**RESISTÊNCIA DE BIOTIPOS DE *Brachiaria plantaginea*
(Link) Hitchc. A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETIL
COENZIMA A CARBOXILASE**

MARLUCE GONÇALVES CORTEZ
Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof. Dr. **RICARDO VICTORIA FILHO**
Co-orientador: Prof. Dr. **PEDRO JACOB CHRISTOFFOLETI**

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Doutor em
Agronomia, Área de concentração: Fitotecnia.

Piracicaba
Estado de São Paulo - Brasil
Maio - 2000

E R R A T A

“A autora, após a experiência desta tese, comprovou que é difícil, senão impossível evitar que, ao longo de aproximadamente 60.000 palavras, se deslizem algumas erratas. Apesar dos esforços para evitá-las e das correções efetuadas, a última leitura, já encadernada, revelou as erratas abaixo, algumas fundamentais, outras nem tanto, para as quais espero, que o bom critério dos leitores possa ressalvá-las.”

Página:	Onde se lê:	Leia-se:
v	...e do grau de resistência em...	... e do fator de resistência de...
viii	...planta daninha com menor tolerância...	...planta daninha com maior tolerância...
	...a herbicidas vários herbicidas...	...a vários herbicidas...
7	...2400 milhões...	...2,4 bilhões...
9	...tiocarbamatos...	...tiocarbamatos...
11	Figura 3...	Figura 1...
	haloxyfop	haloxyfop-methyl
13	(Walkil et al., 1993)	(Walkil et al., 1983)
15	...Konish & Sasaki, 1994).	...Konishi & Sasaki, 1994).
19	(Hoppe & Zacher, 1982 e 1985)	(Hoppe & Zacher, 1982; Hoppe, 1985)
21	...(Brezeu et al., 1976...)...	...(Brezeanu et al., 1976...)...
23	...(Hoppe, 1981...)...	...(Hoppe, 1989...)...
24	...classes de herbicidas (Heap, 1999).	...classes de herbicidas (Heap, 1997).
26	Gressel & Segel (1978) (Hauler et al., 1991) Final do 2º parágrafo é início do 3º parágrafo.	Gressel & Segel (1982) (Hausler et al., 1991)
28	LeBaron (1988)	LeBaron (1982)
31	(Whitehead & Switzer, 1963)	(Whitehead & Switzer, 1962)
	(Rubim, 1997)	(Rubim, 1991)
32	...ou herbicidas com mecanismo de ação...	..ou herbicidas com mesmo mecanismo de ação...
38	...de aril-glucosídeo e menr...	...de aril-glucosídeo e menor...
40	(Hauler et al., 1991)	(Hausler et al., 1991)
41	(De Prado et al., 1973)	(De Prado et al., 1997)

Página:	Onde se lê:	Leia-se:
63	...e quatro ciclohexanodionas...	..e três ciclohexanodionas...
	...sendo que a maior taxa...	...sendo que o maior fator...
72	... o grau de resistência...	... o fator de resistência...
75	...Freitas et al., 1993.	...Freitas et al., 1990.
77	...fluazifop-p-butil...	...fluazifop-p-buthyl...
78	... aplicados dissolvidos...	... aplicados diluídos...
79	...determinação da taxa...	...determinação do fator...
80	...Piracicaba/SP...	...Holambra/SP...
	...Argilosa...	...Arenosa...
82	0,3	0,31
	0,02	0,03
	288,8	28,9
	3,9 15,6 62,5 250 1000 4000	15,6 62,5 250 1000 4000 16000
	4 8	8 32
83	...(vide item 1.3)...	...(vide item 1.2)...
84	...taxa de resistência...	...fator de resistência...
93	...(Kissmann & Groth, 1991)...	...(Kissmann, 1991)...
94	...taxa de resistência...	...fator de resistência...
105	...taxa de resistência...	...fator de resistência...
109	...sethoxydim...	...butroxydim...
111	...fluazifop-methyl...	...fluazifop-p-butthyl...
125	Os compostos...	As formulações...
126	...caráter resistente...	...caráter de resistência...
132	...item 2.2...	...item 2.1.2...
133	...item 2.2...	...item 2.1.2...
135	...item 2.2...	...item 2.1.2...
137	...sethoxydim absorvido foi aumentando...	...sethoxydim absorvido foi diminuindo...
	...tepraloxydim que apresentou, após 48 horas...	...tepraloxydim foi reduzindo após 48 horas...
144	...taxa de resistência...	...fator de resistência...
146	...taxa de resistência...	...fator de resistência...
147	...sethoxydim mostrou diferenças significativas...	sethoxydim e tepraloxydim mostraram diferenças significativas...
155	...COOETEC-201...	...COODETEC-201...
157	...(Durigan et al., 1983)...	...(Durigan, 1983)...
163	...26 tratamentos...	...24 tratamentos...
	...Tabela 2...	anexada no final!
172	...taxa de resistência...	...fator de resistência...
211	Tabela A2...	Tabela A1...

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS - ACRESCENTAR:

Página 44:

- BOGER, P.; SANDMAN, G. **Target sites of herbicides action**. R.C. Kirkwood ed. Plenum Press, New York. 1989. 415p.
- BURGSTHALER, R.J.; LICHTENTHALER, H.K. Inhibition by sethoxydim of phospho- and galactolipid accumulation in maize seedlings. In: SIEGENTHALER, P. A.; EICHENBERGER, W. eds. **Structure, function and metabolism of plant lipids**. Elsevier, Amsterdam. p. 619-622. 1984.
- ASARE-BOAMAH, N. K.; FLETCHER, R. A. Physiological and cytological effects of BASF 9052 OH on corn (*Zea mays*) seedlings. **Weed Science** v. 31, p. 49-55. 1983.

Página 46:

- DE PRADO, R.; LOPEZ-MARTINEZ, N.; GIMENEZ-ESPINOSA, R. Herbicide-resistant weeds in Europe: agricultural, physiological and biochemical aspects. In: DE PRADO, R.; JORRÍN, J.; GARCIA-TORRES, L. eds. **Weed and crop resistance to herbicides**. Kluwer, Dordrecht. 1997. p. 17-28.

Página 47:

- DEISENHOFER, J.; MICHEL, H. The photosynthetic reaction center from the purple bacterium *Rhodospseudomonas viridis*. **Science** v.245, p. 1463-1473. 1989.

Página 50:

- HEAP, I. International survey of herbicide resistant weeds. On line. **Internet. www.weedscience.com**. 6th October. 1999.

Página 52:

- HOPPE, H.H.; ZACHER, H. Inhibition of fatty biosynthesis in isolated bean and maize chloroplast by herbicidal phenoxypropionic acid derivatives and structurally related compounds. **Pesticide Biochemistry and Physiology** v. 24, p. 298-305. 1985.
- LICHTENTHALER, H.K.; MEIER, D. Inhibition by sethoxydim of chloroplast biogenesis, development and replication in barley seedlings. **Zeitschrift für Naturforschung** v. 39, p. 115-122, 1984.

Página 53:

LUCAS, W.J.; WILSON, C.; WRIGHT, J.P. Perturbation of *Chara plasmalemma* transport function by 2 (4 (2', 4'-dichlorophenoxy) phenoxy) propionic acid. **Plant Physiology** v. 74, p. 61-66. 1984.

Página 56:

OLSON, W.A.; NALEWAJA, J.D. Antagonistic effects of MCPA on wild oat (*Avena fatua*) control with diclofop. **Weed Science** v.29, p. 566-571. 1981.

OWEN, W.J. Herbicides metabolism as a basis for selectivity. In: R.C. Kirkwood ed. Target sites of herbicides action. Plenum Press, New York. 1989. p. 285-314.

PEREGOY, R.S.; GLENN, S. Physiological responses to fluazifop-butyl in tissue of corn (*Zea mays*) and soybean (*Glycine max*). **Weed Science** v. 33, p. 433-446. 1981.

Página 61:

TRYEE, M.T.; PETERSON, C.A.; EDGINGTON, L.V. A simple theory regarding antimobility of xenobiotics with special reference to the nematicide oxamyl. **Plant Physiology** v.63, p. 367-374. 1979.

WAIBEL, H. Global pesticide markets and future prospects for pesticides. 16th SESSION FAO/UNEP Panel of Experts on IPM, Roma. 15p.

WOOD MACKENZIE Agrochemical Service. 1995.

Página 120:

FREITAS, R.R. Dinâmica do banco de sementes em uma comunidade de plantas daninhas com aspectos da germinação e dormência de sementes de capim marmelada (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitch.). ESAL-Lavras, 1990. 118p. (Dissertação de Mestrado) - ESAL.

Página 121:

MURRAY, B.G.; FRIESEN, L.F.; BEAULIEU, K.J.; MORRISON, I.N. A seed bioassay to identify acetyl-CoA carboxylase inhibitor resistant wild oat (*Avena fatua*) populations. **Weed Technology** v.10, p. 85-89, 1996.

PEREIRA, A.R.; ARRUDA, H.V. Ajuste prático de curvas na pesquisa biológica. Fundação Cargill, Campinas. 1987. 50p.

SEBER, G.A.F.; WILD, C.J. **Nonlinear regression**. New York. John Wiley & Sons eds. 1989.

Página 122:

- SPRAGUE, C.L.; STOLLER, E.W.; WAX, L.M. Common cocklebur (*Xanthium strumarium*) resistance to selected ALS-inhibiting herbicides. **Weed Technonology** v.11, p. 241-247. 1997.
- STREIBIG, J.C.; GREEN, J.M. How to compare glasshouse and field dose responses. In: BCPC Monograph no. 59: Comparing glasshouse & field pesticide performance II. p.173-180. 1994.

Página 177:

- BARROS, A.C. de. Eficiência de herbicidas pós-emergentes no controle de gramíneas na cultura da soja. Goiânia, 1989. 8p. (EMGOPA. Comunicado Técnico, 18).
- BLANCO, H.G.; OLIVEIRA, D.A.; ARAÚJO, J.B.M.; GRASSI, N. Observações sobre o período em que as plantas daninhas competem com a soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **O Biológico**, v. 39, p. 31-35, 1973.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**. v.12, n.1, p.13-20, 1994.

Página 178:

- DURIGAN, J.C. Matocompetição e comportamento de baixas doses de herbicidas na cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merrill). ESALQ-Piracicaba, 1983. 163p. (Tese Doutorado) - ESALQ - Universidade de São Paulo.

Página 180:

- VOLL, E.; GAZZIERO, D.L.P.; KARAM, D. Dinâmica de populações de *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. sob manejos de solos e de herbicidas. 1. Sobrevivência. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.30, n.12, p.1387-1396. 1995.

Tabela 2. Fitomassa (g) recém colhida e seca, aos 15 DAA⁽¹⁾ para biotipos de *Brachiaria plantaginea*, em casa-de-vegetação. ESALQ/USP - Piracicaba/SP, 1998.

HERBICIDAS	Doses		Fitomassa Recém Colhida			Fitomassa Seca								
	i.a. ⁽²⁾ (g ha ⁻¹)	p.c. ⁽³⁾ (L ha ⁻¹)	Biotipo R	Biotipo S	MÉDIAS	Biotipo R	Biotipo S	MÉDIAS						
sethoxydim	220,8	1,20	26,3 a	A	7,2	de	B	3,7 ab	A	2,9	bc	B	3,3	
fluzifop	187,5	1,50	28,9 a	A	11,9	bcde	B	4,9 a	A	3,5	abc	B	4,2	
fenoxaprop	88	0,80	24,4 a	A	4,0	e	B	4,5 ab	A	2,2	c	B	3,4	
clethodim	84	0,35	22,0 a	A	15,8	bc	B	3,8 ab	A	4,0	ab	B	3,9	
clethodim + sulf. amônio	84	0,35 + 2%	23,6 a	A	8,3	cde	B	3,8 ab	A	2,7	bc	B	3,3	
clethodim (1/2 dose)	43,2	0,18	23,5 a	A	10,0	cde	B	4,2 ab	A	3,3	abc	B	3,8	
clethodim (1/2 dose) + sulf. amônio	43,2	0,18 + 2%	25,7 a	A	12,5	bcd	B	4,0 ab	A	4,0	ab	B	4,0	
propaquizafop	125	1,25	28,1 a	A	16,0	bc	B	4,0 ab	A	3,8	abc	B	3,9	
propaquizafop + sulf. amônio	125	1,25 + 2%	27,3 a	A	18,6	b	B	4,2 ab	A	4,3	ab	B	4,2	
propaquizafop (1/2 dose)	63	0,63	27,4 a	A	19,0	b	B	4,3 ab	A	4,1	ab	B	4,2	
propaquizafop (1/2 dose) + sulf. amônio	63	0,63 + 2%	24,8 a	A	18,9	b	B	3,6 ab	A	4,2	ab	B	3,9	
nicosulfuron	60	1,50	12,3	b	A	14,5	b	2,9	b	A	3,5	abc	B	3,2
Testemunha sem herbicida	--	--	29,6 a	A	27,5 a		B	4,2 ab	A	5,0	a	B	4,6	
		MÉDIAS	24,9		14,2			19,5		4,0		3,7		3,8
			CV (%)		17,47			CV (%)						18,65
			DMS ^a (5%)		8,26			DMS ^a (5%)						1,72
			DMS ^b (5%)		4,81			DMS ^b (5%)						1,22

(1) DAA = dias após aplicação dos tratamentos

(2) i.a. = ingrediente ativo

(3) p.c. = produto comercial

DMS^a (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas

DMS^b (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre biotipos

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Cortez, Marluce Gonçalves

Resistência de biotipos de [*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.] a herbicidas
inibidores da acetil coenzima A carboxilase / Marluce Gonçalves Cortez. - - Piracicaba,
2000.

214 p. : il.

Tese (doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000.
Bibliografia.

1. Capim marmelada 2. Controle químico 3. Genética vegetal 4. Inibidor de
enzima 5. Planta daninha 6. População de planta 7. Resistência ao herbicida I. Título

CDD 632.58

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

Data de depósito junto à CPG/ESALQ
25 / 05 / 2000

A meus pais, Genival e Maria,
meus maiores motivadores, minha força e minha luz,

Aos meus irmãos Marli, Roberto e Júnior,
às minhas cunhadas, cunhado e sobrinhos, vocês que são a minha maior torcida,

Ao meu irmão Gilberto (in memoriam),
a mais triste perda de minha vida.

Dedico

Ao Toni, meu marido,
pelo incentivo, paciência e compreensão, em todos os momentos.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e dar-me forças para recomeçar a cada dia.

Este trabalho foi possível graças ao auxílio de algumas instituições e incontáveis pessoas. À todos que me ajudaram de várias maneiras e colaboraram para esta realização deixo aqui o registro de meus sinceros agradecimentos.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa pela possibilidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão das bolsas de estudos no Brasil e no Exterior.

Ao Prof. Dr. Ricardo Victoria Filho pela orientação, apoio, amizade e confiança em mim depositada.

Ao Prof. Dr. Pedro Jacob Christoffoleti, autor de muitas idéias que fazem parte este trabalho, agradeço pela orientação, amizade, e por estar sempre presente e participativo comigo, e com todos seus orientados.

Ao Prof. Dr. Rafael De Prado, da Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes (E.T.S.I.A.M.) da Universidad de Córdoba, Espanha, pela orientação, amizade e apoio recebidos em todos os momentos de minha permanência na Espanha.

Ao Prof. Júlio Menendez, da Universidad de Huelva, Espanha, pela orientação e auxílio imprescindíveis, e pela tarefa de treinar-me no conhecimento e utilização de técnicas avançadas de bioquímica

Ao Departamento de Química Agrícola y Edafología da E.T.S.I.A.M. pela calorosa acolhida, de modo especial agradeço a Ana Maria León, Maria Dolores Osuna e Jacinto Gonzales.

À ZENECA Brasil Ltda., através do colega Nestor Gabriel da Silva, pela utilização das instalações da Estação Experimental em Holambra/SP, e aos colegas André e Santiago pela orientação e imprescindível apoio na instalação de meus gigantes experimentos.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal/Esalq, de modo especial a Elizabete Sarkis São João, Silvia Borghesi, Aparecido Serrano e

Helena Rodrigues de Camargo, sempre dispostos a ajudar e atender nossos mais urgentes pedidos. Quero agradecer em particular aos funcionários Luiz Ferrari, Aparecido Mendes e Ony Rodrigues de Campos pela presteza e dedicação com que sempre me auxiliaram.

À Prof.a. Dra. María Angeles Díaz Ortín e Prof. Dr. Francisco Peña Rodríguez (PyPJPS), que são professores do Departamento de Química Agrícola (E.T.S.I.A.M./Espanha) e, principalmente meus amigos inesquecíveis, com os quais dividi momentos de trabalho árduo, momentos muito tristes e momentos alegres também.

Meu especial agradecimento à Maria Célia Rodrigues, do Departamento de Produção Vegetal/Esalq, que com profissionalismo, solidariedade e amizade incomuns me auxiliou de forma árdua e intensa na fase final deste trabalho.

Aos amigos e colegas de curso que acompanharam com entusiasmo meu trabalho, meu agradecimento pela especial ajuda, pela força e pelos bons momentos compartilhados: Telma Passini, Patricia A. Monqueiro, Daniel Medeiros, Cláudio de Almeida Hehdi, Lúcia Helena Albert, Oscar José Smiderle e Remi Dambrós.

À Dra. Maria Estela Monteiro Bergamo, que com seu profissionalismo e grande sensibilidade tem me auxiliado a encontrar “um novo jeito de caminhar”.

Muito obrigado a todos. Foi um privilégio trabalhar e conviver com vocês.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
SUMMARY	x
 CAPÍTULO I INTRODUÇÃO GERAL	 1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4
 CAPÍTULO II REVISÃO DE LITERATURA.....	 6
1 O USO DE HERBICIDAS NA AGRICULTURA	6
2 HERBICIDAS ARILOXIFENOXIPROPIONATOS E CICLOHEXANODIONAS.	9
2.1 Generalidades	9
2.2 Atividade da acetil coenzima A carboxilase (ACCase) em plantas	13
2.3 Modo e mecanismo de ação dos herbicidas ariloxifenoxipropiona- tos (APP) e ciclohexanodionas (CHD).....	17
2.3.1 Inibição da síntese de ácidos graxos	18
2.3.2 Alteração no “gradiente de prótons da membrana”	21
3 RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS.....	24
3.1 Evolução e desenvolvimento da resistência.....	24
3.2 Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da acetil coenzima A carboxilase (ACCase)	28
3.3 Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil	31
4 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS A HERBICIDAS.....	33
4.1 Redução da concentração do herbicida no local de ação.....	34
4.2 Metabolismo e destoxificação do herbicida	36
4.3 Perda de afinidade pelo local de ação na ACCase	39
4.4 Outros mecanismos de resistência	40
5 A PLANTA DANINHA <i>Brachiaria plantaginea</i>	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

CAPÍTULO III RESISTÊNCIA CRUZADA EM BIOTIPOS DE <i>Brachiaria plantaginea</i> (Link) Hitchc. A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETIL COENZIMA A CARBOXILASE (ACCCase)	63
RESUMO	63
SUMMARY	64
1 INTRODUÇÃO.....	65
1.1 Metodologia para comprovação da resistência de plantas daninhas a herbicidas.....	66
1.1.1 Determinação em campo	66
1.1.2 Determinação em laboratório	68
1.2 Estudo da resistência através de curvas de dose-resposta.....	70
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	73
2.1 Avaliação preliminar da sensibilidade de populações de <i>B. plantaginea</i> suspeitas de serem resistentes a herbicidas inibidores da ACCCase	73
2.1.1 Seleção do material no campo.....	73
2.1.2 Tratamento de sementes para quebra de dormência	75
2.1.3 Local.....	75
2.1.4 Material vegetal	75
2.1.5 Tratamentos.....	76
2.1.6 Avaliações	78
2.1.7 Análise dos dados	78
2.2 Avaliação da resistência cruzada e do grau de resistência em biotipos de <i>B. plantaginea</i>	79
2.2.1 Local.....	79
2.2.2 Material vegetal.....	79
2.2.3 Tratamentos.....	80
2.2.4 Avaliações.....	81
2.2.5 Análise dos dados.....	83
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	84
3.1 Avaliação preliminar da sensibilidade de populações de <i>Brachiaria plantaginea</i> suspeitas de serem resistentes a herbicidas inibidores da ACCCase	84

3.2 Determinação da resistência cruzada e da taxa de resistência em biotipos biotipos resistentes de <i>Brachiaria plantaginea</i>	94
4. CONCLUSÕES	118
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119

**CAPÍTULO IV MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A HERBICIDAS INIBIDORES
DA ACETIL COENZIMA A CARBOXILASE (ACCase) EM BIOTIPOS DE
Brachiaria plantaginea (Link) Hitchc.....**

RESUMO	123
SUMMARY	123
1 INTRODUÇÃO.....	124
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	129
2.1 Absorção e translocação de herbicidas CHD em biotipos de <i>B. plantaginea</i>	129
2.1.1 Local.....	129
2.1.2 Material vegetal.....	129
2.1.3 Metodologia geral	130
2.1.4 Tratamentos com sethoxydim	132
2.1.5 Tratamentos com tepraloxymid	133
2.1.6 Análise dos dados	134
2.2 Atividade da ACCase em biotipos de <i>B. plantaginea</i>	134
2.2.1 Extração da ACCase	135
2.2.2 Bioatividade enzimática para sethoxydim e tepraloxymid	136
2.2.3 Análise dos dados.....	136
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	137
3.1 Absorção e translocação de herbicidas CHD em biotipos de <i>Brachiaria plantaginea</i>	137
3.2 Atividade da ACCase em biotipos de <i>Brachiaria plantaginea</i>	144
4 CONCLUSÕES	147
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	148

CAPÍTULO V ALTERNATIVA PARA O MANEJO AGRONÔMICO DE <i>Brachiaria plantaginea</i> (Link) Hitchc. RESISTENTE A HERBICIDAS APP e CHD, EM PLANTIO DIRETO, NA CULTURA DA SOJA.....	155
RESUMO	155
SUMMARY	155
1 INTRODUÇÃO.....	156
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	161
2.1 Avaliação da sensibilidade de biotipos de <i>B. plantaginea</i> a herbicidas alternativos em bioensaio de casa-de-vegetação.....	161
2.1.1 Local.....	161
2.1.2 Material vegetal.....	162
2.1.3 Tratamentos.....	163
2.1.4 Avaliações.....	164
2.1.5 Análise dos dados	164
2.2 Avaliação de herbicidas alternativos no controle de população resistente de <i>B. plantaginea</i> em condições de campo	164
2.2.1 Local.....	164
2.2.2 Tratamentos.....	165
2.2.3 Avaliações	168
2.2.4 Análise dos dados.....	168
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	169
3.1 Avaliação da sensibilidade de biotipos de <i>Brachiaria plantaginea</i> com herbicidas alternativos em bioensaio de casa-de-vegetação	169
3.2 Avaliação de herbicidas alternativos no controle de população resistente de <i>Brachiaria plantaginea</i> em condições de campo	172
4 CONCLUSÕES	176
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	177
 CAPÍTULO VI CONCLUSÕES GERAIS	 181
CAPÍTULO VII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	181

RESISTÊNCIA DE BIOTIPOS DE *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETIL COENZIMA A CARBOXILASE

Autora: MARLUCE GONÇALVES CORTEZ

Orientador: Prof. Dr. RICARDO VICTORIA FILHO

Co-orientador: Prof. Dr. PEDRO JACOB CHRISTOFFOLETI

RESUMO

A planta daninha *Brachiaria plantaginea* é uma das mais comuns nas áreas cultivadas com soja. O controle seletivo em pós-emergência é realizado principalmente com os herbicidas inibidores da ACCase. O uso intensivo e repetido destes herbicidas em áreas cultivadas com soja no município de Guarapuava/PR, selecionou populações desta planta daninha com menor tolerância a estes herbicidas. Esta pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de estudar a sensibilidade destas populações a herbicidas inibidores da ACCase; bem como a ocorrência de resistência cruzada em biotipos resistentes; verificar se o mecanismo de resistência é originado por alterações na ACCase ou por deficiência na absorção e translocação dos herbicidas; e ainda propor alternativas de manejo para populações resistentes. Através de bioensaios conduzidos em condições de casa-de-vegetação, constatou-se a diferença de sensibilidade entre as populações testadas, a herbicidas vários herbicidas ariloxifenoxipropionatos (APP) e ciclohexanodionas (CHD). Em bioensaios conduzidos em condições de casa-de-vegetação com biotipos resistentes (R) e suscetível (S), foram obtidas curvas de dose-resposta e GR₅₀ que permitiram comprovar a resistência cruzada a herbicidas APP e CHD. Ensaios de laboratório permitiram comprovar que existem diferenças entre a absorção e translocação dos herbicidas testados, entre os biotipos R e S, porem insuficientes para explicar os altos níveis de taxa de resistência observados. Os

resultados obtidos em ensaios com a ACCase isolada, permitiram verificar que a ACCase extraídas de plantas R foram insensíveis aos herbicidas CHD testados, quando comparadas com a atividade da ACCase plantas S. Em condições de campo e em casa-de-vegetacao, foi avaliado o controle de biotipo resistente de *B. plantaginea*, a herbicida inibidores da ACCase e outros com mecanismos de ação diferentes. Comprovou-se que o herbicida nicosulfuron, embora não recomendado para a cultura da soja; e sua mistura com trifluralin, foram eficazes no controle do biotipo resistente, no campo e em casa-de-vegetacao.

