Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Alternativas de controle, acúmulo de chiquimato e curva de crescimento de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suscetível e resistente ao glyphosate

Marcel Sereguin Cabral de Melo

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2011

Marcel Sereguin Cabral de Melo
Engenheiro Agrônomo

Alternativas de controle, acúmulo de chiquimato e curva de crescimento de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suscetível e resistente ao glyphosate

Orientador:
Prof. Dr. **PEDRO JACOB CHRISTOFFOLETI**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Melo, Marcel Sereguin Cabral de
Alternativas de controle, acúmulo de chiquimato e curva de crescimento de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suscetível e resistente ao glyphosate / Marcel Sereguin Cabral de Melo. - - Piracicaba, 2011.
73 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Controle químico 2. Curvas de crescimento 3. Herbicidas 4. Plantas daninhas - Resistência I. Título

CDD 632.58
M528a

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

AGRADECIMENTOS

- À Deus por manter-me sempre no caminho correto;

- À toda a minha família pela amizade, compreensão e carinho, especialmente à minha mãe Roseli Maria Sereguin, meu padrasto José Roberto Rizzotti, meu irmão Eduardo Aparecido Sereguin Cabral de Melo, meus primos Luís Fernando Sereguin Erbetta e Patrícia Stephanie Pasti, minha avó Maria Favorato Sereguin e minhas tias Aurea Sereguin Erbetta e Rosane Sereguin;

- À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, pelos conhecimentos ensinados desde a graduação e pela oportunidade de realização deste trabalho;

- Ao Professor Dr. Pedro Jacob Christoffoleti pela orientação, amizade e oportunidades fornecidas ao longo de minha carreira como Matologista;

- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa concedida, em nível de mestrado;

- À minha namorada Ticyana Carone Banzato, pela compreensão, carinho, companherismo e cuidados nos momentos de alegria e dificuldade;

- Ao amigo Engenheiro Agrônomo Dr. Marcelo Nicolai, pelos ensinamentos, amizade, companherismo, viagens, sugestões e paciência nas diferentes situações enfrentadas;

- Ao amigo Engenheiro Agrônomo Prof. Dr. Saul Jorge Pinto de Carvalho pelos conselhos, sugestões e amizade;

- Ao amigo Engenheiro Agrônomo Msc. Murilo Sala Moreira pela amizade e iniciação de minha carreira na área de Matologia como tutor;

- Aos amigos da Gloriosa República Gato Preto pelos momentos de amizade e descontração;

- Ao amigo Engenheiro Agrônomo Heryaldo Tarozzo Filho, pelos momentos de descontração e amizade.

- Aos professores e funcionários do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP, em especial à Luciane Aparecida Lopes Toledo, Horst Bremer Neto, Maria Célia Rodrigues, Paulo Jauode e Osmair Neves.

- Ao Grupo de Plantas Daninhas : Flávio Eduardo Botelhos Obara, Ana Beatriz Campos Almeida Prado, Lucas Elache Rosa, Marcelo Rodrigues Alves de Figueiredo, Bruno Medina da Costa, Felipe Andreotti, Caio Augusto de Castro Grossi Brunharo, Carelly Lom Lam e Aquian Felício.

Muito Obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO.....7
ABSTRACT.....9
1 INTRODUÇÃO.....11
Referências.....14
2 CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE CAPIM-AMARGOSO (*Digitaria insularis*) AO GLYPHOSATE ATRAVÉS DE CURVAS DE DOSE-RESPOSTA E BIOENSAIO COM CHIQUIMATO.....17
Resumo.....17
Abstract.....18
2.1 Introdução.....18
2.2 Material e Métodos.....21
2.3 Resultados e Discussão.....24
2.4 Conclusões.....36
Referências.....36
3 ALTERNATIVAS DE CONTROLE QUÍMICO PARA CAPIM-AMARGOSO (*Digitaria insularis*) RESISTENTE AO GLYPHOSATE.....40
Resumo.....40
Abstract.....40
3.1 Introdução.....41
3.2 Material e Métodos.....43
3.3 Resultados e Discussão.....45
3.4 Conclusões.....52
Referências.....53
4 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DOS BIÓTIPOS DE CAPIM-AMARGOSO(*Digitaria insularis*) RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO GLYPHOSATE.....58
Resumo.....58
Abstract.....58
4.1 Introdução.....59
4.2 Material e Métodos.....60

4.3 Resultados e Discussão.....61
4.4 Conclusões.....70
Referências.....70
5 CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES FINAIS.....73

RESUMO

Alternativas de controle, acúmulo de chiquimato e curva de crescimento de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suscetível e resistente ao glyphosate

O glyphosate vem sendo aplicado na agricultura como principal ferramenta de manejo de plantas daninhas, sendo o mesmo aplicado em alguns sistemas de forma repetitiva ao longo do ano. Esta prática contribuiu para a seleção de espécies de plantas daninhas resistentes, sendo que no Brasil mais recentemente tem sido obervado populações resistente de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) ao glyphosate. Sendo assim, são necessárias pesquisas com esta planta daninha sobre alternativas de controle, caracterização biológica dos biótipos relacionadas a adaptabilidade e crescimento, e caracterização dos níveis de resistência, para que baseado nestas informações as recomendações de manejo destes biótipos sejam tomadas. Portanto, esta pesquisa foi desenvolvida com os objetivos de avaliar alternativas químicas de manejo dos biótipos resistentes, avaliar os níveis de resistência, e o crescimento diferencial entre os biótipos. Para o desenvolvimento dos experimentos foram coletadas sementes do biótipo resistente no município de Matão - SP, onde foi aplicado glyphosate de 1.440 g e.a ha^{-1} antes do florescimento, sendo que as sementes do biótipo suscetível foram obtidas no município de Piracicaba – SP, onde não apresentava histórico de aplicação de glyphosate. Na primeira etapa da pesquisa foram realizados experimentos para determinação do fator de resistência ao glyphosate, através de curvas de dose resposta em quatro estádios de desenvolvimento do capim-amargoso, além de um bioensaio de discos foliares para analisar o acúmulo de chiquimato. Na segunda etapa foi conduzido um ensaio a campo no município de Matão – SP, visando encontrar herbicidas alternativos para controle do capim-amargoso resistente ao glyphosate. Por fim um estudo de curvas de crescimento foi conduzido para avaliar o crescimento comparativo dos biótipos resistente e suscetível ao glyphosate, analisando área foliar, massa seca da parte aérea e das raízes. Através do modelo de curva dose-resposta do programa estatístico R, o fator de resistência (GR 50) variou de 3 a 4 quando comparando o biótipo resistente ao suscetível. As alternativas de controle viáveis foram glyphosate em associação com clethodim e paraquat + diuron; glyphosate com clethodim e amônio-glufosinato; glyphosate e haloxyfop-methyl; glyphosate e fenoxaprop-p-ethyl + clethodim; glyphosate e tepraloxydim. O biótipo resistente teve um desenvolvimento mais rápido, todavia não foi possível inferir sobre sua capacidade competitiva.

Palavras-chave: *Digitaria insularis*; Resistência ; Glyphosate; Capim-amargoso

ABSTRACT

Alternatives of control, shikimic acid accumulation and growth curves of sourgrass (*Digitaria insularis*) susceptible and resistant to glyphosate

Glyphosate has been used in agriculture as the main tool for weed management, and it has been applied in some systems repeatedly throughout the year, which contributed to the selection of resistant weed species. More recently in Brazil glyphosate resistant populations of sourgrass(*Digitaria insularis*) have been observed. So, researches are needed on alternative control, biological characterization of the biotypes and related growth, and characterization of the resistance levels. Based on this information it is possible to recommend management practices. Therefore, this research was developed with the objective of evaluating alternative chemical management for the resistant biotypes, assess levels of resistance, and the differential growth between biotypes. For the development of the experiments seeds from resistant plants were collected in Matao County – SP - Brazil, where glyphosate was applied at 1440 g. a. e. ha^{-1}, before flowering, and the seeds of the susceptible biotype were obtained in Piracicaba – SP - Brazil, where there was no history of glyphosate application. In the first stage of the research experiments were performed to determine the resistance factor to glyphosate by dose response curves in four growth stages of sourgrass, and a leaf disc bioassay to analyze the accumulation of shikimate. The second step was to conduct a trial in Matao - SP to find alternative herbicides to control glyphosate resistant sourgrass. Finally an growth curves experiment was conducted to evaluate the comparative growth of glyphosate resistant and susceptible biotypes, analyzing leaf area, dry mass of shoots and roots. The resistance factor (GR 50) ranged from 3 to 4 when comparing the susceptible biotype with the resistant. The alternative herbicides in combination with glyphosate were clethodim and paraquat + diuron; clethodim and ammonium-glufosinate; haloxyfop-methyl; fenoxaprop-p-ethyl + clethodim; tepraloxydim. The resistant biotype had a more rapid development, however it was not possible to infer about their ability to compete.

Keywords: *Digitaria insularis*; Resistance; Glyphosate; Sourgrass

10

1 INTRODUÇÃO

A demanda atual por alimentos e produtos de origem na agropeucária aumenta continuamente, enquanto isso as áreas destinadas à agricultura são cada vez mais escassas. Por isso, o uso racional dos recursos naturais deve ser explorado à um nível tecnológico nunca antes empregado (EISELEN, 2006).

Um dos principais fatores redutores do potencial produtivo das culturas é a infestação de plantas daninhas, já que competem por água, luz e nutrientes com a cultura. As perdas, causadas pela interferência das plantas daninhas na produção são observadas não só na produtividade, mas em outros parâmetros importantes. Como exemplo, o decréscimo na longevidade de culturas perenes ou semi-perenes, queda na qualidade industrial da matéria-prima e dificuldade nas operações de colheita e transporte (PROCÓPIO et al., 2003).

O grau de competição sofrido pela cultura depende de fatores relacionados com a planta daninha (espécie, densidade, agressividade, distribuição e período de convivência das plantas daninhas durante o ciclo da cultura) e da cultura (variedade, densidade, espaçamento). Todos estes fatores são modificados pelo tipo de solo e condições climáticas. De todos os fatores que influenciam o grau de competição, o mais importante é o período em que a comunidade infestante e as plantas cultivadas estão disputando os recursos do meio denominado período crítico de prevenção da interferência (PCPI) (SILVA et al., 2007;PITELLI, 1985).

Para evitar as perdas provocadas pela plantas daninhas deve-se realizar medidas eficientes de manejo desses agentes. Estas medidas de manejo devem ser feitas da forma mais racional possível, integrando medidas culturais, mecânicas e químicas, sendo esta última a que resulta em melhores índices de controle, tornando o método químico de grande utilização (OLIVEIRA JR. et al., 2011).

O sucesso do manejo químico depende de uma série de princípios técnicos, como a identificação das espécies daninhas a serem controladas, a cultura com a qual vão competir e a tecnologia de aplicação utilizada (OLIVEIRA JR. et al., 2011; SILVA et al.,

2007). Geralmente, um mesmo herbicida não apresenta espectro de ação suficiente para controlar todas as espécies existentes na área a ser cultivada (BRIGHENTI et al., 2003; ERASMO et al., 2004), o que requer a adoção de outras técnicas de manejo ou o uso de outros herbicidas. Contudo, para Galli e Montezuma (2005), o glyphosate é um produto de uso bastante diversificado, que é utilizado de forma isolada e que vem sendo utilizado de forma indiscriminada no meio agrícola por mais de trinta anos. O uso intensivo deste herbicida fez com que as comunidades de plantas daninhas dos agroecossistemas criassem mecanismos de resposta na flora específica ou seleção de certos biótipos resistentes nas populações de plantas daninhas (LOPEZ-OVEJERO, 2006).

Para Christoffoleti et al. (2008), a variabilidade genética é uma característica inerente à sobrevivência dos seres vivos, inclusive das plantas daninhas, já que as variações no meio ambiente podem exercer pressão de seleção sobre elas, limitando seu desenvolvimento e propagação. Nos últimos anos, algumas espécies de plantas daninhas desenvolveram mecanismos de resposta à intensiva utilização de um mesmo herbicida, selecionando os biótipos resistentes, já presentes numa população de plantas daninhas.

A tolerância e a resistência são dois mecanismos de sobrevivência distintos (OLIVEIRA JR. et al., 2011). Isso porque a tolerância é uma característica inerente à determinadas espécies de plantas daninhas, antes mesmo da primeira aplicação do herbicida, que torna estas espécies não controladas por determinados herbicidas. Segundo CHRISTOFFOLETI e LÓPEZ-OVEJERO, (2004), a tolerância, assim como a suscetibilidade são características inatas das espécies, que consiste em sobreviver ou não à aplicação de determinado herbicida; sem ou com alterações marcantes em seu desenvolvimento vegetativo.

De acordo com Christoffoleti et al. (2008), López-Ovejero (2006) e Monquero (1999), a resistência de plantas daninhas aos herbicidas é caracterizada por uma redução na resposta de uma população ao uso destes agroquímicos. O uso repetitivo da dose recomendada gera uma pressão de seleção para biótipos resistentes, que normalmente encontram-se em baixa freqüência na população.

García y García (2002) comentam que o inadequado planejamento das atividades agrícolas, em situações onde a resistência de plantas daninhas é constatada, traz como conseqüência o aumento de riscos quanto à possibilidade de insucesso no processo produtivo. A adoção de ferramentas adequadas para a tomada de decisões é o primeiro passo para se obter melhores resultados, evitando a seleção dos biótipos resistentes.

No mundo foram identificadas 21 espécies de plantas daninhas resistentes ao herbicida glyphosate, relatadas em 17 países diferentes sendo os Estados Unidos da América, Austrália, Brazil, Espanha e Argentina onde se encontram maior número de casos (HEAP, 2011).

A resistência ao glyphosate foi constatada no Brasil pela primeira vez para espécie Azevém (Lolium multiflorum), no Sul do país (ROMAN et al., 2004). Em seguida identificou-se mais duas espécies resistentes, pertencenes ao mesmo gênero e mui similiares morfologicamente, sendo as espécies de buva, Conyza bonariensis e Conyza canadensis (MOREIRA et al., 2007; LAMEGO; VIDAL, 2008). Finalmente, a partir do ano de 2009, identificou-se mais uma espécie resistente ao herbicida glyphosate. Trata-se do capim-amargoso (*Digitaria insularis*) (CHRISTOFFOLETI et al, 2009 ; NICOLAI et al., 2010; ADEGAS et al., 2010; CARVALHO, 2011).

Dessa forma, o estudo deste fenômeno envolvendo o capim-amargoso (Digitaria insularis), com relação a quantificação desta resistência pela determinação do fator de resistência, a necessidade de se encontrar herbicidas alternativos para o manejo desta planta daninha e a investigação sobre possíveis diferenças adaptativas entre os biótipos resistente e suscetível ao glyphosate se fazem pertinentes, necessários e eminentes.

Pelo fato do capim amargoso ser uma planta daninha que foi selecionada recentemente como resistente ao glyphosate, existem poucas informaçoes disponíveis sobre alternativas de controle, biologia dos biótipos, crescimento e caracterização da resistência são necessários para que medidas racionais de manejo e prevenção da seleção destes biótipos sejam tomadas. Assim, foi desenvolvida a presente pesquisa com os objetivos de avaliar alternativas químicas de manejo dos biótipos resistentes, avaliar os níveis de resistência e o crescimento diferencial entre os biótipos.

Referências

ADEGAS, F.S.; GAZZIERO, D.L.P.; VOLL, E.; OSIPE, R. Diagnóstico da existência de Digitaria insularis resistente ao herbicida glyphosate no sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., 2010. Ribeirão Preto, SP. 2010. **Resumos..**. Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. n. 162.

BRIGHENTI, A.M.; CASTRO, C.; GAZZIERO, D.L.P.; ADEGAS, F.S.; VOLL, E. Cadastramento fitossociológico de plantas daninhas na cultura de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** , v. 38, n. 5, p. 651-657, 2003.

CARVALHO, L.B. **Interferência de *Digitaria insularis* em Coffea arabica e respostas destas espécies ao glyphosate.** 118p. 2011. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2011.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M.; DIAS, A.C.R.; MELO, M.S.C.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F; GALLI, A.J. Avaliação da suspeita de resistência de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) ao herbicida glyphosate em pomares cítricos no Estado de São Paulo - Brasil. In:CONGRESSO DA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MALHERBOLOGIA, 22., ;CONGRESSO DA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE MALEZAS, 19., CONGRESS IBEROAMERICANO DE CIÊNCIA DE LAS MALEZAS, 2., 2009. Lisboa. **Resumos**… Lisboa:Fundação Calouste Glubenkian, 2009. p 533-536 .

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LOPEZ-OVEJERO, R.F.; NICOLAI, M.; VARGAS, L.; CARVALHO, S.J.P.; CATANEO, A.C.; CARVALHO, J.C.; MOREIRA, M.S. **Aspectos da resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3 ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas (HRAC-BR), 2008. 120 p.

EISELEN, H. The importance of plant biotechnology to improve global food, Germany, 2006. Disponível em: **www.eiselen-stiftung.de/Kolloquium2006.pdf**, Acesso em: 20 maio 2010.

GALLI, A.J.B.; MONTEZUMA, M.C. **Alguns aspectos do herbicida glifosato na agricultura**. Local: Editora ACADCOM, Publicação Monsanto do Brasil. jan. 2005.p 66.

GARCÍA Y GARCÍA, A. **Modelos para área foliar, fitomassa e extração de nutrientes na cultura do arroz.** 2002. 90 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de Sáo Paulo, Piracicaba, 2002.

HEAP, I. The international survey of herbicide resistant weeds. Disponível em: **www.weedscience.com**. Acesso em: 25 maio 2011.

LAMEGO, F.P.; VIDAL, R.A. Resistência ao glyphosate em biótipos de *Conyza bonariensis* e *C. canadensis* no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa - MG, v. 26, n. 2, p. 467-471, 2008.

LÓPEZ-OVEJERO, R.F. **Resistência de populações da planta daninha *Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel. a herbicidas inibidores da acetil coenzima A carboxilase (ACCase)**. 2006. 101 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MONQUERO, P.A. **Biologia, manejo e caracterização bioquímica e genética de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase (ALS).** 1999. 97 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de Sáo Paulo, Piracicaba, 1999.

MOREIRA, M.S.;NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P. ;CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistencia de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 25, n. 1, p. 157-164, 2007.

NICOLAI, M.; MELO, M.S.C.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. ; CHRISTOFFOLETI, P.J. Monitoramento de infestações de populações de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suspeitas de resistência ao glyphosate. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 2., 2010. . Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. p. 200.

OLIVEIRA Jr., R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. **biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba, PR: Ed. Omnipax, 2011. 348 p.

PITELLI, R.A.; Interferência de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.11, p.16-27, 1985.

PROCÓPIO, S.O.; SILVA, A.A.; VARGAS, L.; FERREIRA, A.F. Manejo de Plantas Daninhas na Cultura da Cana-de-açúcar. **Planta Daninha,** Viçosa, MG. 2003. 150p.

ROMAN, E.S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M.A.; MATTEI , R.W. Resistência de Azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**,Viçosa v. 22, n. 2, p. 301-306, 2004.

SILVA, A.A.; FERREIRA, A.F; FERREIRA, L.R.; SANTOS J.B. Biologia de plantas daninhas. In: SILVA,A.A. da; SILVA,J.F.da (Ed.) **Tópicos em manejo de plantas daninhas** - Viçosa, MG: Ed. UFV, 2007. p 1-62.

