALLORY-SMITH, 2006).

Relatos que apenas dois mecanismos de tem sido observados em plantas daninhas resistentes e/ou tolerantes ao grupo químico das uréias, sendo eles: redução da absorção e/ ou translocação e metabolismo do herbicida (destoxificação) (MENENDEZ; PRADO, 1997). Prado et al. (1990), verificaram que o mecanismo responsável pela resistência dos biótipos de *Lolium rigidum* foi a metabolização do chlorotoluron via alquil oxidação, com envolvimento possível da enzima citocromo P₄₅₀ mono-oxigenase.

A absorção e translocação de diuron e imazapyr foi estudada por Dias et al. (2003) utilizando ¹⁴C-diuron em aplicação foliar e medindo-se a radioatividade em diferentes partes das plantas. Os autores observaram que a radioatividade não foi distribuída por toda a planta, e se concentrou na folha tratada, (menos de 1% da radioatividade foi translocada da parte aérea para a raiz). No entanto, a redução da concentração do diuron no local de ação não foi responsável pela tolerância de *D. nuda*, pois não houve diferenças na absorção e retenção do herbicida entre esta espécie e *D. ciliaris* (DIAS et al., 2003).

A baixa translocação do diuron à partir da folha tratada é esperada, pois este herbicida pertence ao grupo químico das uréias substituídas, que apresentam translocação apoplástica através do xilema; assim sua translocação é preferencialmente via raiz-parte aérea (VENCILL, 2002; DIAS et al., 2003). Dessa forma, Souza (2011) demonstrou que tanto a absorção, quanto a translocação diferencial não está relacionada com a maior tolerância apresentada por *D. nuda* em aplicação de ¹⁴C-diuron via solo, quando comparada a *D. ciliaris*. E em plantas de *Lolium rigidum* resistentes a chlorotoluron (grupo das uréias) a translocação também não conferiu resistência a estas plantas (PRADO et al., 1997).

A metabolização é um processo importante das plantas daninhas a herbicidas, sendo caracterizada pela capacidade que alguns biótipos ou espécies têm de degradar o herbicida em componentes menos tóxicos, antes que o produto alcance o seu sítio de ação. O aumento do metabolismo de fluazifop-p-butyl foi atribuído à resistência de *D. sanguinalis* a este herbicida (HIDAYAT; PRESTON, 1997). As principais transformações que as uréias sofrem são a N-desalquilação, N-desmetilação e alqui oxidação, sendo muitas dessas reações verificadas pela atividade das enzimas da família da P₄₅₀ mono-oxigenase (PRADO et al., 1997; SIMINSZKY et al., 1999).

Diante dessas evidências, a tolerância a aplicação de diuron em relação a expressão diferencial do gene da família P₄₅₀ CYP81A6 foi estudada por Souza (2011),

encontrando envolvimento do citocromo P₄₅₀ monooxigenase no processo de metabolização de diuron em plantas de capim-colchão, e que a maior tolerância de *D. nuda* é devido a maior expressão do gene CYP81A6. Souza (2011) também observou que a expressão e atividade da glutationa-s-transferase (GST) parece não relacionar com a tolerância desta espécie.

Porém, se discute a necessidade de estudos envolvendo as enzimas glicosiltransferases, que atuam na conjugação de moléculas de açúcares com xenobióticos para a elucidação do metabolismo de diuron em plantas *D. nuda*. Além da identificação de outros genes de P₄₅₀ que possam também estar envolvidos com o processo de metabolização de herbicidas (SOUZA, 2011).

4.3. Eficácia de herbicidas inibidores da síntese de carotenóides em pré-emergência

A espécie *D. ciliaris* mostrou-se mais sensível ao efeito do isoxaflutole que as espécies *D. horizontalis* e *D. nuda*, com 25% da dosagem utilizada como referência (112,5 g i.a ha⁻¹) (Tabela 7), controle visual superior a 94,0% foi observado em *D. ciliaris*, enquanto que para as espécies *D. horizontalis* e *D. nuda* foi necessário à dosagem de 50% para controles acima de 98,0%. O clomazone também apresentou eficiência de controle para as espécies de capim-colchão, 12,5% da dosagem de referência (1200 g i.a ha⁻¹) proporcionou controle de 85,0; 92,0 e 95,0% respectivamente para as espécies *D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*. As demais dosagens proporcionaram controles superiores a 98,0% (Tabela 7).