**RESISTANCE OF *Brachiaria plantaginea*
(Link) Hitchc. BIOTYPES TO ACETIL COENZYME A
CARBOXYLASE INHIBITOR HERBICIDES**

Author: MARLUCE GONÇALVES CORTEZ

Adviser: Prof. Dr. RICARDO VICTORIA FILHO

Co-adviser: Prof. Dr. PEDRO JACOB CHRISTOFFOLETI

SUMMARY

The weed *Brachiaria plantaginea* is one of the most common infesting plant in soybean production areas of Brazil. The selective post-emergence control has been done mainly with ACCase inhibitor herbicides. The intensive and repetitive use of these herbicides in cultivated areas of soybean in Guarapuava/PR - Brazil, had selected population of this weed with lower level of susceptibility to these herbicides. This research project was developed with in order to study the sensibility of these populations to ACCase inhibitor herbicides, as well as the occurrence of cross resistance in the resistant biotypes; verify if the mechanism of resistance is the alteration on the site of the action of the herbicide in the ACCase or lack of absorption and translocation; and indicate alternatives of management of resistant populations. Through bioassay conducted under greenhouse conditions, it was detected a difference of susceptibility among the tested populations, to several ariloxypheoxypropionates (APP) and cyclohexanodiones (CHD). GR₅₀ values were obtained from the greenhouse experiments, comparing the resistant (R) with the susceptible (S), and that allow conclusion about the cross resistance of APP and CHD herbicides. Laboratory assay proved that there are differences between the biotypes R and S with regard to absorption and translocation, however these differences are not enough to explain the level of resistance presented by the R biotype. Results obtained from isolated ACCase

allowed to conclude that ACCase from R plants are insensitive to CHD and APP herbicides, when compared to ACCase from S plants. In field (resistant site) and greenhouse experiments, it was evaluated the control of *B. plantaginea* by ACCase inhibitor herbicides and by others with different mechanism of action. The herbicide nicosulfuron alone and in mixture with trifluralin were very efficient in the control of R and S biotype; however, nicosulfuron is not recommended for soybean weed control.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

A resistência das plantas daninhas aos herbicidas é um fenômeno de ocorrência em muitos países. A razão mais provável desta ocorrência é a utilização intensiva de herbicidas como principal método de controle de plantas daninhas (Le Baron & Gressel, 1982; Powles & Holtum, 1994; Sherman et al., 1996). Nos últimos anos diversas pesquisas têm sido conduzidas, buscando compreender as bases fisiológicas e bioquímicas da resistência de biotipos de plantas daninhas aos herbicidas (Shimabukuro & Hoffer, 1992; Burnet et al., 1993; Holtum et al., 1994; Maneechote et al., 1994, Marshall et al., 1994; Tardif & Powles, 1994; Devine, 1997).

O desenvolvimento de biotipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas está condicionado a uma mudança da frequência genética na população da planta daninha. A resistência ocorre com a pressão de seleção, que é causada por sucessivas aplicações de herbicida na dose recomendada. Assim, a tolerância de plantas daninhas aos herbicidas é diferenciada da resistência pois a tolerância é uma característica inerente da planta, antes mesmo da primeira aplicação do herbicida naquela área. Já, a resistência de plantas daninhas aos herbicidas é uma característica expressa por biotipos de plantas daninhas dentro de uma população. Ela ocorre por causa da pressão de seleção que é causada por aplicações sucessivas de um mesmo herbicida.

A utilização de herbicidas na agricultura, portanto, deve estar condicionada a recomendações práticas para evitar o desenvolvimento de

biotipos de plantas daninhas resistentes. Estes biotipos podem restringir ou inviabilizar o uso futuro dos herbicidas aplicados, pois a eficácia de controle fica reduzida a níveis abaixo dos aceitáveis pelo agricultor. Desta maneira, é necessário que a resistência de plantas daninhas aos herbicidas seja compreendida de maneira aprofundada pelas pessoas envolvidas direta ou indiretamente envolvidas com o manejo das plantas daninhas, visando a adoção de medidas adequadas e racionais que evitem ou retardem o aparecimento de biotipos de plantas daninhas resistentes.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas tem sido constatada em algumas regiões de soja do Brasil localizadas nos Estados do Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul e Paraná. No entanto, entre as pesquisas desenvolvidas sobre este fenômeno no Brasil, são poucos os trabalhos relacionados com as causas fisiológicas e/ou bioquímicas do desenvolvimento de biotipos resistentes de plantas daninhas.

A cultura de soja ocupa expressivas áreas do Estado do Paraná, com alta produtividade e tem como principal sistema de produção o plantio direto. Dentre os principais fatores de perdas na produtividade da cultura da soja destaca-se a competição das plantas daninhas, principalmente o capim-marmelada ou papuã [*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.] O controle desta planta na cultura da soja é realizado principalmente por meio de herbicidas do tipo graminicidas, em condições de pós-emergência. Esses herbicidas pertencem aos grupos químicos ariloxifenoxipropionatos (APP) e ciclohexanodionas (CHD), cujo mecanismo de ação é a inibição da atividade da acetil coenzima A carboxilase (ACCase).

Recentemente, tem-se observado falhas no controle químico desta planta daninha em diversos campos de produção de soja, onde os herbicidas APP e CHD vinham sendo utilizados de forma repetitiva, há vários anos. Todas as populações escapes de *B. plantaginea* encontram-se associadas a um histórico de cultivo sucessivo de soja no verão, e pulverização anual de herbicidas inibidores da ACCase no controle em pós-emergência de gramíneas. Desta forma, atribui-se como causa destas falhas de controle a ocorrência de biotipos de *B. plantaginea* resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase.

Além de avaliar a resistência de biotipos de *Brachiaria plantaginea* aos herbicidas inibidores da ACCase, foram realizados ensaios com os seguintes objetivos:

- Comprovar a hipótese de ocorrência de diferentes populações de *B. plantaginea* resistentes a herbicidas inibidores da ACCase seletivos à soja, utilizados em plantio-direto;
- Estudar a resposta de biotipos resistentes de *B. plantaginea* aos herbicidas inibidores da ACCase (ariloxifenoxipropionatos e ciclohexanodionas), registrados no Brasil para a cultura da soja;
- Estudar as diferenças na tolerância destes biotipos a estes produtos e a hipótese do mecanismo de resistência ser originado por alterações na sensibilidade da ACCase ou pela deficiência na absorção e translocação dos herbicidas nas plantas;
- Propor alternativas de manejo de populações resistentes, visando reduzir ou evitar a ocorrência deste fenômeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURNET, M.W.; LOVEYS, B.R.; HOLTUM, J.A.M.; POWLES, S.B. Increased detoxification is a mechanism of simazine resistance in *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 46, p. 207-218, 1993.
- DEVINE, M.D. Target-site based resistance to ACCase inhibitors. In: **Weed and Crop Resistance to Herbicides** (DE PRADO, R.; JORRIN, J.; GARCIA-TORRES, L., eds). Kluwer Academic Publisher. 1997.
- HOLTUM, J.A.M.; HÄUSLER, R.E.; DEVINE, M.D.; POWLES, S.B. Recovery of transmembrane potentials in plants resistant to aryloxyphenoxypropanoate herbicides: A phenomenon awaiting explanation. **Weed Science**, n.42, p.293-301, 1994.
- LeBARON, H.M.; GRESSEL, J. **Herbicide resistance in plants**. New York: John Wiley & Sons. 1982. 441p.
- MANEECHOTE, C.; HOLTUM, J.A.M.; PRESTON, C.; POWLES, S.B. Resistant acetyl-CoA carboxylase is a mechanism of herbicide resistance in a biotype of *Avena sterilis* ssp. *Ludoviciana*. **Plant Cell Physiology**, v. 35, n.4, p.627-635, 1994.
- MARSHALL G.; KIRKWOOD, R.C.; LEACH, G.E. Comparative studies on graminicide-resistant and susceptible biotypes of *Eleusine indica*. **Weed Research**, v. 34, n.3, p.177-185, 1994.
- POWLES, S.B; HOLTUM, J.A.M. **Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry**. Boca Raton: Lewis, 1994, 353 p.

- SHERMAN, T.D.; VAUGHN, K.C.; DUKE, S.O. Mechanism of action and resistance to herbicides. In: DUKE, S.O. (Ed.) **Herbicides Resistant Crops**. Boca Raton: CRC press, 1996. p.14-28.
- SHIMABUKURO, R.H. ; HOFFER, B.L.. Effect of Diclofop on the Membrane Potentials of Herbicide-Resistent and Susceptible Annual Ryegrass Root Tips. **Plant Physiology**, v.98, p.1415-1422, 1992.
- TARDIF, F.J.; POWLES, S.B. Herbicide multiple-resistance in a *Lolium rigidum* biotype is endowed by multiple mechanisms: isolation of a subset with resistant acetyl-CoA carboxylase. **Physiologia Plantarum**, v.91, p.488-494, 1994.

CAPÍTULO II

REVISÃO DE LITERATURA

1 O USO DE HERBICIDAS NA AGRICULTURA

O desenvolvimento pelo qual a agricultura tem passado nas últimas décadas, com aumento das áreas cultivadas utilizando culturas geneticamente melhoradas e com alta produtividade, e a aplicação de tecnologias de produção cada vez mais avançadas, tem permitido que a produção agrícola mundial apresente uma taxa de crescimento acima do crescimento global da população humana, prevendo-se que esta tendência se mantenha pelos próximos anos (FAO, 1997). A garantia e a proteção destas altas produções requerem cuidadoso manejo dos agroecossistemas e adoção de novas tecnologias, fatores estes, diretamente relacionados com o uso de agroquímicos. A agricultura mundial, tem feito uso intensivo de insumos, dentre os quais, o consumo de produtos químicos, avaliado em 26 bilhões de U\$ dólares por ano, sendo 46% destes em herbicidas.

Desde a sua adoção nos sistemas de produção agrícola modernos, os herbicidas tornaram-se a principal ferramenta dos programas de controle de plantas daninhas. Coble (1996) e Menendez & De Prado (1998) apontam as seguintes razões do uso intensivo de herbicidas, nos atuais sistemas agrícolas::

- a) São produtos que oferecem controle de amplo espectro de plantas daninhas com eficácia superior a outras técnicas de controle, em muitas situações;

- b) São de fácil aplicação pois não requerem equipamentos sofisticados ou práticas culturais específicas, antes ou após a sua aplicação;
- c) Apresentam uma relação custo/benefício favorável, quando comparado a outras técnicas de controle;
- d) São agronomicamente versáteis, permitindo ao agricultor escolher quando e como controlar o problema de plantas daninhas.

O mercado mundial de consumo de agroquímicos não é uniforme nos diversos sistemas de produção, pois existe uma relação direta entre o grau de desenvolvimento tecnológico dos sistemas agrícolas e o nível dos insumos utilizados (Neale & Sutton, 1993). Fatores como: saturação nos mercados, desaceleração nas economias de países desenvolvidos, unidos à crescente rejeição que o controle químico de pragas, doenças e plantas daninhas tem encontrado junto aos consumidores, têm reduzido a demanda e venda de agroquímicos durante a última década (Zados, 1992; Waibel, 1994). No entanto no Brasil o consumo vem aumentando nos últimos anos, conforme dados do Sindag. 1999.

A importância dos herbicidas na agricultura apoia-se em valores: suas vendas em 1994 alcançaram aproximadamente 13 bilhões de U\$ dólares (Wood Mackenzie, 1995), constituindo quase 50% do valor total de agroquímicos consumidos mundialmente. Os Estados Unidos da América do Norte constituem o maior consumidor mundial de herbicidas, e a América Latina se situa em quarto lugar neste mercado consumidor. Nas culturas, os cereais utilizam 45% do total de herbicidas consumidos no mundo, sendo a cultura da soja a segunda maior consumidora mundial destes produtos.

Com relação ao Brasil, a situação das vendas de agroquímicos superaram, em 1998, os 2.400 milhões de U\$ dólares, dos quais 55,8% foram herbicidas (Tabela 1). A cultura de soja foi a principal consumidora de herbicidas, acumulando mais de 50% das vendas destes produtos (Tabela 2).

A cultura de soja tem mantido, na última década, a média de consumo em torno de 50% do total de agroquímicos comercializados no Brasil.

Tabela 1. Indicadores do consumo por classe de agroquímicos, no mercado brasileiro, em 1998 (Sindag, 1999).

Categoria de Agroquímico	QUANTIDADE				Valor	
	Produto		Ingrediente ativo		Milhões	
	Comercial (t)	%	(t)	%	US\$	%
Herbicidas	161.096	51,1	69.177	57,1	1.369	55,8
Inseticidas	79.398	26,9	20.390	16,8	582	23,7
Fungicidas	47.164	15,9	19.993	16,5	436	17,8
Outros	17.875	6,1	11.540	9,6	66	2,7
TOTAL	295.533	100	121.100	100	2.452	100

Tabela 2. Indicadores do consumo de herbicidas por cultura no Brasil, em 1998 (Sindag, 1999).

CULTURAS	Quantidade (t)				Valor em	
	Produto		Ingrediente		bilhões	
	Comercial (t)	%	Ativo (t)	%	de US\$	%
Soja	63.481	39,4	27.887	40,3	728	53,2
Cana-de-açúcar	18.951	11,8	9.138	13,2	173	12,7
Milho	27.460	17,0	13.487	19,5	146	10,7
Arroz sequeiro+irrigado	8.793	5,5	4.296	6,2	80	5,8
Café	7.838	5,0	3.799	5,5	43	3,2
Algodão	3.639	2,1	1.663	2,4	33	2,4
Citros	4.030	2,5	1.936	2,8	22	1,6
Feijão	3.662	2,3	1.360	2,0	41	3,0
Trigo	2.646	1,6	1.336	2,0	19	1,4
Fruticultura	948	0,6	402	0,6	6	0,4
Hortaliças	795	0,5	236	0,3	7	0,5
Outros	18.853	11,7	3.637	5,3	71	5,2
Total	161.096	100	69.177	100	1.369	100

2 HERBICIDAS ARILOXIFENOXIPROPIONATOS E CICLOHEXANODIONAS

2.1 Generalidades

Os ariloxifenoxipropionatos e ciclohexanodionas são dois grupos químicos de herbicidas utilizados para o controle de gramíneas (nome popular dado às plantas pertencentes à família *Poaceae*) perenes e anuais, em condições de pós-emergência. Esses herbicidas são geralmente recomendados para culturas pertencentes à classe das dicotiledôneas. Os nomes ariloxifenoxipropionatos e ciclohexanodionas são comumente abreviados na literatura como APP e CHD, respectivamente (Powles & Holtum, 1994).

Os APP e CHD, apresentam como mecanismo de ação a inibição da síntese de ácidos graxos (Burton et al., 1989). Os herbicidas tiorcarbamatos e cloroacetamidas também inibem o processo metabólico da síntese de ácidos graxos, embora ainda exista certa controvérsia entre os pesquisadores da Ciência das Plantas Daninhas a respeito deste mecanismo de ação.

Esses dois grupos apresentam algumas diferenças na estrutura química, porém possuem aspectos semelhantes na atividade em plantas, nos níveis fisiológico e bioquímico, indicando que existem elementos estruturais comuns responsáveis pela atividade biológica sobre as plantas daninhas e pelo espectro de seletividade para as culturas (Tabela 3).

Os herbicidas APP foram desenvolvidos no final dos anos 70, e os herbicidas CHD alguns anos mais tarde. Desde então, tem crescido a utilização destes herbicidas no controle de plantas daninhas do tipo gramíneas, em diversas culturas. Mais recentemente, outros herbicidas APP e CHD têm sido desenvolvidas no mercado mundial e brasileiro, permitindo aos produtores a utilização destes compostos diversas culturas.

Tabela 3. Herbicidas APP e CHD registrados no Brasil, até 1998, para controle de plantas daninhas (Rodrigues & Almeida, 1998).

Grupo Químico	Nome comum	Principais culturas registradas	Nome Comercial
Ariloxifenoxipropionatos (APP)	diclofop-methyl	Soja, batata, feijão, trigo	Iloxan
	fenoxaprop-ethyl	Soja, arroz, fumo	Furore
	fenoxaprop-p-ethyl	Soja, batata, feijão	Podium
	fluazifop-p-butil	Soja, algodão, café, eucalipto, citros	Fusilade
	haloxyfop-methyl	Soja, eucalipto, pinho	Gallant
	propaquizafop	Soja, algodão	Shogum
	quizalofop-ethyl	Soja, algodão, feijão	Targa
Cichlohexanodionas (CHD)	butroxydim	Soja, feijão, algodão, girassol, batata	Falcon
	clethodim	Soja, feijão, algodão, tomate	Select
	sethoxydim	Soja, algodão, feijão, eucalipto, girassol	Poast

A variabilidade na estrutura química dos APP e CHD permite o desenvolvimento de diversos herbicidas com diferentes atividades biológicas e de seletividade. Alguns exemplos estão representados na Figura 1. Estes herbicidas são geralmente aplicados em pós-emergência e, para facilitar sua absorção por meio da cutícula foliar, são comumente formulados como ésteres de seus correspondentes ácidos. Ainda que estes ésteres apresentem alguma atividade fitotóxica, são considerados como precursores dos herbicidas. Uma vez dentro do tecido vegetal, são rapidamente ativados à sua forma ácida por hidrólises, mediante esterases (Shimabukuro et al., 1979). Quando ativados, os APP são translocados para as regiões meristemáticas, onde exercem ação herbicídica (Brezeanu et al., 1976; Duke & Kenyon, 1988; Hoppe, 1989).

Ainda que se saiba que a ACCase de dicotiledôneas é insensível a estes herbicidas, e que a de gramíneas é normalmente muito sensível (Walker et al., 1988; Burton et al.; 1989), as diferentes espécies de plantas desta família apresentam ACCases com distintas sensibilidades. Por exemplo, a ACCase de milho é muito mais sensível que a de trigo ou de cevada.

A eficácia no controle das espécies de plantas daninhas gramíneas é diferenciada entre os herbicidas APP e CHD. Como exemplo, o fluazifop-p-butil é mais eficaz no controle de *Sorghum halepense* que outros herbicidas. Por isso, as doses a serem utilizadas para diferentes espécies de plantas daninhas também podem ser diferentes, revelando que distintas espécies apresentam suscetibilidade variável a um herbicida (Devine & Shimabukuro, 1990; Garcia Torres & Fernández-Quintanilla, 1991; Rodrigues & Almeida, 1998).

As doses dos herbicidas APP e CHD, recomendadas para o controle de plantas daninhas nas culturas, são relativamente baixas quando comparadas com a maioria dos demais herbicidas, como é o caso do clethodim, haloxyfop, propaquizafop e quizalofop (Rodrigues & Almeida, 1998). Seu uso não é recomendado em misturas com herbicidas hormonais por apresentar efeitos antagônicos (Olson & Nalewaja, 1981; Kafiz et al., 1989; O'Sullivan, 1990; Shimabukuro, 1990).

Os herbicidas CHD não possuem a forma éster, nem sofrem hidrólises na planta. São moléculas ativas e capazes de se translocar até os meristemas, onde exercem sua ação herbicídica, semelhante aos APP. Os grupos APP e CHD são formados por herbicidas sem atividade no solo, sua adsorção é reduzida e apresentam uma elevada lixiviação, embora sejam bastante insolúveis em água (WSSA, 1989; Garcia Torres & Fernández-Quintanilla, 1991; Rodrigues & Almeida, 1998).

2.2 Atividade da acetil coenzima A carboxilase (ACCase) em plantas

A acetil coenzima A carboxilase (ACCase, EC 6.4.1.2) é uma coenzima constituinte de uma proteína biotinada que catalisa a reação de carboxilação do acetil-CoA para formar malonil-CoA, utilizando ATP. O malonil-CoA se forma nos plastídeos e no citosol, porém não é utilizado para a mesma função em ambos compartimentos (Devine & Shimabukuro, 1994). Nas plantas, o malonil CoA participa em várias reações e rotas, dentre as quais se destacam a biossíntese e elongação de ácidos graxos (Harwood, 1988); a síntese de alguns metabólitos secundários, como os flavonóides (Nicolau & Hawke, 1984) e a transferência do grupo malonil a aminoácidos e glicosídeos.

A ACCase catalisa duas reações parciais: primeiro, a biotina é carboxilada em uma reação que requer ATP e bicarbonato, neste intervalo, o grupo CO_2 ativado é então transferido a acetil CoA (carboxitransferase) para formar malonil-CoA. A reação catalisada pela ACCase foi citada por Post-Beittenmiller et al. (1991) como uma importante etapa da biossíntese de lipídeos e transcorre em dois passos:

A Figura 2 representa a rota metabólica da síntese de ácidos graxos em plantas superiores. A ACCase presente nas plantas foi amplamente estudada em gramíneas, por ser o local de ação dos herbicidas APP e CHD. Os herbicidas destes grupos químicos são inibidores específicos da ACCase em algumas gramíneas, porém não possuem efeito em outras famílias de monocotiledôneas e de dicotiledôneas.

Figura 2. Principais rotas da síntese de ácidos graxos saturados, insaturados e de cadeia longa em plantas. H1, H2 e H3 são sítios de inibição pelos herbicidas. As enzimas que catalisam as reações são: (A) acetato tioquinase, (B) piruvato desidrogenase, (C) acetil-CoA carboxilase, (D) complexo ácido graxo sintetase tipo II, (E) palmitol-ACP elongase, (F) e (G) diferentes saturases, (H) um sistema de transferência de acil-CoA (plastídios → citoplasma), (I) complexo acil-CoA sintetase tipo III e elongases específicas. ACP = proteína transportadora do grupo acil; MGDC = monogalactosildiacilglicérido; VLCFAs = lioproteínas ácidos graxos de cadeia longa (> C-18). Os números significam quantidades de carbonos e números de ligações não saturadas, por exemplo: 18:1 = 18 carbonos e 1 ligação dupla. (Adaptado de Gronwald, 1991 e Devine et al., 1993).

Um estudo de separação e caracterização das diferentes isoformas de ACCase de dicotiledôneas foi realizado com ervilha e mostrou que nesta espécie existem duas formas de ACCase muito diferentes: uma multimérica, denominada procariota, por causa da sua semelhança com a isoforma dos microrganismos, e outra multifuncional, denominada eucariota, similar à descrita em gramíneas (Alban et al., 1994; Konishi & Sasaki, 1994). A forma procariota se localiza nos plastídeos, tem peso molecular de 700 kDa e está composta de pelo menos três subunidades diferentes (das quais somente uma é biotinada), com massas moleculares de 332 a 79 kDa (Alban et al., 1994). A eucariota se encontra no citosol e possui massa molecular de 220 kDa.

Todas as dicotiledôneas estudadas apresentam a forma procariota nos plastídeos, a forma eucariota no citosol. Nas gramíneas, não existe a forma procariota e existem várias isoenzimas da forma eucariota tanto em plastídeos como no citosol (Sasaki et al., 1995).

O fato de as gramíneas possuírem a forma eucariota e não a forma procariota da ACCase em seus plastídeos é uma possível explicação da diferente tolerância destas plantas aos herbicidas APP e CHD. Estudos recentes sobre as diferenças entre as ACCases de trigo e de ervilha indicam que a forma procariota é tolerante aos graminicidas, porém a forma eucariota é sensível a eles (Sasaki et al., 1993; Konish & Sasaki, 1994).

O primeiro estudo de separação da atividade da ACCase revelou que existiam isoenzimas diferentes em folhas de milho, que denominaram ACCase I e ACCase II, com massas moleculares de 227 e 219 kDa, respectivamente (Egli et al., 1993). A forma ACCase I, encontrada em maior proporção no tecido foliar (85%) foi localizada em cloroplastos do mesófilo da folha, enquanto que a forma ACCase II (15% da atividade ACCase total) se localizava em outros compartimentos, possivelmente no citosol. Vários autores citam que esse fato deve estar associado a processos diferentes, relacionados com a necessidade de malonil-CoA fora dos plastídeos. Das formas purificadas, somente a ACCase I (cloroplástica) mostrou-se altamente suscetível aos herbicidas APP e CHD.

Enquanto o papel da ACCase cloroplástica está estreitamente associado à síntese de lipídeos, a citoplasmática está relacionada com a necessidade de malonil-CoA no citoplasma. Entretanto, existem ainda muitas especulações sobre a forma extraplastídica, não se conhecendo a razão da existência de formas enzimáticas diferentes no citoplasma e no plastídeo de dicotiledôneas, sua origem e suas diferenças como catalizadores enzimáticos (Gronwald, 1991).

As dicotiledôneas e monocotiledôneas não gramíneas são tolerantes aos APP e CHD. O recente estudo da enzima acetil-CoA carboxilase cloroplástica de ervilha mostrou que esta enzima é altamente insensível aos graminicidas, o que sugere que as dicotiledôneas são tolerantes devido a presença de uma forma diferente de ACCase nos plastídeos (Alban et al., 1994). A forma multifuncional cloroplástica das gramíneas é geralmente, muito suscetível aos graminicidas. Algumas formas de gramíneas como *Festuca rubra* e *Poa annua* apresentam uma forma tolerante de ACCase ou parcialmente tolerante a alguns herbicidas APP e/ou CHD (Secor et al., 1989; Herbert et al., 1996), o que justifica seu comportamento em condições de campo, frente a estes herbicidas.

A compartimentalização destas formas de ACCase sugere que elas devem apresentar funções diferentes e que, portanto, ambas são necessárias à planta. Em leveduras e animais, a forma eucariota, no citosol, elabora o malonil-CoA necessário para a síntese de ácidos graxos (Wakil et al., 1993). No entanto, em plantas onde a síntese de ácidos graxos ocorre principalmente nos plastídeos, a ACCase é encarregada de formar malonil-CoA para reiniciar a síntese de ácidos graxos *de novo*. Como não existe nenhuma evidência de que esta síntese ocorra fora dos plastídeos nas plantas, parece que o papel principal da forma citosólica nas plantas é a produção de malonil-CoA, necessário para elongação de ácidos graxos de cadeia longa e para a síntese de flavonóides.