2 CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE CAPIM-AMARGOSO (*Digitaria insularis*) AO GLYPHOSATE ATRAVÉS DE CURVAS DE DOSE-RESPOSTA E BIOENSAIO COM CHIQUIMATO

Resumo

A resistência de plantas daninhas ao glyphosate na cultura do citrus tem sido observada principalmente nas plantas daninhas buva (*Conyza bonariensis* e *C. Canadensis*) e capim amargoso (*Digitaria insularis*), sendo este último mais recente, portanto a caracterização dos níveis de resistência ainda não foram completamente elucidados. Desta forma, foi desenvolvida a presente pesquisa com o objetivo de caracterizar os níveis de resistência desta planta daninha ao glyphosate, através de curvas de dose resposta e bioensaio com chiquimato. Para isso foram coletadas sementes do biótipo resistente no município de matão - SP, onde foi aplicado glyphosate a 1,440 g e.a. ha^{-1}, antes do florescimento; já o biótipo suscetível foi coletado no município de Piracicaba, em áera que não apresentava histórico de aplicação de glyphosate. Os biótipos foram semeados em bandejas, e após a emergência as plantas foram transplantados para vasos de 3 L de capacidade, na casa-de-vegetação do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ – USP, e conduzidos até os estádios de seedling, 2 a 3 perfilhos, pré-florescimento e de rebrote, sendo estes obtidos a partir de plantas, que após florescerem, foram cortados à altura de 5 cm do substrato. Nove doses de glyphosate foram aplicadas como tratamentos: 45, 90, 180, 360, 720, 1.440, 2.880, 5.760, 11.520 g e.a. ha^{-1}, e uma testemunha sem aplicação de herbicida. Realizou-se avaliações visuais de controle (C) e pesagem da massa seca (GR). Um bioensaio com discos foliares de plantas em fase de seedlings foi realizado no Departamento de Produção Vegetal/Biologia de Plantas Daninhas, analisando o acúmulo de chiquimato em ambos biótipos após a aplicação de uma solução de glyphosate. O delineamento experimental adotado para os experimentos foi completamente casualizado, com quatro repetições. Os dados finais foram avaliados no modelo de curva de dose-resposta do programa estatístico R, resultando em um fator de resistência de 3 a 4, quando comparado o biótipo resistente ao suscetível; o estádio fenológico do capim amargoso no momento da aplicaçao afeta a eficácia do glyphosate, tanto no biótipo resistente quanto suscetível; após rebrota do capim amargoso, em uma planta perenizada, o nível de resistência é significativamente maior que nas fases iniciais de desenvolvimento da planta daninha; o método de detecção de acúmulo de chiquimato resulta em fator de resistência semelhante ao fator de resistência obtido através de curvas de dose-resposta, em fases inciais de desenvolvimento.

Palavras-chave: *Digitaria insularis*;Resistência;Glyphosate;Estádios

Abstract

The weed resistance to glyphosate in the citrus crop has been observed mainly in the weeds horseweed (*Conyza bonariensis* and *C. canadensis*) and sourgrass (*Digitaria insularis*), the latter being more recent, so the characterization of the levels of resistance have not been completely studies yet. Thus, the present study was developed in order to characterize levels of sourgrass resistance to glyphosate by dose response curves and bioassay with shikimate. Seeds of the resistant biotypes were collected in the Matao County – SP - Brazil, where glyphosate was applied at 1,440 g.a.e. ha^{-1}, just before flowering; and the susceptible population was collected in Piracicaba County, in an area which had no history of glyphosate application. The biotypes were sown in trays and transplanted after emergence to 3 L pots in the greenhouse of the Department of Crop Science - ESALQ - USP, and driven to the stages of application seedling, 2-3 tillers, pre-flowering and after regrowth, which consisted of plants that were conducted to the flowering stage, and then clipped at 5 cm from the substrate surface, allowing regrowth to achieve the application of glyphosate. Nine doses of glyphosate were applied as treatments 45; 90; 180; 360; 720; 1,440; 2,880; 5,760 and 11,520 g.a.e. ha^{-1}, and control without glyphosate application. Visual evaluations were performed and weighing of the dry mass. A leaf disc bioassay was also conducted at the Department of Crop Science/Weed Biology laboratory, analyzing the accumulation of shikimate in both biotypes after applying a solution of glyphosate. The experimental design for the experiments was completely randomized with four replications. The final data were evaluated in the model of dose-response curve of the R statistical program, resulting in a resistance factor of 3-4, when comparing the susceptible with the resistant biotypes; the phenological stage of the sourgrass at application timing affects both the effectiveness of glyphosate-resistant and susceptible biotypes; after sourgrass regrowth in a perennial plant, the level of resistance is significantly higher than in the early stages of weed development; the detection method of shikimate accumulation using leaf discs method results in resistance factor similar to the resistance factor obtained from dose-response curves, in the initial phases of development.

Keywords: *Digitaria insularis*; Resistance; Glyphosate; Stages

2.1 Introdução

O glyphosate é o herbicida mais usado em áreas de plantio direto ou pomares, por ser um herbicida não-seletivo de amplo espectro de controle e de baixo custo (GALLI; MONTEZUMA, 2005). Todavia essa intensa utilização causa uma grande pressão de seleção nas populações de plantas daninhas, podendo selecionar biótipos resistentes ao herbicida citado (CHRISTOFFOLETI et al., 2009).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é definida como a capacidade natural e herdável de determinados biótipos, dentro de uma população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição a doses de herbicidas que seriam letais a indivíduos normais (suscetíveis) da mesma espécie (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2004). Este processo é um fenômeno amplamente disseminado, apesar de alguns mecanismos de ação parecerem mais afetados do que outros, como são os casos de resistência aos herbicidas inibidores da ALS e ACCase, quando comparados com os casos de resistência aos herbicidas inibidores da EPSPs (HEAP, 2011; CHRISTOFFOLETI et al., 2008).

No mundo já existem 21 espécies resistentes ao glyphosate, relatadas até o momento (HEAP, 2011). Apesar do número de espécies ainda não ser tão expressivo, a área em que estas espécies estão presentes tende a crescer com o alto número de aplicações em jato dirigido em culturas perenes ou em área total em culturas resistentes ao glyphosate, aliado aos 30 anos de utilização da molécula na agricultura (DUKE; POWLES, 2008).

O capim-amargoso (*Digitaria insularis*) é uma espécie perene, herbácea, entoucerada, ereta, rizomatosa, de colmos estriados, com 50 a 100 cm de altura (LORENZI, 2006; KISSMANN; GROTH, 1997), e altamente competitiva. O capim-amargoso apresenta em suas sementes estruturas especializadas de disseminação pelo vento, sendo assim, é uma planta que atualmente ocorre em todo o Brasil, a disseminação de biótipos resistentes.

A freqüente utilização de glyphosate, em doses consideradas altas, gerou uma grande pressão de seleção sobre a população de *Digitaria insularis* presente nas áreas de citrus. Notadamente no município de Matão – SP, onde a cultura do citrus ocupa grande percentual das áeras agricultas, o que selecionou os indivíduos resistentes (NICOLAI et al., 2010).

Existem vários métodos para a detecção da resistência a herbicidas (BECKIE et al. 2000). Ensaios de campo e estufa utilizando planta inteira são os mais utilizados e precisos, porém demanda tempo. Um ensaio proposto coloca as sementes para

germinar em placas de petri contendo uma gama de concentrações de glyphosate e de medição da raiz ou do comprimento do ramo 4-8 dias após o tratamento (DAT) (ESCORIAL et al., 2001; PEREZ, KOGAN, 2003). Outro teste é o de mergulhar as sementes em soluções de glyphosate e, em seguida, plantar as sementes no solo. Main et al. (2004) constataram que sementes de soja suscetível não germinaram após imersão por 4 h em soluções de 5% de glyphosate, enquanto sementes contendo um gene de resistência ao glyphosate germinaram.

Dois bioensaios rápidos, não destrutivos, foram desenvolvidos e testados por seu potencial na diferenciação de biótipos de buva resistentes e suscetíveis ao glyphosate (KOGER et al., 2005). Em um ensaio, folhas de plantas, resistentes e suscetíveis ao glyphosate, de milho, algodão e soja, bem como biótipos resistentes e suscetívies da planta daninha buva foram mergulhados em soluções de 0, 300, 600 e 1.200 mg L^{-1} de glyphosate por 3 dias e as lesões subseqüentes foram avaliadas. No segundo ensaio, a sensibilidade de plantas ao glyphosate foi avaliada "*in vivo*", incubando tecido de discos foliares extraídos das mesmas plantas utilizadas no primeiro ensaio em soluções de 0,7; 1,3; 2,6; 5,3; 10,6; 21,1; 42,3 e 84,5 mg e.a. L^{-1} de glyphosate por 16 h e medição dos níveis chiquimato com um espectrofotômetro. Ambos os ensaios foram capazes de se diferenciar de biótipos resistentes de buva sensível e pode ter utilidade para a triagem outras populações de plantas daninhas para a resistência ao glifosato.

Como até o momento, não existem muitos trabalhos na literatura que caracterizam o grau de resistência do capim amargoso ao glyphosate no Brasil, e também a necessidade de validação de métodos de detecção rápida da resistência em planta, foi desenvolvida a presente pesquisa. O objetivo principal foi de avaliar o fator de resistência comparando os biótipos de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suscetível e resistente ao glyphosate, em diferentes estágios de desenvolvimento através de curva de dose resposta, e por meio de bioensaio de detecção rápida de análise do acúmulo de chiquimato em discos foliares.

2.2 Material e Métodos

Sementes utilizadas

As sementes das populações resistentes ao glyphosate utilizadas em toda a experimentação foram coletadas na Fazenda Cambuhy, produtora de citrus, localizada em Matão, Estado de São Paulo, coordenadas geográficas 21°37'57"S 48°28'46"W. Nesta área foi aplicado glyphosate a 1,440 g e.a. ha^{-1}, antes do florescimento, e a partir das plantas que não foram controladas e foi permitida a produção de sementes e estas foram coletadas e utilizadas para os ensaios.

As sementes do biótipo suscetível foram coletadas no município de Piracicaba, Latitude: 22° 42' 30'' sul - Longitude de 47° 38' 00'' oeste - Altitude de 546 metros, sendo uma áera que não apresentava histórico de aplicação de glyphosate.

Curvas de dose-resposta em casa de vegetação

O experimento de curvas de dose-resposta foi desenvolvido em casa-de-vegetação do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, Estado de São Paulo, durante os meses de agosto à novembro de 2010. As aplicações dos tratamentos herbicidas foram realizadas quando as plantas estavam no estágio de seedling (seedlings é usado neste trabalho para designar uma planta de capim amargoso no estádio fenológicos de 2 a 3 folhas definitivas), 2 a 3 perfilhos, pré-florescimento e rebrote das plantas de capim amargoso após terem sido cortadas a uma altura de 5 cm do substrato. No momento do corte (ceifa) das plantas de capim amargoso as plantas estavam ema fase de emissão floral. Para aplicação dos tratamentos herbicidas foi utilizado um pulverizador costal manual, trabalhando à pressão constante de 2,0 bar, pressurizado por CO_2, utilizando duas pontas descritas como bicos do tipo leque XR 110.02, espaçados a 0,5 m, aplicando um volume de calda correspondente a 150 L ha^{-1}.

Para cada população, os tratamentos herbicidas foram constituídos de nove doses de glyphosate: 45, 90, 180, 360, 720, 1.440, 2.880, 5.760, 11.520 g e.a. ha^{-1}, bem como a testemunha sem aplicação do herbicida glyphosate. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições e 10 tratamentos, somando assim 40 parcelas por estádio de aplicação. A unidade experimental foi representada por um vaso plástico de capacidade para 3,0 L, preenchido com substrato comercial PlantMax para hortaliças, para onde foram transplantadas as plântulas oriundas das sementeiras preparadas com sete dias antecedência. A quantidade transplantada foi de uma planta por vaso.

Após a aplicação dos tratamentos foi realizada avaliação visual percentual de controle aos 28 dias após os tratamentos, onde 0 representava ausência total de sintomas, e 100, morte da planta. Após a última avaliação visual de controle foi realizada a coleta da parte aérea das plantas para mensuração de massa seca, após secagem em estufa até peso constante.

Bioensaio com chiquimato em discos foliares

O teste para análise de acúmulo de chiquimato foi conduzido em casa-de-vegetação e no laboratório do Departamento de Produção Vegetal – Biologia de Plantas Daninhas, durante o mês de janeiro de 2011, de acordo com a metodologia descrita por Shaner (2005). Foi utilizada a folha mais jovem totalmente expandida de cada planta para coletar discos foliares, utilizando-se um amostrador composto de um tubo de metal, afiado na extremidade, de diâmetro medindo 0,5 cm. As plantas no momento da coleta estavam no estádio de duas a três folhas verdadeiras. Logo após, os discos foliares foram colocados dentro das lacunas de uma micro-placa de vidro contendo solução tampão de fosfato (20 nM K_2HPO_4), e uma solução µMol de glyphosate nas doses de 0, 250; 500; 750; 1.000; 2.000, 4.000 e 8.000 µM de glyphosate.

A micro-placa foi submetida a temperatura ambiente, luz artificial plena e temperatura de 20 ºC por um período de 16 horas. Este período foi necessário para que

o glyphosate fosse absorvido, e penetrasse na folha atuando na inibição da EPSPs, provocando assim o acúmulo de chiquimato. Em seguida foi adicionado uma solução de 1,25 Mol de HCl nas micro-placas, as quais foram levadas ao freezer (- 80 ºC), por 30 minutos, até o congelamento total dos discos foliares, o que ocasionou o rompimento das células e a liberação do chiquimato formado. Então, a micro-placa foi transferida para uma estufa regulada para temperatura de 60 ºC por 30 minutos, até que os tecidos necrosassem. Foi pipetado uma alíquota de 20 µL de cada uma das unidades da micro-placa, que continham um disco foliar por lacuna, para uma nova micro-placa, onde foi adicionado 100 µL de ácido periódico e meta-periódico à 0,25%. Em seguida as micro-placas foram deixadas em repouso por uma hora, e então adicionado 100 µL de uma solução tampão com NaOH 0,6 M, e Na_2SO_3 0,22 M, seguido da medição de absorbância em espectrofotômetro de massa a 380 nM.

Análise estatística dos dados

Os dados obtidos nos experimentos foram inicialmente submetidos à aplicação do teste F sobre a análise de variância. Em seguida foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo logístico no qual as variáveis controle e massa seca foram ajustadas ao modelo proposto por Knezevic et. al. (2007), com a equação y= d/1+ exp[b (log x - log e)]. Em que: y é a variável avaliada, x é a dose do herbicida e “b”, “d” e “e” são parâmetros da curva, de modo que “b” é a declividade da curva, “d” é o limite superior da curva e “e” a dose que proporciona 50% de resposta da variável. O limite inferior é 0.

O modelo logístico apresenta vantagens uma vez que um dos termos integrantes da equação é uma estimativa do valor de C_{50} ou de GR_{50} (CHRISTOFFOLETI, 2002). O C_{50} (controle de 50% da população) e o GR_{50} (redução de 50% do crescimento) são as doses do herbicida que proporcionam 50% de controle ou de redução de massa da planta daninha, respectivamente (CHRISTOFFOLETI, 2002; CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2004). Os resultados para a comparação dos biótipos pelo uso do C_{50} ou GR_{50} foram fornecidos pelo modelo estatístico usado no programa R, com os

quais se obteve o fator de resistência (FR) para a combinação das populações resistente e suscetível da espécie, em cada estádio de desenvolvimento. O fator de resistência (FR = R/S) expressa o número de vezes em que a dose necessária para controlar 50% da população resistente é superior à dose que controla 50% da população suscetível (HALL et al., 1998; CHRISTOFFOLETI, 2002; CAMPOS et al., 2009).

2.3 Resultados e Discussão

Curvas de dose-resposta em casa de vegetação

Os dados obtidos em casa-de-vegetação após a aplicação das doses de glyphosate sobre as populações de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) em diferentes estádios de desenvolvimento indicaram diferenças significativas entre os biótipos, confirmando a resistência na população coletada no município de Matão. Este fato foi também observado em outras pesquisas (NICOLAI et al., 2010; CORREIA et al., 2010; CARVALHO, 2011). Para o estádio de seedling os valores do fator de resistência (FR) para os dois níveis de inibição (50 e 90%) e para os dois parâmetros analizados (controle – C e massa seca GR) estiveram acima de 2,5, indicando resistência (Figura 1.1 e 1.2 e tabela 1.1). Os parâmetros da equação que geraram os respectivos gráficos encontram se na tabela 1.2.

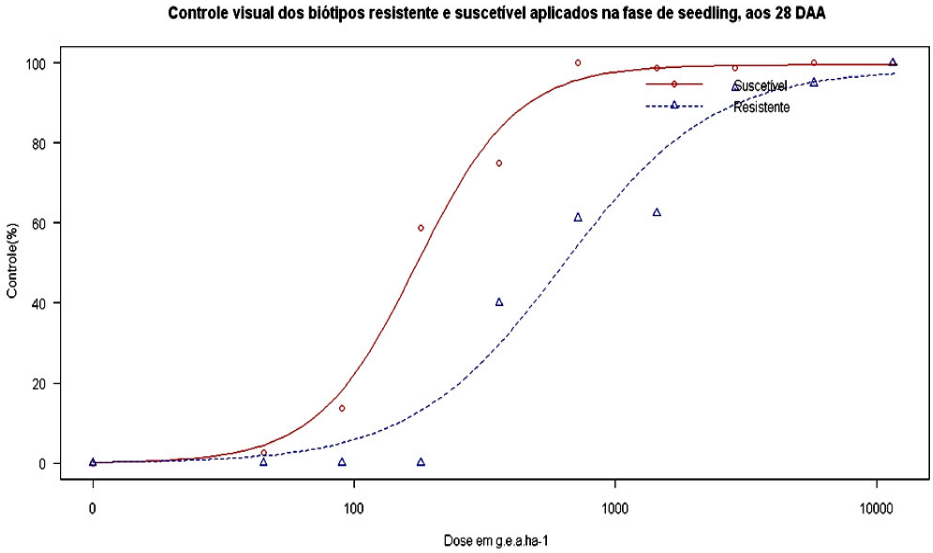

Figura 1.1 – Curva de dose-resposta para a avaliação visual da porcentagem de controle (C) dos biótipos suscetível e resistente, 28 dias após a aplicação (DAA) de glyphosate no estádio de seedling

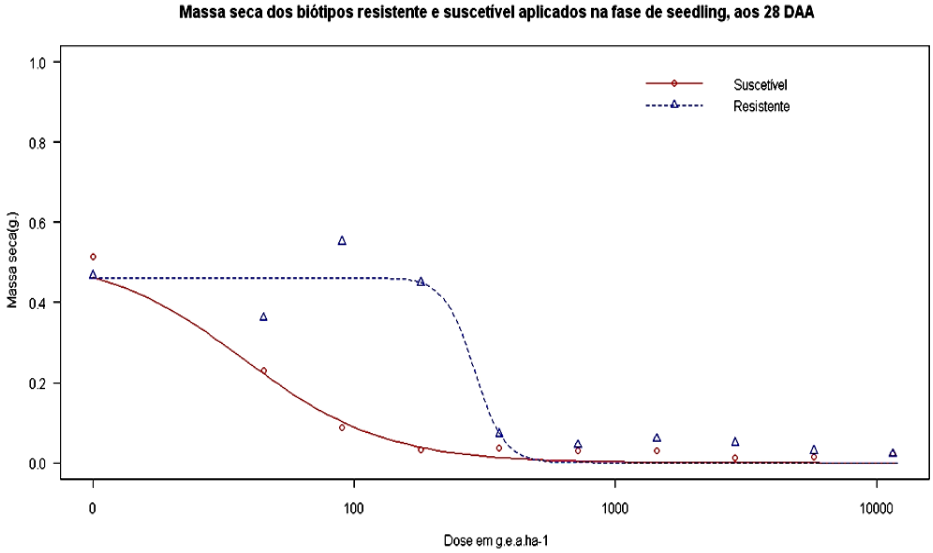

Figura 1.2 - Curva de dose-resposta para a avaliação de massa seca em gramas (GR) por planta dos biótipos suscetível e resistente, 28 dias após a aplicação de glyphosate no estádio de seedling

Tabela 1.1 - Doses de glyphosate(g e.a. ha^{-1}) necessárias para controlar (C) ou reduzir a massa seca (GR) de 50 e 90% de ambos biótipos, baseando-se nas testemunhas, determinando o fator de resistência (FR) no estádio de seedling

Biótipo	**C[1]**		**GR[1]**	
	Controle visual		**Massa seca**	
	50	**90**	**50**	**90**
Resistente (R)	626,13	2677,08	289,470	385,65
Suscetível (S)	173,88	458,16	37,906	147,82
FR(R/S)[2]	3,60	5,84	7,63	2,60

[1] – Dose para controlar (C) ou reduzir a massa seca (GR) de 50 ou 90 %, baseando-se na testemunha; [2] – Fator de Resistência (FR) para o C ou GR_{50}% e C ou GR_{90}%. R = biótipo resistente proveniente do município de Matão – SP, e S biótipo susceptível proveniente do município de Piracicaba - SP.