Estes dois herbicidas (isoxaflutole e o clomazone), são recomendados não apenas para a cultura da cana-de-açúcar, mas também para o algodão e outras culturas em aplicações em pré-emergência para o controle de *Brachiaria plantaginea*, *Panicum maximum*, *D. horizontalis*, dentre outras (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). São herbicidas que nas plantas suscetíveis provocam sintomas comuns mesmo apresentando sítios diferenciados de ação, mas são classificados como herbicidas inibidores da síntese de carotenóides (OLIVEIRA JUNIOR, 2011).

Estratégias integradas envolvendo métodos culturais, físicos, mecânicos e químico são necessárias para o manejo de plantas daninhas nas culturas (MONQUEIRO et al., 2000). Neste contexto, o uso de herbicidas alternativos que apresentam controle satisfatório sobre

o biótipo resistente e/ou tolerante é interessante, pelo menos em curto prazo, no estabelecimento de manejo das áreas de produção (GRESSEL; SEGEL; 1990).

Assim, em relação à utilização de herbicidas inibidores de carotenóides nos últimos anos em áreas de produção de cana-de-açúcar, tem ocorrido um expressivo aumento, da ordem de 8,0% no período de 2004 a 2009 (FRANCONERE, 2010). Este aumento, possivelmente está relacionado a alterações das estratégias de manejo que a cultura vem sofrendo nos últimos anos, a fim de se adequar à necessidade de cada área, período ou manejo adotado.

Tabela 7. Médias de nota visual de controle realizada 30 dias após aplicação em pré-emergência dos herbicidas isoxaflutole e clomazone utilizando dosagens de referência de 112,5 g i.a ha⁻¹ e 1200 g i.a ha⁻¹, respectivamente para *D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*. Botucatu, SP, 2012.

Herbicida	Dosagem			
	(%)	<i>D. ciliaris</i>	<i>D. horizontalis</i>	<i>D. nuda</i>
Isoxaflutole	12,5	32,5	22,5	47,5
	25	94,5	80,0	63,7
	50	99,0	98,5	98,5
	100	100,0	100,0	100,0
	200	100,0	100,0	100,0
	400	100,0	100,0	100,0
Ftrat		853,5**	2644,6**	86,1**
CV		2,1	1,4	1,8
D.M.S.		1,2	0,7	3,3
Herbicida	Dosagem			
	(%)	<i>D. ciliaris</i>	<i>D. horizontalis</i>	<i>D. nuda</i>
Clomazone	12,5	85,0	92,0	95,0
	25	99,5	98,2	98,7
	50	100,0	100,0	100,0
	100	100,0	100,0	100,0
	200	100,0	100,0	100,0
	400	100,0	100,0	100,0
Ftrat		889,0**	39,3**	105,0**
CV		0,4	1,0	0,3
D.M.S.		0,2	0,6	0,2

^{ns}= não significativo; C.V. = coeficiente de variação; D.M.S. (10%)= diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas.

5. CONCLUSÃO

Nas condições em que foram conduzidos os experimentos pode-se concluir que:

- Quando aplicados em pré-emergência os herbicidas ametrina, hexazinona, amicarbazone e diuron+hexazinone foram eficazes no controle das três espécies de capim-colchão (*D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*). O diuron e tebuthiuron foram eficazes apenas para as espécies *D. ciliaris* e *D. horizontalis*, não controlando eficientemente a *D. nuda*;
- Quando aplicados em pós-emergência verificou-se que o herbicida ametrina e hexazinona foram eficazes para o controle de *D. ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*.
- Quando aplicado em pós-emergência amicarbazone, diuron e tebuthiuron promoveram o controle de *D. ciliaris* e *D. horizontalis*, porém houve necessidade de doses superiores às casualmente utilizadas comercialmente para reduzir a ETR, a matéria seca e induzir níveis elevados de intoxicação visualmente detectáveis. E não se mostram eficazes para o controle de *D. nuda*.
- Os herbicidas isoxaflutole e clomazone foram eficazes no controle de *Digitaria ciliaris*, *D. horizontalis* e *D. nuda*, constituindo ferramentas fundamentais no manejo destas espécies em cana-de-açúcar.