2.3 Modo e mecanismo de ação dos herbicidas ariloxifenoxipropionatos (APP) e ciclohexanodionas (CHD)

Os herbicidas, na sua maioria, são tóxicos às plantas por causa de sua atuação sobre um sítio primário de ação, de especial relevância biológica. Este sítio primário é o lugar onde o herbicida atua ou interfere de alguma maneira, ocasionando por fim, a morte da planta. É possível estudar a ação do herbicida em duas fases: na primeira fase, considerando o movimento do herbicida até o sítio de ação (modo), e na segunda fase, levando em conta as conseqüências metabólicas que resultam da interação com este sítio (mecanismo). A primeira fase começa com a aplicação do herbicida na planta, por via foliar ou por radicular. Ao entrar na planta e antes de chegar ao seu sítio de ação, o herbicida segue uma série de passos que inclui a entrada nas células, a sua difusão em curtas distâncias, o transporte a longa distância, a conversão metabólica do herbicida e a entrada em organelas celulares. A interação do herbicida com o sítio de ação pode ser considerada como o primeiro passo da segunda fase, sendo seguida por uma série de reações tóxicas que resultam na morte da planta.

Ambos grupos químicos caracterizam-se por produzir sintomas similares nas espécies de plantas suscetíveis. Os sintomas de fitotoxicidade são evidenciados nas regiões meristemáticas, onde a síntese de lipídeos para a formação de membranas celulares é intensa. Em geral, logo após a aplicação, as plantas sensíveis apresentam cloroses nas folhas em desenvolvimento, formação de antocianinas nas folhas maduras, paralisação do crescimento, seguido pelo aparecimento de necrose nas zonas meristemáticas, tanto de folhas como de raízes (Gronwald, 1991). Em gramíneas ocorre descoloração e desintegração dos tecidos próximos aos entrenós. Nas folhas jovens ocorre clorose e morte, entre uma e três semanas após o tratamento. Em folhas mais velhas verificam-se as colorações roxa, laranja ou vermelha, confundindo-se com sintomas de deficiência de fósforo (Böger & Sandaman, 1989; Ahrens, 1994).

As revisões publicadas sobre os herbicidas APP e CHD discutem aspectos relacionados ao modo e mecanismo de ação destes herbicidas (Walker et al., 1985; Shimabukuro, 1990). O “modo de ação” pode ser definido como a soma das respostas bioquímicas, fisiológicas e anatômicas que constituem a ação fitotóxica total do herbicida. Por isso, no estudo do modo de ação são considerados os efeitos primário e secundário, que devem explicar as respostas morfológicas e fisiológicas observadas na plantas, provocadas pelos herbicidas e sua ação fitotóxica. O “mecanismo de ação” é a principal reação bioquímica, processo biofísico ou lesão (enzima ou outro sítio de ação) afetada pelo herbicida. Um efeito no principal local de ação, pode ou não ser suficiente para provocar fitotoxicidade completa.

Dois mecanismos de ação têm sido propostos para os herbicidas APP e CHD: a) Mecanismo bioquímico, envolvendo a inibição da acetil-CoA carboxilase (ACCase) e subsequente biossíntese de ácidos graxos nos plástideos (Burton et al., 1991); b) Mecanismo biofísico, envolvendo alterações no gradiente de prótons através da membrana plasmática (Shimabukuro & Hoffer, 1997).

2.3.1 Inibição da biossíntese de ácidos graxos

A biossíntese de ácidos graxos e lipídeos é essencial ao crescimento e desenvolvimento normal das plantas. Os lipídeos estão envolvidos na biogênese e na função de várias membranas na transferência celular e em outras funções fisiológicas (Ditomaso et al., 1993).

A síntese de lipídeos nas plantas ocorre no citoplasma celular, nos plástideos e cloroplastos. A primeira reação na rota metabólica da síntese de lipídeos envolve a carboxilação da acetil-CoA mediada pela acetil-CoA carboxilase (ACCase). Nesta reação o CO_2 se liga à enzima; na sequência a acetil-CoA se liga à enzima para então ocorrer a transferência do CO_2 da enzima para a acetil-CoA (Diesenhofer & Michel, 1989; Duke et al., 1991; Devine et al., 1993).

Alguns aspectos da biossíntese de ácidos graxos e lipídeos, ainda não são bem compreendidos pelos pesquisadores. No entanto, é aceito que a ACCase é a enzima chave que regula a biossíntese de ácidos graxos. Ela é caracterizada como alvo de ação do herbicida, baseado em detalhados ensaios *in vitro* e na correlação entre reações em planta inteira e sensibilidade da enzima.

A discussão sobre os mecanismos de ação dos herbicidas APP e CHD indica que, em tecidos intactos, os efeitos bioquímicos e biofísicos provavelmente ocorram simultaneamente, pelo menos durante as primeiras doze horas seguintes à aplicação do herbicida.

Os primeiros trabalhos de pesquisa para localizar o sítio de ação dos herbicidas do grupo químico APP foram desenvolvidos por Hoppe (1981), o qual demonstrou que o herbicida ácido diclofop (APP) interferia na biossíntese de lipídeos em radículas de milho, ao impedir a formação de ácidos graxos por meio da inibição e da incorporação de acetado marcado. Hoppe (1981) demonstrou que o ácido diclofop, entretanto, não possuía apenas efeito na incorporação de outros precursores em ácidos nucleicos ou proteínas. Estudos posteriores (Burton et al., 1987) demonstraram que os APP são potentes inibidores desta reação em gramíneas, porém não em dicotiledôneas e outras monocotiledôneas. Existem inúmeras evidências que apoiam a teoria dos herbicidas APP como inibidores da atividade da ACCase *in vivo*; além do efeito inibidor *in vivo* destes herbicidas tanto sobre a biossíntese de lipídeos (Hoppe, 1981) como na incorporação de [^{14}C]-acetado e piruvato nos ácidos graxos (Hoppe & Zacher, 1982 e 1985) e a ainda, a inibição *in vitro* da atividade da ACCase em muitas gramíneas (Gronwald, 1991).

A primeira evidência sobre os herbicidas APP como inibidores da síntese de lipídeos foi verificada através da incorporação de [^{14}C]-acetato em ácidos graxos livres de milho e em cloroplastos isolados de milho tratados com herbicidas APP (Hoppe & Zacher, 1985), e em experimentos elaborados com ACCase de espécies com diferentes níveis de sensibilidade (Lichtenthader & Kobek, 1987; Kobek et al., 1988). A incorporação de malonil-CoA aos ácidos graxos livres torna-os insensíveis a estes herbicidas (Kobek et al., 1987).

Os estudos iniciais com os herbicidas do grupo químico CHD, também mostraram que este grupo de herbicidas atuava no metabolismo de lipídeos ao reduzir o conteúdo de glucolipídeos e fosfolipídeos em plântulas de milho (Burgstahler & Lichtenthader, 1984). Posteriormente, outras evidências se somaram à esta hipótese quando se verificou que o sethoxydim e outros CHD inibiam a incorporação de acetato nos lipídeos de diferentes gramíneas suscetíveis (Burton et al., 1987). Assim como nos APP, também se demonstrou nos CHD que a biossíntese de lipídeos era mais intensivamente inibida pelo sethoxydim do que a síntese de RNA, DNA e proteínas (Ishihara et al., 1987).

Além disso, nem todos os tecidos de uma espécie de planta são igualmente sensíveis aos CHD. Dessa forma, o herbicida sethoxydim inibe rapidamente a incorporação de [^{14}C]-acetato nas extremidades das raízes (0-2 mm), enquanto que não se encontrando inibição em regiões de raízes mais espessas (10-15 mm) (Hosaka & Takagi, 1987). Os estudos desenvolvidos a esse respeito chegaram à conclusão de que a ACCase se encontra presente em células que estão se dividindo rapidamente e em cloroplastos ativos. De acordo com estes estudos, os sintomas observados, provocados pela ação do herbicida, são mais fortes e atuam mais rapidamente em regiões meristemáticas e nos cloroplastos. Os efeitos secundários da ação do herbicida, no nível molecular, incluem clorose (inibição da biossíntese de clorofila e carotenóides), alteração na distribuição de ácidos de cadeia longa no cloroplasto (diminuição de C-18 e incremento de $\leq$ C-16) e inibição da síntese de DNA e da mitose no nível celular.

Dos passos possíveis na sequência catalítica normal de ação da ACCase, ou seja, a carboxilação da biotina e transcarboxilação (acetato $\rightarrow$ malonato), a última reação é a mais sensível na inibição pelos herbicidas APP e CHD (Burton et al., 1991 e Rendina et al., 1990). As informações sobre a inibição da enzima claramente indicam que os herbicidas APP e CHD são potentes inibidores reversíveis, lineares e não-competitivos da ACCase de espécies de gramíneas e que a seletividade entre estas e as espécies dicotiledôneas ocorreu por causa da relativa insensibilidade da ACCase das dicotiledôneas, a estes herbicidas (Walker et al., 1989 e Gronwald, 1991).

Com o objetivo de definir mais precisamente o local de ação dos APP e CHD, Burton et al. (1989) examinaram o efeito de haloxyfop e sethoxydim na incorporação de acetato, piruvato e malonil-CoA em ácidos graxos isolados de cloroplastos de milho. A incorporação de acetato e piruvato foi inibida em 90% ou mais, na presença de sethoxydim e haloxyfop nas concentrações de 10 μ M e 1 μ M, respectivamente; enquanto que a incorporação de malonil-CoA foi ligeiramente estimulada nas mesmas concentrações. Com base nestes resultados, estes pesquisadores estudaram o efeito de haloxyfop e sethoxydim sobre a atividade da ACCase de cloroplastos de milho e ervilha e concluíram que estes herbicidas são potentes inibidores da ACCase cloroplástica em milho, porém não em ervilha. Estudos posteriores sobre a atividade da ACCase em suspensão de células de milho, demonstraram que existem diferenças na eficácia relativa dos herbicidas APP e CHD como inibidores desta enzima.

Os APP e CHD se translocam até as partes meristemáticas das gramíneas, onde a divisão celular e a elongação de células demanda uma grande quantidade de malonil-CoA para a biossíntese de ácidos graxos. A inibição na síntese de ácidos graxos poderia contribuir para os efeitos destrutivos da ultra estrutura dos plastídeos (Brezeu et al., 1976; Lichtenthader & Meier, 1984), da permeabilidade da membrana (Asare-Boamah & Fletcher, 1983) e para a necrose de zonas meristemáticas. Além disso, o malonil-CoA serve também como intermediário na síntese de ceras cuticulares, flavonóides, antocianinas, antraquinonas e estilbenóides (Nikolau et al., 1984; Stumpf et al., 1987).

2.3.2 Alteração no “gradiente de prótons da membrana”

Ainda que as evidências a favor da ACCase como local de ação dos APP e CHD sejam numerosas, existem autores que propuseram um mecanismo de ação biofísico, baseado no efeito protonóforo dos herbicidas APP, que é capaz de alterar a permeabilidade da membrana plasmática de

gramíneas suscetíveis (Lucas et al., 1984; Wright & Shimabukuro, 1987; Ratterman & Balke, 1988).

Todas as células da planta estabelecem e mantêm um gradiente de prótons através da membrana, que é essencial ao seu crescimento e desenvolvimento (Powles & Holtum, 1994). O gradiente de prótons é estabelecido (negativo no interior e positivo no exterior da membrana plasmática) pela H⁺-ATPase (bomba de prótons), requerendo energia que é conduzida pela hidrólise de ATP (Gronwald, 1991). Portanto, qualquer substância química ou xenobiótica, como o diclofop-methyl, que altera o gradiente de prótons através da membrana, pode apresentar efeitos significativos sobre inúmeros aspectos da fisiologia da planta (Shimabukuro, 1990).

Existem evidências que, em plantas e tecidos intactos, a rápida inibição de crescimento e o efeito sobre a síntese de ácidos graxos são eventos distintamente separados (Shimabukuro, 1990).

Em condições normais há uma diferença de pH e de carga elétrica entre o meio interno (pH 7,5) e o meio externo da célula (pH 5,5) ($\Delta v = 70$ mV). Verificou-se a ocorrência de despolarização da membrana celular, após a aplicação de herbicidas APP e CHD em plantas sensíveis, torna menores as diferenças entre o meio interno e externo às células, aumentando o gradiente (permeabilidade) de prótons através da membrana (Powles, 1994).

Shimabukuro & Hoffer (1988), demonstraram que os ácidos derivados de diclofop despolarizam a membrana de coleótilos e radículas de numerosas gramíneas (*Secale cereale*, *Triticum aestivum*, *Avena fatua* e *Lolium rigidum*). Segundo estes autores, a despolarização se deve ao aumento no fluxo de prótons para o interior da célula, diminuindo o pH citoplasmático. A membrana plasmática é a barreira inicial, ou local de ação, que o diclofop e outros herbicidas APP encontram para agir. O éster lipofílico penetra na membrana plasmática concentrado numa dose maior que a dos ácidos livres anfolíticos. Além disso, o éster é rapidamente hidrolizado a um ácido ativo, resultando numa concentração citoplasmática de ácido, maior do que em

células inicialmente tratadas com diclofop (Shimabukuro & Hoffer, 1988 e 1992).

A ativação de ATPases por 2,4-D diminui o efeito despolarizador do diclofop, verificado pelo aumento na saída de prótons que restaura o potencial da membrana, com o custo de grande perda de energia (Holtum et al., 1994). O efeito antagônico do 2,4-D se observa no campo ao se utilizar algum APP ou CHD em mistura com aquele herbicida. O 2,4-D reduz o efeito dos herbicidas sobre as plantas daninhas suscetíveis, sendo este um dos argumentos da teoria da alteração no gradiente de prótons na membrana celular como causador do aumento da tolerância pelas plantas, o qual não se explica através da ACCase (Shimabukuro & Hoffer, 1992).

Outros pesquisadores consideram que a falta de lipídeos na célula seja a causa da despolarização da membrana celular. Quando a ACCase presente nos cloroplastos é inibida, não ocorre a formação de lipídeos, prejudicando a formação e manutenção de membranas lipoproteicas para as diversas organelas e para a célula. Aproximadamente 5 a 10% do peso da fitomassa seca é formado por lipídeos, cuja maioria é encontrado como constituinte das membranas de organelas e das células (Diesenhofer & Michel, 1989). A inibição da ACCase promoveria a inibição da síntese de lipídeos, que por sua vez danificaria as membranas celulares, causando a despolarização de membranas nas organelas e nas células.

Entre as principais alterações provocadas pela diminuição do potencial da membrana celular destaca-se a diminuição na absorção de açúcares, aminoácidos e acetato, o que determina uma lentidão nos processos de biossíntese de ARN, ADN, proteínas e lipídeos (Hoppe, 1981; Peregoy & Glenn, 1985; Sentenac & Grignon, 1987 e Grignon & Sentenac, 1991).

Os efeitos dessas alterações a longo prazo são: perda da integridade da membrana com extravasamento dos eletrólitos e clorose causada por danos na membrana dos cloroplastos (Shimabukuro, 1990) e necrose das células meristemáticas, podendo ser causada pelos efeitos do mecanismo bioquímico ou uma combinação de ambos mecanismos. As

interações bioquímicas e biofísicas entre os dois mecanismos, que levam a planta à morte, ainda não estão claramente elucidadas.

Apesar de todo o exposto, parece que o mecanismo biofísico, não pode por si só comprovar o efeito fitotóxico dos herbicidas APP e CHD. Existem pesquisadores a favor da teoria da ACCase e outros a favor do mecanismo biofísico da alteração do potencial da membrana. Outros pesquisadores propuseram teorias que tentam integrar ambas, argumentando que as duas podem coexistir simultaneamente na natureza (Devine & Shimabukuro, 1994).

3 RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS

3.1 Evolução e desenvolvimento da resistência

Devido ao seu grande potencial de uso agrícola, as indústrias têm desenvolvido um grande número de novos herbicidas que são introduzidos na agricultura mundial a cada ano. A resistência a herbicidas em plantas daninhas é um exemplo da evolução de espécies de plantas como consequência de alterações no ambiente, causadas pela ação do ser humano. A exigência crescente do controle químico de plantas daninhas tem levado ao aparecimento, da mesma maneira como ocorreu com insetos e microorganismos, do processo de resistência por parte das plantas.

Os registros atuais apontam a existência de 218 biotipos resistentes de plantas daninhas, distribuídos entre 145 espécies (Heap, 1999). Até 1997, os casos documentados de plantas daninhas resistentes eram de 28% para os herbicidas inibidores da ALS, 15% às triazinas, 15% aos bipiridilos, 12% às uréias e amidas, 11% aos inibidores da ACCase, 4% às dinitroanilinas e os demais casos distribuídos em diversas outras classes de herbicidas (Heap, 1999).

Apesar da existência de herbicidas não seletivos, que resultam ativos sobre a maioria das espécies daninhas, os mais importantes,

quantitativa e qualitativamente são os herbicidas seletivos, capazes de controlar um amplo espectro de plantas daninhas sem afetar as culturas às quais se aplicam. A seletividade pode ocorrer por causas físicas ou mais freqüentemente, por causas fisiológicas e/ou bioquímicas, derivadas das diferenças genéticas existentes entre as espécies vegetais (Jäger, 1983).

A habilidade natural em tolerar uma substância tóxica, implicando em determinadas plantas cultivadas e também daninhas, serem capazes de sobreviverem e se desenvolver sob as doses recomendadas é definido como “tolerância”, para uso agrícola dos herbicidas (Jäger, 1983).

Devido à variabilidade genética intraespecífica, e à pressão de seleção imposta pela aplicação contínua de herbicidas é possível haver o desenvolvimento de biotipos de plantas daninhas que deixam de ser controlados por determinado produto, ao qual anteriormente eram sensíveis. Surge então o termo “resistência” para definir a capacidade natural e herdável de alguns biotipos de plantas daninhas de uma determinada população, em sobreviverem a tratamentos com herbicidas que deveriam controlar com eficácia esta população, sob condições normais de uso (Gunsolus, 1993). Diferentemente das plantas tolerantes, as resistentes sobrevivem não somente a doses recomendadas para uso agrícola do herbicida, como também a outras superiores. Esta definição admite que a resistência está associada unicamente a fatores fisiológicos e/ou morfológicos.

As definições apresentadas na literatura para diferenciar os termos “resistência” e “tolerância” de plantas daninhas a herbicidas são um pouco distintas. LeBaron & Gressel (1982) ressaltam que o termo “tolerância” pode ser usado para definir não só as variações entre espécies, como também relacionar as variações dentro de uma mesma espécie. Neste caso, tolerância e resistência são expressões que denotam diferenças na intensidade de um mesmo fenômeno, considerando-se a resistência como um caso extremo e menos freqüente de tolerância (Holt & Le Baron, 1990), ou ainda considerando-se a tolerância como um fenômeno poligênico e a resistência como monogênico (Gressel, 1985).

Holt & LeBaron (1990) afirmam que qualquer definição de resistência deve relacionar-se com a utilização do herbicida, em sua doses de campo recomendada para o controle das plantas daninhas. Gressel & Segel (1978) definiram como resistentes as plantas que sobrevivem a doses que normalmente controlam plantas suscetíveis da mesma espécie. Warwick (1991) definiu resistência como sendo o resultado da seleção ou da resposta genética a repetidas exposições a herbicidas com mesmo mecanismo de ação. Sawicki (1987) propôs uma definição que, além de considerar o aspecto da dose recomendada, salienta o conceito de evolução afirmando que a resistência seria uma resposta genética à seleção imposta pelos herbicidas.

O termo “resistência” é comumente apresentado tanto com referência ao comportamento de um indivíduo frente aos mecanismos de resistência que possui, quanto aos herbicidas aos quais este indivíduo é resistente. Desta forma, surgem os conceitos de resistência cruzada e resistência múltipla. Existem diferentes definições dependendo da associação destas a conceitos de mecanismos de resistência (Jutsum & Graham, 1995) ou a grupos químicos de herbicidas (Rubim, 1991). Segundo Jutsum & Graham (1995).

A resistência cruzada, ocorre quando um indivíduo é resistente a dois ou mais herbicidas, devido a um só mecanismo de resistência, e a resistência múltipla ocorre quando um indivíduo possui dois ou mais mecanismos de resistência que conferem o comportamento resistente a um ou vários herbicidas. Tardif et al. (1993) identificaram biotipos de *Lolium rigidum* que apresentavam resistência cruzada tanto a herbicidas do grupo químico APP quanto aos CHD, devido à insensibilidade da ACCase à ação dos herbicidas. Em outros trabalhos, um mesmo biotipo de *Lolium rigidum* apresentou mecanismos de resistência por causa da “resposta de recuperação da membrana” (Häuler et al., 1991); devido ao acréscimo no metabolismo de diclofop-methyl (Holtum et al., 1991) e a insensibilidade da ACCase (Matthews et al., 1990), exemplificando assim um caso de resistência múltipla.

Baseando-se em grupos químicos de herbicidas, Rubim (1991) definiu resistência cruzada como aquela na qual uma população é resistente a

dois ou mais herbicidas que atuam sobre o mesmo sítio primário de ação, e resistência múltipla como aquela na qual uma população apresenta resistência a dois ou mais herbicidas que atuam em diferentes sítios primários de ação.

Nesta tese, os termos tolerância e resistência foram utilizados com os significados apresentados por Jäger (1983). Quanto aos termos “resistência cruzada” e “múltipla”, foram utilizadas as propostas por Jutsum & Graham (1995), que foram os melhores adaptados ao material vegetal utilizado.

Desde o aparecimento dos primeiros casos de resistência de herbicidas a plantas daninhas, tem-se procurado conhecer os fatores determinantes no desenvolvimento destes processos. Os fatores mais importantes seriam: tempo de geração (número de ciclos por ano), a frequência inicial dos biotipos resistentes presentes numa população (Gressel & Segel, 1982); o tipo de pressão de seleção (eficiência e persistência do herbicida, intensidade de utilização, eficácia dos mecanismos de resistência, etc...) (Gressel & Segel, 1990; Gressel, 1991; Rubim, 1991); adaptabilidade ecológica das populações resistentes (Silvertown, 1987; Holt, 1995) e a germinação espacial e temporal do banco de sementes no solo (Gressel & Segel, 1990). Dentre estes fatores, a pressão de seleção imposta pelos herbicidas e o manejo do banco de sementes do solo são os únicos que podem ser alterados pela atividade humana (Cussans, 1996).

Fatores como o maior tempo na geração das plantas (normalmente uma geração por ano agrícola), em comparação com o de insetos e fungos, e a maior eficácia controladora dos herbicidas (maior pressão seletiva), avaliada em torno de 90-95% em relação aos demais agroquímicos, foram responsáveis pelo processo mais lento de resistência por plantas daninhas a herbicidas. O fato de as sementes que compõem o banco de sementes de várias espécies de plantas daninhas germinarem durante vários anos também pode determinar o lento aumento da população de plantas resistentes, uma vez que os indivíduos que aparecem em cada estação são consequência não só das plantas que completaram seu ciclo no último ano, como também dos propágulos existentes no banco de sementes do solo, proveniente de gerações anteriores.

As características específicas dos herbicidas utilizados também podem influenciar na velocidade com que se desenvolvem os fenômenos de resistência. LeBaron (1988) destaca em ordem de importância: um único local de ação e atuação específica; alta atividade e efetividade no controle de um amplo espectro de espécies de plantas daninhas; alta persistência no solo; aplicação freqüente e por vários anos agrícolas sem rotação, alternância ou combinação com outros tipos de herbicidas com diferentes mecanismos de ação.

Estudos de população realizados com biotipos de *Alopecurus myosuroides* de áreas agrícolas da Inglaterra, demonstraram que o desenvolvimento de populações resistentes é mais influenciado pelo contínuo aumento da taxa do nível de resistência a herbicidas em todos os indivíduos da população estudada, do que pelo aumento da proporção de indivíduos altamente resistentes (Moss & Cussans, 1991). Este acréscimo da taxa do nível de resistência é caracterizado pela presença de variações tanto entre os indivíduos de uma mesma população como entre populações diferentes, ainda que não existam reposições de populações resistentes e suscetíveis aos herbicidas. Deste modo, os indivíduos mais tolerantes aos herbicidas, das populações sensíveis, suportam doses menores que os mais sensíveis das populações resistentes (Moss & Cussans, 1991). Com isso, evidencia-se a existência de diferentes níveis de resistência entre populações, em função do herbicida utilizado (Moss, 1990).

3.2 Resistência de plantas daninhas a herbicidas inibidores da acetil coenzima A carboxilase (ACCase)

As primeiras referências de plantas resistentes aos APP e CHD surgiram após 7-10 anos da introdução destes herbicidas no mercado (Heap & Knigh, 1982; Thai et al., 1985). Ainda que a distribuição atual da resistência de plantas daninhas a estes herbicidas seja difícil de ser dimensionadas,

existem registros de pelo menos 11 espécies que apresentam biotipos resistentes a estes produtos (Tabela 4).

Tabela 4. Espécies de plantas daninhas relatadas que apresentam biotipos resistentes aos herbicidas APP e CHD (Devine, 1997).