Tabela 1.2 - Parâmetros estimados para as curvas dos biótipos resistente e suscetível aplicados no estádio de seedling (SE = desvio padrão)

Parâmetros estimados baseados na regressão não linear				
		b ± SE	**d ± SE**	**e ± SE**
Controle (C)	**Suscetível**	-2,267 ± 0,286	99,554 ± 2,120	173,878 ± 11,571
	Resistente	-1,512 ± 0,179	98,514 ± 3,841	626,134 ± 72,134
		b ± SE	**d ± SE**	**e ± SE**
Massa seca (GR)	**Piracicaba - SP**	1,614 ± 0,929	0,5158 ± 0,0486	37,9060 ± 12,6741
	Matão - SP	7,659 ± 6,787	0,4610 ± 0,0278	289,4704 ± 58,877

"b" é a declividade da curva, "d" é o limite superior da curva e "e" a dose que proporciona 50% de resposta da variável.

O fator de resistência varia em função do biótipo estudado, em função do tempo em que o processo de seleção de resistência esta instalado na área, e da espécie de planta daninha avaliada (DUKE; POWLES, 2008). Para o capim-amargoso (*Digitaria insularis*) os fatores de resistência encontrados em trabalhos similares a este são considerados baixos, ficando entre 5,6 (CARVALHO, 2011) e 8,0 (CHRISTOFFOLETI et al., 2009). Em trabalhos conduzidos com a planta daninha buva, fatores de resistência acima de 10 foram encontrados com freqüência (VARGAS et al., 2007; LAMEGO;

VIDAL, 2008; LAZAROTO et al., 2008). Para Moreira et al. (2007) o fator de resistência acima de 15 foi observado para trabalhos com as plantas daninhas *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*.

No estádio de 2 a 3 perfilhos foram obtidos valores de FR bastante próximos do estádio de seedlings, exceto para o GR_{90} que foi mais elevado para o estádio de 2 a 3 perfilhos (tabela 1.3). No entanto, verifica-se que de uma maneira geral todas as doses de glyphosate no estádio de 2 a 3 folhas foram maiores que no estádio de seedlings (tabela 1.1), inclusive para o biótipo suscetível. Isto denota a dependência grande da dose de glyphosate em função do estádio desenvolvimento para controle do capim amargoso.

Através da figura 1.3 verifica-se que mesmo nas doses mais elevadas de glyphosate (dose máxima utilizada no ensaio 11.520 g e.a. ha^{-1}) não foi possível atingir 100% de controle no biótipo resistente. Porém, no estádio de seedling o controle de 100% no biótipo resistente foi conseguido nas doses mais altas (figura 1.1). Mesmos resultados foram obtidos para a biomassa, figura 1.4, em que em nenhum tratamento do biótipo resistente conseguiu-se eliminar completamente a biomassa da planta daninha, reforçando a conclusão de que o controle do capim amargoso é dependente do estádio fenológico, independente da resistência. Na tabela 1.4 estão apresentados os parâmetros do modelo, com seus respectivos desvios padrão.

Na prática esta informação reveste-se de grande importância para o produtor, principalmente na cultura de citrus. É prática usual manejar as plantas daninhas em citrus em estádios mais tardios de crescimento, e isto tem proporcionado dificuldades de controle, principalmente quando doses inadequadas são utilizadas.

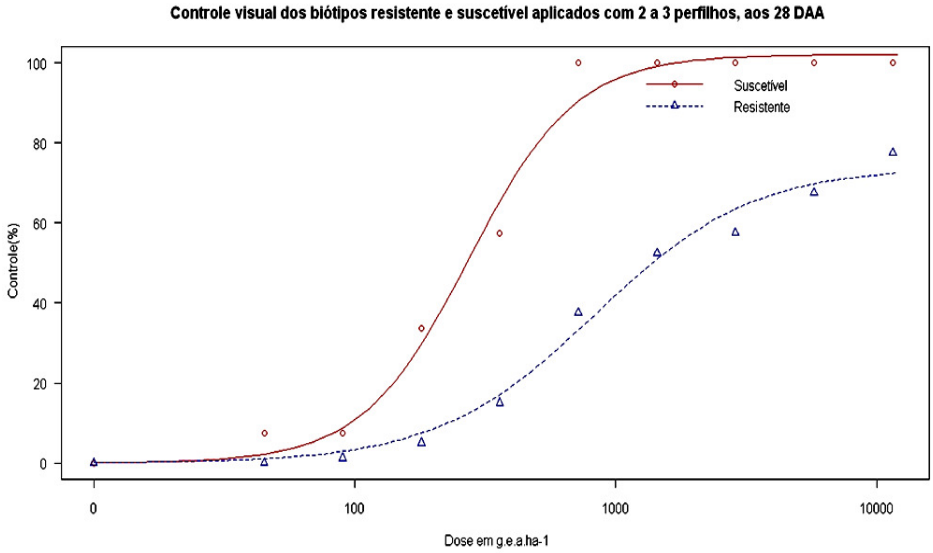

Figura 1.3 - Curva de dose-resposta para a avaliação visual de controle (C) dos biótipos suscetível e resistente de capim amargoso, 28 dias após a aplicação (DAA) de glyphosate, no estádio de 2 a 3 perfilhos

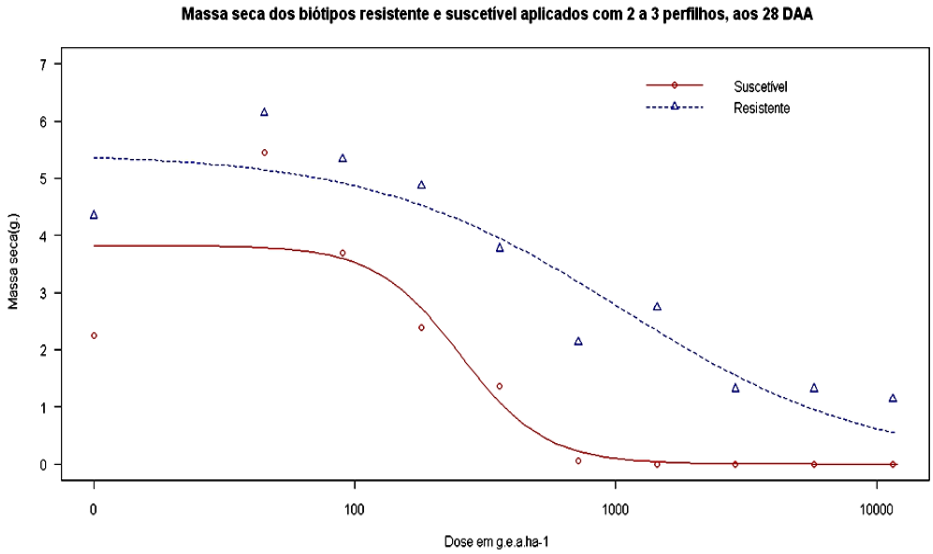

Figura 1.4 – Curva de dose-resposta para a avaliação de massa seca (GR) dos biótipos suscetível e resistente ao glyphosate de capim amargoso, aos 28 dias após a aplicação (DAA) de glyphosate no estádio de 2 a 3 perfilhos

Tabela 1.3 - Doses de glyphosate(g e.a. ha^{-1}) necessárias para controlar (C) ou reduzir a massa seca (GR) de 50 e 90% de ambos biótipos, baseando-se nas testemunhas, determinando o fator de resistência (FR) no estádio de 2 a 3 perfilhos

Biótipo	**C[1]**		**GR[1]**	
	Controle visual		**Massa seca**	
	50	**90**	**50**	**90**
Resistente (R)	831,71	3830,29	1051,64	11769,50
Suscetível (S)	274,04	771,83	253,31	577,05
FR(R/S)[2]	3,03	4,96	4,15	20,39

[1] – Dose para controlar (C) ou reduzir a massa seca (GR) de 50 ou 90 %, baseando-se na testemunha; [2] – Fator de Resistência (FR) para o C ou GR_{50}% e C ou GR_{90}%. R = biótipo resistente proveniente do município de Matão – SP, e S biótipo susceptível proveniente do município de Piracicaba - SP.

Tabela 1.4 - Parâmetros estimados para as curvas dos biótipos resistente e suscetível aplicados no estádio de 2 a 3 perfilhos (SE = desvio padrão)

Parâmetros estimados baseados na regressão não linear				
		b ± SE	**d ± SE**	**e ± SE**
Controle visual (C)	**Suscetível (S)**	-2,121 ± 0,235	102,094 ± 2,197	274,036 ± 17,780
	Resistente (R)	-1,438 ± 0,266	74,052 ± 4,729	831,707 ± 143,963
		b ± SE	**d ± SE**	**e ± SE**
Massa seca (GR)	**Suscetível (S)**	2,668 ± 0,972	3,822 ± 0,410	253,310 ± 63,551
	Resistente (R)	0,909 ± 0,202	5,438 ± 0,433	1051,638 ± 362,021

"b" é a declividade da curva, "d" é o limite superior da curva e "e" a dose que proporciona 50% de resposta da variável.

Na tabela 1.5 observa-se o mesmo fênomeno apontado no etádio de 2 a 3 perfilhos, ou seja os valores de FR são semelhantes aos do estádio anterior, porém a dificuldade de controle é bem maior para o estádio de pré-florescimento tanto para o biótipo resistente quanto para o biótipo suscetível. Observa-se na figura 1.5 que os valores máximos de controle para o biótipo resistente foi de 60% mesmo na dose mais elevada utilizada, e que o biótipo suscetível somente foi controlada em 100% nas doses de 2.880 g e.a. ha^{-1}.

Um fato interessante foi de que para a biomassa os valores foram elevados para todas as doses, tanto para o biótipo resistente quanto para o suscetível. Na tabela 1.6 estão representados os parâmetros do modelo.

O controle do capim amargoso proveniente de rebrota é ainda mais difícil de ser executado pelo glyphosate, pois como pode ser observando na tabela 1.7, as doses necessárias para atingir controle de 50%, ou redução do crescimento em 50%, foram elevadas e diferenciadas para os biótipos, gerando valores de fator de resistência (FR) mais elevados que para os demais estádios estudados. O FR para controle de 90% e GR de 90% foi superior a 25, evidenciando que a planta daninha torna-se mais resistente ao glyphosate a medida que sofre o processo de perenização. Os gráficos das figuras 1.7 e 1.8 também evidenciam este fenômeno. Na tabela 1.8 estão os parâmetros do modelo com seus respectivos valores de desvio padrão.

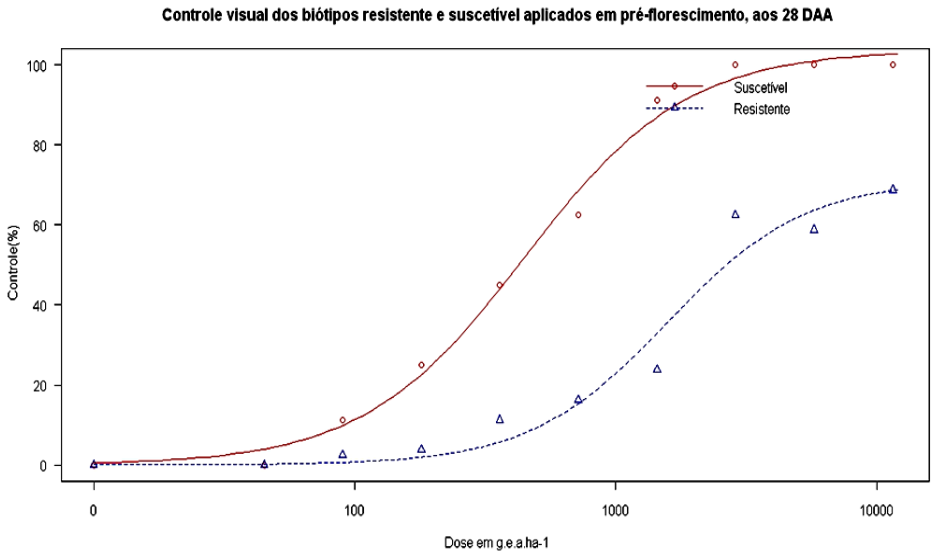

Figura 1.5 - Curva de dose-resposta para a avaliação visual do controle (C) dos biótipos suscetível e resistente, 28 dias após a aplicação (DAA) de glyphosate no estádio de pré-florescimento

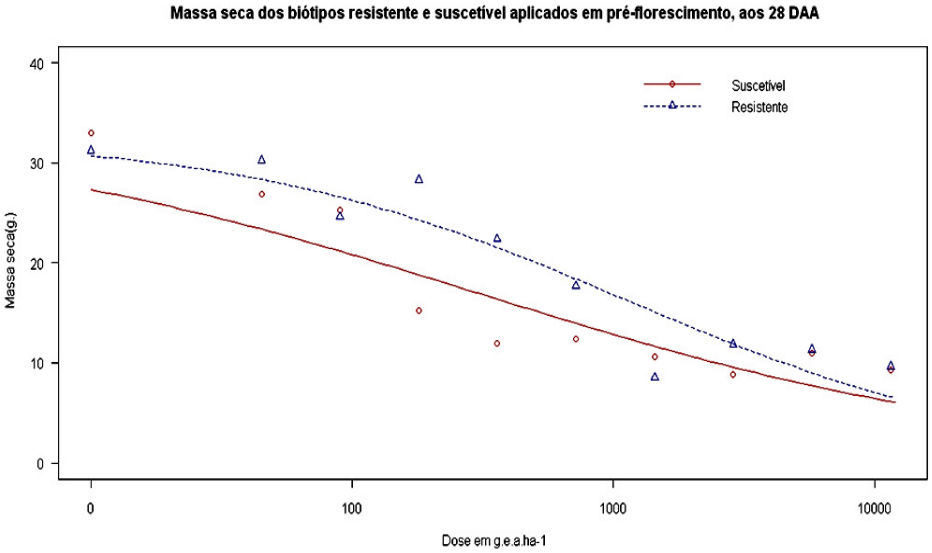

Figura 1.6 – Curva de dose-resposta para a avaliação de massa (GR) seca dos biótipos suscetível e resistente, 28 dias após a aplicação (DAA) de glyphosate no estádio de pré-florescimento

Tabela 1.5 - Doses de glyphosate(g e.a. ha^{-1}) necessárias para controlar (C) ou reduzir a massa seca (GR) de 50 e 90% de ambos biótipos, baseando-se nas testemunhas, determinando o fator de resistência (FR) no estádio de pré-florescimento

Biótipo	**GR[1]**		**GR[1]**	
	Controle visual		**Massa seca**	
	50	**90**	**50**	**90**
Resistente (R)	1579,79	5995,8	1117,40	-[3]
Suscetível (S)	447,52	2140,8	303,95	-[3]
FR(R/S)[2]	3,53	2,80	3,67	-[3]

[1] – Dose para controlar (C) ou reduzir a massa seca (GR) de 50 ou 90 %, baseando-se na testemunha; [2] – Fator de Resistência para o GR_{50}% e GR_{50}%. R = biótipo proveniente de Matão e S biótipo proveniente de Piracicaba. [3] - O GR_{90} dos biótipos não foi possível de ser obtido, pois a dose máxima utilizada nos tratamento não controlou 90% dos dois biótipos.