6. REFERÊNCIAS

ABBASPOOR, M.; TEICHER H. B.; STREIBIG, J. C. The effect of root-absorbed PSII inhibitors on Kautsky curve parameters in sugar beet. **Weed Research**, Oxford, v. 46, p. 226-235, Jun. 2006.

ARALDI, R. et al. Efeitos na taxa de transporte de electrons de plantas daninhas após aplicação de amicarbazone. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 29, n. 3, p. 647-653, jul./set. 2011.

AZANIA, C. A. M.; ROLIM, J. C.; AZANIA, A. A. P. M. Cana-de-açúcar. In: DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico, 2008. p. 465-490.

BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 89-113, 2008.

BARBAGALLO, R. P. et al. Rapid, noninvasive screening for perturbations of metabolism and plant growth using chlorophyll fluorescence imaging. **Plant Physiology**, Rockville, v. 132, p. 485-493, Jun. 2003.

BARBER, J. Photosystem two. **Biochimimica Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1365, p. 269-277, Jun. 1998.

BECKIE, H. J.; TARDIF, F. J. Herbicide cross resistance in weeds. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 35, p. 14-28, May 2012.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; ÖQUIST, G. O. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL, D. O. et al. **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 193-206.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **AGROFIT**, Brasília, DF, 2003. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 24 ago. 2012.

CANA. **Agriannual 2012**: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria, 2011. p. 230-246.

CANTO-DOROW, T. S. *Digitaria* Heister ex Heller. In: LAPA-WANDERLEY, M. G. et al. (Coord.). **Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP; HUCITEC, 2001. p. 143-149.

CANTO-DOROW, T. S.; LONGHI-WAGNER, H. M. Novidades taxonômicas em *Digitaria* Haller (Poaceae) e novas citações para o genero no Brasil. **INSULA**, Florianópolis, v. 30, p. 21-34, 2001.

CARVALHO, S. J. P. et al. Curvas de dose-resposta para avaliação do controle de fluxos de emergência de plantas daninhas pelo herbicida imazapic. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 23, n. 3, p. 535-542, jul./set. 2005.

CATUNDA, M. G. et al. Efeitos de herbicidas na atividade fotossintética e no crescimento de abacaxi (*Ananas comosus*). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 23, n. 1, p. 115-121, 2005.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Levantamentos de safra: 2º** levantamento de cana-de-açúcar. Brasília, DF, 2012. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=2>. Acesso em: 09 fev. 2012.

CONSTANTIN, J. Métodos de manejo. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 103-122.

CONSTANTIN, J. **Efeitos de diferentes períodos de controle e convivência da *Brachiaria decumbens* Stapf. com a cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 1993. 98 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1993.

CRISTOFFOLETI, P. J. et al. Controle de plantas daninhas do genero *Digitaria* através do uso do herbicida mesotrione, em pós-emergência, na cultura da cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., 2006, Brasília, DF. **Resumos Expandidos...** Brasília, DF: SBCPD, 2006. 1 CD-ROM.

DAYAN, F. E.; TRINDADE, M. L. B.; VELINI, E. D. Amicarbazone, a new photosystem II inhibitor. **Weed Science**, Champaign, v. 57, p. 579-583, Nov./Dec. 2009.

DAYAN, F. E.; ZACCARO, M. L. M. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 102, p. 189-197, Mar. 2012.