Espécie	País
<i>Alopercurus myosuroides</i>	Reino Unido, Alemanha, Espanha e França
<i>Avena fatua</i>	Canadá, EUA, Austrália
<i>Avena sterilis</i>	Austrália, Reino Unido
<i>Digitaria sanguinalis</i>	EUA
<i>Echinochloa colorem</i>	Costa Rica
<i>Eleusine indica</i>	Malásia
<i>Lolium multiflorum</i>	EUA, França, Reino Unido
<i>Lolium rigidum</i>	Austrália, Espanha
<i>Setaria viridis</i>	Canadá
<i>Setaria faberii</i>	EUA
<i>Sorghum halepense</i>	EUA
<i>Brachiaria plantaginea*</i>	Brasil

* Adicionado à tabela original.

A ocorrência dos casos de resistência está sempre associada ao uso repetitivo dos herbicidas, de um ou ambos grupos químicos, por vários anos seguidos. Apesar dos levantamentos serem de baixa precisão, o número estimado de locais com plantas de *L. rigidum* resistentes na Austrália é acima de 3000 e os locais com *Avena* spp resistente no Canadá e Austrália são acima de 100. É provável que nestas e em outras populações, exista uma baixa frequência de indivíduos resistentes estejam presentes em populações não selecionadas e que a aplicação repetida dos APP ou CHD promovam seleção para resistência, alterando as populações até que elas passem a ser compostas predominantemente de plantas resistentes (Powles & Holtum, 1994).

Apesar da freqüente dificuldade em se determinar o histórico do uso de herbicidas, é notável que a seleção por mais de quatro anos seja

suficiente em alguns casos, para originar populações resistentes. De qualquer modo, nas situações em que os herbicidas possam ser aplicados mais de uma vez por ano, este período de seleção pode ser reduzido (Powles & Holtum, 1994).

Atualmente, entre as espécies daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase, as mais estudadas são *L. rigidum* e *A. myosuroides*.

A natureza alógama de algumas espécies daninhas, junto com a dispersão em áreas cultivadas, tem contribuído para o desenvolvimento de resistência múltipla de tais espécies. Populações de *L. rigidum* podem apresentar mais de um mecanismo de resistência, sendo que indivíduos dentro de uma mesma população podem diferir em sua composição genética para a resistência. Trabalhos desenvolvidos com a espécie *A. myosuroides* resistente ilustram que a acumulação de mecanismos de resistência dentro de uma população, não são exclusivos para a espécie *L. rigidum* (Moss & Cussans, 1991; De Prado et al., 1991)

A resistência em *L. rigidum*, apresenta um complexo padrão desenvolvido com o uso de vários grupos diferentes de herbicidas. Para algumas populações resistentes há somente um grupo de herbicidas, enquanto que em outras existem vários grupos de herbicidas e modos de ação. Por exemplo, de 242 populações resistentes testadas na Austrália, 39 delas e 11% apresentavam resistência somente aos herbicidas sulfoniluréias e APP, respectivamente. Contudo, 32% foram resistentes a ambos, sulfoniluréias e APP; 12% a sulfoniluréias, APP e CHD e 6% foram resistentes a APP e CHD (Hall et al., 1994). A resistência múltipla que ocorre neste caso para vários herbicidas com diferentes mecanismos de ação, representa um problema para o controle químico.

Os padrões de resistência dentro das espécies são variáveis. Por exemplo, embora a maioria das linhagens de *A. fatua* resistentes, provenientes do Canadá, sejam resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase, o grau relativo de resistência para diferentes produtos pode variar entre as linhagens.

Em alguns casos existe um alto nível de resistência aos herbicidas APP e nenhuma resistência aos herbicidas CHD.

Resultados semelhantes têm sido observados em *L. rigidum*, sendo comum serem encontrados mais padrões diferenciados de resistência cruzada, quanto mais biotipos resistentes aos herbicidas são caracterizados (Heap & Knight, 1990; Heap et al., 1993).

Na Inglaterra vários biotipos de *A. myosuroides*, apresentam resistência ao diclofop-methyl e ao fenoxaprop-ethyl, porém, o nível e o alcance da resistência a outros APP variam consideravelmente (Preston et al., 1992). Dois destes biotipos são resistentes aos APP diclofop-methyl, fenoxaprop-ethyl e fluazifop-butyl e ao CHD tralkoxydim, mas somente ligeiramente resistentes ao sethoxydim (Sasaki et al., 1995).

3.3 Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil

Desde o primeiro biotipo de *Daucus carota* resistente a 2,4-D encontrado nos EUA, em 1957 (Whitehead & Switzer, 1963), a resistência a herbicidas tem sido um fenômeno em contínua progressão. As últimas estimativas registram a existência de biotipos resistentes em pelo menos 52 espécies de plantas daninhas na Europa (De Prado et al., 1997), 55 nos EUA (Shaner, 1997) e 38 no restante do mundo (Rubim, 1997).

O primeiro caso de planta daninha resistente a herbicidas documentado no Brasil, foi com a planta daninha picão-preto (*Bidens pilosa*) em regiões produtoras de soja (Ponchio et al., 1996). Populações de *Bidens pilosa* (Christoffoleti et al., 1996); *Euphorbia heterophylla* (Gazziero et al., 1998) e *Bidens pilosa*/*Bidens subalternans* (Monqueiro, 1999) resistentes aos herbicidas inibidores da ALS; e *Brachiaria plantaginea* (Vidal & Fleck, 1997; Gazziero et al., 1997; Christoffoleti et al., 1998 e Cortez et al., 1999) resistente aos herbicidas inibidores da ACCase, foram confirmadas em regiões produtoras de soja no Brasil. Ponchio (1997) confirmou a existência de

populações de *Bidens pilosa* resistentes a herbicidas inibidores da ALS, nos Estados de Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul.

No Brasil há poucos relatos e pesquisas que determinam a real extensão da área afetada por plantas daninhas resistentes aos herbicidas. Sabe-se, entretanto, que o surgimento deste fenômeno ocorre na maioria das vezes, em áreas onde são utilizados repetidamente e de maneira consecutiva, os mesmos herbicidas ou herbicidas com mecanismo de ação. Esta situação tem sido comum no Brasil, especialmente em áreas com cultivo de soja.

No caso de desenvolvimento de dicotiledôneas resistentes, este fenômeno possivelmente estará relacionado ao fato da soja ser uma cultura bastante sensível às perdas provocadas pela competição com as plantas daninhas e geralmente por ser conduzida em extensas áreas, exigir a utilização freqüente do controle químico das invasoras através de herbicidas.

O desenvolvimento de gramíneas resistentes tem sido verificado em áreas de produção de soja cultivadas no sistema de semeadura direta, o que impossibilita a integração de outras técnicas de manejo de plantas daninhas ou a utilização de diferentes métodos de controle, além do químico. Neste caso, o problema se torna ainda mais grave quando se verifica a intensidade com que os graminicidas de aplicação em pós-emergência, seletivos à soja, têm sido aplicados ao longo dos anos. Isso ocorre por causa da dificuldade de se utilizar graminicidas pré-emergentes, pois apresentam elevada retenção na matéria orgânica, abundantemente presente no solo, em áreas de semeadura direta.

A cultura da soja é também a que responde pelo maior consumo de herbicidas no Brasil (Sindag, 1999) e a que se utiliza desta técnica de controle há mais tempo, desde a introdução da cultura no Brasil.

Ainda que algumas informações não publicadas, façam referência a um contínuo aumento da superfície agrícola afetada, a extensão real das zonas infestadas por biotipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas está mal documentada devido à falta de levantamentos criteriosos e registros de casos cientificamente comprovados. No entanto, a importância crescente que o fenômeno da resistência a herbicidas apresenta na agricultura brasileira tem

motivado tanto de órgãos oficiais como as empresas produtoras de herbicidas a realizarem prospeções para quantificar a magnitude do problema (CBRPH¹).

4 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS A HERBICIDAS

Quando populações de plantas daninhas que apresentam variabilidade genética são tratadas intensivamente com um mesmo herbicida, ou com produtos de mesmo mecanismo de ação, poderão ocorrer sobreviventes com mecanismos de resistência diversificados (Powles & Holtum, 1994).

Populações resultantes desta seleção podem ser compostas de indivíduos com características genéticas relacionadas à resistência. Os herbicidas podem atuar como agentes de seleção dentro de uma população, para traços característicos herdáveis, possibilitando a sobrevivência de indivíduos em contato com esses produtos. Para isso, os mecanismos de sobrevivência precisam ser suficientemente eficazes para permitir a sobrevivência das plantas sob doses recomendadas dos herbicidas utilizados. Desta forma, plantas com algum mecanismo de resistência geneticamente transmitido sobreviverão e contribuirão para a reserva de genes na população.

A reprodução sexuada em espécies de plantas daninhas é importante na constituição do tipo de resistência que uma população pode desenvolver. Em espécies autógamas existe menor probabilidade de ocorrência de mais de um mecanismo de resistência em uma mesma planta, em função da autopolinização, que dificulta o fluxo de genes entre plantas vizinhas. Em espécies alógamas existe maior probabilidade de ocorrência de múltiplos mecanismos de resistência, pois a polinização cruzada permite maior recombinação gênica. Deste modo, seleções sucessivas podem acumular mecanismos de resistência dentro de indivíduos e reduzir a freqüência de genes susceptíveis na população. Indivíduos com mais de um mecanismo serão provavelmente mais resistentes a aplicações de herbicidas com diferentes

¹ CBRPH – Comitê Brasileiro de Resistência de Plantas aos Herbicidas. Ata de reunião em 01/10/1999 – Ponta Grossa/PR.

mecanismos de ação. Com isso, é possível verificar a existência de diferentes tipos de resistência (Rubim, 1991; Devine et al., 1993a; Jutsum & Graham, 1995).

Existem pelo menos três mecanismos gerais que podem explicar o desenvolvimento da resistência a herbicidas (Sherman et al, 1996) e influenciar o modo de ação destes compostos: a) redução da concentração do herbicidas no local de ação, absorção foliar e/ou translocação do herbicida pelo biotipo resistente; b) metabolização ou destoxificação do herbicida a substâncias menos fitotóxicas; c) perda de afinidade do herbicida pelo local de ação na enzima.

4.1 Redução da concentração do herbicida no local de ação

Uma das condições necessárias para a melhor atuação de um herbicida é que ele alcance o local de ação na planta, em uma concentração suficiente para que ocorra o controle. O local de ação pode estar situado longe do local de aplicação do herbicida. Por exemplo, o herbicida pode necessitar ser translocado desde as folhas até os meristemas apicais para tornar-se efetivo. Então, o bloqueio do movimento ao local de ação pode ocorrer na superfície de contato inicial (na cutícula da folha ou na epiderme da raiz), dentro da planta (parede celular ou membrana plasmática) ou nos tecidos vasculares por onde ocorrem a translocação do herbicida.

A movimentação deficiente de um herbicida, em alguns biotipos de plantas daninhas, pode reduzir a concentração deste no local de ação e ser responsável pela resistência ao herbicida na espécie estudada. Estas baixas concentrações podem ocorrer por causa da redução na retenção do herbicida pela superfície foliar, redução da absorção e/ou translocação na planta, ou pela ocorrência de fenômenos de seqüestração em organelas celulares metabolicamente inativas (Powles & Holtum, 1994).

Alguns autores afirmam que a deficiência de movimentação do herbicida na planta, em razão da absorção e/ou translocação reduzidas pode

ser a causa da maior tolerância em inúmeras culturas e plantas daninhas (Tryee et al., 1979; Hess, 1985; Ladlie, 1991). Quando é possível serem estudadas separadamente, os mecanismos de resistência em razão da absorção e/ou translocação são difíceis de serem interpretados apresentam dificuldades de interpretação devido a dois fatores: 1) a absorção diferencial costuma resultar em uma translocação diferencial; 2) a translocação diferencial pode ocorrer por degradação diferenciada do herbicida no local de absorção, resultando em metabólitos pouco ou muito translocáveis (Menendez, 1997).

O modo de absorção de um herbicida é determinado pelo seu modo de aplicação podendo ser em pré-emergências (absorção via radicular) ou em pós-emergência (absorção via foliar). A quantidade de herbicida absorvida pela planta está relacionada com a quantidade de produto que fica retido nas folhas. Esta quantidade depende de fatores, tais como: condições meteorológicas durante a aplicação; tensão superficial da solução herbicida; volume de aplicação utilizado na pulverização e características foliares como área, orientação e cerosidade .

Os herbicidas APP e CHD são rapidamente absorvidos pelas folhas das plantas, porém alguns representantes destes grupos necessitam da adição de surfactante para melhorar a absorção pelas folhas. A absorção destes herbicidas e conseqüentemente a sua atividade, podem ser limitadas quando aplicados em mistura com herbicidas inibidores de “protox”, sulfoniluréias, 2,4-D e bentazon, ou quando as plantas daninhas estão sob condições de estresse hídrico (Ladlie, 1991; Rodrigues & Almeida, 1998).

As causas da tolerância a herbicidas por falta de translocação em plantas tratadas em pós-emergência não são ainda bem conhecidas. Apesar disso, foi possível identificar a baixa eficiência na desesterificação de herbicidas APP (pouco translocáveis via simplasto) em suas correspondentes formas ácidas (translocáveis via simplasto) como causa de tolerância de várias culturas (Jeffcoat & Harries, 1975; Shaner et al., 1983).

Os fenômenos de compartimentalização, compreendidos como a seqüestração do herbicida ou de seus metabólitos em um local específico da

célula, são mecanismos de tolerância/resistência pouco conhecidos porque evidências que os apoiam são, em muitos casos, circunstanciais (Coupland, 1991 e Owen, 1991).

Acredita-se que algumas espécies de plantas daninhas apresentam biotipos resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase, com mecanismo de resistência decorrente da seqüestração. A hipótese de seqüestração ou compartimentalização intracelular do herbicida foi proposta para explicar o comportamento de um biotipo de *Avena Fatua* resistente aos inibidores da ACCase, que consegue se recuperar dos efeitos fitotóxicos dos herbicidas (Holtum et al., 1991). Membranas de biotipos resistentes e suscetíveis mantidas *in vitro* com concentração constante de herbicida no meio, não repolarizaram. Quando a concentração de herbicida do meio foi diminuída, ocorreu a repolarização das membranas do biotipo resistente (Devine et al., 1993b).

Existe um biotipo de *Avena fatua* no Canadá no qual também foi encontrada a repolarização da membrana como mecanismo primário de resistência (Devine & Shimabukuro, 1994). Em estudos realizados *in vitro* observou-se que em plantas resistentes e suscetíveis àqueles herbicidas, ocorre despolarização da membrana celular logo após a aplicação dos produtos. Entretanto, no decorrer do tempo, as plantas resistentes repolarizam a membrana celular, enquanto que nas plantas suscetíveis a despolarização se acentua, ocorrendo o extravasamento do conteúdo celular. A capacidade de repolarizar a membrana decorre, provavelmente, da seqüestração do herbicida nos vacúolos, reduzindo a concentração do mesmo no citoplasma e no cloroplasto (Devine et al., 1993b).

4.2 Metabolismo e destoxificação do herbicida

A resistência de biotipos de plantas daninhas, em razão do metabolismo do herbicida a compostos não fitotóxicos, é um mecanismo de

resistência em que a planta degrada o herbicida antes que este cause danos irreversíveis à ela.

A velocidade de metabolização pode variar com o estágio de desenvolvimento da planta e com a temperatura a que está exposta, entre outros fatores. Assim, uma mesma quantidade de herbicida aplicada a uma espécie pode tornar-se fitotóxico sob determinadas condições e não produzir nenhum dano em outras. Os produtos da degradação dos herbicidas costumam apresentar uma atividade muito pequena ou nula, exceto no caso dos pró-herbicidas que são metabolicamente ativados na planta (Duke et al., 1991). Alguns herbicidas exercem seus efeitos com a produção de outras moléculas tóxicas na planta. A resistência a estes herbicidas pode algumas vezes, ser atribuída à destoxificação metabólica destes compostos tóxicos.

O mecanismo de destoxificação dos herbicidas APP e CHD não é muito encontrado na natureza, contrariamente ao que ocorre com outros herbicidas. O mecanismo de destoxificação mais conhecido é o que ocorre na planta de trigo para metabolizar o diclofop. O metabolismo e destoxificação do diclofop-methyl em plantas resistentes ocorre através da aryl-oxidação e conjugação (Shimabukuro, 1990). O trigo é naturalmente tolerante ao diclofop por causa de a forma ácida deste herbicida ser rapidamente aril-hidroxilada, após a desesterificação do éster na planta, e posteriormente aril-glicolisada (Devine & Shimabukuro, 1994). O trigo, embora tolerante ao diclofop, é suscetível a outros APP e CHD pois o processo de destoxificação destes herbicidas é menos intenso.

Marles et al. (1993) verificaram que a desesterificação do fenoxaprop-ethyl para ácido foi levemente mais rápida em *Setaria viridis* suscetível, que na espécie resistente, embora tenham concluído que a diferença foi pequena demais para contribuir significativamente para a resistência. Neste caso, a grande diferença de sensibilidade entre as ACCases de populações resistentes e suscetíveis foi o principal mecanismo de resistência.

Observou-se a metabolização de diclofop em plantas daninhas suscetíveis de *Avena fatua*, ainda que, neste caso, formando menor quantidade

de aril-glucosídeo e menor quantidade de éster-glucosídeo, o que não determina um comportamento tolerante. O éster pode liberar facilmente o ácido nos tecidos prolongando a presença do agente fitotóxico na planta (Devine & Shimabukuro, 1994).

Alguns biotipos de *L. rigidum*, nos quais a resistência não está associada a ACCase insensível aos herbicidas (Matthews et al., 1990; Holtum et al., 1991), apresentam um ligeiro acréscimo nas taxas de metabolismo do diclofop-methyl; contudo, o aumento da destoxificação não foi considerado suficiente para conferir o alto nível de resistência por parte desses (Holtum et al., 1991; Shimabukuro & Hoffer, 1991).

Foram descritos dois biotipos resistentes a diclofop, um de *Alopecurus myosuroides* e outro de *Lolium rigidum*, nos quais existe um aumento de destoxificação de diclofop ácido para formar principalmente aril-glucosídeos, como ocorre com o trigo (Menendez et al., 1993 e 1996).

Em estudo com diferentes populações de *Avena fatua*, no Canadá, não foi detectada nenhuma diferença nas taxas de metabolização ou rota metabólica de diclofop-methyl e fenoxaprop-ethyl, entre biotipos resistentes e suscetíveis (Devine et al., 1992; Devine et al., 1993).

Em trabalho realizado com biotipos de *Alopecurus myosuroides* da Espanha, Menendez & De Prado (1996) verificaram que tanto o biotipo resistente como o suscetível apresentaram padrões idênticos de metabolismo de diclofop-methyl. No entanto, o biotipo resistente acumulou até 50% menos metabólitos fitotóxicos que o suscetível, determinando ser esta a possível causa da resistência cruzada a este herbicida.

Dois biotipos resistentes de *Alopecurus myosuroides* ingleses, apresentaram aumento na metabolização do diclofop-methyl e fenoxaprop-ethyl por causa de resistência deles (Hall et al., 1994). Após vinte e quatro horas da aplicação de diclofop-methyl, o biotipo suscetível apresentou 48% do ácido diclofop herbicidicamente ativo, 3% do diclofop-methyl e 49% de metabólitos dos herbicidas; enquanto que os biotipos resistentes apresentaram, em média, 28% de ácido diclofop, 3% de diclofop-methyl e 69% de metabólitos (Hall et al., 1994). Foram encontradas em biotipos de *L. rigidum*

com ACCase resistente, taxas de metabolismo de sethoxydim, fluazifop e haloxyfop semelhantes às encontradas em biotipos com ACCase sensível. Mesmo passados sete dias após a aplicação destes herbicidas, quando plantas resistentes de *L. rigidum* estão saudáveis e apresentam fitomassa quatro vezes maior que o de plantas suscetíveis, não houve diferenças quanto ao metabolismo destes compostos (Tardif et al., 1993).

4.3 Perda de afinidade do herbicida pelo local de ação na ACCase

De maneira geral, os efeitos fitotóxicos dos herbicidas sobre as plantas resultam da sua atuação sobre um local de ação principal, geralmente uma proteína, de especial importância biológica. Este local é específico e a ação do herbicida sobre ele (efeito principal) freqüentemente conduz ao desenvolvimento dos efeitos secundários que normalmente acabam levando a planta à morte (Corbett et al., 1984). Uma ou várias mutações genéticas que resultam em mudanças de aminoácidos no local de ação, podem resultar na perda de afinidade do herbicida por este, impedindo a união efetiva de ambos e, conseqüentemente, a inibição do processo biológico mediado por este local de ação (Devine & Shimabukuro, 1994; Gronwald, 1994; Saari et al.; 1994).

Os casos mais freqüentes de resistência aos herbicidas APP e CHD em culturas e plantas daninhas são explicados com base na resistência em virtude de alterações no local de ação. A ACCase de gramíneas suscetíveis é sensível à inibição pelos herbicidas APP e CHD, e a enzima ACCase de espécies dicotiledôneas resistentes não são afetadas. Mutações em milho resultaram na variabilidade de ACCase resistente ao haloxyfop e sethoxydim (Boldt & Barret, 1991).

Pesquisas recentes sobre o mecanismo de resistência das plantas daninhas a herbicidas em *Setaria viridis*, *Lolium rigidum*, *Avena sterilis* e *Sorghum halepense* têm revelado formas alteradas de ACCase que são pouco sensíveis aos herbicidas APP e CHD. Até o momento não foi comprovado se as alterações da ACCase em todos os biotipos resistentes é decorrente de um

único tipo de material genético. Estudos com um biotipo de *Alopecurus myosuroides* resistente a herbicidas APP e CHD revelaram que não existem diferenças significativas na sensibilidade da ACCase entre biotipos resistente e suscetível (Menendez & De Prado, 1996). De qualquer modo, os padrões variáveis de resistência aos diferentes inibidores da ACCase, descritos para planta inteira, sugerem previamente que podem estar envolvidas diferentes mutações (Devine & Shimabukuro, 1994).

4.4 Outros mecanismos de resistência

Além dos mecanismos de resistência descritos anteriormente, existem outros, como a despolarização da membrana. O mecanismo de resistência a estes herbicidas, os quais toleram alterações nas propriedades da membrana plasmática foi descrito em biotipos de *Lolium rigidum* resistentes ao diclofop-methyl (Heap & Knight, 1982; Matthews et al., 1990). Descrições semelhantes foram observadas em biotipos de *Avena sterilis* (Devine, 1992; Holtum, 1992). Em ambos casos, os biotipos resistentes apresentavam níveis considerados normais de ACCase sensível aos herbicidas. Também foram observadas pequenas diferenças ou nenhuma na absorção, translocação ou metabolismo dos herbicidas, na comparação entre biotipos resistentes e suscetíveis (Holtum et al., 1991; Devine, 1992). Portanto, estes casos de resistência a herbicidas parecem estar correlacionados com alterações no potencial da membrana após o tratamento das plantas com os herbicidas (Häuler et al., 1991; Shimabukuro & Hoffer, 1991; Devine, 1992).

Os estudos realizados em algumas dicotiledôneas como girassol, mostraram que o diclofop não polariza a membrana plasmática, o que explica, segundo a hipótese do mecanismo de ação biofísico explica seu comportamento resistente (Shimabukuro & Hoffer, 1990 e Shimabukuro, 1990). A ausência de despolarização indica que nestas espécies não existem receptores específicos do herbicida, o que determina a sua tolerância. Em plantas daninhas, a despolarização seguida de uma recuperação (ou repolarização da membrana)

explica alguns casos de tolerância até o momento, sem definição pela tolerância à ACCase cloroplástica. Foram descritos um biotipo de *Lolium rigidum* e outro de *Avena fatua* resistentes ao diclofop, nos quais a concentração de herbicida necessária para despolarizar a membrana foi maior que a necessária para a despolarização em populações suscetíveis (Häusler et al., 1991; Holtum et al., 1991; Devine et al., 1992).

Ao observar-se a despolarização em todos os casos, deduz-se que tanto biotipos resistentes como suscetíveis possuem locais de ação similares, dependendo da concentração de herbicida. No entanto, só no caso de biotipos resistentes foi observada a repolarização ao se retirar o herbicida do meio externo (Shimabukuro & Hoffer, 1992; Devine et al., 1993b; De Prado et al., 1997). O mecanismo que explica a capacidade de repolarização é ainda desconhecido com base em uma destoxificação ou metabolização do herbicida.

O panorama geral é, diante do exposto, bastante complexo. A seletividade em dicotiledôneas, parece ocorrer em função de uma isoforma de ACCase cloroplástica (multimérica) diferente da existente em gramíneas (multifuncional), a qual exhibe uma baixa sensibilidade aos herbicidas APP e CHD. Em plantas cultivadas gramíneas, a tolerância apresentada por algumas espécies deve-se à capacidade de metabolização da forma tóxica do herbicida (Devine & Shimabukuro, 1994). Em plantas daninhas gramíneas o mecanismo de resistência mais propagado é o que ocorre a partir de uma forma modificada de ACCase cloroplástica (multifuncional) (Gronwald et al., 1992; Mansooji et al., 1992; Tardif et al., 1993; Stolténberg et al., 1993; Smeda et al., 1993; Marshall et al., 1994; Giménez-Espinosa et al., 1997b). Existem biotipos resistentes de *L. rigidum*, nos quais somente a capacidade de repolarização da membrana explica sua resistência (De Prado et al., 1973). Além disso, a complexidade do assunto aumenta diante do fato de existirem numerosos casos de dicotiledôneas com ACCase multimérica altamente resistente, nas quais não se observa despolarização (ervilha); dicotiledôneas com ACCase multimérica que detoxificam (soja); biotipos de gramíneas com ACCase multifuncional resistente capazes de repolarizar e biotipos de gramíneas que

possuem ACCase resistente que metabolizam e repolarizam a membrana ao mesmo tempo (Devine & Shimabukuro, 1994).