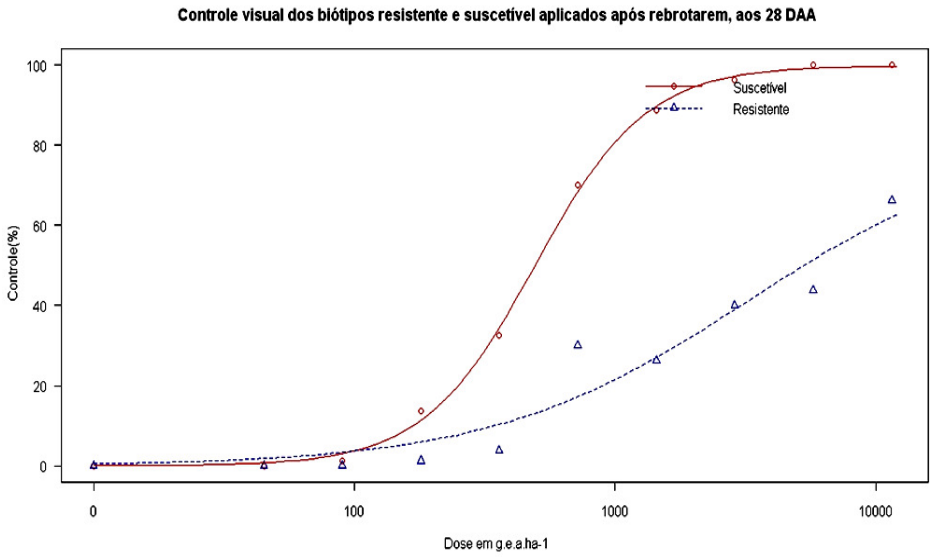

Figura 1.7 - Curva de dose-resposta para a avaliação visual dos biótipos suscetível e resistente, 28 dias após a aplicação de glyphosate após rebrotarem até altura de 40 cm

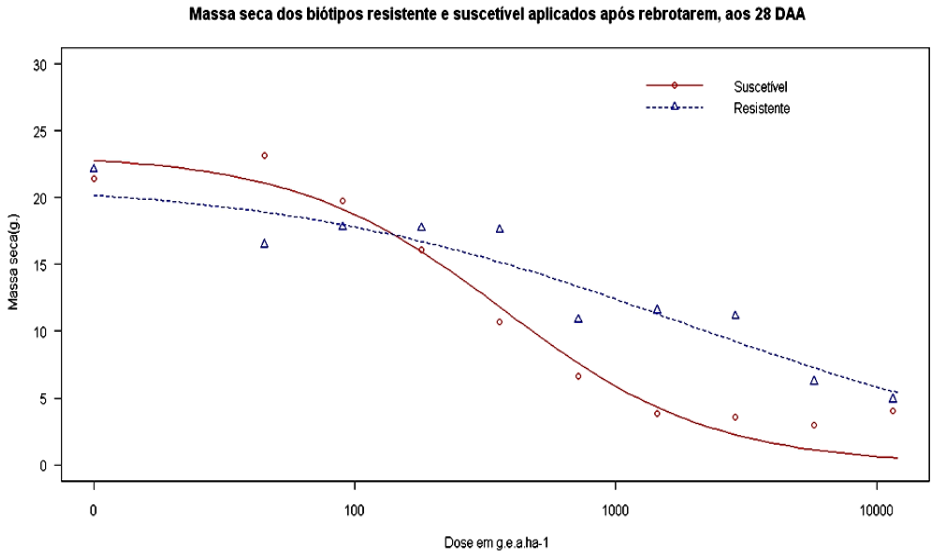

Figura 1.8 – Curva de dose-resposta para a avaliação de massa seca dos biótipos suscetível e resistente, 28 dias após a aplicação de glyphosate após rebrotarem até uma altura de 40 cm

Tabela 1.6 - Parâmetros estimados para as curvas dos biótipos resistente e suscetível aplicados no estádio de pré-florescimento (SE = desvio padrão)

		Parâmetros estimados baseados na regressão não linear		
		b ± SE	d ± SE	e ± SE
Controle visual (C)	Suscetivel (S)	-1,403 ± 0,134	103,768 ± 2,947	447,519 ± 39,3301
	Resistente (R)	-1,647 ± 0,363	71,201 ± 4,879	1579,786 ± 215,679
		b ± SE	d ± SE	e ± SE
Massa seca (GR)	Suscetível (S)	0,415 ± 0,0952	33,9 ± 3,0168	303,95 ± 171,61
	Resistente (R)	0,586 ± 0,129	32,646 ± 2,717	1117,4 ± 485,40

"b" é a declividade da curva, "d" é o limite superior da curva e "e" a dose que proporciona 50% de resposta da variável.

Tabela 1.7 - Doses de glyphosate(g.e.a.ha^{-1}) necessárias para controlar (C) ou reduzir a massa seca (GR) de 50 e 90% de ambos biótipos, baseando-se nas testemunhas, determinando o fator de resistência após rebrotarem até uma altura de 40 cm

Biótipo	**GR[1] Controle visual**		**GR[1] Massa seca**	
	50	**90**	**50**	**90**
Resistente	3241,67	38937,6*	1819,72	87522,8*
Suscetível	492,81	1445,1	371,87	2792,3
FR(R/S)[2]	6,57	26,94	4,89	31,34

[1] – Dose para controlar ou reduzir a massa seca de 50 ou 90 %, baseando-se na testemunha; [2] – Fator de Resistência para o GR_{50}% e GR_{90}%; * - Valores estimados fora da curva (com alta variação).

Tabela 1.8 - Parâmetros estimados para as curvas dos biótipos resistente e suscetível aplicados no estádio de pré-florescimento (SE = desvio padrão)

Parâmetros estimados baseados na regressão não linear				
		b ± SE	**d ± SE**	**e ± SE**
Controle visual (C)	**Suscetível (S)**	-2,042 ± 0,235	99,829 ± 2,443	492,812 ± 32,236
	Resistente (R)	-0,883 ± 0,190	82,267 ± 20,664	3241,671 ± 2218,999
		b ± SE	**d ± SE**	**e ± SE**
Massa seca (GR)	**Suscetível (S)**	1,089 ± 0,262	23,216 ± 1,823	371,872 ± 96,091
	Resistente (R)	0,56729 ± 0,179	21,236 ± 2,253	1819,717 ± 993,033

"b" é a declividade da curva, "d" é o limite superior da curva e "e" a dose que proporciona 50% de resposta da variável.

Usando a equação caracterizada pelas curvas mostradas nas figuras numeradas entre 1.1 e 1.9, podemos definir o fator R/S. O fator R/S corresponde à divisão do GR50 do biótipo resistente pelo GR50 do biótipo suscetível (CHRISTOFFOLETI, 2008). A resistência é confirmada quando fator R/S > 1,0 (SAARI et al., 1994). Dessa forma ao comparar as populações de *Digitaria insularis* nos diferentes estádios de desenvolvimento obteve-se os fatores R/S expostos nas tabelas de 1.1 a 1.5, que mostram claramente uma razão R/S maior que 1.

Para Rodrigues e Almeida (2011), as doses recomendadas para capim-amargoso (*Digitaria insularis*) oscilam entre 540 e 1.440 g.e.a.ha^{-1}. Todavia a população de Matão apresenta doses de controle aceitáveis (GR 90) variando em média de 2.700 à 6.000 g e.a ha^{-1}, enquanto que a população de Piracicaba mostra um eficiente controle com doses variando em média, de 450 a 2.140 g e.a ha^{-1} de acordo com os diferentes estádios de desenvolvimento.

Bioensaio com chiquimato

O experimento "in vivo" com discos foliares também apresentou diferença entre os biótipos de Matão e Piracicaba, expondo um fator de resistência de 3,33 (tabela 1.9) baseando-se no GR_{50}, ao avaliar o acúmulo de shikimato na solução dos discos foliares comprovando ser esta metodologia viável para a determinação de resistência ao glyphosate (CHRISTOFFOLETI et al. 2010). Os resultados repetiram os encontrados na

fase de seedlings (tabela 1.1) comprovando a viabilidade de uso desta metodologia como forma de detecção rápida da resistência da planta daninha capim amargoso ao glyphosate.

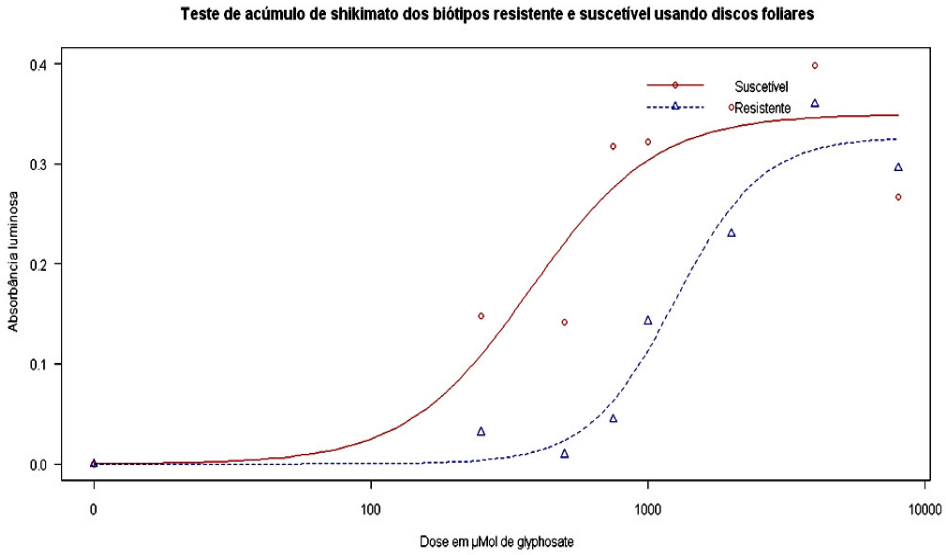

Figura 1.9 – Curva de dose-resposta para o ensaio de disco foliar "in vivo" relacionando a dose de glyphosate em µL e absorbância devido a quantidade de chiquimato

Tabela 1.9 – Doses de glyphosate(µM) necessárias para acumular 50 e 90% de shikimato e fator de resistência comparando ambas populações

Biótipo	**GR[1]**	
	50	**90**
Resistente (R)	1253,31	2767,3
Suscetível (S)	376,79	1176,5
FR(R/S)[2]	3,33	2,35

[1] – Dose para acúmulo de 50 ou 90 % do máximo de shikimato na curva; [2] – Fator de Resistência para o GR_{50}% e GR_{90}%.

Tabela 1.10 - Parâmetros estimados para as curvas dos biótipos resistente e suscetível através da medida de chiquimato pelo bioensaio (SE = desvio padrão)

Parâmetros estimados baseados na regressão não linear				
		b ± SE	**d ± SE**	**e ± SE**
Absorbância	**Piracicaba - SP**	-1,929 ± 0,742	0,349 ± 0,030	376,785 ± 96,909
	Matão - SP	-2,773 ± 1,174	0,326 ± 0,042	1253,314 ± 290,191

2.4 Conclusões

Nas condições em que esta pesquisa foi desenvolvida é possível concluir que: (i) o biótipo de planta daninha capim amargoso estudado nesta pesquisa é comprovadamente resistente ao herbicida glyphosate; (ii) o estádio fenológico do capim amargoso afeta a eficácia do glyphosate tanto no biótipo resistente quanto suscetível; (iii) após rebrota do capim amargoso, em uma planta perenizada, o nível de resitência é significativamente maior que nas fases iniciais de desenvolvimento da planta daninha; (iv) o método de detecção de acúmulo de chiquimato resulta em fator de resistência semelhante ao fator de resistência obtido através de curvas de dose-resposta em fases inciais de desenvolvimento.

Referências

BECKIE, H.J.;HEAP, I.M.;SMEDA, R.J.; Hall, L.M.Screening for herbicide resistance in weeds. **Weed Technology.** v. 14, p. 428–445, 2000.

CAMPOS, L.H.F; FRANCISCO, M.O.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Suscetibilidade de *Ipomoea quamoclit*, *I. triloba* e *Merremia cissoides* aos herbicidas sulfentrazone e amicarbazone. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. 4, p. 831-840, 2009.

CARVALHO, L.B. **Interferência de *Digitaria insularis* em Coffea arabica e respostas destas espécies ao glyphosate.** 118p. 2011. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2011.

CHRISTOFFOLETI, P.J. Curvas de dose-resposta de biótipos resistente e suscetível de *Bidens pilosa* L. aos herbicidas inibidores da ALS. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n.3, p.513-519, 2002.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Definições e situação da resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil e no Mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.) **Aspectos da resistência de plantas daninhas a herbicidas.** 2 ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas (HRAC-BR)2004.), p. 3-22.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LOPEZ-OVEJERO, R.F.; NICOLAI, M.; VARGAS, L.; CARVALHO, S.J.P.; CATANEO, A.C.; CARVALHO, J.C.; MOREIRA, M.S. **Aspectos da resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3 ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas (HRAC-BR), 2008. 120 p.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; MOREIRA, M.S.; LOPEZ-OVEJERO, R.F.; CARDINALI, V.C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da EPSPs. In**:** VELINI, E.D.; MESCHEDE, D.K.; CARBONARI, C.A.; TRINDADE M.L.B. (Coord.) **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. p 309-356.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M.; DIAS, A.C.R.; MELO, M.S.C.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F; GALLI, A.J. Avaliação da suspeita de resistência de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) ao herbicida glyphosate em pomares cítricos no Estado de São Paulo - Brasil. In**: CONGRESSO DA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MALHERBOLOGIA, 22., ;CONGRESSO DA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE MALEZAS, 19.;CONGRESS IBEROAMERICANO DE CIÊNCIA DE LAS MALEZAS**, 2., 2009. Lisboa.**Resumos...**Lisboa: Fundação Calouste Glubenkian, 2009.p 533-536.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; VASSIOS, J.; NICOLAI, M.; NISSEN, S.; WESTRA, P.; MELO, M.S.C.; SHANER, D.; PRESTON, C.; CARDINALLI, V.C.B. Bioensaio de determinação do acúmulo do shiquimato “in vivo” através de discos foliares em plantas resistentes e suscetíveis de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) ao glyphosate. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS,27., 2010. Ribeirão Preto, **Resumos expandidos...** Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. p. 3111-3115.

CORREIA, N.M.; LEITE, G.J.; GARCIA, L.D. Resposta de diferentes populações de Digitaria insularis ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 28, n. 4, p. 769-776, 2010.

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

ESCORIAL, M.C.; SIXTO, H.; GRACIA-BAUDIN, J.M.; CHUECA, M.C. A rapid method to determine cereal plant response to glyphosate. **Weed Technology.** Lakewood , v. 15, p. 697–702, 2001.

GALLI, A.J.B.; MONTEZUMA, M.C. **Alguns aspectos do herbicida glifosato na agricultura**. Santo André:Editora ACADCOM, Publicação Monsanto do Brasil, 2005. jan. p.66.

HALL, L.M.; STROME, K.M.; HORSMAN, G.P. Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false clover (*Gallium spurium*). **Weed Science**, Lakewood, v.46, p.390-396, 1998.

HEAP, I. The international survey of herbicide resistant weeds. Disponível em: **www.weedscience.com**. Acesso em: 25 Out. 2011.

KISSMANN, K.G. ; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. São Paulo: BASF, 1997. v.1 p. 675-678,

KNEZEVIC, S.Z.; STREIBIG, J.C.; RITZ, C.; Utilizing R software package for dose response studies: the concept and data analysis. **Weed Technology**, Lakewood, v. 21, p.840–848, 2007.

KOGER, C.H.;SHANER, D.L.; HENRY, W.B.; NADLER-HASSAR, R.; THOMAS, W.E.; WILCUT, J. W. Assessment of two nondestructive assays for detecting glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science.** Lakewood, v. 53, p. 559-566, 2005.

LAMEGO, F.P.; VIDAL, R.A. Resistência ao glyphosate em biótipos de Conyza bonariensis e C. canadensis no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 26, n. 2, p. 467-471, 2008.

LAZAROTO, C.A.; FLECK, N.G.; VIDAL, R.A. Biologia e ecofisiologia de buva (Conyza bonariensis e Conyza canadensis). **Ciência Rural**, cidade, v.38, n.3, p. 852-860, 2008.

LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas:** plantio direto e convencional. 6 ed. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 2006. 339p.

MAIN, C.L.;PANTALONE, V.R.;MUELLER, T.C. A novel approach to determine the glyphosate tolerant trait in soybeans. **Journal of Agriculture and Food Chemistry.** Columbus, v. 52, p. 1224–1227, 2004.

MOREIRA, M.S.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v.25, n.1, p.157, 164, 2007.

NICOLAI, M.; MELO, M.S.C.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Monitoramento de infestações de populações de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suspeitas de resistência ao glifosato. In: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas,27., 2010. Ribeirão Preto. **Resumos expandidos...** Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. p. 943-946.

PEREZ, A.;KOGAN, M. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. **Weed Research.** Malden, v. 43, p. 12–19, 2003.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas.** 6.ed. Londrina, 2011. p. 324-354.

SAARI, L.L.; COTTERMAN, J.C.; THILL, D.C. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In: POWLES, S.B.; HOLTUM, J.A.M. **Herbicide resistance in plants:** Biology and biochemistry. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 353.

SHANER, D.L.; NADLER-HASSAR, T.; BRIEN HENRY, W.;KOGER C. H. (2005) A rapid in vivo shikimate accumulation assay with excised leaf discs. **Weed Science**, Lakewood, v.53, n. 6, p. 769-774, 2005.

VARGAS, L.; BIANCHI, M.A.; RIZZARDI, M.A.; AGOSTINETTO, D.; DAL MAGRO, T. Buva (*Conyza bonariensis*) resistente ao glyphosate na região sul do Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 3, p. 573-578, 2007.

3 ALTERNATIVAS DE CONTROLE QUÍMICO PARA CAPIM-AMARGOSO (*Digitaria insularis*) RESISTENTE AO GLYPHOSATE

Resumo

As áreas de citrus infestadas pela planta daninha capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao herbicida glyphosate possuem poucas alternativas para manejo químico desta planta daninha em função dos poucos produtos registrados, bem como por a principal estratégia de manejo ser o uso de pós-emergentes dirigidos as entrelinhas da cultura. Dessa forma torna-se pertinente a investigação de outros herbicidas pós-emergentes, a serem utilizados em associação ao glyphosate, para o controle eficiente do biótipo resistente ao glyphosate de capim-amargoso (*Digitaria insularis*), em pós-emergência desta planta daninha. O experimento foi desenvolvido no município de Matão, Estado de São Paulo, em área da fazenda Cambuhy, durante os meses de setembro a outubro de 2009, em áreas que apresentavam biótipos de *D. insularis* resistentes ao glyphosate. A aplicação aconteceu quando as plantas de capim-amargoso estavam no estádio de 3 a 5 perfilhos e com diferentes herbicidas em associação ao glyphosate. Realizou-se avaliação percentual de controle aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA), onde 0 representava ausência total de sintomas e 100 morte da planta e a coleta e pesagem da massa seca. Os tratamentos que obtiveram melhores resultados foram glyphosate em associação com clethodim, complementado por paraquat + diuron 7 dias após a aplicação do glyphosate + clethodim e glyphosate em associação com clethodim complementado por amônio-glufosinato 7 dias após a aplicação do glyphosate + clethodim. Ainda, os tratamentos glyphosate associado a haloxyfop-methyl, glyphosate associado a fenoxaprop-p-ethyl + clethodim e glyphosate associado a tepraloxydim mostraram excelente desempenho, mesmo trabalhando em única aplicação.

Palavras-chave: Resistência; Herbicidas; Associações; Graminicidas

Abstract

The areas of citrus infested by the weed sourgrass (*Digitaria insularis*) resistant to glyphosate have few alternatives to chemical management of this weed as a function of the few registered products as well as the main management strategy is the use of post-emergent directed between the lines of the crop. Thus it is pertinent to investigate other postemergence herbicides, to be used in combination with glyphosate, for the efficient control of glyphosate-resistant biotype of sourgrass (*Digitaria insularis*), post-emergence of this weed. The experiment was conducted in Matão county, State of Sao Paulo during the months September-October 2009 in areas that had biotypes of *D. insularis* resistant to glyphosate. The application was when the plants of sourgrass were in the stadium from 3 to 5 tillers and in association with different herbicides to glyphosate. Assessment was performed with control percentage at 7, 14, 21 and 28 days after

application (DAA), where 0 represented no symptoms at all and 100 death of the plant and the collection and weighing of the dry mass. The treatments have worked best in combination with glyphosate were clethodim, paraquat + diuron complemented by 7 days after application of glyphosate and glyphosate + clethodim in association with ammonium-supplemented by clethodim glufosinato7 days after application of glyphosate + clethodim. Still, the glyphosate treatments associated with haloxyfop-methyl, glyphosate associated with fenoxaprop-p-ethyl and glyphosate + clethodim associated with tepraloxydim showed excellent performance, even working in one application.

Keywords: *Digitaria insularis*; Resistance; Glyphosate;Alternative control; Mixtures

3.1 Introdução

Atualmente, o glyphosate é um dos herbicidas de maior importância mundial, sendo utilizado por muitos anos no controle de plantas daninhas anuais ou perenes em diversos sistemas de produção (FAIRCLOTH et al., 2001; BLACKSHAW e HARKER, 2002). O grande sistema de uso do glyphosate na agricultura é a aplicação em culturas geneticamente modificadas para tolerância ao produto, as quais apresentam alto custo para aquisição das sementes. Entretanto, o agricultor é beneficiado por poder utilizar um produto de amplo espectro de controle, ajustável à diferentes estádios de desenvolvimento das espécies alvo, baixa volatilidade (WEBSTER; SOSNOSKIE, 2010) e que está classificado entre os menos tóxicos para animais (DUKE; POWLES, 2008). Todavia, estas características relacionadas ao glyphosate e às culturas tolerantes ao mesmo, fez com que aumentasse sua utilização o que também pode contribuir significativamente para a seleção de biótipos resistentes em espécies de plantas daninhas (KOGER; REDDY, 2005).