- DIAS, A. C. R. et al. Problemática da ocorrência de diferentes espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp.) na cultura da cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 2, p. 489-499, jul./set. 2007.
- DIAS, N. M. P. et al. Absorção e translocação do herbicida diuron por espécies suscetível e tolerante de capim-colchão (*Digitaria* spp.). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 21, n. 2, p. 293-300, maio/ago. 2003.
- DIAS, N. M. P. **Tolerância de espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp.) a herbicidas na cultura de cana-de-açúcar**. 2004. 104 f. Tese (Doutorado em Ciências)-Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- DIAS, N. M.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; TORNISIELO, V. L. Identificação taxonômica de espécies de capim-colchão infestantes da cultura da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo e eficácia de herbicidas no controle de *Digitaria nuda*. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 389-396, 2005.
- DUARTE, A. P. I.; SILVA, A. C.; DEUBER, R. Plantas infestantes em lavouras de milho safrinha, sob diferentes manejos, no Médio Paranapanema. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 2, p. 281-291, 2007.
- FERHATOGLU, Y.; BARRETT, M. Studies of clomazone mode of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 85, n. 1, p. 7-14, May 2006.
- FIALHO, C. M. T. et al. Fitossociologia da comunidade de plantas daninhas na cultura da soja transgênica sob dois sistemas de prepare do solo. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 12, n. 1, p. 009-017, jan./fev. 2011.
- FRANCONERE, R. **Mercado de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar**. 2010. 54 f. Dissertação (Mestrado em Agroenergia)-Escola de Economia de São Paulo, Fundação Getúlio Vargas, São Paulo, 2010.
- FUERST, E. P.; NORMAN, M. A. Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. **Weed Science**, Champaign, v. 39, n. 3, p. 458-464, Jul./Sep. 1991.
- GRESSEL, J.; SEGEL, L. A. Modeleing the effectiveness of herbicide rotation and mixture strategies to delay or preclude resistance. **Weed Technology**, Lawrence, v. 4, p. 186-198, Jan./Mar. 1990.
- HAVAUX, M.; NIYOGI, K. K. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, DC, v. 96, p. 8762-8767, Jul. 1999.
- HESS, F. D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, Champaign, v. 48 n. 2, p.160-170, Mar./Apr. 2000.

- HIDAYAT, I.; PRESTON, C. Enhanced metabolism of fluazifop acid in a biotype of *Digitaria sanguinalis* resistant to the herbicide fluazifop-p-butyl. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 57, n. 2, p. 137-146, 1997.
- JONES, R. The ecotoxicological effects of photosystem II herbicides on corals. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 51, p. 495-506, Jul. 2005.
- KARUKSTIS, K. K. et al. Chlorophyll fluorescence characterization of the action of photosystem II electron transport inhibitors. **Journal of Luminescence**, Amsterdam, v. 51, n. 1-3, p. 119-128, Feb. 1992.
- KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas: plantas inferiores e monocotiledôneas**. São Bernardo do Campo: BASF, 1997. 824 p.
- KORRES, N. E.; FROUD-WILLIAMS, R. J.; MOSS, S. R. Chlorophyll fluorescence technique as a rapid diagnostic test of the effects of the photosynthetic inhibitor chlortoluron on two winter wheat cultivars. **Annals of Applied Biology**, Oxford, v. 143, n. 1, p. 53-56, 2003.
- KUVA, M. A. et al. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. II – Capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 19, n. 3, p. 323-330, set./dez. 2001.
- KUVA, M. A. et al. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar. III – capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) e capim-colônio (*Panicum maximum*). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 21, n. 1, p. 37-44, jan./abr. 2003.
- KUVA, M.A. et al. Fitossociologia de comunidades de plantas daninhas em agroecossistema cana-crua. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 3, p. 501-511, jul./set. 2007.
- LORENZI, H. **Manual de identificação e de controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 339 p.
- LORENZI, H. **Manual de identificação e de controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2006. 339 p.
- MASABNI, J. G.; ZANDSTRA, B. H. A serine-to-threonine mutation in linuron-resistant *Portulaca oleracea*. **Weed Science**, Champaign, v. 47, n. 4, p. 393-400, Jul./Aug. 1999.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 345, p. 659-668, Apr. 2000.
- MECHANT, E. et al. Target site resistance to metamiltron in *Chenopodium album* L. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 21, n. special, p. 37-40, 2008.
- MECHANT, E.; BULCKE, R. Cross-resistance profile of metamiltron-resistant *Chenopodium album* L. biotypes from sugar beet. **Journal of Plant Diseases and Protection**. Stuttgart, v. 20, p.147-153, 2006.