5 A PLANTA DANINHA *Brachiaria plantaginea*

A planta *Brachiaria plantaginea* possui como nomes vulgares mais conhecidos: capim-marmelada ou capim-papuã. Sua origem é provavelmente africana, tendo sido introduzida no Brasil nos tempos coloniais. É uma das espécies infestantes mais freqüentes nos solos cultivados das regiões Centro e Sul do Brasil, tanto em culturas anuais quanto em perenes (Lorenzi, 1991). Infesta várias culturas no Brasil, sendo particularmente mais importante em culturas de soja e milho. Foi considerada por Blanco (1975) como uma planta infestante altamente nociva.

Sua presença na lavoura afeta diretamente a produtividade. Em condições de solo fértil o desenvolvimento pode ser tão vigoroso que uma planta por metro quadrado pode reduzir em até 50% do rendimento da soja (Kissmann & Groth, 1991). Os prejuízos podem variar segundo a arquitetura e o ciclo da cultura, bem como a duração do período de competição. As populações de *B. plantaginea* têm um ciclo mais longo que o das culturas anuais, sendo capazes de produzir grande massa foliar, e isso pode prejudicar o funcionamento de máquinas durante a colheita, além de aumentar as impurezas e a umidade nos grãos. Em uma área com alta infestação, se forem eliminados 98% das plantas, ainda assim as sobreviventes garantirão a continuidade do problema (Kissmann & Groth, 1991).

Brachiaria plantaginea, segundo Kissmann & Groth (1991), é uma planta anual, herbácea, ereta ou ocasionalmente ascendente, glabra, com enraizamento nos nós inferiores quando em contato com o solo, medindo entre 50 e 80 cm de altura. Apresenta inflorescência em panículas ascendentes de 10 a 30 cm de comprimento e fecundação cruzada, sendo o pólen transportado pelo vento. É uma planta prolífica, e as sementes são o seu principal meio de disseminação. Após a maturação, as sementes produzidas em grandes

quantidades, caem prontamente das espiguetas (Gillet, 1984), tendo um importante papel na dinâmica populacional desta espécie, tendo sido observado que elas se encontram dormentes na época de sua dispersão, portanto, com dormência primária.

As sementes de *B. plantaginea* apresentam baixa viabilidade logo após a maturação, sendo que a dormência de suas sementes ocorre devido à impermeabilidade do tegumento (Freitas, 1991). Esta característica torna necessária a utilização de técnicas para superação da dormência, no caso de se trabalhar com estas sementes recém coletadas do campo. Por outro lado, sementes de *B. plantaginea* atingem valores máximos de germinação (84%) aos quatorze meses após a colheita e em armazenamento em câmara fria e seca (15°C e 30% U.R.) (Oliveira & Mastrocola, 1984). No campo, estas sementes podem permanecer viáveis no banco de sementes do solo por vários anos (Freitas, 1991).

É uma espécie cujos fluxos de emergência ocorrem tipicamente nos meses com temperaturas altas e com maiores quantidades de chuva, terminando o seu ciclo com o final do outono e a chegada do frio. O ciclo tende a ser reduzido nas condições de clima frio, com as plantas vegetando até março ou abril, e antecipando o florescimento e frutificação para maio.

A *B. plantaginea* já foi cultivada no Brasil, em pequenas áreas, como forragem verde de verão, atingindo um rápido crescimento na primavera, alto valor nutritivo e produção abundante de sementes, podendo atingir 670 kg ha⁻¹ (Whyte et al., 1977).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHRENS, W.H. (Ed.) **Herbicide handbook**. 7. ed. Champaign, WSSA, 1994. 352p.
- ALBAN, C.; BALDET, P.; DOUCE, R. Localization and characterization of two structurally different forms of acetyl-CoA carboxylase in young pea leaves, of which one is sensitive to aryloxyphenoxypropionate herbicides. **Biochemical Journal** n.300, p.557-565, 1994.
- BLANCO, H.G. Catálogo das espécies de mato infestantes de áreas cultivadas no Brasil; gramíneas de ciclo anual. **O Biológico**, São Paulo, v.41, n.1, p.6-14, 1975.
- BOLDT, L.D.; BARRETT, M. Effects of Diclofop and Haloxyfop on Lipid Synthesis in Corn (*Zea mays*) and Bean (*Phaseolus vulgaris*). **Weed Science**, v.39, p.143-148, 1991.
- BORGEAIS, L.; KENKEL, N.C.; MORRISON, I.N. Characterization of cross-resistance patterns in acetyl-CoA carboxylase inhibitor resistance wild oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v.45, p.750-755. 1997
- BREZEANU, A.G.; DAVIS, D.G.; SHIMABUKURO, R.H. Ultrastructural effects and translocation of methyl 2-(4-(2,4-dichloro-phenoxy)phenoxy)propanoate in wheat (*Triticum aestivum*) and wild oat (*Avena fatua*). **Canadian Journal of Botanic**, v.54, p.2038-48, 1976.
- BURTON, J.D.; GRONWALD, J.W.; KEITH, R.A.; SOMERS, D.A.; GENGENBACH, B.G.; WYSE, D.L. Kinetics of Inhibition of Acetyl-Coenzyme A Carboxylase by Sethoxydim and Haloxyfop. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 9, p.100-109, 1991.

- BURTON, J.D.; GRONWALD, J.W.; SOMERS, D.A.; BURLE, G.G.; WYSE, D.L. Inhibition of corn acetyl CoA carboxylase by cyclohexanodione and aryloxypropionate herbicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 34, p. 76-85, 1989.
- BURTON, J.D.; GRONWALD, J.W.; SOMERS, D.A.; CONNELLY, J.A.; GENGENBACH, B.G.; WYSE, D.L. Inhibition of Plant Acetyl-coenzyme A Carboxylase by the Herbicides Sethoxydim and Haloxyp. **Biochemical Biophys. Res. Commun.**, v.148, p.1039-1044, 1987.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; CORTEZ, M.G. e VICTORIA FILHO, R. Resistance of alexanderweed (*Brachiaria plantaginea*) to ACCase inhibitor herbicides in soybean from Paraná State - Brazil. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, CHICAGO, 1998. **Abstracts**. Chicago: WSSA, 1998. p. 65.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v.12, n.1, p.13-20., 1994.
- COBLE, H.D. Weed management tools and their impact on the agro-ecosystem. **Proc. 2nd Int. Weed Control Congress**, Copenhagen, p. 1143-1146. 1996.
- COLE, D.J. Detoxification and activation of agrochemicals in plants. **Pesticide Science**, v.42, p.209-222, 1994.
- CORBETT, J.R.; WRIGHT, D.; BAILLIE, A.C. **The biochemical mode of action of pesticides**. Academic Press, London. 1984.

- COUPLAND, D. The role of compartmentation of herbicides and their metabolites in resistance mechanisms. In: CASELEY, J.; C. CUSSANS, G.W.; ATKIN, R.K. eds **Herbicides resistance in weeds and crops**. Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford. p-263-278. 1991.
- CUSSANS, G.W. Which weed management strategies are appropriate? **Proc. 2nd Int. Weed Control Congress**, Copenhagen, p.1159-1166. 1996.
- DE PRADO, R.; DOMINGUEZ, C.; TENA, M. Triazine resistance in biotypes of *Solanum nigrum* and four *Amaranthus species* found in Spain. **Weed Research**. n.33, p.17-24, 1993a.
- DE PRADO, R.; LOPEZ, N. Resistência a herbicidas: Detecção en campo y laboratorio. In: I CURSO SOBRE EL USO DE HERBICIDAS EN LA AGRICULTURA MODERNA. Cordoba/Espanha, 1999. Resumos. ETSIAM/UCO, 1999. p. 52.
- DE PRADO, R.; MENÉNDEZ, J.; TENA, M. Response to substituted ureas, triazines and chloroacetanilides in a biotype of *Alopecurus myosuroides* resistant to chlorotoluron. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE - WEEDS. p. 1065-1070, 1991.
- DE PRADO, R.; MENENDEZ, J.L. Cross-resistance and herbicide metabolism in *Alopecurus myosuroides* Huds. In: **Regulation of Enzymatic System Detoxifying Xenobiotics in Plants** (HATZIOS, K. K., ed.). Kluwer Academic Publisher, p. 351-366. 1997.
- DEVINE, M.; HALL, J.C.; ROMANO, M.L.; MARLES, M.A.S.; THOMPSON, L.W.; SHIMABULURO, R.H. Diclofop and fenoxaprop resistance in wild oat is associated with an altered effect on the plasma membrane electrogenic potential. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.45, p.167-177, 1993b.

- DEVINE, M.D. Mechanisms of resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: a review. **Pesticide Science**, v.51, p.259-264, 1997.
- DEVINE, M.D. The biochemical basis of herbicide resistance in wild oat. In: Wild Oats in World Agriculture. In: 4TH INT. OAT CONF. (Barr, A. R., Medd, R.W., eds.). Adelaide, Australia, **Proceedings**. p. 41-44. 1992a.
- DEVINE, M.D.; McISAAC, S.A.; ROMANO, M.L.; HALL, J.C. Investigation of the Mechanism of Diclofop Resistance in Two Biotypes of *Avena Fatua*.. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.42, p.88-96, 1992b.
- DEVINE, M.D.; SHIMABUKURO, R.H. Acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides. In: POWLES, S.B. ; HOLTUM, J. A.M. eds **Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry**, p.141-169. CRC Press, London. 1994.
- DITOMASO, J.M.; STOWE, A.E.; BROWN, P.H. Inhibition of Lipid Synthesis by Diclofop-Methyl is Age Dependent in Roots of Oat and Corn. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.45, p.210-219, 1993.
- DUKE, S.O. Modes of action of herbicides used in cotton. In: McWHORTER, C.G.; ABERNATHY, J.L, eds. **Weeds of Cotton: Characterization and Control** The Cotton Foundation, Memphis, TN, p. 403-437. 1992.
- DUKE, S.O.; KENYON, W. H. Polycyclic alkanolic acids. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. eds. **Herbicides: Chemistry, Degradation, and Mode of Action** Marcel Dekker, New York, p. 71-116. 1988.

EBEL, J.; HAHLBROCK, K. Enzymes of flavone and flavonol glycoside biosynthesis. Coordinated and selective induction in cell-suspension cultures of *Petroselinum hortense*. **European Journal of Biochemistry**, v. 75, p. 201-209, 1977.

EGLI, M.A.; GENGENBACH, B.; GRONWALD, J.W.; SOMERS, D.A.; WISE, D.L. Characterization of maize acetyl-Coenzyme A carboxylase. **Plant Physiology**, n.101, p.499-506, 1993.

F.A.O. **Production Yearbook**. Vol. 51. 1997.

GARCÍA TORRES, L.; FERNÁNDEZ-QUINTANILLA, C. **Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas**. Mundi-Prensa. Madrid. 1991. 348p.

GAZZIERO, D.L.P; BRIGHENTI, A.M.; MACIEL, C.D.G.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; ADEGAS, F.S. Resistência der amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da enzima ALS. **Planta Daninha**, v.16, p. 117-126, 1998.

GAZZIERO, D.L.P; CHRISTOFFOLETI, P.J.; MACIEL, C.D.M.; SCARAMUZA JÚNIOR., J.R. Resistência de biótipos de *Brachiaria plantaginea* aos herbicidas inibidores da ACCase aplicados em soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. 21, Caxambu/MG,1997. **Resumos**. Caxambu:SBCPD, 1997. p.88.

GILLET, M. **Las gramíneas forrajeras: descripción, funcionamiento, aplicaciones al cultivo de la hierba**. Zaragoza, Acribia, 1984. 355p.

GRESSEL, J.; SEGEL, L.A. Herbicide rotations and mixtures: effective strategies to delay resistance. In: GREEN, M.B.; LeBARON, H.L.; MOBERG, W.R. **Managing Resistance to Agrochemicals: from Fundamental Research to Practical Strategies**. American Chemical Society. Washington, 1990. p.430-458.

- GRESSEL, J.L.; SEGEL, L.A. Interrelating factors controlling the rate of appearance of resistance: the outlook for the future. In: LeBARON, H. M.; GRESSEL, J.L., **Herbicide Resistance in Plants** John Wiley & Sons, New York, p.325-347. 1982.
- GRIGNON, C.; SENTENAC, H. pH and ionic conditions in the apoplast. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.42, p. 103-128, 1991.
- GRONWALD, J.W. Lipid biosynthesis inhibitors. **Weed Science**, v.39, p.435-449, 1991.
- GRONWALD, J.W. Lipid biosynthesis inhibitors. **Weed Science**, v. 39, p. 435-449, 1991.
- GRONWALD, J.W. Resistance to photosystem II inhibiting herbicides. In: POWLES, S.B. ; HOLTUM, J. A.M. eds **Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry**, p. 27-60. 1994a.
- GRONWALD, J.W.; EBERLEIN, C.V.; BETTS, K.J.; BAERG, R.J.; EHLKE, N.J.; WYSE, D.L. . Mechanism of diclofop resistance in na Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) biotype. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 44, p.126-139, 1992.
- GUNSOLUS, J.L. **Herbicide resistant weeds**. Extension Publication. Minessota Extension Service. 1993. 468p.
- HALL, L.M.; TARDIFF, F.; POWLES, S.B. Mechanism of cross and multiple resistance in *Alopecurus myosuroides* and *Lolium rigidum*. **Phytoprotecion**, v. 73, p.17-23, 1994.

- HARWOOD, J.L. Fatty acid metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **Plant Mol. Biol.**, v.39, p.101-138, 1988.
- HÄUSLER, R.E.; HOLTUM, J.A.M.; POWLES, S.B. Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*). IV. Correlation between membrane effects and resistance to graminicides. **Plant physiology**, n.97, p.1035-1043, 1991
- HEAP, I.M. The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. **Pesticide Science**, v.51, p.235-243, 1997.
- HEAP, I.M.; KNIGHT, R. Variation in Cross-Resistance among Populations of Annual Ryegrass (*Lolium rigidum*) Resistant to Diclofop-Methyl. **Australian Journal of Agricultural Research**. v.41, p.21-128, 1990.
- HEAP, I.M.; KNIGHT, R.A. A population of ryegrass tolerant to the herbicide diclofop-methyl. **Journal Austral. Ins. Agric. Sci.**, v.48, p.156-157, 1982.
- HEAP, I.M.; MORRISON, I.N. Resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides (Group 1) herbicides in Green foxtail (*Setaria viridis* L. Beav.). **WSSA Abstracts**. Denver, Colorado. 55: p.164. 1982.
- HEAP, I.M.; MURRAY, B.G.; LOEPPKY, H.A.; MORRISON, I.N. Resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides in wild oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v.41, p.232-238, 1993.
- HERBERT, D.; COLE, D.J.; PALLETT, K.E.; HARWOOD, J.L. Susceptibilities of different test systems from maize (*Zea mays*), *Poa annua* and *Festuca rubra* to herbicides that inhibit the enzyme acetyl-coenzyme A carboxylase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.55, p.129-139. 1996.

- HESS, F.D. Herbicide absorption and translocation and their relationship to plant tolerance and susceptibility. In: DUKE, S.O. ed. **Weed Phsyiology**, vol. II: Herbicide Physiology CRC Press, Boca Raton. p.192-214., 1985.
- HOLT, J. Fitness and ecological adaptability of herbicide resistant biotypes. In: GREEN, M.B.; LeBARON, H.L.; MOBERG, W.K. **Managing Resistance to Agrochemicls: from Fundamental Research to Practical Strategies**. American Chemical Society. Washington, p.419-429. 1995.
- HOLT, J.S.; LeBARON, H.M. Significance and distribution of herbicide resistance. **Weed Technology**, n.4, p.141-49, 1990.
- HOLTUM, J. A.M. Herbicide resistant wild oats in Australia. In: **Wild Oats in World Agriculture**, Proc. 4th Int. Oat Conf. (Barr, A. R., Medd, R. W., eds.). Adelaide, Australia, p. 45-48. 1992.
- HOLTUM, J.A.M.; HÄUSLER, R.E.; DEVINE, M.D.; POWLES, S.B. Recovery of transmembrane potentials in plants resistant to aryloxyphenoxypropanoate herbicides: A phenomenon awaiting explantion. **Weed Science**, n.42, p.293-301, 1994.
- HOLTUM, J.A.M.; MATTHEWS, J.M.; HÄUSLER, R.E.; LILJEGREN, D.R.; POWLES, S.B. Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*).III. On the mechanism of resistance to diclofop-methyl. **Plant Physiology**, n.97, p.1026-1034, 1991.
- HOPPE, H.H. Diffferential Effect of Diclofop-Mehtyl on Fatty Acid Biosynthesis in Leaves of Sensitive and Tolerant Plant Species. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 23, p. 297-308, 1985.

- HOPPE, H.H. Fatty acid biosynthesis – a target site of herbicide action. In: BÖGER, P.; SANDMANN, G., eds **Target sites of herbicide action**, CRC Press, Boca Raton. p.65-83, 1989.
- HOSAKA, H.; TAKAGI, M. Biochemical effects of sethoxydim in excised root tips of corn (*Zea mays*). **Weed Science**, v.35, p.612-618, 1989.
- ISHIHARA, K.; KOSAKA, H.; KUBOTA, M.; KAMIMURA, H.; TAKAKUSA, M.; YASUDA, Y. Effects of sethoxydim on the metabolism of excised root tips of corn. In: GREENHALGH, R. ; ROBERTS, T. (eds.) **Pesticide Chemistry and Technology**, Blackwell Scientific, Palo Alto, CA. 1987, p.187-190.
- JÄGER, G. Herbicides. In: BÜCHEL, K. H. **Chemistry of pesticides** John Wiley & Sons, New York, p.322-392. 1983.
- JEFFCOAT, B.; HARRIES, W.N. Selectivity and mode of action of ethyl ($\pm$)-2-Nbenzoyl-3, 4-dichloroanilino) propionate in the control of *Avena* species in wheat. **Pesticide Science**, v. 4, p.891, 1973.
- JUTSUM, A. R.; GRAHAM, J. C. Managing weed resistance: the role of the agrochemical industry. **Proc. Brighton Crop Prot. Conf. Weeds**, p. 557-566. 1995.
- KAFIZ, B.; CAUSSANEL, J.P.; SCALLA, R.; GAILLARDON, P. Interaction Between Diclofop-methyl and 2,4-D in Wild Oat (*Avena fatua* L.) and Cultivated Oat (*Avena sativa* L.) and Fate of Diclofop-Methyl in Cultivated Oat. **Weed Research**, v. 29, p. 299-305, 1989.
- KISSMANN, K.G. **Plantas infestantes e nocivas**. 1ed. São Paulo, SP: BASF Brasileira S.A., 1991. 603p.

- KOBEK, K.; FOCKE, M.; LICHTENTHALER, H. K. Fatty acid biosynthesis and acetyl-CoA carboxylase is a target of diclofop, fenoxaprop and other ariloxy-phenoxy-propionic acid herbicides. **Z. Naturforsch.**, v.43, p.47-54, 1987.
- KOBEK, K.; FOCKE, M.; LICHTENTHALER, H. K.; RETZLAFF, G.; WÜRZER, B. Inhibition of fatty acid biosynthesis in isolated chloroplast by cycloxdim and other cyclohexane-1,3-diones. **Physiology Plantarum**, v.72, p.492-498, 1988.
- KONISHI, T.; SASAKI, Y. Compartmentalization of two forms of acetyl-CoA carboxylase in plants and the origin of their tolerance toward herbicides. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, USA, v.91, p.3598-3601, 1994.
- LADLIE, J.S. Guide to herbicide injury symptoms in soybeans with "look-alike" symptoms. Hollamdale: Agri-Growth Research, 1991, 86 p.
- LeBARON, H.M. Herbicide resistance in crops and weeds and its management. In: TROPICAL WEED SCIENCE CONFERENCE, 3, Kuala Lumpur/Malasia, 1992. **Proceedings**. p.23-24. 1992.
- LeBARON, H.M.; GRESSEL, J. **Herbicide resistance in plants**. New York: John Wiley & Sons. 1982. 441p.
- LICHTENTHALER, H.K.; KOBEK, K. Inhibition by sethoxydim of pigment accumulation and fatty acid biosynthesis in chloroplast of Avena seedlings. **Z. Naturforsch**, v.42, p.1275-1279, 1987.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 2ed. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1991. 440p.

- MANSOOJI, ^aM.; HOLTUM, J.^aM.; BOUTSALIS, P.; MATTHEWS, J.M.; POWLES, S.B. Resistance to aryloxyphenoxypropionate herbicides in two wild oat species (*Avena fatua* and *Avena sterilis*). **Weed Science**, v.40, p.599-605, 1992.
- MARLES, M.A.S.; DEVINE, M.D.; HALL, J.C. Herbicide resistance in *Setaria viridis* conferred by a less sensitive form of acetyl coenzyme A carboxylase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, p.7-14, 1993.
- MARLES, M.S.A.; DEVINE, M.D.; HALL, J.C. Herbicide resistance in *Setaria viridis* conferred by a less sensitive form of acetyl coenzyme A carboxylase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.46, p.7-14, 1993.
- MARSHALL G.; KIRKWOOD, R.C.; LEACH, G.E. Comparative studies on graminicide-resistant and susceptible biotypes of *Eleusine indica*. **Weed Research**, v. 34, n.3, p.177-185, 1994.
- MATHEWS, J.M.; HOLTUM, J.A.M.; LILJEGREN, D.R.; FURNESS, B.; POWLES, S.B. Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*). I. Properties of the target enzymes acetyl-coenzyme A carboxylase and acetatolactate synthase. **Plant Physiology**, v.94, p.1180-1186, 1990.
- MAXWELL, B.D.; MORTIMER, M. Selection for herbicide resistance. In: **Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry** (Powles, S. B., y Holtum, J. A. M., eds.). CRC Press, Boca Raton, p.1-25. 1994.
- MENENDEZ J.; JORRIN, J.; TABERNER, A.; DE PRADO, R. Penetration, translocation and metabolization of diclofop-methyl in chlorotoluron-resistant and susceptible biotypes of *Alopecurus myosuroides*. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds**, Brighton, England 1993, p.213-220.

- MENENDEZ, J. Mecanismos de resistência a herbicidas en biotipos de *Alopecurus myosuroides* huds. Cordoba, 1997. 246p. Tese (Doutorado) - Escuela Técnica de Ingenieros Agrónomos y de Montes - Universidad de Cordoba/Espanha.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, J.L.; DE PRADO, R. Diclofop metabolism in resistant biotypes of *Lolium rigidum* Gaudin. **Proceedings of the International Symposium on Weed and Crop Resistance to Herbicide**, Cordoba, Spain, 1996, p.97-98.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, R. Diclofop-methyl cross-resistance in a chlorotoluron resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 56, p.123-133, 1996.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, R. La resistencia de las malas hierbas a los herbicidas. **Phytoma**, 94, 43-50, 1998.
- MONQUEIRO, P.A. Biologia, manejo e caracterização bioquímica e genética de biotipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da acetolato sintase (ALS). ESALQ-Piracicaba, SP, 1999. 94p. (Dissertação Mestrado) – ESALQ – Universidade de São Paulo
- MOSS, S.R. Herbicide cross-resistance in slender foxtail (*Alopecurus myosuroides*). **Weed Science**, v. 38, p. 492-496, 1990.
- MOSS, S.R.; CUSSANS, G.W. The development of herbicide-resistant populations of *Alopecurus myosuroides* (black-grass) in England. In: CASELEY, J.C.; CUSSANS, G.W.; ATKIN, R.K., eds, **Herbicide resistance in weeds and crops**, Butterworth-Heinemann, Oxford. p.45-55, 1991.

- NEALE, M.C.; SUTTON, A. European view of horticultural crop protection. In: D. TYSON, ed **Crop protection: Crisis for UK Horticulture?** British Crop Protection Council, Farnham. p.79-88, 1993.
- NIKOLAU, B. J.; Y HAWKE, J. C. Purification and characterization of maize leaf acetyl-coenzyme A carboxylase. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.228, p.86-96, 1984.
- O'SULLIVAN, P.A. Diclofop. In: DONALD, W.W. **Systems of weed control in wheat in North America**, WSSA, Champaign, p.321-345, 1990.
- OLIVEIRA, P.R.P. de; MASTROCOLA, M.A. Longevidade das sementes de gramíneas forrageiras tropicais (1). **Boletim da Indústria Animal**, n.41, p. 203-211, 1984.
- PONCHIO, J.A.R. Resistência de *Bidens pilosa* aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase. ESALQ-Piracicaba, 1997. 120p. (Tese Doutorado)- ESALQ - Universidade de São Paulo.
- PONCHIO, J.A.R.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R. ALS enzyme assay from *Bidens pilosa* biotypes of the Brazilian soybean areas to determine the sensitivity to imidazolinone and sulfonylurea herbicides. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, 36, Norfolk, 1996. **Proceedings**. p.79.
- POST-BEITTENMILLER D.; JAWARSKI, J.G.; OHLROGGE, J.G. *In vivo* pools of free and acylated-acyl carrier proteins in spinach: Evidence for sites of regulation of fatty acid biosynthesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, p.1858-1865, 1991.