Em áreas ocupadas por culturas perenes como café, eucalipto e citrus a principal estratégia de manejo de plantas daninhas é o uso do glyphosate, no inicio em aplicações de manejo para área total e depois de forma dirigida, sem que o produto entre em contato com as plantas da cultura (WERLANG et al., 2002; GALLI; MONTEZUMA, 2005; FERREIRA et al., 2010). Com relação a cultura de citrus, basicamente áreas produtoras de laranja do Estado de São Paulo, o uso do glyphosate é generalizado e dividido em três a quatro aplicações anuais, em doses entre 720 e

1440 gramas de equivalente acido por hectare (g e.a. ha^{-1}) (PITELLI, 2004; MATHEIS et al., 2006, PINOTTI et al., 2009).

Em função da estratégia de manejo adotada, a pressão de seleção de biótipos resistentes ao herbicida glyphosate é muita alta em áreas exploradas com a cultura de citrus (CARVALHO; VARGAS, 2008; CHRISTOFFOLETI et al., 2009a). A resistência de plantas daninhas a herbicidas é definida como a capacidade natural e herdável de determinados biótipos, dentro de uma população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição a doses de herbicidas que seriam letais a indivíduos normais (suscetíveis) da mesma espécie (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008). A resistência de plantas daninhas aos herbicidas é um fenômeno natural que ocorre espontaneamente em suas populações, não sendo, portanto, o herbicida o agente causador, mas sim selecionador dos indivíduos resistentes que se encontram em baixa freqüência inicial (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008; DUKE; POWLES, 2008; CARVALHO, 2011).

O primeiro caso relatado sobre o surgimento de um biótipo de *Digitaria insularis* (capim-amargoso) resistente ao glyphosate, veio do Paraguai, no ano de 2006 (HEAP, 2011). O capim-amargoso já era considerado uma planta de difícil controle pelo herbicida glyphosate (LORENZI, 2006). O fato de ser uma planta que se pereniza nas áreas agrícolas, produz alta quantidade de sementes, tem um rápido desenvolvimento vegetativo inicial e não é palatável ao gado (LORENZI, 2008), associado ao fato de as doses do glyphosate terem de aumentar em função do estádio de desenvolvimento desta planta daninha era um indicativo do risco de esta planta desenvolver resistência ao glyphosate (DUKE; POWLES, 2008; POWLES; YU, 2010).

A intensa utilização de glyphosate nas áreas citrícolas do Estado de São Paulo favorece o aumento da pressão de seleção que, aliado à boa adaptabilidade ecológica das espécies de capim-amargoso (*Digitaria insularis*), contribuem para a seleção de biótipos resistentes dessa espécie. Quando a resistência já se instalou em uma área ou região, como constatado por vários autores (NICOLAI et al., 2010; ADEGAS et al., 2010a; CARVALHO et al., 2011) o estudo sobre as alternativas de controle torna-se vital para garantia do sucesso do manejo de plantas daninhas.

A reintrodução e manutenção de diferentes estratégias de manejo, como herbicidas alternativos para o controle de plantas daninhas serão necessárias para impedir ou retardar o surgimento de biótipos resistentes e preservar o glyphosate como uma ferramenta de manejo (POWLES, 2008).

O uso de herbicidas alternativos em associação com o glyphosate para aumento do numero de plantas daninhas controladas em uma mesma aplicação é tradicionalmente realizada em outras culturas como a soja e algodão (BARROS, 2001; CARVALHO et al., 2002). Adegas et al. (2010b) estudaram o controle de capim-amargoso na cultura da soja com o uso de herbicidas pós-emergentes alternativos ao glyphosate, e constataram que na fase inicial de desenvolvimento do capim-amargoso os herbicidas clethodim, fluazifop-p-buthyl, fenoxaprop-p-ethyl, tepraloxydim, clethodim+fenoxaprop-p-ethyl, paraquat, haloxyfop-methyl e imazapyr resultaram em controle eficiente e em estádio mais avançado de desenvolvimento, o grupo de tratamentos mais eficiente foi formado por clethodim, fluazifop-p-buthyl, tepraloxydim, haloxyfop-methyl e paraquat.

Este trabalho teve como objetivo encontrar herbicidas alternativos para o controle do biótipo resistente de capim-amargoso (*Digitaria insularis*), quando utilizados em associação ao glyphosate, na pós-emergência dirigida as entrelinhas da cultura de citrus.

3.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no município de Matão, Estado de São Paulo, em área da fazenda Cambuhy, durante os meses de setembro a outubro de 2010, em áreas que apresentavam biótipos de capim-amargoso resistente ao glyphosate. A área utilizada é comercial, com 2 anos de transplantada, utilizando-se a variedade de laranja para mesa e suco, Pêra Valência. Durante o período do ensaio foram realizados os tratamentos fitossanitários e nutricionais normalmente utilizados na fazenda, com exceção do uso de herbicidas e roçagem. Ainda, a área em que o ensaio foi instalado é manejada apenas com glyphosate, desde o transplante das mudas na área.

O delineamento estatístico utilizado foi de blocos ao acaso com quatro repetições. Com 12 tratamentos herbicida e uma testemunha sem capina, o ensaio teve 52 parcelas fundamentadas em 2 linhas da cultura, com 10 metros de comprimento, totalizando 70 m^2 de área total. Em cada unidade experimental havia por 6 plantas da cultura de citros. Os tratamentos herbicidas foram aplicados através de pulverizador costal pressurizado por CO_2, trabalhando a pressão de 30 psi, regulado para uma vazão de 200 L ha^{-1}. A barra de aplicação possuía 4 bicos de aplicação equipados com pontas de pulverização do tipo “leque” XR110:02 VS.

Para evitar que alguns tratamentos fossem beneficiados ou prejudicados pela maior ou menor proporção de plantas daninhas na área, 60 dias antes da aplicação dos tratamentos foi realizada uma roçagem nas entrelinhas da cultura de citros e 30 dias antes da aplicação dos tratamentos herbicidas deste experimento, aplicou-se glyphosate de forma dirigida as entrelinhas, na dose de 1440 g e.a. ha^{-1}, fazendo com que apenas as plantas resistentes tivessem maiores oportunidade de desenvolvimento.

A aplicação foi realizada quando as plantas de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) apresentavam de 3 a 5 perfilhos, com 30 a 40 cm de altura e infestação mensurada em 23 plantas de capim-amargoso por metro quadrado, no estádio citado. Foram utilizados os seguintes tratamentos herbicidas, em gramas de ingrediente ativo (g i.a. ha^{-1}) ou equivalente acido (g e.a. ha^{-1}) por hectare: glyphosate (1440), glyphosate (1440) associado a clethodim (108), glyphosate (1440) associado a sethoxydim (230), glyphosate (1440) associado a haloxyfop-methyl (60), glyphosate (1440) associado a fluazifop-p-butyl (125), glyphosate (1440) associado a fenoxaprop-p-ethyl + clethodim (50 + 50), glyphosate (1440) associado a tepraloxydim (100); paraquat + diuron (400 + 200); amônio-glufosinato (600); clethodim (108); glyphosate (1440) associado a clethodim (108) seguido por paraquat + diuron (400 + 200) 7 dias após, glyphosate (1440) associado a clethodim (108) seguido por amônio-glufosinato (600) 7 dias após.

Após a aplicação dos tratamentos herbicidas foi realizada avaliação percentual visual de controle aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA), onde 0 representava ausência total de sintomas e 100 morte da planta, conforme metodologia proposta por Velini (1995). Com relação a avaliação de fitotoxicidade para cultura de citrus, ocorreram avaliações nas mesmas datas já citadas para o controle, de forma visual,

utlizando a escala EWRC (EWRC, 1964). Aos 28 DAA foram coletas 4 plantas por parcela para mensuração de massa seca.

Para analise estatística, os dados apresentados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 10% de probabilidade (BANZATTO, KRONKA, 1988).

3.3 Resultados e Discussão

Na tabela 3.1 estão representados as médias de controle da planta daninha capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glyphosate, obtidos pela observação dos sintomas oriundos da aplicação dos tratamentos herbicidas descritos no material e métodos. A primeira comprovação que se faz necessário observar é a de que as plantas de capim-amargoso da área eram comprovadamente resistentes ao herbicida glyphosate, visto que o tratamento de glyphosate isolado a 1440 g e.a ha^{-1} mostrou médias de controle bastante abaixo das dos demais tratamentos herbicidas viáveis, chegando aos 28 DAT com médias de controle avaliadas em 65% e com dados de produção de matéria seca bastante representativos. Para Rodrigues e Almeida (2011), a dose recomendada para o controle da planta daninha *D. insularis* pelos herbicidas registrados compostos pelo ingrediente ativo glyphosate (N-(phosphonomethyl) glycine) gira em torno de 720 a 1080 g e.a ha^{-1}. Ainda, para o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a média de controle que um herbicida deve promover para ser considerado viável e pleitear um registro junto ao órgão citado é de 80% (MAPA, 2011). Conforme preconizado por Frans et al. (1986), o controle de 80% médios de um herbicida sobre uma determinada planta daninha é o mínimo necessário para que esta não mais interfira sobre a cultura de interesse. Dessa forma, o escape da planta daninha *D. insularis* é legitimo e em função da dose recomendada já citada, tem-se um caso de resistência agronômica caracterizado. Para Heap (2011), se a planta daninha sobreviver a aplicação da dose comercial do herbicida e gerar descendentes férteis, tem-se um caso de resistência de plantas daninhas a herbicidas instalado.

Nicolai et al. (2010) realizando trabalhos de monitoramento de possíveis casos de resistência de *D. insularis* no Estado de São Paulo encontrou dois biótipos, oriundos da

mesma localidade, comprovadamente resistentes ao herbicida glyphosate, ainda em 2008. A Fazenda Cambuhy, por seu envolvimento no desenvolvimento de pesquisas voltadas ao manejo de plantas daninha em áreas citrícolas, tem vários trabalhos conduzidos em seus pomares, que chegaram a publicação, mostrando casos de plantas daninhas resistentes ao glyphosate (MOREIRA et al., 2007; NICOLAI et al., 2009; CARVALHO, 2011).

O tratamento herbicida de amônio-glufosinato a 600 g i.a. ha^{-1} também não foi viável para o controle da planta daninha *D. insularis*, já que chegou aos 28 DAT em situação muito similar a do tratamento de glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1}. Entretanto não se caracteriza um caso de resistência da planta daninha citado ao herbicida amônio-glufosinato, pois o mesmo não é recomendando para a espécie citada no estádio de desenvolvimento utilizado (ANDREI, 2009; MAPA, 2011, RODRIGUES ; ALMEIDA, 2011). Conforme citado por Nicolai e Christoffoleti (2008) e corroborado por Heap (2011), não existem caso de plantas daninhas resistentes ao amônio-glufosinato.

Com relação ao tratamento herbicida de paraquat + diuron a 400 + 200 g i.a. ha^{-1} observou-se um controle aceitável, porém abaixo daqueles considerados como melhores do ensaio e igual em produção de matéria seca aos tratamentos considerados inviáveis, glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} e amônio-glufosinato a 600 g i.a. ha^{-1}. Tal situação ocorre novamente em função do estádio de aplicação em que este tratamento atingiu as plantas de *D. insularis*. Para Kruse et al. (2000) o paraquat é um herbicida pertencente ao herbicidas do grupo dos bipiridilos que tem uma série de características inerentes, entre elas a de que são herbicidas não são seletivos, destruindo as partes verdes das plantas, mas permitindo eventual rebrotamento, pois não atuam sobre o sistema subterrâneo e tem baixa translocação em presença de luz.

Os graminicidas utilizados neste trabalho são os herbicidas pertencentes ao mecanismo de ação de inibição da enzima acetil coenzima A (ACCase) (LOPEZ-OVEJERO et al., 2006). Este mecanismo de ação congrega dois grupos químicos, os fenoxipropionatos, representados pelos herbicidas haloxyfop-methyl, fluazifop-p-butyl e fenoxaprop-p-ethyl e os ciclohexanodionas, com os herbicidas sethoxydim, tepraloxydim e clethodim. Este ultimo herbicida foi utilizado de forma isolada e gerou os piores resultados do ensaio. O uso do tratamento com clethodim a 108 g i.a. ha^{-1} gerou aos 28

DAA a pior média de controle do ensaio e foi o tratamento que mais produziu massa seca, depois da testemunha sema capina. Esse desempenho se deu pelo fato de que o estádio de aplicação utilizado é maior do que aquele recomendado para o controle de *D. insularis* (LOPEZ-OVEJERO et al., 2006; MAPA, 2011). Independentemente do controle de *D. insularis*, o graminicidas pertencentes ao mecanismo de ação de inibição da ACCase não tem ação sobre plantas dicotiledôneas, em função de que estas não possuem o sitio de ação no qual a ACCase se instala (HARWOOD, 1999). Isso faz com que o uso de um graminicida isolado seja recomendado apenas em áreas cuja infestação é composta exclusivamente por gramíneas, o que certamente é quase impossível em lavouras comerciais extensas e que ocupam diferentes localidades. A estratégia que se visualiza é a associação de graminicidas com o glyphosate.

O comportamento dos herbicidas amônio-glufosinato e paraquat mostram que o uso dos mesmos, apesar de recomendado para pomares cítricos (ANDREI, 2009; MAPA, 2011, RODRIGUES; ALMEIDA, 2011) não tem a mesma flexibilidade do glyphosate e exigem adequados momentos de aplicação e constantes monitoramento por parte do recomendante. Contudo é conhecido da literatura o uso destes herbicidas em aplicações seqüências ou em complementação a ação promovida pelo glyphosate. Ronchi et al. (2002) controlou plantas daninhas do gênero *Commelina*, sabidamente de difícil controle pelo glyphosate, através da aplicação seqüencial de paraquat e glyphosate + carfentrazone. Ferreira et al. (2010) avaliaram aplicações seqüenciais do herbicida amônio-glufosinato para o controle da planta daninha buva (*Conyza* spp) resistente ao glyphosate e observaram que o amônio-glufosinato complementou a ação de outros produtos como metribuzin, glyphosate e paraquat. Moreira et al. (2007) também aponta o amônio-glufosinato como alternativa de manejo em associação ao glyphosate e Vangessel (2001) corrobora ambas os trabalhos citados.

Voltando a associação entre graminicidas e o glyphosate, Vargas et al. (2005) utilizaram glyphosate e diferentes herbicidas inibidores da ACCase, de forma isolada e em aplicações seqüências, observando que há efeito da ação do glyphosate sobre a capacidade de controle dos graminicidas, tanto sobre biótipos suscetíveis, quanto sobre biótipos resistentes de *L. multiflorum*. Para Vargas et al. (2006) o clethodim é eficaz para o manejo de biótipos de *L. multiflorum* resistentes ao herbicida glyphosate, em

estádios de desenvolvimento até perfilhamento e Lingenfelter e Curran (2007) controlaram a planta daninha *M. Frondosa* com o uso de glyphosate e dos graminicidas quizalofop, fluazifop, sethoxydim e clethodim. Para o controle de *D. insularis* na cultura da soja, com o uso de herbicidas pós-emergentes alternativos ao glyphosate, os herbicidas clethodim, fluazifop-p-buthyl, fenoxaprop-p-ethyl, tepraloxydim, clethodim+fenoxaprop-p-ethyl e haloxyfop-methyl resultaram em controle eficiente em dois estádios de desenvolvimento, com doses mais concentradas que as usadas neste trabalho (ADEGAS et al., 2010b).

Os resultados do experimento para os tratamentos herbicidas em que graminicidas foram associados ao glyphosate mostraram que a prática é eficaz. Os tratamentos herbicidas de glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a sethoxydim a 230 g i.a ha^{-1}, glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a haloxyfop-methyl 60 g i.a ha^{-1}, glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a fluazifop-p-butyl a 125 g i.a ha^{-1}, glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a fenoxaprop + clethodim a 50 + 50 g i.a ha^{-1} e glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a tepraloxydim a 100 g i.a ha^{-1} mostram médias de controle acima de 95% e reduziram a massa seca a praticamente zero, mostrando mais uma vez a correlação direta obtida no ensaio entre as notas visuais de controle a avaliação quantitativa de massa seca. Vargas et al. (2005) também fazem essa observação de correlação entre avaliação visual e produção de matéria seca, inferindo também sobre os efeitos de interação entre os mecanismos de ação da inibição da ACCase e de inibição da EPSPs. Com relação a interação, observou-se para o tratamento de glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a clethodim a 108 g i.a ha^{-1} efeito sinérgico para o controle de *D. insularis* (COLBY, 1967). Diferentemente dos demais tratamentos envolvendo graminicidas, o clethodim é o único herbicida que foi aplicado de forma isolada e em associação ao glyphosate. Analisando os resultados do tratamento de glyphosate + clethodim, em comparação aos tratamentos isolados de clethodim e glyphosate, observou-se média de controle acima de 90% e redução de massa seca diferente daquele promovida pelos herbicidas isolados. Para Green e Streibig (1993) as médias de controle de dois produtos isolados, quando comparadas a da média de controle da associação indica efeito sinérgico entre os produtos, desde que a média de

controle da associação seja maior que a dos produtos isolados. Kruse (2002) identificou esse fenômeno entre os herbicidas inibidores da HPPD e do fotossistema II.

Ainda, quando se pratica a aplicação seqüencial de herbicidas em uma área agrícola, tem-se o ganho de se poder atingir mais de um fluxo de plantas daninhas (OLIVEIRA Jr et al., 2006). No caso dos resultados obtidos para os tratamentos de glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a clethodim a 108 g i.a ha^{-1} seguido por paraquat + diuron a 400 + 200 g i.a ha^{-1} 7 dias após e glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a clethodim a 108 g i.a ha^{-1} seguido por amônio-glufosinato a 600 g i.a ha^{-1} 7 dias após, além do ganho com relação ao possíveis novos fluxos, observou-se claramente o objetivo primário da aplicação seqüencial, que é o complemento do controle sobre a planta daninha. Estes tratamentos foram os melhores do ensaio, justamente pela complementação representada pelo paraquat + diuron e pelo amônio-glufosinato sobre glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a clethodim a 108 g i.a ha^{-1}.