MENENDEZ, J.; PRADO, R. Detoxification of chlorotoluron in a chlorotoluron-resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. Comparison between cell cultures and whole plants. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 99, n.1, p. 97-104, Jan. 1997.

MENGISTU, L. W. et al. psbA mutation (valine219 to isoleucine) in *Poa annua* resistant to metribuzin and diuron. **Pest Management Science**, Bognor Regis, v. 56, n. 3, p. 209-217, Mar. 2000.

MENGISTU, L.W.; CHRISTOFFERS, M. J.; LYM, R. G. A psbA mutation in *Kochia scoparia* (L) Schrad from railroad rights-of-way with resistance to diuron, tebuthiuron and metribuzin. **Pest Management Science**, Bognor Regis, v. 61, n. 11, p.1035-1042, Nov. 2005.

MONACO, T. J.; WELLER, S. C.; ASHTON, F. M. **Weed science: principles and practices**. New York: John Wiley & Sons, 2002. 671 p.

MONQUEIRO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; DIAS, C. T. S. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja (*Glycine max*). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 18, n. 3, p. 419-425, 2000.

NORSWORTHY, J. K.; TALBERT, R. E.; HOAGLAND, R. E. Chlorophyll fluorescence for rapid detection of propanil-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Weed Science**, Champaign, v. 46, p. 163-169, Mar./Apr. 1998.

OETTMEIER, W. Herbicide resistance and supersensitivity in photosystem II. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 55, n. 10, p. 1255-1277, Aug. 1999.

OLIVEIRA JUNIOR, R. S. Mecanismo de ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S. et al. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 141-192.

OLIVEIRA, A. R.; FREITAS, S. P. Levantamento fitossociológico de plantas daninhas em áreas de produção de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**. Viçosa, MG, v. 26, n. 1, p. 33-46, jan./mar. 2008.

OSMOND, C. B. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of sun shade plants. In: BAKER, N. R.; BOWYER, J. R. (Ed.). **Photoinhibition and photosynthesis: from molecular mechanisms to the field**. Oxford: Bios Scientific Publisher, 1994, p. 1-24.

PARK, K. W.; MALLORY-SMITH, C. A. psbA mutation (Asn266 to Thr) in *Senecio vulgaris* L. confers resistance to several PS II-inhibiting herbicides. **Pest Management Science**, Bognor Regis, v. 62, n. 9, p. 880-885, Sep. 2006.

PERCIVAL, M. P.; BAKER, N. R. Herbicides and photosynthesis. In: BAKER, N. R.; PERCIVAL, M. P. (Ed.). **Herbicides**. Amsterdam: Elsevier Science, 1991. p. 1-26.