- POWLES, S.B.; PRESTON, C. **Herbicide cross resistance and multiple resistance in plants**. Departament of crop protection. Waite Agricultural Research Institute. University of Adelaide. South Australia, 1995. 34 p.
- POWLES, S.B; HOLTUM, J.A.M. **Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry**. Boca Raton: Lewis, 1994, 353 p.
- PRESTON, C. Resistance to photosystem I disrupting herbicides. In: **Herbicide Resistance in Plants** (Powles, S. B., y Holtum, J. A. M., eds.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, p. 61-82. 1994.
- RATTERMAN, D.M.; BALKE, N.E. 1989. Diclofop-methyl increases the proton permeability of isolated oat-root tonoplast. **Plant Physiology**, v. 91, p.756-765, 1989.
- RENDINA, A.R.; CRAIG-KENNARD, A.C.; BEAUDOIN, J.D.; BREEN, M.K. Inhibition of Acetyl-Coenzyme A Carboxylase by Two Classes of Grass-Selective Herbicides. **J. Agric. Food Chem.** v.38, p.1282-1287, 1990.
- RODRIGUES, B.N. e ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 4. ed. Londrina: IAPAR, 1998, 648p.
- RUBIM, B. Herbicide resistant weeds. The inevitable phenomenon: mechanisms, distribution and significance. **Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v.15, p.17-32, 1996.
- RUBIM, B. Herbicide resistance in weeds and crops, progress and prospects. In: CASELEY, J.C.; CUSSANS, G.W.; ATKIN, R.K.. **Herbicide Resistance in Weeds and Crops**. Butterworth-Heinemann Ed. Oxford, 1991. pp. 387-414.

- SAARI, L.L.; COTTEMAN, J.C.; THILL, D.C.. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In: **Herbicide Resistance in Plants** (Powles, S. B., y Holtum, J.A.M., CRC Press, Boca Raton, pp. 83-140. 1994
- SASAKI, Y.; HAKAMADA, K.; SUAMA, Y.; NAGANO, Y.; FURUSAWA, I.; MATSUNO, R. Chloroplast-encoded protein as a subunit of acetyl-CoA carboxylase in pea plant.. **J. Biol. Chem.**, v.268, p.25118-25123, 1993.
- SASAKI, Y.; KONISHI, T.; NAGANO, Y. The compartmentation of acetylcoenzyme A carboxylase in plants. **Plant Physiology**, v.108, p. 445-449, 1995.
- SAWICKI, R.M. Definition, detection and documentation of insecticide resistance. In: FORD, M.G.; HOLLMAN, D.W.; KHAMBAY, B., SAWICKI, R.M. **Combating Resistance to Xenobiotics: Biological and Chemical Approaches**. Ellis Horwood, Ed. Chichester, 1987. p.105-117.
- SECOR, J.; CSÉKE, C.; OWEN, W.J. The discovery of the selective inhibition of acetyl coenzyme A carboxylase activity by two classes of graminicides. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds**, Brighton, England, v.1, p.145-154. 1989.
- SENTENAC H.; GRIGNON, C. Effect of H⁺ excretion on the surface pH of corn cells evaluated by using weak acid influx as a pH probe. **Plant Physiology**, v.84, p.1367-1372, 1987.
- SHANER, D.L. Herbicide resistance in North America: History, circumstances of development and current situation. In: De PRADO, R.; JRRIN, J.; GARCIA-TORRES, L. eds. **Weed and crop resistance to herbicides**, Kluwer, Dordrecht. p.29-38. 1997.

- SHANER, D.L.; SIMCOX, P. D.; ROBSON, P.A. *et al.* AC - 222,293 - translocation and metabolic selectivity. In: PROC. BRITISH PLANT PROT. CON. p. 333-339, 1983.
- SHERMAN, T.D.; VAUGHN, K.C.; DUKE, S.O. Mechanism of action and resistance to herbicides. In: DUKE, S.O. (Ed.) **Herbicides Resistant Crops**. Boca Raton: CRC press, 1996. p.14-28.
- SHIMABUKURO, R.H. ; HOFFER, B.L.. Effect of Diclofop on the Membrane Potentials of Herbicide-Resistant and Susceptible Annual Ryegrass Root Tips. **Plant Physiology**, v.98, p.1415-1422, 1992.
- SHIMABUKURO, R.H. Selectivity and Mode of Action of the Postemergence Herbicide Diclofop-Methyl. **Plant Growth Regul. Soc. Am. Q.**, v.18, p.37-54, 1990.
- SHIMABUKURO, R.H.; HOFFER, B.L. Diclofop action: physiological evidence for reversible binding to a receptor-like molecule. **Weed Sciences Society of America**. Abstracts 182. 1988.
- SHIMABUKURO, R.H.; HOFFER, B.L. Perturbation of transmembrane proton gradient and inhibition of fatty acid metabolism: Their roles in the mechanism of action of diclofop-methyl. **Weed Science Society of America**. Abstract no. 176. 1990.
- SHIMABUKURO, R.H.; HOFFER, B.L. Perturbation of the transmembrane proton gradient and resistance to AOPP herbicides. In: De PRADO, R.; JORRIN, J.; GARCIA-TORRES, L. eds. **Weed and crop resistance to herbicides**, Kluwer, Dordrecht. p.71-80. 1997.

- SHIMABUKURO, R.H.; HOFFER, B.L.. Metabolism of diclofop-methyl in susceptible and resistant biotypes of *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.39, p.251-258, 1991
- SHIMABUKURO, R.H.; WALSH, W.C.; HOERAUF, R.A. Metabolism and selectivity of diclofop-methyl in wild oat and wheat. **J. Agric. Food Chem.**, v.27, p.615-623, 1979.
- SILVERTOWN, J.W. **Introduction to plant population ecology**. New York: Longman. 2.ed. 1987. 220p.
- SINDAG - Sindicato da indústrias de defensivos agrícolas - Boletim 99, divulgado por e-mail.
- SMEDA, R.J.; BARENTINE, W.L.; SNIPES, C.E. Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) resistance to postemergence grass herbicides. **Weed Science Society of America**. Abstract no. 53. 1993.
- STOLTENBERG, D.E.; WIEDERHOLT, R.J. Giant foxtail (*Setaria faberi* Herm.) resistance to acetylCoA carboxylase inhibitors. **Weed Science Society of America**. Abstract no. 183. 1993.
- STUMPF, P.K. The biosynthesis of saturated fatty acids. In: STUMPF, P. K.; CONN, E.E. eds **The biochemistry of plants**. Vol. 9: Lipids: Structure and Function, v.9, p.121-157. Academy Press, New York. 1987.
- TARDIF, F.J.; POWLES, S.B. Herbicide multiple-resistance in a *Lolium rigidum* biotype is endowed by multiple mechanisms: isolation of a subset with resistant acetyl-CoA carboxylase. **Physiologia Plantarum**, v.91, p.488-494, 1994.

- THAI, K.M., JANA, S.; NAYLOR, J.M. Variability for response to herbicides in wild oat (*Avena fatua*) populations. **Weed Science**, v.33, p.829-835. 1985.
- VIDAL, R.A.; FLECK, N.G. Three weed species with confirmed resistance to herbicides in Brazil. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE OF AMERICA, 1997. **Abstracts**. p. 100.
- WAKIL, S.J.; STOOPS, J.K.; JOSHI, V.C. Fatty acid synthesis and its regulation. **Annu. Rev. Biochem.**, v.52, p.537-579, 1983.
- WALKER, K.A.; RIDLEY, S.M.; LEWIS, T. & HARWOOD, J.L. Action of Aryloxyphenoxy Carboxylic Acids on Lipid Metabolism. **Weed Science**. v.4, p. 71-84, 1989.
- WALKER, K.A.; RIDLEY, S.M.; LEWIS, T.; HARWOOD, J.L. Fluazifop, a grass selective herbicide which inhibits acetyl-CoA carboxylase in sensitive plants species. **Biochemistry Journal**, v.254, p.307-310, 1988.
- WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA. **Herbicide handbook**, 6th Edition. Champaign :WSSA. 1989. 515p.
- WHITEHEAD, C.W.; SWITZER, C.M. The differential response of strains of wild carrot to 2,4-D and related herbicides. **Canadian Journal of Plant Science**. v. 43, p.255-262, 1962.
- WHYTE, R.O.; MOIR, T.R.G.; COOPER, J.P. Las gramineas en la agricultura. Roma, **FAO**, 1975. 464p.
- WOODBURN, A.T. Global and regional market estimates. In: Allan Woodburn Associates, **Agrochemicals-Executive Review**, 6th edition, , Edinburgh. p.12-13. 1995.

WRIGHT, J.P.; SHIMABUKURO, R.H. Effects of diclofop and diclofop-methyl on the membrane potentials of wheat and oat coleoptiles. **Plant Physiology**, v. 85, p.188-193, 1987.

WSSA. N.E. HUMBURG, S.R. COLBY, R.G. LYM, E.R. HILL, W.J. MCAVOY, L.M. KITCHEN Y R. PRASAD, eds., **Herbicide Handbook of the Weed Science Society of America**, 6th edition, Weed Science Society of America, Champaign, Illinois. 1989. 301p.

ZADOKS, J.C.. The cost of the change in plant protection. *Journal Plant. Protection In the Tropics*, v.9, n.2, p.151-159. 1992.

CAPÍTULO III

RESISTÊNCIA CRUZADA EM BIOTIPOS DE *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETIL COENZIMA A CARBOXILASE (ACCase)

RESUMO: Dois biotipos (A e B) de *B. plantaginea* resistentes apresentaram resistência cruzada a vários herbicidas inibidores da ACCase. As taxas de resistência que inibiram 50% (GR₅₀) do controle ou da produção de fitomassa foram determinadas para seis ariloxifenoxipropionatos (APP) (propaquizafop, diclofop, haloxyfop, quizalofop, fluazifop e fenoxaprop), e quatro ciclohexanodionas (CHD) (sethoxydim, clethodim e butroxydim). Ambos biotipos, apresentaram para a maioria dos herbicidas testados, valores de GR₅₀ acima das doses de campo recomendadas, no entanto os valores taxas de resistência máxima e mínima obtidas com os biotipos e herbicida testados foram aproximadamente equivalentes. Os biotipos apresentaram os maiores valores de GR₅₀ para o sethoxydim, tanto na avaliação de controle como na de fitomassa recém-colhida, sendo que os menores valores de GR₅₀, para ambas variáveis e biotipos, foram observado para o herbicida clethodim. Com relação às taxas de resistência, os biotipos A e B apresentaram níveis variáveis para os herbicidas testados, sendo que a maior taxa de resistência obtida para ambos biotipos, tanto para controle quanto para produção de fitomassa, foi para o herbicida sethoxydim (biotipo A: controle = 783,5 e fitomassa = >1600; e biotipo B: controle = 872,5 e fitomassa = 1122,8). As menores taxas de

resistência obtidas para o biotipo A, foram para os herbicidas clethodim (controle = 12,0) e propaquizafop (fitomassa = 10,5). As menores taxas de resistência obtidas para o biotipo B, foram para os herbicidas clethodim (controle = 12,0) e propaquizafop (fitomassa = 2,1).

Palavras-chave: resistência a herbicidas, resistência cruzada, *Brachiaria plantaginea*

SUMMARY

SUSCEPTIBILITY AND CROSS RESISTANCE RATE OF *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. BIOTYPES TO ACCase INHIBITOR HERBICIDES

SUMMARY: Two byotypes (A and B) of *B. plantaginea* showed cross resistance to several ACCase inhibitor herbicides. The rate of resistance that inhibited 50% (GR₅₀) of control or the biomass production were determined to six aryloxyphenoxypropinates (APP) (propaquizafop, diclofop, haloxyfop, quizalofop, fluazifop e fenoxaprop), and three cyclohexanodiones (CHD) (sethoxydim, clethodim e butroxydim). Both biotypes, presented to most of the herbicides tested, values of GR₅₀ higher than the recommended field rate, however the rates of maximum and minimum resistance obtained with the biotypes and herbicides tested were approximately equivalent. The biotypes presented values of GR₅₀ for sethoxydim, for percent control and biomass, however for clethodim it was obtained the lower values. The biotypes A and B presented variable levels of resistance to the herbicides tested, when both parameters, percent control and biomass were analyzed (biotype A: control = 783.5 and biomass = > 1600; and biotype B: control = 872.5 and biomass = 122.8). The lower rates of resistance obtained biotype A, were for the herbicides clethodim (control = 12.0) and propaquizafop (biomass = 10.5).

Key words: herbicide resistance, cross-resistance, *Brachiaria plantaginea*

1 INTRODUÇÃO

Em geral, as áreas produtoras de soja no Brasil, têm sido expostas a maiores quantidades e variedades de herbicidas que as áreas de produção para outras culturas (Capítulo 2 - Tabela 2). A infestação de *B. plantaginea* na cultura de soja, cujo controle tem sido realizado intensivamente com o uso de herbicidas, determinou o aparecimento de áreas onde caracterizou-se a ocorrência de biotipos resistentes a herbicidas (Vidal, 1996; Gazziero et al., 1997; Christoffoleti et al., 1998 e Cortez et al., 1999). A resistência de biotipos de *B. plantaginea* tem sido verificada em um ou mais representantes dos herbicidas dos grupos químicos APP e CHD, evidenciando a ocorrência de resistência cruzada.

Dentre as espécies que apresentam resistência a herbicidas, é de especial interesse a *Brachiaria plantaginea*, visto que é o primeiro caso de gramínea no Brasil na qual detectou-se a resistência ao grupo de herbicidas ariloxifenoxipropionatos e ciclohexanodionas.

Biotipos de *B. plantaginea* resistentes a herbicidas inibidores da ACCase têm sido diagnosticados no município de Guarapuava-PR, região sudoeste do Estado do Paraná, em propriedades onde os APP e CHD vêm sendo utilizados durante vários anos (Gazziero et al., 1997; Christoffoleti et al., 1998; Cortez et al., 1999). No entanto, a área total afetada ainda não foi levantada.

Algumas características biológicas desta espécie de planta daninha favorecem o desenvolvimento de biotipos resistentes a herbicidas. Dentre estas características destacam-se: ampla distribuição em áreas cultivadas; alta capacidade reprodutiva; alta produção de sementes; rápida reposição do banco de sementes; reprodução alógama e plasticidade genotípica e fenotípica (Seldulsky, 1978).

1.1 Metodologia para comprovação da resistência de plantas daninhas a herbicidas

Desde a identificação do primeiro biótipo resistente da planta daninha *Senecio vulgaris*, nos Estados Unidos da América do Norte (Ryan, 1970), tem crescido intensivamente o número de casos relatados (Heap, 1998).

Na Figura 1 é apresentado um fluxograma com os passos que devem ser considerados para a determinação e caracterização de uma planta daninha resistente.

1.1.1 Determinação em campo:

O fato de determinadas populações de plantas daninhas escaparem ao controle dos herbicidas normalmente utilizados não implica necessariamente que tenham desenvolvido mecanismos de resistência, já que a eficácia dos herbicidas depende de muitos fatores externos que podem diminuir a eficácia dos tratamentos em um dado momento.

As áreas que possivelmente apresentem biótipos de plantas daninhas resistentes de plantas daninhas poderiam ser caracterizadas com os seguintes aspectos:

- a) Campos onde determinadas populações de plantas daninhas bem controladas no passado e que no momento escapam ao controle do herbicida normalmente utilizado, apesar de outras populações da mesma planta daninha serem controladas no mesmo campo, com o mesmo herbicida;
- b) Campos nos quais as falhas de controle não podem ser atribuídas: 1) ao fator herbicida: recomendação errada do herbicida; doses e momento de aplicação; falhas na tecnologia de aplicação; não utilização dos adjuvantes

Figura 1. Fluxograma de objetivos propostos para a caracterização de biotipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas (Adaptado de: De Prado & Lopez, 1999).

recomendados; uso de misturas seqüenciais ou de tanque com efeito antagônico, ou então, 2) ao fator solo: umidade e pH; presença de alto teor de matéria orgânica; presença de microflora com aptidão degradativa para esse herbicida;

- c) Campos onde as falhas no controle não podem ser atribuídas às condições meteorológicas ou à germinação de plantas após a aplicação dos herbicidas, em pós-emergência;
- d) Campos onde as plantas daninhas que escapam ao controle do herbicida estão distribuídas em reboleiras, e não em faixas ou linhas que seguem a direção da aplicação do herbicida.
- e) Campos onde seja possível relacionar um longo histórico de monocultivo e/ou uso continuado de herbicidas (ou mistura de herbicidas) com o mesmo mecanismo de ação.

Uma vez detectada a área onde pode ocorrer resistência, deve-se coletar amostras de plântulas (preferencialmente, no caso de gramíneas) para ensaios rápidos de crescimento, ou coletar de plantas senescentes as sementes maduras que possam apresentar bom poder germinativo, para posteriores ensaios *in vivo* e *in vitro*, em laboratório.

1.1.2 Determinação em laboratório

A) Ensaios *in vivo*:

Estes estudos permitem que se conheça de forma qualitativa e quantitativa o nível de resistência de uma planta daninha a um ou mais herbicidas. Uma das principais condições para realização dos estudos de resistência é a comparação paralela do biotipo supostamente resistente com

outro da mesma espécie, proveniente de um local nunca tratado com herbicida. A seguir são definidos alguns parâmetros determinados nos testes *in vivo*, para a caracterização de biotipos resistentes a herbicidas:

- a) Dose letal ($LD_{50, 70, 90}$): Dose de um herbicida capaz de matar 50, 70 ou 90% dos indivíduos de uma amostra (espécie) em comparação a outra amostra (espécie) não tratada com o herbicida;
- b) Redução de crescimento ($GR_{50, 70, 90}$): Dose de herbicida capaz de reduzir 50, 70 ou 90% da fitomassa recém-colhida ou seca, ou a porcentagem de controle dos indivíduos de uma amostra (espécie) em comparação a outra amostra (espécie) não tratada com o herbicida;
- c) Fator de resistência (GR_{50R}/GR_{50S}): Valor do quociente entre a redução de crescimento de um biotipo resistente (GR_{50R}) e a redução correspondente do biotipo sensível (GR_{50S}) da mesma espécie.

B) Ensaios *in vitro*

Enquanto os ensaios *in vivo* só permitem conhecer e quantificar a extensão da resistência, os ensaios *in vitro* auxiliam no conhecimento das causas físico-químicas da resistência. A seguir, as características determinadas nos testes *in vitro*, para comprovação da resistência:

- a) Caracterização molecular: A aplicação das modernas técnicas da biologia molecular tem permitido o estudo de diferentes aspectos de relevância agrônoma como: a capacidade de discriminar diferentes populações dentro de uma determinada espécie de planta, assim como identificar genes responsáveis por importantes caracteres, tais como aqueles envolvidos na produtividade, qualidades organolépticas, resistência a fatores bióticos e abióticos, etc...;

- b) Mecanismos de resistência: Existem pelo menos três mecanismos gerais, não necessariamente excluentes, que poderiam justificar a resistência a herbicidas: 1) Perda da afinidade pelo sítio de ação; 2) Redução na absorção e translocação do herbicida até o sítio de ação; e 3) Metabolização a compostos atóxicos.

1.2 Estudo da resistência através de curvas de dose-resposta

O estudo da resposta das plantas daninhas resistentes aos herbicidas tem sido realizado com freqüência por meio da análise de curvas de dose-resposta. Este procedimento permite, através de gráficos, a interpretação dos resultados de forma objetiva e possibilita a comparação adequada do comportamento de um biotipo frente a um herbicida aplicado em diversas doses.

Um modelo log-logístico foi proposto por Seefeldt et al. (1995) como um método eficaz na análise de curvas dose-resposta. Os autores apresentaram neste trabalho sugestões de procedimentos para utilização do programa SAS (Statistical Analysis System) na análise dos resultados. As curvas típicas de dose-resposta apresentam formato sigmóide, sendo que a expressão matemática que relaciona a variável resposta y com a dose de herbicida x é:

$$y = \frac{D - C}{1 + \exp \{ b [\log (x) - \log (GR_{50})] \}} + C$$

em que: **D** corresponde à resposta aos tratamentos na dose máxima; **C** corresponde à resposta aos tratamentos na dose mínima; **b** é a declividade da curva e **GR₅₀** é a dose que produz 50% de inibição na variável resposta.

Diversas respostas biológicas podem ser usadas para alimentar estes modelos, por exemplo: matéria seca produzida ou acumulada (Seefeldt et al., 1994; Wiederholt & Stoltenberg, 1995); redução de matéria seca e número de plantas sobreviventes (Stoltenberg & Wiederholt, 1995); taxa de crescimento de caulículos e radículas (Murray et al., 1996).

Para a utilização deste modelo é necessário um adequado planejamento dos ensaios, com as doses em escala logarítmica.

Seefeldt et al. (1994), utilizaram o modelo log-logístico para determinar as curvas de dose-resposta de biotipos resistentes e suscetíveis de *Avena fatua* aos herbicidas diclofop-methyl, e outros herbicidas inibidores da ACCase. O modelo utilizado possibilitou estimar valores de GR₅₀, as taxas de resistência e as diferenças significativas entre as respostas dos diversos biotipos estudados aos herbicidas. As curvas encontradas permitiram estimar valores de GR₅₀ para os biotipos resistentes submetidos a herbicidas APP, entre 1 e 100 vezes maiores do que a resposta do biotipo suscetível.

Modelos log-logísticos também foram empregados para estudar a resistência cruzada de biotipos de *Digitaria sanguinalis* e *Setaria faberi* (Wiederholt & Stoltenberg, 1995; Stoltenberg & Wiederholt, 1995). Uma população de *Digitaria sanguinalis* resistente a herbicidas inibidores da ACCase foi estudada por Wiederholt & Stoltenberg (1995). Utilizando-se de modelos log-logísticos para elaboração de curvas dose-resposta, foram obtidos altos e variados graus de resistência, comparados aos obtidos pela população suscetível, a diversos herbicidas APP e CHD testados. Vários modelos log-logísticos foram utilizados por Stoltenberg & Wiederholt (1995), ao estudarem um biotipo de *Setaria faberi* resistente aos inibidores da ACCase. O biotipo estudado apresentou variados graus de resistência aos herbicidas APP e CHD testados, quando foi analisada a redução de biomassa seca produzida e plantas sobreviventes.

Ao estudar os mecanismos de resistência de biotipos de *Avena fatua* ao diclofop, Seefeldt et al. (1996) utilizaram o modelo log-logístico para estimar os valores de I_{50} (concentração de herbicida necessária para inibir em 50% a atividade enzimática). Os autores encontraram valores do grau de resistência em biotipos resistentes, entre 4 e 10 vezes superiores ao encontrados no biotipo suscetível.

Outras respostas biológicas podem ser usadas como indicadores para o cálculo de curvas de dose-resposta. Murray et al. (1996) realizaram um bioensaio com sementes de *Avena fatua* como alternativa para comprovar a resistência a herbicidas inibidores da ACCase. Após um período de incubação das sementes, em meio contendo diferentes concentrações de herbicidas, os resultados de crescimento de radículas e caulículos foram comparados com os do tratamento testemunha e utilizados para alimentar um modelo log-logístico. As curvas dose-resposta obtidas permitiram estimar valores elevados de GR_{50} para os parâmetros avaliados nos biotipos resistentes, em relação aos biotipos suscetíveis.

Para o estabelecimento de curvas de dose-resposta em função da escala de doses dos herbicidas e das variáveis resposta, nos casos em que o comportamento da variável dependente não segue um formato sigmóide, podem ser utilizados modelos como as equações de regressão lineares, quadráticos, hiperbólicos, exponenciais, etc... (Streibig et al., 1993; Heap et al., 1993; Sprague et al., 1997). Outros exemplos de funções não-lineares são descritos por Seber & Wild (1989).

Os objetivos dos trabalhos deste capítulo foram:

- Determinar mediante bioensaios conduzidos em condições controladas a resistência a herbicidas APP e CHD de populações de *B. plantaginea*, coletadas na região sudoeste do Paraná (Guarapuava), suspeitas de serem resistentes;
- Estudar a resposta de biotipos resistentes de *B. plantaginea* aos herbicidas das classes APP e CHD, registrados no Brasil, e de estabelecer o grau de resistência destes biotipos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Avaliação preliminar da sensibilidade de populações de *Brachiaria plantaginea* suspeitas de serem resistentes a herbicidas inibidores da ACCase

2.1.1 Seleção do material no campo

Diante dos inúmeros casos suspeitos de resistência, apontados em várias localidades produtoras de soja no Paraná, foi efetuado um levantamento das áreas mais significativas para estudo, utilizando como critério de seleção o roteiro de questionário proposto pelo Comitê Brasileiro de Resistência de Plantas a Herbicidas (CBRPH). Nesta etapa, contamos com o apoio dos técnicos da FAPA - Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária e da Cooperativa Agrária Mista Entre Rios Ltda., ambas no município de Guarapuava/PR. Após o processo de seleção no qual foram eliminadas as possibilidades de falhas na tecnologia de aplicação, foram eleitas algumas áreas para coleta de amostras de sementes representativas de diferentes populações de *B. plantaginea*.

As áreas selecionadas são caracterizadas pela grande produção de soja, por utilizarem alta tecnologia agrícola, e pelo uso intensivo de herbicidas, como principal técnica de controle de plantas daninhas. Nestas áreas, foram utilizados por mais de uma década, herbicidas graminicidas seletivos à soja, sendo todos pertencentes à classe dos inibidores da ACCase.

O histórico destas áreas, ao longo dos anos, mostrou um aumento significativo das infestações e a ocorrência de áreas com redução na eficácia de controle do capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*) pelos herbicidas APP e CHD, que inicialmente controlavam esta planta daninha na cultura da soja.

Para cada área foi elaborado um histórico da utilização de herbicidas, com o fim de, se necessário, utilizá-los como subsídio ao monitoramento e análise evolutiva da resistência nas áreas em que fossem posteriormente confirmadas (Tabela 1).