Tabela 3.1 - Controle percentual de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) avaliado aos 14, 21, 28 e 35 dias após a aplicação dos tratamentos herbicidas (DAA), de forma visula. Matão, SP, 2009

Tratamentos	**Dose (g.e.a.ha^{-1}/ g.i.a.ha^{-1})**	**Avaliações de controle (%) Capim-amargoso (*Digitaria insularis*)**				
		14 DAA	**21 DAA**	**28 DAA**	**35 DAA**	**MF[4]**
1 - Testemunha	-	0,0 f	0,0 f	0,0 f	0,0 f	175,8 d
2 - gly [1]	1440	61,3 d	63,8 d	67,5 d	65,0 d	56,8 b
3 - gly [1] / clethodim *	1440 / 108	95,8 a	95,0 a	93,8 a	91,8 b	17,5 a
4 - gly [1] / sethoxydim *	1440/ 230	98,8 a	98,8 a	98,8 a	98,0 a	7,9 a
5 - gly [1] / haloxyfop *	1440/ 60	99,5 a	98,8 a	98,8 a	98,8 a	1,4 a
6 - gly [1] / fluazifop **	1440/ 125	92,5 b	96,3 a	97,8 a	97,5 a	2,8 a
7 - gly [1] / (fen [2] + clethodim)[3] *	1440/ 50+ 50	98,8 a	98,8 a	98,8 a	98,8 a	1,7 a
8 - gly [1] / tepraloxydim *	1440/ 100	98,8 a	98,8 a	98,8 a	98,8 a	2,6 a
9 - (paraquat + diuron) ***	400 + 200	92,5 b	91,3 b	87,5 b	80,0 c	21,2 a
10 - amônio-glufosinato ****	600	85,0 c	83,8 c	72,5 c	67,5 d	57,9 b
11 - clethodim	108	17,5 e	16,3 e	15,0 e	12,5 e	128,7 c
12 - gly [1] / clethodim * (paraquat + diuron) ***	1440 / 108 400 + 200[8]	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	0,0 a
13 - gly [1] / clethodim * amônio-glufosinato ****	1440/ 108 600[8]	96,3 a	98,8 a	100,0 a	100,0 a	0,0 a
DMS[5]		5,69	6,45	6,84	7,41	49,36
CV (%)[6]		11,21	18,11	19,54	21,54	24,11

[1] Glyphosate - Roundup Transorb; [2] (clethodim + fenoxafrop); [3] mistura formulada de produtos; [4] massa fresca aos 35 DAT; [5] Diferença mínima significativa; [6] Coeficiente de variação; [7]gramas de equivalente ácido por hectare ou gramas de ingrediente ativo por hectare ; [8] aplicado 7 dias após o glyphosate / clethodim; * Assist 0,5%; ** Energic 0,5%; *** Agral 0,2%; **** Hoefix 0,2%.

Os herbicidas graminicidas utilizados no ensaio não possuem registro para o uso em pomares cítricos no Brasil (ANDREI, 2009; MAPA, 2011, RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Contudo a necessidade do uso de herbicidas alternativos para manejo de resistência (MOREIRA et al., 2010), bem como a percepção das empresas produtores de defensivos agrícolas de que o segmento de culturas perenes é um mercado em ascensão deve gerar demanda para o registro deste produtos a curto prazo. Independentemente do registro, sabe-se que pela forma como os inibidores da ACCase atuam junto a fisiologia de dicotiledôneas, que para plantas de laranja não haverão

sintomas fitotóxicos (RENDINA et al., 1989; VIDAL; MEROTTO JR, 2001), como pode-se observar na Tabela 3.2.

Não foram observados quaisquer sintomas ligados a fitotoxicidade dos tratamentos herbicidas a cultura de laranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), variedade Pêra Valência, nas avaliações de 14, 21, 28 e 35 DAA. Tal comportamento é justificado pela modalidade de aplicação utilizada, denominada de dirigida. Ao utilizarmos herbicidas de foram protegida e dirigida as entrelinhas do citrus, a seletividade para aplicação se dá de forma toponômica, onde as plantas de laranja não tem contato com os herbicidas aplicados (FERREIRA et al., 2008; OLIVEIRA JR.; INOUE, 2011).

O glyphosate é sabidamente inativado no solo, em função da alta afinidade que o mesmo possui pela argila do solo (CHRISTOFFOLETI et al., 2009b). Para os herbicidas inibidores da ACCase, de forma geral, ocorre o mesmo fenômeno, já que possuem altos Kow e conseqüentemente Koc (VIDAL; MEROTTO JR, 2001; RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Ainda, todos os inibidores da ACCase sofrem biodegradação no solo, apresentando baixa persistência no ambiente (VIDAL; MEROTTO JR, 2001).

De forma análoga a este trabalho, os herbicidas inibidores da ACCase são utilizados em diversa culturas como maça (Vargas et al, 2006), soja (SILVA et al., 2006) e algodão (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011), sempre com total seletividade.

Tabela 3.2 - Avaliações de seletividade para cultura de citrus, aos 14, 21, 28 e 35 dias após a aplicação dos tratamentos herbicidas (DAA), segundo escala EWRC (EWRC, 1964). Matão, SP, 2009

Tratamentos	**Dose (g.e.a.ha^{-1}/ g.i.a.ha^{-1})**	**Avaliações de Fitotoxicidade visual (Escala EWRC)**			
		Laranja Pêra Valência (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)			
		14 DAA	**21 DAA**	**28 DAA**	**35 DAA**
1 - Testemunha	-	1	1	1	1
2 - gly [1]	1440	1	1	1	1
3 - gly [1] / clethodim *	1440 / 108	1	1	1	1
4 - gly [1] / sethoxydim *	1440/ 230	1	1	1	1
5 - gly [1] / haloxyfop *	1440/ 60	1	1	1	1
6 - gly [1] / fluazifop **	1440/ 125	1	1	1	1
7 - gly [1] / (fen [2] + clethodim)[3] *	1440/ 50+ 50	1	1	1	1
8 - gly [1] / tepraloxydim *	1440/ 100	1	1	1	1
9 - (paraquat + diuron) ***	400 + 200	1	1	1	1
10 - amônio-glufosinato ******	600	1	1	1	1
11 - clethodim	108	1	1	1	1
12 - gly [1] / clethodim * (paraquat + diuron) ***	1440 / 108 400 + 200[8]	1	1	1	1
13 - gly [1] / clethodim * amônio-glufosinato ******	1440/ 108 600[8]	1	1	1	1
DMS[5]		-	-	-	-
CV (%)[6]		-	-	-	-

[1] Glyphosate - Roundup Transorb; [2] (clethodim + fenoxafrop); [3] mistura formulada de produtos; [4] massa fresca aos 35 DAT; [5] Diferença mínima significativa; [6] Coeficiente de variação; [7]gramas de equivalente ácido por hectare ou gramas de ingrediente ativo por hectare ; [8] aplicado 7 dias após o glyphosate / clethodim; * Assist 0,5%; ** Energic 0,5%; *** Agral 0,2%; **** Hoefix 0,2%.

3.4 Conclusões

A conclusão do trabalho de avaliação de herbicidas alternativos para o controle de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glyphosate resulta na definição de que os tratamentos herbicidas glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a sethoxydim a 230 g i.a ha^{-1}, glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a haloxyfop-methyl 60 g i.a ha^{-1}, glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a fluazifop-p-butyl a 125 g i.a ha^{-1}, glyphosate a

1440 g e.a ha^{-1} associado a fenoxaprop + clethodim a 50 + 50 g i.a ha^{-1} e glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a tepraloxydim a 100 g i.a ha^{-1} são alternativas viáveis de controle da planta daninha citada.

O uso de glyphosate a 1440 g e.a ha^{-1} associado a clethodim a 108 g i.a ha^{-1} também consiste em alternativa viável, contudo a complementação deste tratamento herbicida pela aplicação seqüencial de paraquat + diuron a 400 + 200 g i.a ha^{-1} ou amônio-glufosinato a 600 g i.a ha^{-1} 7 dias após representa a melhor alternativa de controle avaliada.

Os tratamentos herbicidas paraquat + diuron a 400 + 200 g i.a ha^{-1}, amônio-glufosinato a 600 g i.a ha^{-1} e clethodim a 108 g i.a ha^{-1} utlizados de forma isolada não são viáveis, em função do estádio de aplicação da *D. insularis*, que era 3 a 5 perfilhos e 30 a 40 cm de altura.

A planta daninha avaliada no ensaio era comprovadamente resistente ao glyphosate.

Referências

ADEGAS, F.S.; GAZZIERO, D.L.P.; VOLL, E.; OSIPE, R. Diagnóstico da existência de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glyphosate no sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., 2010. Ribeirão Preto, SP. **Resumos expandidos...**. Ribeirão Preto: SBCPD,. n.162, 2010a.

ADEGAS, F.S.; GAZZIERO, D.L.P.; VOLL, E.; OSIPE, R. Alternativas de controle químico de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glyphosate. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27,. Ribeirão Preto, SP. 2010. **Resumos expandidos...**. Ribeirão Preto: SBCPD,. n.161, 2010b.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**: estatística experimental. Jaboticabal, SP. FUNEP. 1988. 247p.

BARROS, A.C. Eficiência da mistura em tanque glyphosate + carfentrazone-ethyl na dessecação de plantas daninhas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Umuarama, v. 2, p. 31-35, 2001.

BLACKSHAW, R.E.; HARKER, K.N. Selective weed control with glyphosate in glyphosate-resistant spring wheat (*Triticum aestivum*). **Weed Technology**, Lakewood, v.16, p.885-892, 2002.

CARVALHO, L.B. **Interferência de *Digitaria insularis* em *Coffea arabica* e respostas destas espécies ao glyphosate**. 118p. 2011. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita" Jaboticabal, 2011.

CARVALHO, J.E.B.; VARGAS, L. Manejo e controle de plantas daninhas em frutíferas. In: VARGAS, L.; ROMAN, E.S. (Ed.). **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. p. 561-603.

CARVALHO, F.T.; ALVARENGA, S.L.A.; PERUCHI, M.; PALAZZO, R.R.B. Eficácia do carfentrazone-ethyl aplicado no manejo das plantas daninhas para o plantio direto do algodão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Umuarama, v. 3, p. 104-108, 2002.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; MOREIRA, M.S.; LOPEZ-OVEJERO, R.F.; CARDINALI, V.C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da EPSPs. In: VELINI, E.D.; MESCHEDE, D.K.; CARBONARI, C.A.; TRINDADE M.L.B. (Ed.). **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009a. p 309-356.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; DAMIN, V.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M. **Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar.** Piracicaba: CP 2, 2009b. 72p

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

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

DUKE, S.O.; POWLES, S.B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest Managenement Science**, West Sussex, v. 64, p.319–325, 2008.

FAIRCLOTH, W.H.; PATTERSON, M.G.; MONKS, C.D.; GOODMAN, W.R. Weed management programs for glyphosate-tolerant cotton (*Gossipium hirsutum*). **Weed Technology,** Lakewood, v.15, p.544–551, 2001.

FERREIRA, C.; OSIPE, J.B.; ALVES, K.A.; SORACE, M.A.; OSIPE, R.; BRITO NETO, A.J. Avaliação da eficiência do herbicida Finale (amônio glufosinato) aplicado na modalidade seqüencial, no controle químico de buva, na operação de manejo em plantio direto, da cultura da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., Ribeirão Preto, SP. 2010. **Resumos expandidos...**. Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. n.233.

FERREIRA, L.R.; MACHADO, A.F.L.; FERREIRA, F.A.; TUFFI SANTOS, L.D. **Manejo integrado de plantas daninhas na cultura do eucalipto**. Viçosa, MG.:Editora UFV.2010. 140 p.

FERREIRA, L.R.; MACHADO, A.F.L.; TUFFI SANTOS, L.D.; VIANA, R.G.; FREITAS, L. H.L. **Técnicas para aplicação de herbicidas em eucalipto**. Sociedade de Investigações Florestais (SIF). Editora UFV. 39 p. Viçosa, MG. 2008.

GALLI, A.J.B.; MONTEZUMA, M.C. **Alguns aspectos do herbicida glifosato na agricultura**. Santo André: Editora ACADCOM, Publicação Monsanto do Brasil. jan. 2005. 66 p.

GREEN, J.M.; STREIBIG, J.C. Herbicide Mixtures. In:STREIBIG, J.C.; KUDSK, P. **Herbicide bioassays**. Florida: CRC Press , 1993. p 117-135.

HARWOOD, J.L. Graminicides which inhibit lipid synthesis. **Pesticide Outlook**, Hemel Hempstead, v.10, p 154-158, 1999.

HEAP, I. **The international survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: www.weedscience.com. Acesso em: 25 outubro 2011.

KOGER, C.H.; REDDY, K.N. Role of absorption and translocation in the mechanism of glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, Lakewood, v.53, p.84–89, 2005.

KRUSE, N.D. **Análise da associação de metribuzin e clomazone como modelo para o estudo dos sinergismos entre herbicidas.** 2002. 133p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) -/ Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2002.

LOPEZ-OVEJERO, R.F.; PENCKOWSKI, L.H.; PODOLAN, M.J.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Alternativas de manejo químico da planta daninha Digitaria ciliaris resistente aos herbicidas inibidores da ACCase na cultura de soja. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v.24, n.2, p. 407-414, 2006.

LINGENFELTER, D.D.; CURRAN W.S. Effect of Glyphosate and Several Accase-inhibitor Herbicides on Wirestem Muhly (*Muhlenbergia Frondosa*) Control. **Weed Technology**, Lakewood, v. 21, n. 3, p. 732-738, 2007.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil:** terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 4 ed. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 2008. 672p.

LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas:** plantio direto e convencional. 6 ed. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 2006. 339p.

MAPA - **Ministério da agricultura Pecuária e Abastecimento** - AGROFIT Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br /agrofit_cons /!ap_produto_form_detalhe_cons?p_id_produto_formulado_tecnico =7714Ep_tipo_janela=NEW. Acesso em: 25 jul.2011.

MATHEIS, H.A.S.M.; AZEVEDO, F.A.; VICTORIA FILHO, R. Adubação verde no manejo de plantas daninhas na cultura de citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 27, n. 1, p. 101-110, 2006.

MOREIRA, M.S.; MELO, M.S.C.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Herbicidas alternativos para controle de biótipos de *Conyza bonariensis* e *C. canadensis* resistentes ao glyphosate. **Planta daninha**, Viçosa, MG, v.28, n.1, p. 167-175, 2010.

MOREIRA, M.S.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de *Conyza canadensis* e *Conyza bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 1, p. 157-164, 2007.

NICOLAI, M.; MELO, M.S.C.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Monitoramento de infestações de populações de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suspeitas de resistência ao glifosato. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS,27., 2010. Ribeirão Preto. **Resumos expandidos...** Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. p. 943-946.

NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Casos potenciais de resistência de resistência de plantas daninhas a herbicidas. In:**Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Piracicaba:HRAC-BR, 2008. p 96-106.

OLIVEIRA JR.; R.S.; INOUE, M.H. Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas. In: . OLIVEIRA JR.;R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas.** Curitiba, PR: Omnipax, 2011. p. 243 – 262.

OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; TOLEDO, R.B.E.; KAJIHARA, L.H.; STASIEVISKI, A; PAGLIARI, P.H.; ARANTES, J.G.Z.; CAVALIERI, S.D.; ALONSO, D. G.; ROSO, A.C. Aplicações seqüenciais de flumiclorac-pentil para o controle de *Euphorbia heterophylla* na cultura da soja. **Acta Scientiarum. Agronomy**. Maringá, PR, v. 28, n. 1, p. 115 - 122, 2006.

PINOTTI, E.B.; SALES, T.C.; MINATEL, L.F.C.; BARBOSA, R.Z. Levantamento florístico de plantas daninhas na cultura da laranja (*Citrus sinensis*). **Revista científica Eletrônica De Agronomia, Garça,** v.7,n. 15, p. 1-6,Jun.2009.

PITELLI, R.A. As plantas daninhas e o manejo de pomares de citros. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, n. 43, p. 6-8, 2004.

POWLES, S.B. Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. **Pest Management Science**.West Sussex, v. 64, p.360–365, 2008.

POWLES, S.B; YU, Q. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. **Annual Review of Plant Biology,** Palo Alto**,** v. 61,p. 317-347, 2010.

RENDINA, A.R.; BEAUDOIN, J.D.; CRAIG-KENNARD, A.C.; BREEN, M.K. Kinetics of inhibition of acetyl-CoA carboxylase by he aryloxyphenoxy-propionate and cyclohexanedione graminicidas. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE - WEEDS. Farhan, 1989. Farhan: British Crop Protection Council, 1989. p. 163 – 172.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. (Ed.). **Guia de herbicidas**. 6 ed. Londrina, PR: Edição dos autores, 2011. 697 p.

RONCHI, C.P. SILVA. A.A.; MIRANDA, G.V.; FERREIRA, L.R.; TERRA, A.A. Misturas de herbicidas para o controle de plantas daninhas do gênero Commelina. **Planta daninha**, Viçosa, MG, v.20, n.2, p. 311-318, 2002.

SILVA, A.C.; FREITAS, F.C.; FERREIRA, L.R. FREITAS, R.S. Dessecação pré-colheita de soja e *Brachiaria brizantha* consorciadas com doses reduzidas de graminicida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p. 37-42, 2006.

VANGESSEL, M.J. Glyphosate resistant horseweed from Delaware. **Weed Science,** Lakewood, v. 49, p. 703-705, 2001.

VARGAS, L.; ROMAN, E.S.; RIZZARDI, M.A.; TOLEDO, R.E.B. Manejo de azevém resistente ao glyphosate em pomares de maçã com herbicida select (clethodim). **Revista Brasileira de Herbicidas**, Passo Fundo, RS, n.1., p. 30 - 36, 2006.

VARGAS, L.; ROMAN, E.S.;RIZZARDI, M.A. ;SILVA, V.C. Alteração das características biológicas dos biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) ocasionada pela resistência ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 23, n.1, p. 153-160, 2005.

VELINI, E.D. **Estudo e desenvolvimento de métodos experimentais e amostrais adaptados à matologia.** 1995. 250p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 1995.

VIDAL, R.; MEROTTO Jr., A. Herbicidas inibidores da ACCase. In: VIDAL, R.; MEROTTO Jr., A. (Ed.). **Herbicidologia**. Porto Alegre, RS: UFRS, 2001. p 15-24.

WEBSTER, T.M.; SONOSKIE, L.M. Loss of Glyphosate Efficacy: A Changing Weed Spectrum in Georgia Cotton. **Weed Science**, Lakewood, v.58, p. 73–79, 2010.

WERLANG, R.C.; FERREIRA, L.R.; SILVA, A.A. Efeito da aplicação seqüencial de glyphosate no controle de *Commelina benghalensis* e *Commelina diffusa* na cultura do cafeeiro. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Umuarama, v. 3, p. 33-38, 2002.

4 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DOS BIÓTIPOS DE CAPIM-AMARGOSO (*Digitaria insularis*) RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO GLYPHOSATE

Resumo

Este trabalho teve como objetivo construir curvas de crescimento para os biótipos resistentes e suscetíveis de capim-amargoso (*Digitaria insularis*), para assim, verificar a existência de diferenças nas habilidades fotossintética e competitiva, entre os biótipos e espécies. O experimento foi realizado em casa-de-vegetação do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura ``Luiz de Queiroz´´ (ESALQ-USP), localizada em Piracicaba-SP, utilizando biótipos resistentes e suscetíveis de *D. insularis*. Foram realizadas 8 avaliações de crescimento (tratamentos) espaçadas semanalmente entre si sendo, amostradas 4 plantas por avaliação de cada biótipo, iniciando-se aos 20 dias após a emergência das plântulas, com avaliações aos 20, 27, 34, 41, 48, 55, 62 e 69 DAE (dias após a emergência). As avaliações consistiam em medir a área foliar com o aparelho LI – 3100 Area Meter (LI-COR, inc., Lincoln, Nebraska, USA), e secar a massa fresca das amostras, obtendo-se a massa seca. Os dados foram estatisticamente avaliados através da aplicação do teste F sobre a análise da variância seguido da aplicação de regressões não lineares do tipo logística ou log-logística. Foi verificado que o biótipo resistente de *D. insularis* tem um desenvolvimento mais rápido do que seu biótipo suscetível, mas não é possível inferir que seu poder competitivo seja menor.