- PEREZ-JONES, A.; INTANON, S.; MALLORY-SMITH, C. Molecular analysis of hexazinone-resistant shepherd's-purse (*Capsella bursapastoris*) reveals a novel *psbA* mutation. **Weed Science**, Champaign, v. 57, n. 6, p. 574-578, 2009.
- POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, p. 317-347, Jun. 2010.
- PRADO, P.; SCALLA, R.; GAILLARDON, P. Differential toxicity of simazine and diuron to *Torilis arvensis* and *Lolium rigidum*. **Weed Research**, Oxford, v. 30, p. 213-221, 1990.
- PRADO, R.; PRADO, J. L.; MENENDEZ, J. Resistance to substituted urea herbicides in *Lolium rigidum* biotypes. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 57, n. 2, p. 126-136, Feb. 1997.
- PROCÓPIO, S. O. et al. **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de-açúcar**. Viçosa, MG: Ed. Universidade Federal de Viçosa, 2003. 150 p.
- RENGER, G. Water cleavage by solar radiation- an inspiring challenge of photosynthesis research. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 38, p. 229-247, Jan. 1993.
- RICHARD JUNIOR, E. P. et al. Determination of herbicide inhibition of photosynthetic electron transport by fluorescence. **Weed Science**, Champaign, v. 31, n. 3, p. 361-367, May 1983.
- RITCHIE, G. A. Chlorophyll fluorescence: what is it and what do the numbers mean? In: RILEY, L. E.; DUMROESE, R. K.; LABDIS, T. D. (coords). **National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations—2005. Proc. RMRS-P-43**. Fort Collins: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, 2006. p. 34-44.
- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 6. ed. Londrina: Ed. dos autores, 2011. 697 p.
- ROSSI, C. V. S. **Dinâmica e eficácia no controle de plantas daninhas pelo herbicida metribuzin aplicado sobre palha de cana-de-açúcar**. 2004. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Proteção de Plantas)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.
- SHERMAN, T. D.; VAUGHN, K. C.; DUKE, S. O. Mechanism of action and resistance to herbicides. In: DUKE, S. O. (Ed.). **Herbicides Resistant Crops**. Boca Raton: CRC Press, 1996. p. 14-28.
- SILVA, A. A. I. et al. Aspectos fitossociológicos da comunidade de plantas daninhas na cultura do feijão sob diferentes sistemas de preparo do solo. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 23, n. 01, p. 17-24, jan./mar. 2005.
- SIMINSZKY, B. et al. Expression of soybean cytochrome P450 monooxygenase cDNA in yeast and tobacco enhances the metabolism of phenylurea herbicides. **Proceedings of National Academy of Sciences**, Washington, DC, v. 96, p.1750-1755, Feb. 1999.

SKÓRSKA, E.; MURKOWSKI, A. Comparison of susceptibility of crop oat cv. AKT and wild oat leaves to Dicuran 80 WP in mixture with two adjuvants, measured by chlorophyll fluorescence. **Acta Agrophysica**, Lublin, v. 14, p. 463-468, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina, 1995. 42 p.

SOUZA, R. C. **Características fisiológicas da tolerância de *Digitaria nuda* a herbicidas aplicados em cultura da cana-de-açúcar**. 2011. 94 f. Tese (Doutorado em Ciências/Fitotecnia)-Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2009. 848 p.

TREBST, A. The mode of action of triazine herbicides in plants. In: LeBARON, H. M. et al. **The triazine herbicides, 50 years revolutionizing agriculture**. Oxford: Elsevier, 2008. p. 101-110.

TREBST, A. The molecular basis of resistance of photosystem II inhibitors. In: CASELEY, J. C.; CUSSANS, G. W.; ATKIN, R. K.(Ed.). **Herbicide resistance in weeds and crops**. Boston: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 145-164.

Van OORSCHOT, J. L. P.; Van LEEUWEN, P. H. Use of fluorescence induction to diagnose resistance of *Alopecurus myosuroides* Huds. (black-grass) to chlortulon. **Weed Research**, Oxford, v. 32, p. 473-482, 1991.

VENCILL, W. K. **Herbicide handbook**. 8th. ed. Lawrence: Weed Science Society of America, 2002. 493 p.

VIDAL, R. A.; MEROTTO JUNIOR, A. **Herbicidologia**. Porto Alegre: Ed. dos autores, 2001. 152 p.

VIEIRA, V. C. **Caracterização molecular de acessos de capim-colchão (*Digitaria nuda*) e resposta à ametrina**. 2007. 74 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

WARWICK, S. I. Herbicide resistance in weed plants: physiology and population biology. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 22, p. 95-144, 1991.

ZIMDAHL, R. L. Introduction to chemical weed control. In: ZIMDAHL, R. L. **Fundamentals of weed science**. 3rd. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. p. 357-391.