As sementes de *B. plantaginea* suspeitas de resistência foram coletadas em campos agrícolas de produtores de soja situados no município de Guarapuava/PR.

Tabela 1. Culturas de verão e herbicidas⁽¹⁾ utilizados nos campos de onde foram coletadas amostras de populações de *B. plantaginea* suspeitas de resistência a herbicidas inibidores da ACCase. Guarapuava/PR - 1997.

POPULAÇÃO	ANO (S)	CULTURA	HERBICIDA	NOME COMERCIAL	CLASSE
1	1993-1995	soja	fenoxaprop-p-ethyl	Podium	APP
	1996	soja	clethodim	Select	CHD
2	1991-1994	soja	sethoxydim	Poast	CHD
	1995-1997	soja	clethodim	Select	CHD
3	1994	milho	atrazine	Stauzina	
	1995	soja	clethodim	Select	CHD
	1996	soja	sethoxydim	Poast	CHD
	1997	milho	atrazine	Stauzina	
4	1991-1994	soja	sethoxydim	Poast	CHD
	1995-1997	soja	clethodim	Select	CHD
5	1992	soja	sethoxydim	Poast	CHD
	1993	milho	atrazine	Gesaprim	
	1994	soja	fenoxaprop-p-ethyl	Podium	APP
	1995	milho	atrazine + nicosulfuron	Gesaprim + Sanson	
	1996	soja	clethodim	Select	CHD
6	1994-1996	soja	sethoxydim	Poast	CHD
	1997	milho	atrazine	Atrazinax	
7	1994-1996	soja	clethodim	Select	CHD
	1997	milho	atrazine	Gesaprim	

⁽¹⁾ Os herbicidas foram utilizados em pós-emergência nas doses de campo recomendadas.
Fonte: Cooperativa Mista Agrária de Entre Rios Ltda.

2.1.2 Tratamento de sementes para quebra de dormência

As sementes foram preliminarmente testadas para o conhecimento prévio das condições de germinação e da possível necessidade do uso de técnicas para a quebra de dormência. Comprovada a ocorrência de dormência utilizou-se a técnica de quebra de dormência com a imersão das sementes em ácido sulfúrico por 30 minutos, segundo a metodologia apresentada por Freitas et al., 1993.

2.1.3 Local

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP.

2.1.4 Material vegetal

As sementes foram coletadas em áreas produtoras de soja, suspeitas de serem resistentes a herbicidas, após a colheita da soja da safra 96/97. As sementes foram coletadas de várias plantas que sobreviveram aos tratamentos com herbicidas inibidores da ACCase. Foram coletadas as sementes presentes no solo, liberadas naturalmente pelas plantas, para garantir um bom estágio de maturidade fisiológica das mesmas. Estas áreas apresentavam histórico de manejo de plantas daninhas de folhas estreitas com uso intensivo de herbicidas APP e CHD por vários anos consecutivos.

As amostras de sementes coletadas no campo foram secas ao ar, e purificadas separando-se de terra, material inerte e sementes chochas. Depois disso, as sementes resistentes e as suscetíveis, provenientes de áreas nunca antes tratadas com herbicidas, foram submetidas separadamente a tratamento para quebra de dormência, conforme descrito no item 2.1.2.

As sementes de sete populações suspeitas de serem resistentes e uma população suscetível foram semeadas separadamente, em bandejas de 30 x 50 x 10 cm, contendo uma mistura de solo e matéria orgânica, na proporção 3:1, conforme análise de solo apresentada na Tabela 2. Aos sete dias após a semeadura realizou-se o transplante para vasos plásticos com capacidade de 500 mL, mantendo a densidade de quatro plantas por vaso. Os vasos continham o mesmo substrato utilizado nas bandejas e, após o transplante, foram irrigados diariamente visando a manutenção de umidade satisfatória. Aos sete dias após o transplante realizou-se uma adubação com a fórmula 18-18-18 na concentração de 0,6 g L⁻¹ de água.

Tabela 2. Análises⁽¹⁾ química e granulométrica do substrato utilizado no bioensaio com populações de *B. plantaginea*, em casa-de-vegetação. Piracicaba/SP – 1999.

pH	M.O.	P	S-SO ₄	K	Ca	Mg	Al	SB	T	V
CaCl ₂	(g dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)				(mmolc dm ⁻³)				
6,6	43	504	127	17,6	103	30	0	150,6	166,6	90
Areia (%)						Silte	Argila	Classe		
Muito Grossa	Grossa	Média	Fina	Muito Fina	Total	(%)	(%)	de Textura		
1	4	11	23	8	47	14	39	Argilosa		

⁽¹⁾ Resultados fornecidos pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Ciência do Solo - ESALQ/USP.

2.1.5 Tratamentos

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (8 x 3 x 4) utilizando-se sementes de 8 populações (1 suscetível e 7 suspeitas de resistência), 3 herbicidas e 4 dosagens, num total de 96 tratamentos e quatro repetições. Os herbicidas utilizados com suas respectivas doses e sua nomenclatura estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Tratamentos utilizados no bioensaio em casa-de-vegetação com populações de *B. plantaginea* suspeitas de serem resistentes a herbicidas inibidores da ACCase. ESALQ/USP - Piracicaba/SP - 1997.

HERBICIDAS ⁽¹⁾		Concentração de i.a. ⁽²⁾ g L ⁻¹	Dose aplicada		Nº vezes dose de campo (D)
Nome comum	Nome comercial		de p.c. ⁽³⁾ L ha ⁻¹	de i.a. g ha ⁻¹	
sethoxydim ⁽⁴⁾	Poast	184	0	0	0
			1.25	230	1 D
			2.5	460	2 D
			5.0	920	4 D
fluazifop-p-butil	Fusilade	125	0	0	0
			2.0	250	1 D
			4.0	500	2 D
			8.0	1000	4 D
fenoxaprop-p-ethyl	Podium	110	0	0	0
			0.82	90	1 D
			1.64	180	2 D
			3.28	360	4 D

(1) Herbicidas aplicados em pós-emergência

(2) i.a. = ingrediente ativo

(3) p.c. = produto comercial

(4) Recebeu a adição de Assist 0,5 % v:v

Os herbicidas utilizados neste ensaio foram escolhidos segundo o critério dos mais utilizados, dentro dos grupos químicos APP e CHD, nas regiões de origem das sementes. Antes da pulverização foram selecionados vasos com plantas de aspecto uniforme e apresentando, em média, a emissão do primeiro perfilho.

Os herbicidas foram pulverizados sobre a parte aérea das plantas, utilizando-se um pulverizador pressurizado com ar comprimido e instalado em laboratório, com ponta de pulverização do tipo leque (Teejet 80.03E), com jato calibrado na altura de 50 cm da superfície do alvo. Os herbicidas foram

aplicados dissolvidos em água a um volume de pulverização correspondente a 300 L ha⁻¹ de calda , numa pressão de 40 lb pol⁻².

Após a pulverização as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação, sendo irrigadas diretamente no solo, diariamente.

2.1.6 Avaliações

O efeito dos tratamentos sobre o crescimento das plantas foi avaliado com a porcentagem de controle visual, aos 7 e 14 dias após a aplicação (DAA) dos herbicidas, e a fitomassa da parte aérea coletada acima da superfície do solo, recém-colhida aos 15 DAA.

As avaliações de controle de plantas daninhas foram efetuadas empregando-se escala visual, considerando-se 0% para nenhum controle, e 100% para controle total, comparados à testemunha sem herbicida.

2.1.7 Análise dos dados

Os dados originais de porcentagem de controle e produção de fitomassa foram submetidos aos testes de Lilliefors (1967) para verificar a normalidade dos mesmos, e ao teste de Bartlett (1937) para verificar a homogeneidade das variâncias. Nos casos em que os dados não apresentavam distribuição normal ou variâncias homogêneas, foram utilizadas transformações nos dados, conforme com a variável testada.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa SAS¹. As médias significativas pelo teste de F a 5% de probabilidade (Tabela A1 - Anexo), foram diferenciadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

¹ SAS – Statistical Analysis System Institute, Cary, NC (versão 6.0) 27512.

Os resultados obtidos após análise orientaram a escolha das populações que apresentaram menores níveis de controle com os tratamentos testados. As populações selecionadas foram utilizadas na etapa seguinte desta pesquisa, para determinação da taxa de resistência.

2.2 Avaliação da resistência cruzada e da taxa de resistência de biotipos de *Brachiaria plantaginea*

A partir desta etapa as populações anteriormente selecionadas passaram a ser denominadas biotipos. O objetivo nesta etapa foi a determinação dos níveis de resistência encontrados nos diferentes biotipos de *B. plantaginea* selecionados. Isto foi realizado por meio da determinação do GR₅₀ (dose de herbicida necessária para reduzir 50% do controle e/ou da produção de fitomassa), para cada biotipo.

2.2.1 Local

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação da Estação Experimental da Empresa Zeneca Brasil Ltda., em Holambra/SP.

2.2.2 Material vegetal

As sementes dos biotipos selecionados e das suscetíveis foram semeadas em bandejas contendo substrato à base de solo e matéria orgânica, na proporção de 3:1 (Tabela 4).

Nove dias após a semeadura, foi realizado o transplante das mudas estabelecendo-se a densidade de quatro plantas por vaso.

As plântulas dos biotipos resistentes e do suscetível foram transplantadas separadamente para vasos plásticos com capacidade de 500

mL, contendo o mesmo substrato utilizado nas bandejas. Oito dias após o transplante realizou-se uma adubação com a fórmula 18-18-18 na concentração de 0,6 g L⁻¹ de água. Os vasos foram irrigados diariamente visando a manutenção de umidade satisfatória.

Tabela 4. Análises⁽¹⁾ química e granulométrica do substrato utilizado no bioensaio com biotipos de *B. plantaginea*, em casa-de-vegetação. Piracicaba/SP – 1999.

PH	M.O.	P	S-SO ₄	K	Ca	Mg	Al	SB	T	V
CaCl ₂	(g dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)		(mmolc dm ⁻³)						(%)
6,6	35	482	205	13,4	74	33	0	120,4	133,4	90
Areia (%)						Silte		Argila	Classe	
Muito Grossa	Grossa	Média	Fina	Muito Fina	Total	(%)	(%)	(%)	de Textura	
1	3	17	43	6	70	8	22		Argilosa	

⁽¹⁾ Resultados fornecidos pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Ciência do Solo - ESALQ/USP.

2.2.3 Tratamentos

Neste ensaio foram testados todos os herbicidas inibidores da ACCase, pertencentes aos grupos químicos APP e CHD, registrados no Brasil, na ocasião. Para cada herbicida foram avaliadas a dosagem de campo recomendada e para uso no campo doses abaixo e acima da recomendada. As dosagens variaram de acordo com os herbicidas, porém procurou-se utilizar as que proporcionassem um mínimo de 50% no controle dos biotipos estudados (GR₅₀).

As doses foram selecionadas a partir de ensaios preliminares nos quais se buscou conhecer a melhor escala a ser utilizada. A escala logarítmica, de base 4, foi a que melhor se ajustou aos objetivos deste trabalho.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial ($3 \times 9 \times 7$) com 3 populações [1 suscetível (S) e 2 resistentes (A e B)], 9 herbicidas e 7 dosagens, num total de 189 tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos estão descritos na Tabela 5.

Para receber os tratamentos com herbicidas foram selecionados vasos com plantas uniformes e vigorosas, apresentando, em média, o segundo perfilho emitido.

Os herbicidas foram pulverizados sobre a parte aérea das plantas, utilizando-se um pulverizador pressurizado com ar comprimido e instalado em laboratório, com ponta de pulverização do tipo leque (Teejet 80.015E), com jato calibrado numa altura média de 50 cm da superfície do alvo. Os herbicidas foram aplicados dissolvidos em água a um volume de pulverização correspondente a 200 L ha^{-1} de calda, numa pressão de 40 lb pol^{-2} . Os vasos tratados com propaquizafop e haloxyfop-methyl receberam uma camada de palha de arroz seca sobre o solo, antes da pulverização, com o objetivo de eliminar o contato destes herbicidas com o solo, evitando assim a absorção radicular e seus possíveis efeitos.

Após a pulverização, as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação, sendo irrigadas diariamente diretamente no solo, para evitar que os herbicidas fossem lavados das folhas.

2.2.4 Avaliações

O efeito dos tratamentos sobre os biotipos de *B. plantaginea* foi avaliado com a porcentagem de controle visual, aos 7 e 14 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA), e a fitomassa recém-colhida aos 15 DAA, da parte aérea coletada acima da superfície do solo.

As avaliações de controle de plantas daninhas foram efetuadas empregando-se escala visual, considerando-se 0% para nenhum controle e 100% para controle total, comparados à testemunha sem herbicida.

Tabela 5. Tratamentos utilizados no bioensaio com biotipos de *B. plantaginea* suscetível e resistentes a herbicidas inibidores da ACCase. Estação Experimental Zeneca - Holambra/SP - 1997.

HERBICIDAS ⁽¹⁾	Nome comum	Nome comercial	Concentração de i.a. ⁽²⁾		Dose de campo		Escala logarítmica utilizada (L ha ⁻¹ de p.c.)									
			g L ⁻¹	de i.a. (2)	recomendada	de p.c. ⁽³⁾ L ha ⁻¹	de i.a. g ha ⁻¹	nº de vezes a dose de campo (D)								
								1/16 D	1/4 D	1 D	4 D	16 D	64 D			
sethoxydim ⁽⁴⁾		Poast	184			1,25	230	0,08	0,3	1,25	5	20	80			
clethodim ⁽⁵⁾		Select	240			0,45	108	0,02	0,11	0,45	1,8	7,2	288,8			
butroxydim ⁽⁶⁾		Falcon	250 g kg ⁻¹			250 ⁽⁸⁾	62,5	3,9 ⁽⁸⁾	15,6 ⁽⁸⁾	62,5 ⁽⁸⁾	250 ⁽⁸⁾	1000 ⁽⁸⁾	4000 ⁽⁸⁾			
propaquizafop ⁽⁷⁾		Shogun	100			1,25	125	0,08	0,3	1,25	5	20	80			
diclofop-methyl		Iloxan	284			2,5	710	0,16	0,63	2,5	10	40	160			
haloxyfop-methyl ⁽⁵⁾		Gallant	240			0,5	120	0,03	0,12	0,5	2	4	8			
quizalofop-p-ethyl ⁽⁵⁾		Targa	50			2,0	100	0,12	0,5	2	8	32	128			
fluzafop-p-butyl		Fusilade	125			2,0	250	0,12	0,5	2	8	32	128			
fenoxaprop-p-ethyl		Podium	110			0,82	90	0,05	0,21	0,82	3,28	13,1	52,5			

⁽¹⁾ Herbicidas aplicados em pós-emergência

⁽²⁾ i.a. = ingrediente ativo

⁽³⁾ p.c. = produto comercial

⁽⁴⁾ Recebeu a adição de Assist 0,5 % v:v

⁽⁵⁾ Recebeu a adição de óleo mineral Dytrol 0,5 % v:v

⁽⁶⁾ Recebeu a adição de Nimbus 0,5 % v:v

⁽⁷⁾ Recebeu a adição de óleo mineral Oppa-BR 0,5 % v:v

⁽⁸⁾ Dose de campo recomendada em g ha⁻¹ de p.c.

2.2.5 Análise dos dados

Os resultados das avaliações foram submetidos à confirmação da homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett (1937) e verificada a normalidade dos dados pelo teste de Lilliefors (1967). Quando os dados não apresentavam distribuição normal ou variâncias homogêneas, foram utilizadas transformações nos dados, conforme a variável testada.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa SAS. As médias significativas pelo teste de F a 5% de probabilidade (vide Anexo –Tabela A1), foram diferenciadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Posteriormente, os dados foram ajustados ao modelo log-logístico proposto por Seefeldt et al. (1995) (vide item 1.3), visando estimar o valor de GR₅₀ a partir das curvas de dose-resposta obtidas para cada biotipo e herbicida testados.

Os dados de produção de fitomassa não foram ajustáveis ao modelo log-logístico por causa da grande dispersão neles encontrada. Por isso, estes dados foram submetidos a um modelo de regressão exponencial cuja expressão matemática é uma variante de modelos exponenciais apresentados por Pereira & Arruda (1987), em que:

$$y = a + b \exp (-x/t)$$

y é a variável resposta (produção de fitomassa); **a**, **b** e **t** são parâmetros estimados e **x** é a variável independente (dose de herbicida que proporciona a resposta de fitomassa).

O biotipo B, tratado com sethoxydim, apresentou dados de produção de fitomassa que não foram ajustáveis a nenhum dos modelos

utilizados anteriormente. Por esta razão estes dados foram ajustados ao modelo linear descrito abaixo, em que:

$$y = a + b x$$

y é a variável resposta (produção de fitomassa), **a** e **b** são parâmetros estimados e **x** é a variável independente (dose de herbicida que proporciona a resposta de fitomassa). Para os modelos exponencial e linear, os valores de GR₅₀ foram calculados através das equações matemáticas que expressam os modelos, substituindo-se os valores de **y** por metade (50%) dos valores estimados.

Uma vez determinada a taxa de resisistência de cada biotipo de *B. plantaginea* testados, escolheu-se aquele que apresentou a maior taxa de resistência [GR₅₀ (biotipo R)/GR₅₀ (biotipo S)], como objeto de experimentação para os estudos posteriores de mecanismo de resistência.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação preliminar da sensibilidade de populações de *Brachiaria plantaginea* suspeitas de serem resistentes a herbicidas inibidores da ACCase

Com o objetivo de caracterizar as diferenças de suscetibilidade a herbicidas inibidores da ACCase sobre diferentes populações de *B. plantaginea*, estudou-se o efeito destes herbicidas sobre o crescimento de diferentes populações.

Os resultados de porcentagem de controle aos 7 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas estão apresentados na Tabela 1. Na avaliação de controle aos 7 DAA, foram verificadas diferenças significativas entre herbicidas e doses, dentro de cada população avaliada, sendo também significativas as diferenças encontradas entre as populações (Tabela A1 - anexo/resumo da análise de variância).

Analisando-se os dados dentro de populações aos 7 DAA, verificou-se que os herbicidas, em suas diferentes doses, não apresentaram diferenças significativas para a população S e P5, sendo estas as que apresentaram maiores níveis de controle. O herbicida sethoxydim apresentou os menores resultados de controle, mesmo em doses acima da recomendada, para as populações P1, P2, P3 e P4. Os menores níveis de controle com os herbicidas fluazifop e fenoxaprop foram obtidos com as populações P7 e P6, respectivamente. Nas doses acima da recomendada, verificou-se um sensível acréscimo nos níveis de controle observados para todos os herbicidas, sendo que os herbicidas sethoxydim e fenoxaprop apresentaram controles significativamente menores, nas populações P2 e P4. Entre as populações testadas, somente a P2 apresentou níveis de controle significativos reduzidos, para todos os herbicidas e doses testadas. Tanto a população P2 como a P4 apresentaram controles significativamente reduzidos e equivalentes para o herbicida sethoxydim, em todas as doses, e para o fenoxaprop na dose 4 vezes a recomendada.

Os resultados de porcentagem de controle aos 14 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas estão apresentados na Tabela 2 e Figura 1. Aos 14 DAA os níveis de controle proporcionados pelos herbicidas nas doses utilizadas foram estatisticamente iguais dentro de cada população testada, sendo porém significativas as diferenças das medias de controle obtidas pelos herbicidas entre as populações (vide Anexo - Tabela A1).

Na avaliação de controle aos 14 DAA, foi determinada a diferença significativa da população P2 em relação às demais, apresentando o menor resultado médio de controle (11,7%) na dose recomendada, para todos os

Tabela 1. Porcentagem de controle visual^(1,4) aos 7 DAA⁽²⁾ para populações de *Brachiaria plantaginea* suscetível e suspeitas de serem resistentes a herbicidas inibidores da ACCase, em casa-de-vegetação. ESALQ/USP - Piracicaba/SP, 1997.

DOSES ⁽³⁾	HERBICIDAS	POPULAÇÕES							MÉDIAS
		S	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
0 D	sethoxydim	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a
	fluzafop-p-butil	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a
	fenoxa prop-p-ethyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a
	MÉDIAS	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1 D	sethoxydim	60,0 A a	11,0 BC b	5,1 C a	28,5 B b	8,3 C b	25,9 B a	17,4 BC a	70,4 A a
	fluzafop-p-butil	73,1 A a	42,8 B a	5,5 F a	40,0 BCD ab	20,9 DE ab	14,8 EF a	21,0 CDE a	42,5 BC b
	fenoxa prop-p-ethyl	65,6 A a	27,6 BCD a	6,1 E a	47,5 AB a	12,2 DE ab	15,5 DE a	21,6 CDE a	42,3 BC b
	MÉDIAS	66,4	26,0	5,6	38,5	13,4	18,5	20,0	52,0
2 D	sethoxydim	67,8 AB a	17,1 DE c	3,7 E a	44,9 BC a	7,0 E b	32,2 CD a	36,0 CD a	72,1 A a
	fluzafop-p-butil	66,4 A a	52,6 AB a	8,9 D a	37,0 BC a	21,1 CD a	17,4 CD a	27,2 C ab	53,4 AB b
	fenoxa prop-p-ethyl	57,5 A a	33,2 B b	5,1 C a	33,3 B a	28,6 B a	17,1 BC a	14,2 BC b	58,8 A ab
	MÉDIAS	64,0	33,5	5,7	38,4	17,9	21,9	25,2	61,6
4 D	sethoxydim	67,8 AB a	31,7 CD b	5,7 E b	52,6 BC a	16,9 DE a	37,3 CD a	46,2 BC a	79,3 A a
	fluzafop-p-butil	62,7 AB a	73,6 A a	21,0 D a	47,5 BC a	31,0 CD a	26,1 CD a	34,8 CD a	71,0 A a
	fenoxa prop-p-ethyl	69,1 A a	47,5 AB b	14,8 C ab	47,5 AB a	18,2 C a	28,5 BC a	31,0 BC a	64,2 A a
	MÉDIAS	66,6	51,1	13,1	49,2	21,8	30,6	37,3	71,7
CV (%)		23,66							
DMS ^a (5%)		10,35							
DMS ^b (5%)		13,41							

⁽¹⁾ Escala percentual onde 0% equivale a nenhum controle e 100% equivale a controle total, comparados à testemunha sem herbicida.

⁽²⁾ DAA = dias após aplicação dos herbicidas

⁽³⁾ D = doses de campo recomendadas em L ha⁻¹ (sethoxydim = 1,25; fluzafop-p-butil = 2,0; fenoxa prop-p-ethyl = 0,82)

⁽⁴⁾ Na análise de variância os dados foram transformados para $\text{arc seno } \sqrt{x/100}$

DMS^a (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas.

DMS^b (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre populações.

Tabela 2. Porcentagem de controle visual^(1,4) aos 14 DAA⁽²⁾ para populações de *Brachiaria plantaginea* suscetível e resistentes a herbicidas inibidores da ACCase, em casa-de-vegetação. ESALQ/USP - Piracicaba/SP, 1997.

DOSES ⁽³⁾		POPULAÇÕES								MÉDIAS
HERBICIDAS	S	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7		
0 D	sethoxydim	O A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	0,0
	fluzifop-p-butil	O A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	0,0
	fenoxaprop-p -ethyl	O A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	O,0 A a	0,0
MÉDIAS		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
1 D	Sethoxydim	90,6	13,5	10,7	64,5	33,1	55,1	27,1	95,6	49,7 a
	Fluzifop-p-butil	94,3	48,4	13,7	63,9	23,2	42,5	46,1	61,3	49,7 a
	fenoxaprop-p -ethyl	97,6	39,8	10,7	90,3	35,6	34,6	42,3	69,5	54,5 a
MÉDIAS		94,5 A	32,8 C	11,7 D	74,2 B	30,5 C	44,0 C	38,3 C	77,9 B	
2 D	sethoxydim	100,0	25,5	7,5	87,8	52,9	62,6	47,4	97,4	64,8 a
	fluzifop-p-butil	97,4	62,7	18,2	87,9	42,3	47,5	60,2	80,4	64,4 a
	fenoxaprop-p -ethyl	99,4	37,3	21,0	83,2	44,9	47,5	57,7	72,9	60,8 a
MÉDIAS		99,4 A	41,5 C	15,0 D	86,4 B	46,7 C	52,6 C	55,1 C	85,6 B	
4 D	sethoxydim	98,7	52,6	5,7	88,7	71,9	62,7	69,4	100,0	73,2 a
	fluzifop-p-butil	71,9	93,8	27,4	74,1	57,6	60,2	69,2	91,8	70,0 a
	fenoxaprop-p -ethyl	99,3	65,4	21,6	86,9	50,0	55,0	81,3	95,0	73,1 a
MÉDIAS		93,8 AB	73,0 CD	17,0 E	83,7 BC	60,0 D	59,3 D	73,5 CD	97,1 A	
CV (%)		25,65								
DMS (5%)		12,29								

(1) Escala percentual onde 0% equivale a nenhum controle e 100% equivale a controle total, comparados à testemunha sem herbicida.

(2) DAA = dias após aplicação dos herbicidas

(3) D = doses de campo recomendadas em L ha⁻¹ (sethoxydim = 1,25; fluzifop-p-butil = 2,0; fenoxaprop-p-ethyl = 0,82)

(4) Na análise de variâncias dados foram transformados para arc seno $\sqrt{x/100}$.

DMS (5%) = Diferença mínima significativa para comparação das médias de doses entre populações.

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si a 5% de significância , pelo teste de Tukey.