Palavras-chave: Capim-amargoso; Glyphosate; Resistência; Desenvolvimento

Abstract

The objective of this work was to build growth curves for the glyphosate resistant and susceptible sourgrass (*Digitaria insularis*) biotypes, to verify the existence of differences in the photosynthetic and competitive abilities, between the biotypes. The experiment was developed in the greenhouse of the Plant Production Department of Escola Superior de Agricultura ``Luiz de Queiroz´´ (ESALQ-USP) located in Piracicaba city in the São Paulo State, using glyphosate resistant and susceptible *D. insularis* biotypes. 8 weekly growth evaluations (treatments) ,assessing 4 plants of each biotype, starting 20 days after the sprouting of the seedlings, with evaluations 20, 27, 34, 41, 48, 55, 62 and 69 DAS (days after sprouting).

The evaluations consisted in measure the leaf area in the unit LI – 3100 Area Meter (LI-COR, inc., Lincoln, Nebraska, USA) and to dry the fresh weight of the samples, to obtain the dry weight. The data were statistically evaluated through the F test application over the analysis of variance followed by the application of logistic or log-logistic non-linear regressions type. It was verified that the *D. insularis* resistant biotype has a faster development than it´s susceptible biotype, however it is not possible to infer that it´s competitive ability would be inferior.

Keywords: Sourgrass; Glyphosate; Resistance; Development.

4.1 Introdução

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é definida como a capacidade natural e herdável de determinados biótipos, dentro de uma população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição a doses de herbicidas que seriam letais a indivíduos suscetíveis da mesma espécie (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008). Este é um fenômeno que ocorre espontaneamente em suas populações, não sendo o herbicida o agente causador, mas sim o selecionador dos indivíduos resistentes que se encontram em baixa freqüência inicial (CHRISTOFFOLETI et al., 1994).

Atualmente, o glyphosate é um dos herbicidas de maior importância mundial, sendo utilizado por muitos anos no controle de plantas daninhas anuais ou perenes em diversos sistemas de produção (FAIRCLOTH ET AL., 2001; BLACKSHAW; HARKER, 2002). Com o surgimento de culturas tolerantes ao glyphosate, sua utilização na agricultura aumentou significativamente, o que também pode contribuir demasiadamente para a seleção de biótipos resistentes em espécies de plantas daninhas (KOGER; REDDY, 2005).

O capim-amargoso (*Digitaria insularis*) é uma espécie perene, herbácea, entoucerada, ereta, rizomatosa, de colmos estriados, com 50 a 100 cm de altura (KISSMANN; GROTH, 1997), e altamente competitiva. No início do crescimento vegetativo, principalmente quando em condições de sombreamento ou de baixas temperaturas, as plantas de capim-amargoso podem ser suprimidas pelo desenvolvimento mais rápido de outras espécies da comunidade infestante (MACHADO et al., 2006).

Isso ocorre devido ao seu crescimento inicial lento até os 45 dias. No entanto, se a dose do herbicida não for suficiente para controlá-la, essa espécie pode se tornar dominante, como ocorre em muitos casos em áreas de café, citros e plantio direto, em que a dose de glyphosate é eficaz para outras espécies e insatisfatória para o adequado controle de capim-amargoso (MACHADO et al.,2006).

Diferenças na adaptabilidade entre biótipos resistentes e suscetíveis são comumente medidas a partir da comparação de diferentes variáveis, tais como: vigor da planta, produtividade ou competitividade. Estas podem ser medidas em experimentos

desenvolvidos com o objetivo de avaliar a produção e a dormência de sementes, época de florescimento, fitomassa produzida e outros fatores com efeito na sobrevivência e fecundação das espécies (WARWICK; BLACK, 1994; RADOSEVICH et al., 1997).

Com a utilização intensa de glyphosate em áreas citrícolas do Estado de São Paulo, aumento-se a pressão de seleção que, aliado à boa adaptabilidade ecológica e proliferação da espécie *D. insularis* a sistemas conservacionistas de manejo de solo, foi selecionado biótipos resistentes ao glyphosate.

Portanto o objetivo deste trabalho foi construir curvas de crescimento para os biótipos resistente e suscetível de capim-amargoso e verificar a existência de diferenças nas habilidades fotossintética e competitiva, entre os biótipos.

4.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado na casa-de-vegetação do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura ``Luiz de Queiroz´´ (ESALQ-USP), localizada em Piracicaba, Estado de São Paulo. As parcelas experimentais consistiam em vasos com capacidade de 3 L, preenchidos com substrato comercial. Primeiramente, as sementes dos dois biótipos foram distribuídas separadamente nos vasos de modo a se obter 5 plântulas por vaso. Após o estabelecimento das mesmas foi realizado o desbaste, para se obter apenas 1 planta por vaso. Foram realizadas 8 avaliações de crescimento (tratamentos) espaçadas semanalmente entre si, iniciando-se aos 20 dias após a emergência das plântulas, com avaliações aos 20, 27, 34, 41, 48, 55, 62 e 69 DAE (dias após a emergência).

Em cada uma das avaliações foram amostradas 4 plantas (repetições) de cada biótipo de forma aleatória, onde foi analisada a fenologia das plantas, utilizando-se a escala de Hess et al. (1997). Todo material amostrado foi seco em estufa de circulação forçada a 72°C por 72 horas ou até a obtenção de massa constante, quando foi possível analisar as variáveis de interesse: massa seca total (Wt), massa seca da parte aérea (Wa) e massa seca das raízes (Wr). O estádio fenológico foi determinado quando 50% +1 das plantas apresentarem características semelhantes de desenvolvimento.

Todos os valores de área foliar do experimento foram obtidos através do aparelho LI – 3100 Area Meter (LI-COR, inc., Lincoln, Nebraska, USA).

As variáveis quantitativas relacionadas com o crescimento das plantas foram analisadas estatisticamente através da aplicação do teste F sobre a análise da variância seguido da aplicação de regressões não lineares do tipo logística ou log-logística, com o objetivo de modelar os dados sob a forma de equações, utilizando o software SigmaPlot 10.0.

Para as curvas de área foliar utilzou-se a equação de Gauss f = a*exp(-,5*((x-x0)/b)^2), onde “f” é a variável resposta; “a” representa a amplitude da curva; “x” representa os dias após a emergência (DAE); “x0” representa o valor de “x” em que o “f” é máximo; “b” representa o grau de decaimento da variável.

Para as curvas de matéria seca foi utilizado a equação y = a/(1+(x/x0)^b), do modelo de regressão não-linear do tipo logístico adaptado de STREIBIG(1988), onde “y” é a variável resposta; “a” representa a amplitude da curva; “x” representa os dias após a emergência (DAE); “x0” representa 50% de resposta da variável; “b” representa a declividade da curva.

4.3 Resultados e Discussão

As figuras 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4 mostram os resultados obtidos com as avaliações do ensaio de curva de crescimento para os biótipos resistente e suscetível ao herbicida glyphosate da planta daninha capim-amargoso (*Digitaria insularis*), enquanto as tabelas 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4 mostram os parâmetros do modelo logístico e coeficiente de determinação para os biótipos resistentes e suscetíveis quanto as variáveis estudadas.

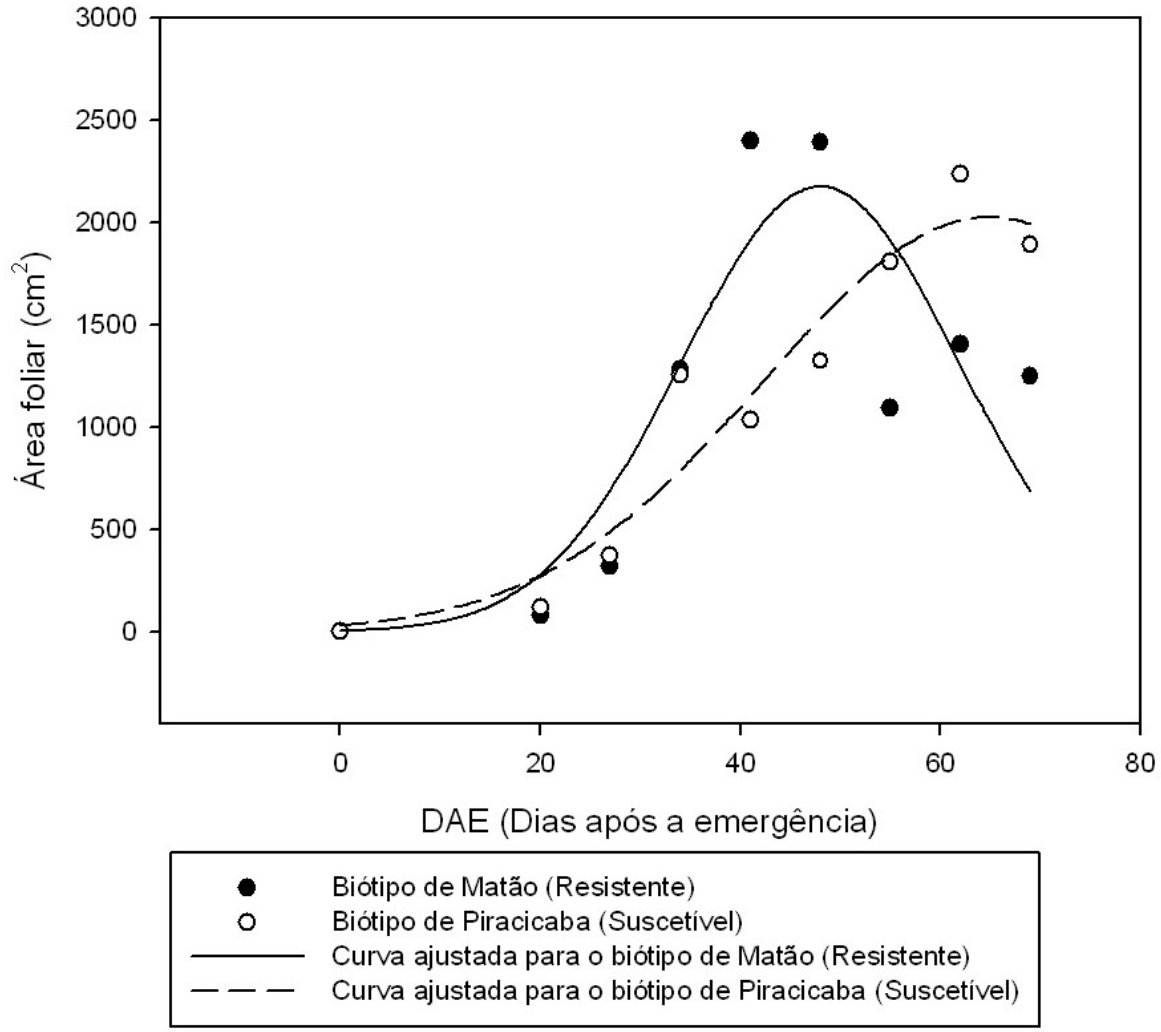

Figura 4.1 - Área foliar em cm^2 dos biótipos resistente (RES) e suscetível (SUS) de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) avaliado aos 20, 27, 34, 41, 48, 55, 62 e 69 dias após a emergência das plântulas (DAE)

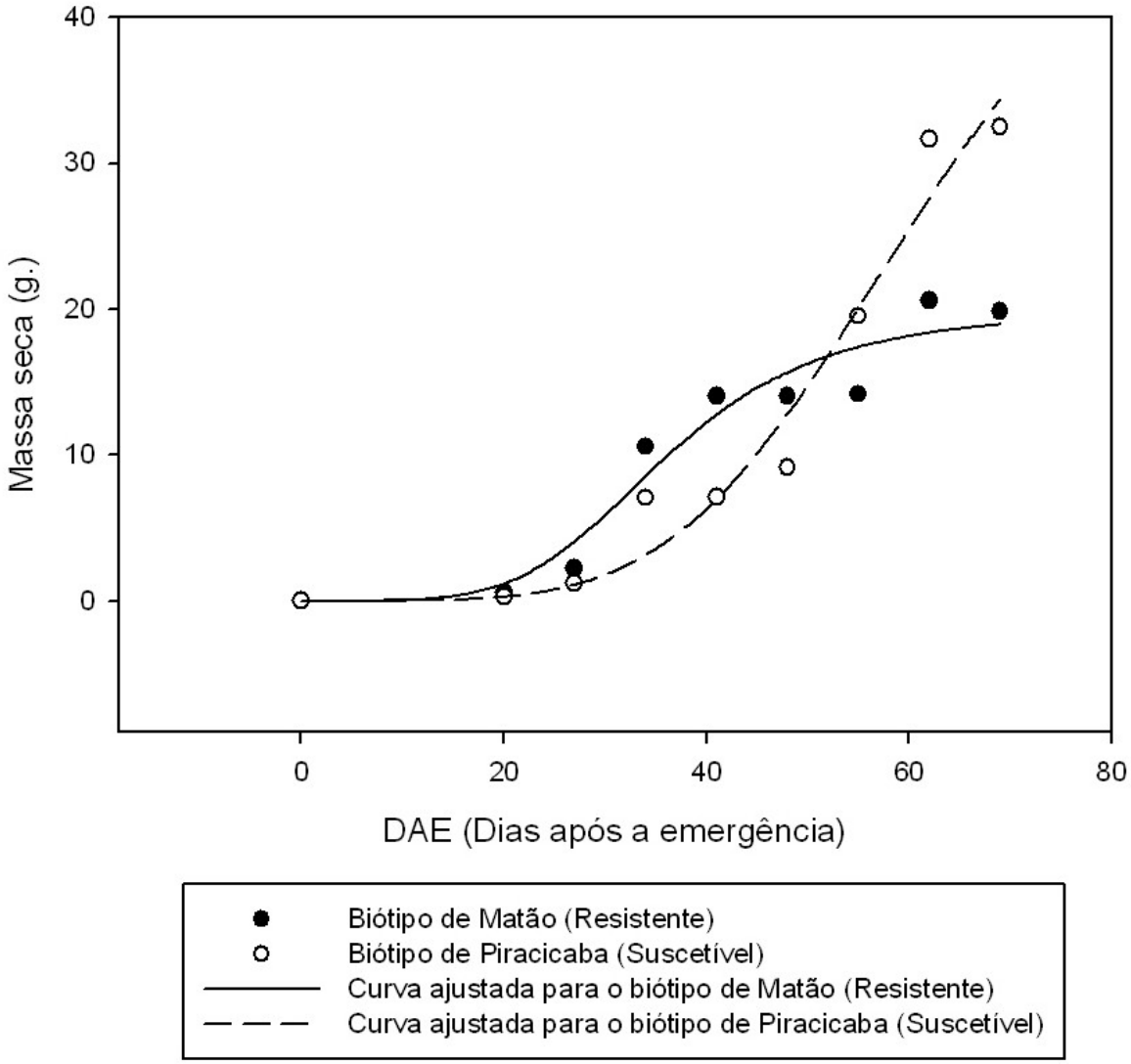

Figura 4.2 - Massa seca da parte aérea em gramas (g.), dos biótipos resistente (RES) e suscetível (SUS) de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) avaliado aos 20, 27, 34, 41, 48, 55, 62 e 69 dias após a emergência das plântulas (DAE)

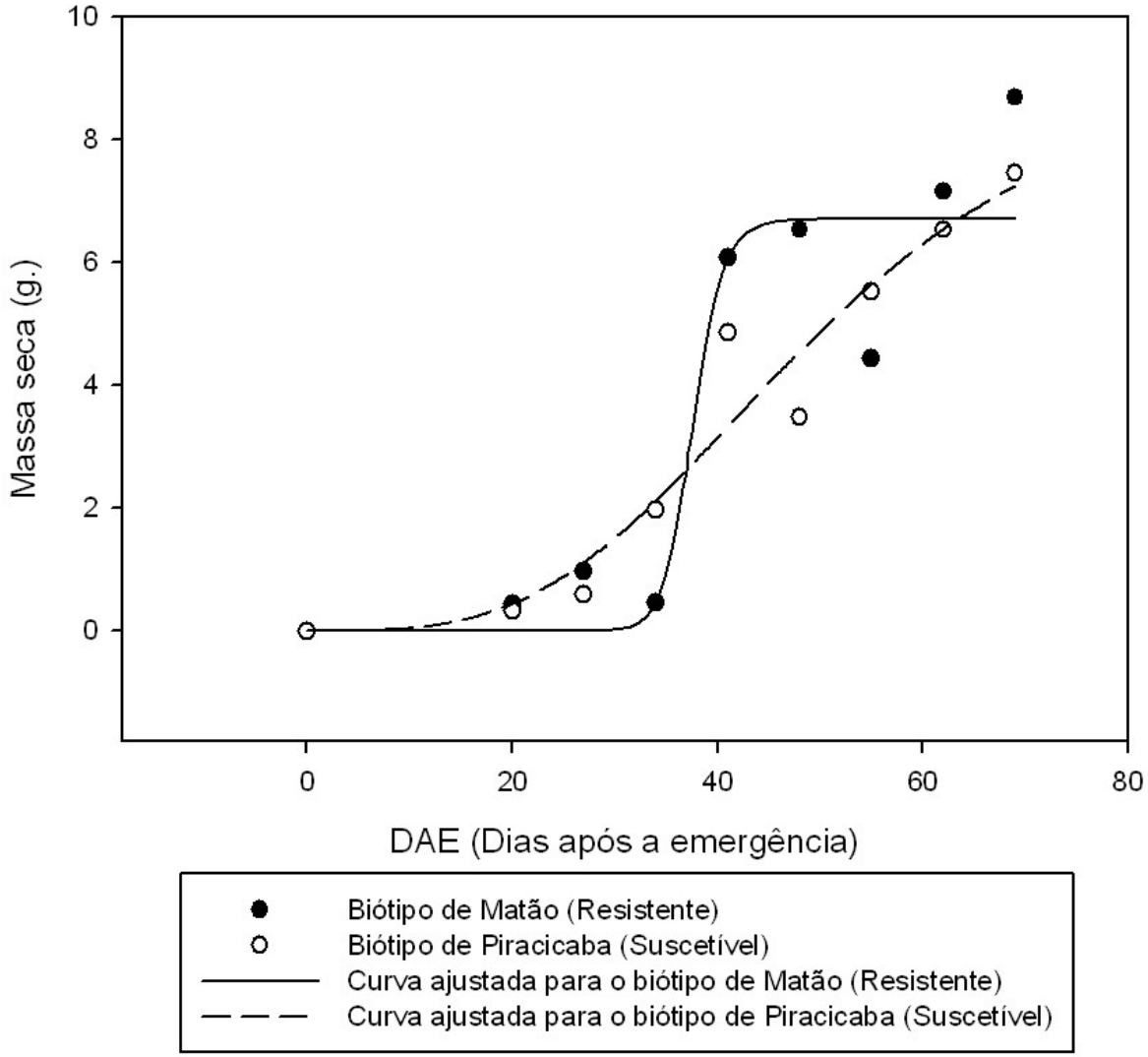

Figura 4.3 - Massa seca das raízes em gramas (g.), dos biótipos resistente (RES) e suscetível (SUS) de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) avaliado aos 20, 27, 34, 41, 48, 55, 62 e 69 dias após a emergência das plântulas (DAE)

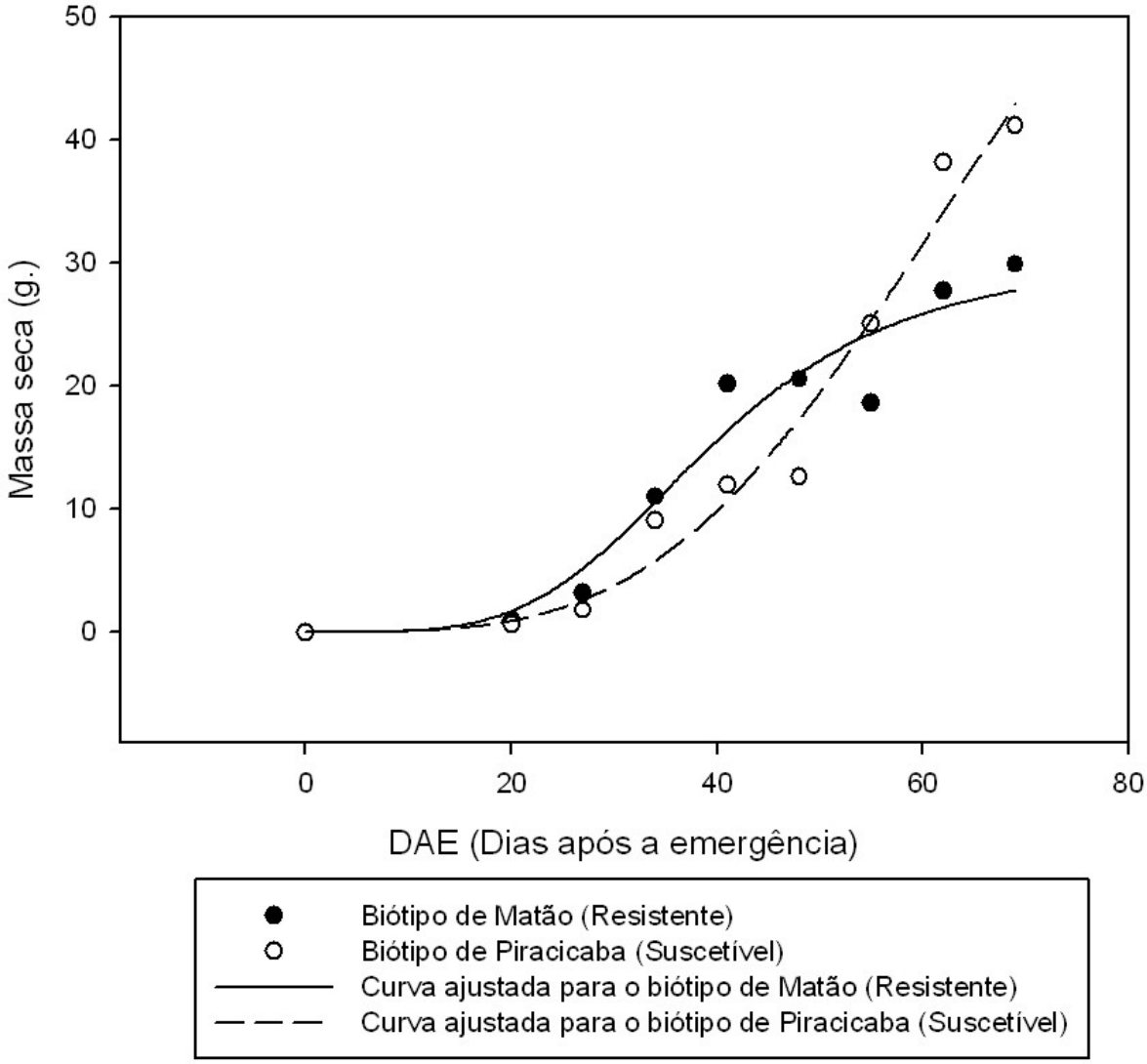

Figura 4.4 - Massa seca total em gramas (g.), dos biótipos resistente (RES) e suscetível (SUS) de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) avaliado aos 20, 27, 34, 41, 48, 55, 62 e 69 dias após a emergência das plântulas (DAE)

Tabela 4.1 - Parâmetros do modelo logístico e coeficiente de determinação para os biótipos resistente e suscetível de capim-amargoso, para área foliar

Equation: Peak; Gaussian, 3 Parameter						
Biótipo	**R**	**Rsqr**	**Adj Rsqr**	**Standard Error of Estimate**		
Matão-SP	1	1	1	0		
Piracicaba-SP	0,9632	0,9278	0,9038	249,9195		
	Parâmetros	**Coeficiente**	**Std. Error**	**t**	**P**	**VIF**
Matão-SP	a	2177,4881	-	-	-	-
	b	13,8565	-	-	-	-
	x0	47,9736	-	-	-	-
Piracicaba-SP	a	2025,8116	159,7243	12,6832	<0,0001	1,5937
	b	22,4613	4,9132	4,5716	0,0038	6,1168<
	x0	64,8192	6,1784	10,4913	<0,0001	7,0664<

Tabela 4.2 - Parâmetros do modelo logístico e coeficiente de determinação para os biótipos resistente e suscetível de capim-amargoso, para massa seca da parte aérea

Equation: Sigmoidal; Logistic, 3 Parameter						
Biótipo	**R**	**Rsqr**	**Adj Rsqr**	**Standard Error of Estimate**		
Matão-SP	0,9712	0,9433	0,9244	2,1856		
Piracicaba-SP	0,981	0,9623	0,9497	2,8748		
	Parâmetros	**Coeficiente**	**Std. Error**	**t**	**P**	**VIF**
Matão-SP	a	19,8866	2,7144	7,3263	0,0003	5,8568<
	b	-4,6396	1,7541	-2,645	0,0383	2,819
	x0	36,1154	3,5529	10,165	<0,0001	3,2633
Piracicaba-SP	a	55,9483	32,2971	1,7323	0,1339	103,7045<
	b	-4,6373	1,774	-2,6141	0,0399	8,3566<
	x0	62,3657	16,3366	3,8175	0,0088	121,7279<

Tabela 4.3 - Parâmetros do modelo logístico e coeficiente de determinação para os biótipos resistente e suscetível de capim-amargoso, para massa seca das raízes

Equation: Sigmoidal; Logistic, 3 Parameter						
Biótipo	**R**	**Rsqr**	**Adj Rsqr**	**Standard Error of Estimate**		
Matão-SP	0,9422	0,8878	0,8504	1,3192		
Piracicaba-SP	0,9694	0,9397	0,9196	0,8012		
	Parâmetros	**Coeficiente**	**Std. Error**	**t**	**P**	**VIF**
Matão-SP	a	6,7085	0,666	10,0734	<0,0001	1,2276
	b	-25,615	20,5355	-1,2474	0,2587	1,1184
	x0	37,5765	2,8245	13,3038	<0,0001	1,1569
Piracicaba-SP	a	9,7264	4,2423	2,2927	0,0617	48,8848<
	b	-3,3222	1,4832	-2,2399	0,0664	5,9835<
	x0	49,9132	15,2824	3,266	0,0171	45,4123<

Tabela 4.4 - Parâmetros do modelo logístico e coeficiente de determinação para os biótipos resistente e suscetível de capim-amargoso, para massa seca total da planta

Equation: Sigmoidal; Logistic, 3 Parameter						
Biótipo	**R**	**Rsqr**	**Adj Rsqr**	**Standard Error of Estimate**		
Matão-SP	0,9714	0,9437	0,9249	3,1096		
Piracicaba-SP	0,9858	0,9719	0,9625	3,0422		
	Parâmetros	**Coeficiente**	**Std. Error**	**t**	**P**	**VIF**
Matão-SP	a	30,5485	5,7969	5,2698	0,0019	10,8408<
	b	-4,1274	1,6017	-2,5768	0,0419	3,7151
	x0	39,5913	5,2387	7,5575	0,0003	6,6018<
Piracicaba-SP	a	97,4325	90,3849	1,078	0,3225	382,0846<
	b	-3,5594	1,2399	-2,8708	0,0284	23,7140<
	x0	73,7659	34,7022	2,1257	0,0777	530,7385<

Nota-se através dos resultados obtidos nas tabelas 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4 e nas figuras 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4 que o biótipo resistente de *Digitaria insularis* apresentou menor acúmulo de matéria seca nas folhas do que o biótipo suscetível o que gerou um consequente menor acúmulo de massa seca total. Todavia o biótipo resistente teve um desenvolvimento mais rápido até o florescimento. Levando-se em consideração o fato

de que uma planta em desenvolvimento mais acelerado tem desenvolvimento de tecidos meristemáticos secundários mais rapidamente, infere-se sobre o fato de que a translocação de herbicida fica dificultada mais rapidamente (OLIVEIRA JR.; INOUE, 2011). Para Rodrigues e Almeida (2011), a dose recomendada para o controle da planta daninha *D. insularis* pelos herbicidas registrados compostos pelo ingrediente ativo glyphosate (N-(phosphonomethyl) glycine) gira em torno de 720 a 1080 g e.a ha^{-1}. Obviamente uma planta em desenvolvimento mais rápido requer adequação de dose mais freqüente. Como a freqüência do biótipo suscetível incialmente é menor, a recomendação do glyphosate é baseada no estádio do suscetível, que predomina na área, podendo favorecer o escape do resistente.

Resultados similares foram obtidos por VARGAS et al. (2005) em biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes e suscetíveis ao herbicida glyphosate no Rio Grande do Sul, os quais constataram menor capacidade de acúmulo de massa seca e produção de sementes no biótipo resistente, o que equivale a outra estratégia para predominio na infestação da area. No entanto, em outro trabalho, em que foi estudada a espécie *Eleusine indica*, foi constatada adaptabilidade ecológica semelhante entre os biótipos resistente e suscetível ao glyphosate (ISMAIL et al., 2002). Também quando a resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ACCase e ALS é identificada, não são verificadas diferenças entre o crescimento dos diferentes biótipos (CHRISTOFFOLETI et al., 1997; CHRISTOFFOLETI, 2001; LÓPEZ-OVEJERO et al., 2007). O mecanismo de resistência de plantas daninhas aos inibidores da ACCase e ALS está correlacionado com a alteração na enzima alvo, cuja mutação causa insensibilidade aos herbicidas, sem gerar desvantagens para o crescimento na ausência de pressão de seleção (SATHASIVAN et al., 1990; DEVINE, 1997).

No presente experimento os resultados referentes ao acúmulo de matéria seca da parte aérea da espécie sugerem uma redução no acumulo de massa seca do biótipo resistente, provavelmente correlacionado a um dos mecanismos de resistência ao glyphosate que para a *D. insularis* é a reduzida translocação do produto (CARVALHO, 2011), bem como a uma maior adaptabilidade para geração de sementes e consequente predomínio do banco de sementes, em relação ao biótipo suscetível.

Moreira et al. (2010) encontrou desenvolvimento mais lento e redução no crescimento dos biótipos de buva (*Conyza spp.*), gerando clara redução no poder competitivo dos biótipos resistentes ao glyphosate quando comparados aos biótipos suscetíveis. Esta observação possivelmente torna-se desnecessária no raciocínio de predomínio do biótipo resistente na área, uma vez que para buva (*Conyza spp.*), as dose de controle do biótipo suscetível é bem menor que aquela já citada para capim-amargoso (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Dessa forma, a pressão de seleção do glyphosate sobre as populações de buva (*Conyza spp.*) e *D. insularis* é maior para primeira espécie, justificando o surgimento mais rápido da resitência da buva ao glyphosate, em relação ao capim-amargoso.

Apesar do crescimento da parte aérea ter sido menor para o biótipo resistente de *D. insularis*, não houve diferença quanto ao desenvolvimento das raízes. Tal observação infere que a possibilidade de rebrote do biótipo resistente é semelhante a do biótipo resistente. Em pomares cítricos, o uso da roçadeira ecologia é muito comum (MATHEIS, 2004), sendo este controle mecânico muito utilizado para eliminação de touceiras de plantas daninhas como capim-colonião (*P. maximum*), capim-pé-de-galinha (*E. indica*) e o próprio capim-amargoso (*D. insularis*) (CARVALHO; VARGAS, 2008). Esta opção de manejo não favorece nenhum dos dois biótipos quanto ao potencial para rebrote.

Em função da produção de matéria seca da parte aérea menor para o biótipo resistente, associado a um desenvolvimento mais rápido, não é possível afirmar que a competição entre os biótipos de capim-amargoso (*D. insularis*) estudados possuam maior poder competitivo de um sobre o outro, ainda que os comentarios acima indiquem certos aspectos positivos do desenvolvimento do biótipo resistente, dentro do sistema de cultivo de culturas perenes, como as lavouras citricolas.

4.4 Conclusões

Foi possível concluir, em função dos resultados deste trabalho, que o biótipo resistente ao herbicida glyphosate apresenta um desenvolvimento mais rápido que o suscetível até a fase adulta, todavia, por apresentar um acúmulo de matéria seca da parte aérea menor, não é possível inferir que o biótipo resistente tenha um poder competitivo maior ou menor que o suscetivel.

Referências

BLACKSHAW, R.E.; HARKER, K.N. Selective weed control with glyphosate in glyphosate-resistant spring wheat (*Triticum aestivum*). **Weed Technology**, Lakewood v.16, p.885-892, 2002.

CARVALHO, L.B. **Interferência de *Digitaria insularis* em *Coffea arabica* e respostas destas espécies ao glyphosate**. 118p. 2011. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Jaboticabal, 2011.

CARVALHO, J. E. B.; VARGAS, L. Manejo e controle de plantas daninhas em frutíferas. In: VARGAS, L.; ROMAN, E.S. (Ed.) **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. p.561-602.

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

CHRISTOFFOLETI, P.J. Análise comparativa do crescimento de biótipos de picão-preto (Bidens pilosa) resistente e suscetível aos herbicidas inibidores da ALS. **Planta Daninha**,Viçosa, v.19, p.75-83, 2001.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; WESTRA, P.; MORRE III, F. Growth analysis of sulfonylurea-resistant and susceptible kochia (*Kochia scoparia*). **Weed Science**, Lakewood, v.45, p.691-695, 1997.

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

DEVINE, M.D. Mechanisms of resistance to acetyl-coenzime A carboxylase inhibitors: a review. **Pesticide Science**, West Sussex, v.51, p.259-264, 1997.

FAIRCLOTH, W.H.; PATTERSON, M.G.; MONKS, C.D.; GOODMAN, W.R.. Weed management programs for glyphosate-tolerant cotton (*Gossipium hirsutum*). **Weed Technology,** Lakewood, v.15, p.544–551, 2001.

ISMAIL, B.S.; CHUAH, T.S.; SALMIJAH, S.; TENG, Y.T.; SHUMACHER, R.W. Germination and seedling emergence of glyphosate-resistant and susceptible biotypes of goosegrass (*Eleusine indica*). **Weed Biology and Management**, Fukui, v.2, p.177-185, 2002.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. São Paulo: BASF Brasileira, 1997. v.1, p.675-678.

KOGER, C.H.; REDDY, K.N. Role of absorption and translocation in the mechanism of glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, Lakewood, v.53, p.84–89, 2005.

LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; NOVO, M.C.S.S.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Crescimento e competitividade de biótipos de capim-colchão resistente e suscetível aos herbicidas inibidores da enzima acetil coenzima A carboxilase. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, p.1-8, 2007.

MACHADO, A.F.L.; FERREIRA, L.R.; FERREIRA, F.A.; FIALHO, C.M.T.; TUFFI SANTOS, L.D.; MACHADO, M.S. Análise do crescimento de Digitaria insularis. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 4, p. 641-647, 2006.

MACHADO, A.F.L.; MEIRA, R.M.S.; FERREIRA, L.R.; FERREIRA, F.A.; TUFFI SANTOS, L.D.; FIALHO, C.M.T.; MACHADO, M.S. Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de Digitaria insularis. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 1-8, 2008.

MATHEIS, H. A. S. M. **Efeitos de diferentes coberturas mortas obtidas a partir do manejo mecânico com roçadeira lateral na dinâmica populacional de plantas daninhas em citros**. 68p. 2004. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

OLIVEIRA JR.; R.S.; INOUE, M.H. Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas. In: . OLIVEIRA JR.;R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas.** Curitiba, PR: Omnipax, 2011. p. 243 – 262.

RADOSEVICH, S.R.; HOLT, J.S.; GHERSA, C. Implications for management. **Weed ecology**. 2 ed. New York: John Willey, 1997. 589p.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas.** 6.ed. Londrina, 2011. p. 324-354.

SATHASIVAN, L.G.; HAUGHN, G.W.; MURAI, N. Nucleotide sequence of a mutant acetolactate synthase gene from an imidazolinone-resistant *Arabidopsis thaliana* var. Columbia. **Nucleic Acids Research**, Southampton, v.18, p. 2188, 1990.

VARGAS, L.; ROMAN, E.S.; RIZZARDI, M.A.; SILVA, V.C. Alteração das características biológicas de biótipos de Azevém (*Lolium multiflorum*) ocasionada pela resistência ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v.23, p.153-160, 2005.

WARWICK, S.; BLACK, I.L.D. Relative fitness of herbicide resistant and susceptible biotypes of weeds. **Phytoprotection**, Montreal, v.75, p.37-49, 1994.

5 CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que apesar das doses de glyphosate necessárias para controlar ambos os biótipos de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) aumentarem para os estádios mais desenvolvidos da planta, os fatores de resistência, baseados no GR_{50}, observados para os diferentes estádios oscilaram entre 3 e 4, o que mostra uma estabilidade da resistência na população oriunda do município de Matão. Essa situação se repetiu também no ensaio "in vivo" de disco foliar. Tais dados apontam para uma possível mutação na prolina 106, pelo fator de resistência ser muito parecido com o do capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) resistente ao glyphosate encontrado na Malásia, o que poderá ser testado através de um estudo de PCR.

As curvas de crescimento mostram que o biótipo resistente ao herbicida glyphosate apresenta um desenvolvimento mais rápido do que o suscetível, todavia, por apresentar um acúmulo de matéria seca da parte aérea menor, não é possível inferir que seu poder competitivo seja maior ou menor, o que abre uma possibilidade para estudos de outras características adaptativas dos biótipos, principalmente para culturas perenes.

Como solução para o problema do capim-amargoso resistente ao glyphosate as alternativas de controle viáveis para uso dentro da cultura do citros foram o uso de glyphosate em associação com clethodim, seguidos pela aplicação de paraquat + diuron, glyphosate com clethodim, seguidos pela aplicação de amônio-glufosinato, glyphosate associado ao haloxyfop-methyl, glyphosate associado ao fenoxaprop-p-ethyl + clethodim e glyphosate associado ao tepraloxydim. Os tratamentos herbicidas testados neste trabalho podem ser aplicados em jato dirigido à outras culturas perenes que venham à ter biótipos de capim-amargoso resistente ao glyphosate em suas áreas.

Para a cultura da soja tolerante ao glyphosate as recomendações se limitam à associação de um dos herbicidas inibidores da ACCase com o glyphosate. Todavia outros experimentos são necessários para determinar precisamente herbicidas alternativos de controle para a *Digitaria insularis*, quando esta for resistente ao glyphosate em outros sistemas de manejo que não utilizem herbicidas em jato dirigido.