Figura 1. Efeito de herbicidas inibidores da ACCase sobre o percentual de controle visual aos 14 DAA, em populações de *Brachiaria plantaginea*.

[D = dose de campo recomendada ($L\ ha^{-1}$): sethoxydim = 1,25; fluazifop-p-butyl = 2,0 e fenoxaprop-p-ethyl = 0,82].

herbicidas tratados. Na seqüência, foram consideradas estatisticamente iguais em relação aos resultados de controle obtidos com todos os herbicidas na dose recomendada, as populações P1, P4, P5 e P6, apresentando 32,8%, 30,5%, 44,0% e 38,3% de controle, respectivamente. Embora, sem significância estatística, as populações P1 e P2 apresentaram os menores resultados de controle (13,5% e 10,7%, respectivamente) com sethoxydim, na dose recomendada; as populações P2 e P4 apresentaram os menores resultados de controle (13,7% e 23,2%, respectivamente) com o fluazifop, na dose recomendada. Nas doses 2 e 4 vezes a recomendada, a população P2 novamente se apresentou com os menores resultados médios de controle obtidos (15,0% na dose 2D e 17,0% na dose 4D), diferenciando-se significativamente das demais populações. Os herbicidas sethoxydim, fluazifop e fenoxaprop exerceram diferentes efeitos entre as distintas populações, sendo controlada eficazmente, em todas as doses, somente a população sensível.

Neste bioensaio realizado com diferentes populações e herbicidas em várias doses, verificou-se que a evolução da fitomassa das plantas tratadas em relação às plantas não tratadas foi significativamente diferente. Estes resultados estão apresentados na Tabela 3 e Figura 2.

Na avaliação de fitomassa obtida, foram verificadas diferenças significativas entre herbicidas e suas doses, dentro de cada população avaliada, sendo também significativas as diferenças encontradas entre as populações (vide Anexo - Tabela A1).

A população S apresenta redução significativa de fitomassa nas doses recomendadas dos herbicidas utilizados. As maiores produções de fitomassa, em relação à média obtida dos tratamentos com herbicidas, foram alcançadas pelas populações P1, P2 e P6, sendo que estas duas últimas apresentaram fitomassas equivalentes a das testemunhas sem herbicidas, na dose recomendada dos herbicidas. Este fato evidencia que estas populações mostraram-se como as menos afetadas pelos herbicidas.

A Figura 2 apresenta os mesmos dados experimentais (fitomassa recém-colhida), expressos em porcentagem de produção de fitomassa recém-

Tabela 3. Fitomassa recém-colhida (g) aos 15 DAA⁽¹⁾ de populações de *Brachiaria plantaginea* suscetível e suspeitas de serem resistentes a herbicidas inibidores da ACCase, em casa-de-vegetação. ESALQ/USP - Piracicaba/SP, 1997.

DOSES ⁽²⁾	HERBICIDAS	S	POPULAÇÕES					MÉDIAS	
			P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
0 D	sethoxydim	29,2 AB	31,5 A	24,7 ABC	24,0 BCDE	17,2 E	21,0 CDE	28,0 ABC	20,4 DE
	fluzifop-p-butil	33,8 A	26,0 B	25,8 B	16,9 D	26,1 B	18,2 CD	24,2 BC	22,8 BCD
	fenoxaprop-p-ethyl	31,4 B	38,9 A	28,9 BC	25,3 BC	22,9 C	24,6 BC	26,1 BC	25,3 BC
	MÉDIAS	31,5 a	32,1 a	26,4 a	22,1 a	22,1 a	21,3 a	26,1 a	22,9 a
1 D	sethoxydim	4,1 C	22,0 B	22,3 B	6,4 C	6,9 C	7,9 C	29,6 A	2,3 C
	fluzifop-p-butil	3,0 C	24,7 A	27,7 A	7,9 C	8,2 C	15,7 B	24,2 A	4,9 C
	fenoxaprop-p-ethyl	3,2 D	20,9 A	28,2 A	3,8 D	8,9 CD	13,7 BC	18,3 AB	4,2 D
	MÉDIAS	3,4 b	22,5 b	24,4 a	6,0 b	8,0 b	12,4 b	24,0 a	3,8 b
2 D	sethoxydim	1,9 B	20,9 A	21,4 A	3,4 B	6,2 B	6,7 B	21,6 A	2,3B
	fluzifop-p-butil	3,4 D	13,5 BC	24,1 A	5,0 D	7,0 CD	13,6 BC	16,3 B	3,8 D
	fenoxaprop-p-ethyl	2,7 C	19,8 A	16,5 A	3,6 C	9,0 BC	14,8 AB	15,3 AB	2,4 C
	MÉDIAS	2,6 b	18,1 c	20,7 b	4,0 b	7,4 b	11,7 b	17,7 b	2,8 b
4 D	sethoxydim	1,3 C	22,0 AB	24,3 A	3,2 C	4,9 C	6,4 C	15,1 B	1,5 C
	fluzifop-p-butil	3,1 CD	4,8 CD	21,4 A	3,4 CD	9,0 BC	11,9 B	8,9 BC	1,4 D
	fenoxaprop-p-ethyl	2,3 C	5,7 BC	15,6 A	4,5 BC	6,2 BC	10,1 AB	7,0 BC	2,2 C
	MÉDIAS	2,2 b	10,8 d	20,4 b	3,7 b	6,7 b	9,4 b	10,3 c	1,7 b
		CV (%)	23,17						
		DMS ^a (5%)	3,45						
		DMS ^b (5%)	7,05						

⁽¹⁾ DAA = dias após aplicação dos herbicidas

⁽²⁾ D = doses de campo recomendadas em L ha⁻¹ (sethoxydim = 1,25; fluzifop-p-butil = 2,0; fenoxaprop-p-ethyl = 0,82)

DMS^a (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre médias de doses.

DMS^b (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre populações.

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Figura 2. Porcentagem de fitomassa produzida em relação ao tratamento sem herbicida, em populações de *Brachiaria plantaginea* tratadas com diferentes doses de herbicidas inibidores da ACCase.
 [D = dose de campo recomendada em (L ha⁻¹): sethoxydim = 1,25; fluazifop-p-butyl = 2,0 e fenoxaprop-p-ethyl = 0,82].
 S = população suscetível
 P1 a P7 = populações suspeitas de serem resistentes

colhida em relação à testemunha sem herbicida. Esta forma de representação permite uma análise visual comparativa dos resultados obtidos por cada população testada. Dessa forma, é possível notar que a tendência dos dados é a mesma, com algumas variações devido ao efeito dos diferentes herbicidas e doses utilizados. Cada porcentagem foi obtida a partir da média de produção de fitomassa das testemunhas da respectiva população.

As populações que apresentaram menores reduções de fitomassa em relação ao herbicida sethoxydim foram as P1 e P2. A população P2 destacou-se das demais, como a que sofreu menor redução de fitomassa para todos os herbicidas e doses testadas, evidenciando assim o alto grau de insensibilidade desta população a esses produtos. O herbicida fluazifop foi o que proporcionou menores redução na produção de fitomassa, na dose recomendada, para as populações P1, P2 e P6 (Figura 2).

Os resultados apresentados na Tabela 2 comprovam que, para o herbicida sethoxydim as populações menos sensíveis foram as P2 e P6; para o fluazifop as populações menos sensíveis foram as P2, P5 e P6; e para o fenoxaprop-p-ethyl as populações menos sensíveis foram as P2, P5 e P6. As populações P2, P5 e P6, de modo geral, foram as mais tolerantes aos herbicidas utilizados, e a população S foi de fato a mais sensível aos herbicidas testados.

Pode-se inferir que as sementes provenientes destas populações mais tolerantes foram provenientes de áreas cultivadas com soja, onde houve a seleção de biotipos resistentes de *B. plantaginea* a herbicidas inibidores da ACCase. A aplicação destes herbicidas para o controle de plantas daninhas de folhas estreitas durante vários anos, nestas áreas, aumentou a frequência de alelos resistentes a estes herbicidas, atingindo um nível considerado crítico, uma vez que os índices de controle obtidos nas doses recomendadas são insatisfatórios.

A seleção mediante repetidos tratamentos com herbicidas APP e CHD (Material e Métodos - Tabela 1) em populações de *B. plantaginea* no campo, pode haver selecionado não somente populações com atividade enzimática diferenciadas, ou um biotipo resistente ao herbicida CHD

sethoxydim, como também gerar um fenômeno de resistência cruzada a diversos herbicidas utilizados.

Nestas áreas, a competição interespecífica se dava predominantemente entre a cultura da soja e infestações de *B. plantaginea*, em alta densidade. Os herbicidas utilizados exerceram uma elevada pressão de seleção, praticamente eliminando outras plantas daninhas. Esta característica é apontada por Mallory-Smith et al. (1993) como indicativa da probabilidade de ocorrência de resistência.

Outro aspecto importante a ser considerado é a habilidade reprodutiva e a prolificidade da planta daninha *B. plantaginea* (Freitas, 1991). O grande número de gerações sucessivas em um ano e o grande número de sementes produzidas (Kissmann & Groth, 1991) fazem com que esta espécie apresente um grande potencial para o aparecimento de resistência. Desta forma, estas características estão relacionadas ao sucesso na adaptação ecológica, segundo Silvertown (1987), com reflexos na sobrevivência e disseminação.

As variações de sensibilidade entre populações de plantas daninhas e entre herbicidas são freqüentemente observadas, e atribuídas a mais de uma alteração no mecanismo de resistência prevalecente nas espécies, como relatado por Devine & Shimabukuro, 1994 e Devine, 1997).

Diante dos resultados obtidos, foram escolhidas as populações P2 e P5, agora denominadas biotipos A e B, respectivamente, para prosseguir nos ensaios seguintes. A partir deles, será determinada a existência de resistência cruzada e as taxas de resistência a diversos herbicidas APP e CHD.

A escolha da população menos sensível poderia haver recaído também sobre a população 6, porém foram considerados aspectos de uniformidade e poder de germinação das semente da população 5.

3.2 Avaliação da resistência cruzada e da taxa de resistência em biotipos de *Brachiaria plantaginea*

Na avaliação de controle visual aos 7 e 14 DAA (Tabela 4) foram verificadas diferenças significativas entre herbicidas e suas doses, para cada biotipo avaliado, sendo também significativas as diferenças encontradas entre os biotipos (Tabela A2- anexo/resumo da análise de variância).

Aos 7 DAA para os biotipos resistentes, os herbicidas nas doses de campo recomendadas não foram suficientes para controlar o crescimento das plantas. Em todas as doses e herbicidas testados verificou-se a maior sensibilidade do biotipo suscetível, o qual expressou níveis de controle significativamente superiores. Acima das doses recomendadas, o biotipo A apresentou-se com controles equivalentes aos da população suscetível, para os herbicidas clethodim e butroxydim. De maneira geral, abaixo das doses recomendadas, os biotipos A e B apresentaram maior tolerância aos herbicidas sethoxydim e fenoxaprop. Nas doses acima das recomendadas os menores níveis de controle com os biotipos resistentes, aos 7 DAA, foram observados para o sethoxydim, fluazifop e fenoxaprop-p-ethyl.

Os valores de porcentagem de controle visual aos 14 DAA dos biotipos resistentes e suscetível de *B. plantaginea*, submetidos a análise de variância estão apresentados na Tabela 5. Em todas as doses e herbicidas avaliados verificou-se a maior sensibilidade do biotipo suscetível, o qual expressou níveis de controle significativamente superiores.

Os herbicidas nas doses de campo recomendadas não foram eficazes no controle do crescimento das plantas, aos 14 DAA para os biotipos resistentes. Acima das doses recomendadas, os biotipos A e B apresentaram-se com controles equivalentes aos da população suscetível, para o herbicida clethodim; e o biotipo B apresentou-se com controles equivalentes aos da população suscetível para os herbicidas butroxydim, haloxyfop e propaquizafop, nas doses acima das recomendadas. Nas doses abaixo das recomendadas, o biotipo A apresentou maior tolerância aos herbicidas

Tabela 4. Porcentagem de controle visual^(1,2) aos 7 DAA⁽³⁾ para biotipos de *Brachiaria plantaginea*, em casa-de-vegetação. Holambra/SP - 1998.

DOSES ⁽⁴⁾	HERBICIDAS	Biotipo A	Biotipo B	Biotipo S	MÉDIAS
0 D	sethoxydim	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	clethodim	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	butroxydim	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	propaquizafop	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	diclofop-methyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	haloxyfop-methyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	quizalofop-p-ethyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	fluazifop-p-butyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	fenoxaprop-p-ethyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
MÉDIAS		0,0	0,0	0,0	
1/16 D	sethoxydim	1,3 B c	1,9 B bcd	46,2 A abc	10,6
	clethodim	9,7 B ab	10,4 B ab	57,5 A a	23,1
	butroxydim	13,7 B a	13,7 B a	41,9 A abc	21,7
	propaquizafop	9,3 B abc	2,8 B bcd	27,1 A c	11,3
	diclofop-methyl	2,8 B b	0,3 B cd	18,7 A d	5,0
	haloxyfop-methyl	13,5 B a	0,6 C cd	53,8 A a	17,5
	quizalofop-p-ethyl	4,6 B abc	5,0 B abc	34,6 A bcd	12,2
	fluazifop-p-butyl	4,6 B abc	1,3 B cd	42,4 A abc	11,5
	fenoxaprop-p-ethyl	2,8 B bc	0,0 C d	42,9 A abc	8,4
MÉDIAS		6,2	2,7	40,2	
1/4 D	sethoxydim	1,3 B e	1,3 B d	56,3 A b	12,3
	clethodim	32,4 B a	10,6 C abc	71,5 A ab	36,5
	butroxydim	27,1 B ab	15,0 B ab	73,9 A ab	37,6
	propaquizafop	17,4 B abc	18,7 B ab	61,4 A ab	31,2
	diclofop-methyl	6,1 B cde	3,7 B cd	27,7 A c	10,7
	haloxyfop-methyl	11,2 B cd	13,5 B abc	62,8 A ab	26,8
	quizalofop-p-ethyl	5,0 C de	19,9 B a	78,0 A a	31,0
	fluazifop-p-butyl	14,6 B bcd	6,1 B bcd	63,8 A ab	25,0
	fenoxaprop-p-ethyl	0,3 B e	1,3 B d	75,1 A ab	15,6
MÉDIAS		10,4	8,6	63,7	
1 D	sethoxydim	14,6 B c	1,9 C b	71,3 A a	24,0
	clethodim	53,0 B a	43,6 B a	75,2 A a	57,6
	butroxydim	45,0 B ab	36,0 B a	76,6 A a	52,9
	propaquizafop	29,5 B bc	35,9 B a	72,5 A a	46,0
	diclofop-methyl	24,8 B c	3,8 C b	48,7 A b	22,7
	haloxyfop-methyl	21,0 B c	34,4 B a	74,1 A a	42,8
	quizalofop-p-ethyl	18,7 C c	37,5 B a	79,0 A a	44,8
	fluazifop-p-butyl	18,2 C c	39,8 B a	70,2 A a	42,1
	fenoxaprop-p-ethyl	19,9 B c	4,4 C b	76,4 A a	30,0
MÉDIAS		26,5	23,2	71,8	

Continua...

Continuação...

Tabela 4. Porcentagem de controle visual^(1,2) aos 7 DAA⁽³⁾ para biotipos de *Brachiaria plantaginea*, em casa-de-vegetação. Holambra/SP - 1998.

DOSES ⁽³⁾	HERBICIDAS	Biotipo A		Biotipo B		Biotipo S	MÉDIAS
4 D	sethoxydim	18,7 B	d	8,6 B	d	68,8 A a	29,5
	clethodim	72,9 A a		72,7 A a		82,6 A a	76,2
	butroxydim	65,1 A a		40,0 B	b	77,8 A a	61,4
	propaquizafop	34,9 B	bcd	36,1 B	bc	79,0 A a	50,5
	diclofop-methyl	31,8 B	bcd	34,8 B	bc	68,9 A a	45,1
	haloxyfop-methyl	42,4 B	b	45,0 B	b	74,1 A a	54,1
	quizalofop-p-ethyl	37,4 B	bc	43,6 B	b	80,3 A a	54,5
	fluazifop-p-butyl	25,7 B	bcd	32,2 B	bc	72,9 A a	43,4
	fenoxaprop-p-ethyl	23,2 B	cd	19,7 B	cd	83,2 A a	41,9
MÉDIAS		38,7		36,1		76,6	
16 D	sethoxydim	55,0 B	cd	35,0 C	cd	83,8 A a	58,9
	clethodim	94,9 A a		85,4 B	a	75,2 B a	86,2
	butroxydim	79,0 A	b	68,8 A	ab	80,0 A a	76,1
	propaquizafop	55,0 B	cd	53,8 B	bc	81,4 A a	64,1
	diclofop-methyl	52,5 B	cd	41,1 B	cd	75,1 A a	56,6
	haloxyfop-methyl	60,1 B	c	67,6 AB	ab	76,3 A a	68,2
	quizalofop-p-ethyl	39,9 B	d	52,5 B	bc	83,2 A a	59,5
	fluazifop-p-butyl	69,4 B	bc	32,4 C	d	86,5 A a	64,1
	fenoxaprop-p-ethyl	39,9 B	d	34,9 B	cd	86,5 A a	55,1
MÉDIAS		62,0		51,4		82,2	
64 D	sethoxydim	75,2 B	b	46,2 C	cd	87,8 A a	71,1
	clethodim	90,0 AB	a	80,1 B	a	99,4 A a	91,9
	butroxydim	80,5 B	b	72,5 B	ab	87,6 A a	80,6
	propaquizafop	62,7 B	b	72,7 AB	ab	80,5 A a	72,2
	diclofop-methyl	66,4 B	b	58,9 B	bc	84,0 A a	70,4
	haloxyfop-methyl	78,9 A	b	70,1 A	ab	80,3 A a	76,6
	quizalofop-p-ethyl	70,2 B	b	65,1 B	abc	90,7 A a	76,5
	fluazifop-p-butyl	76,6 A	b	38,4 B	d	85,8 A a	68,3
	fenoxaprop-p-ethyl	42,5 C	c	60,1 B	bc	85,0 A a	63,6
MÉDIAS		74,6		63,1		85,9	
CV (%)		15,67					
DMS ^a (5%)		8,77					
DMS ^b (5%)		11,50					

(1) Escala percentual onde 0% equivale a nenhum controle e 100% equivale a controle total, comparados à testemunha sem herbicida,

(2) Na análise de variância os dados foram transformados para arc seno $\sqrt{x/100}$

(3) DAA = dias após aplicação dos herbicidas

(4) D = doses de campo recomendadas em L ha⁻¹ (sethoxydim = 1,25; clethodim = 0,45; butroxydim = 250 g kg⁻¹; propaquizafop = 1,25; diclofop-methyl = 2,5; haloxyfop-methyl = 0,5; quizalofop-p-ethyl = 2,0; fluazifop-p-butyl = 2,0; fenoxaprop-p-ethyl = 0,82)

DMS^a (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas,

DMS^b (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre biótipos,

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Tabela 5. Porcentagem de controle visual^(1,2) aos 14 DAA⁽³⁾ para biotipos de *Brachiaria plantaginea*, em casa-de-vegetação. Holambra/SP - 1998.

DOSES ⁽⁴⁾	HERBICIDAS	Biotipo A	Biotipo B	Biotipo S	MÉDIAS
0 D	sethoxydim	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	clethodim	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	butroxydim	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	propaquizafop	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	diclofop-methyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	haloxyfop-methyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	quizalofop-p-ethyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	fluazifop-p-butyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	fenoxaprop-p-ethyl	0,0 A a	0,0 A a	0,0 A a	0,0
	MÉDIAS	0,0	0,0	0,0	
1/16 D	sethoxydim	10,8 B a	14,8 B ab	60,5 A a	26,5
	clethodim	28,7 B a	19,6 B a	72,9 A a	39,7
	butroxydim	23,6 B a	24,0 B ab	78,0 A a	41,6
	propaquizafop	20,7 B a	13,5 B ab	62,7 A b	30,7
	diclofop-methyl	18,6 B a	9,7 B ab	35,6 A a	20,3
	haloxyfop-methyl	16,0 B a	9,7 B ab	66,4 A ab	28,2
	quizalofop-p-ethyl	26,1 B a	15,7 B ab	57,6 A a	32,1
	fluazifop-p-butyl	10,8 B a	18,8 B ab	71,1 A a	31,5
	fenoxaprop-p-ethyl	10,7 B a	7,3 B b	60,6 A a	23,0
	MÉDIAS	18,0	14,4	63,1	
1/4 D	sethoxydim	16,0 B c	12,4 B c	90,6 A a	39,2
	clethodim	47,5 B a	55,1 B a	91,5 A a	66,9
	butroxydim	41,2 B ab	21,8 C bc	96,3 A a	56,8
	propaquizafop	27,1 B abc	32,1 B ab	93,3 A a	53,5
	diclofop-methyl	17,9 B c	19,5 B bc	69,4 A b	34,4
	haloxyfop-methyl	22,4 B bc	37,3 B ab	97,9 A a	57,3
	quizalofop-p-ethyl	22,2 B bc	48,8 B a	97,6 A a	60,7
	fluazifop-p-butyl	24,5 B bc	18,6 B bc	90,0 A a	45,2
	fenoxaprop-p-ethyl	16,4 B c	7,3 B c	88,6 A a	35,6
	MÉDIAS	25,6	26,8	91,8	
1 D	sethoxydim	32,4 B b	13,5 B e	95,3 A ab	49,3
	clethodim	77,8 B a	76,9 B a	99,7 A ab	88,3
	butroxydim	65,4 B a	75,6 B ab	99,7 A ab	84,8
	propaquizafop	39,4 B b	50,0 B cd	100,0 A a	71,9
	diclofop-methyl	30,1 B b	18,2 B e	79,2 A c	42,4
	haloxyfop-methyl	38,7 C b	66,8 B abc	99,7 A ab	75,0
	quizalofop-p-ethyl	32,4 C b	53,7 B bcd	99,7 A ab	69,1
	fluazifop-p-butyl	34,7 B b	32,4 B de	92,5 A bc	55,8
	fenoxaprop-p-ethyl	37,3 B b	22,4 B e	97,1 A ab	56,4
	MÉDIAS	43,3	45,8	97,7	

Continua...

Continuação...

Tabela 5. Porcentagem de controle visual^(1,2) aos 14 DAA⁽³⁾ para biotipos de *Brachiaria plantaginea*, em casa-de-vegetação. Holambra/SP - 1998.

DOSES ⁽³⁾	HERBICIDAS	Biotipo A	Biotipo B	Biotipo S	MÉDIAS
4 D	sethoxydim	28,7 B b	14,8 B d	99,3 A a	53,2
	clethodim	90,7 B a	97,4 AB a	100,0 A a	97,6
	butroxydim	75,2 B a	65,1 B bc	100,0 A a	85,9
	propaquizafof	50,0 B b	64,0 B bc	100,0 A a	79,0
	diclofop-methyl	32,0 C b	55,5 B bc	100,0 A a	66,2
	haloxyfop-methyl	43,7 C b	75,1 B b	100,0 A a	80,5
	quizalofop-p-ethyl	43,7 B b	58,1 B bc	100,0 A a	75,5
	fluazifop-p-butyl	38,7 C b	58,8 B bc	100,0 A a	74,3
	fenoxaprop-p-ethyl	33,0 B b	42,5 B c	100,0 A a	67,5
MÉDIAS		49,2	60,4	99,9	
16 D	sethoxydim	48,7 B de	28,6 C d	100,0 A a	68,0
	clethodim	99,3 A a	100,0 A a	100,0 A a	99,9
	butroxydim	90,6 B ab	99,7 A a	100,0 A a	98,5
	propaquizafof	67,6 B cde	79,3 B bc	100,0 A a	87,3
	diclofop-methyl	47,4 C e	72,9 B bc	97,4 A a	76,5
	haloxyfop-methyl	70,2 B cde	98,7 A a	100,0 A a	94,8
	quizalofop-p-ethyl	70,6 B cd	85,1 B b	100,0 A a	89,9
	fluazifop-p-butyl	73,9 B bc	63,9 B c	100,0 A a	85,3
	fenoxaprop-p-ethyl	48,7 C de	67,6 B bc	100,0 A a	79,7
MÉDIAS		71,3	82,9	99,7	
64 D	sethoxydim	53,7 B c	67,6 B f	100,0 A a	81,0
	clethodim	100,0 A a	99,7 A ab	100,0 A a	99,9
	butroxydim	96,2 B a	99,3 AB abc	100,0 A a	99,2
	propaquizafof	78,2 B b	100,0 A a	100,0 A a	97,4
	diclofop-methyl	79,1 B b	79,0 B def	99,7 A a	89,2
	haloxyfop-methyl	94,5 B a	96,3 B abc	100,0 A a	98,0
	quizalofop-p-ethyl	77,7 C b	92,5 B bcd	100,0 A a	93,6
	fluazifop-p-butyl	71,7 B bc	72,9 B ef	100,0 A a	87,0
	fenoxaprop-p-ethyl	75,7 C bc	90,6 B cde	100,0 A a	92,6
MÉDIAS		90,0	92,2	99,9	
CV (%)		13,59			
DMS ^a (5%)		7,88			
DMS ^b (5%)		10,40			

(1) Escala percentual onde 0% equivale a nenhum controle e 100% equivale a controle total, comparados à testemunha sem herbicida.

(2) Na análise de variância os dados foram transformados para arc seno $\sqrt{x/100}$

(3) DAA = dias após aplicação dos herbicidas

(4) D = doses de campo recomendadas em L ha⁻¹ (sethoxydim = 1,25; clethodim = 0,45; butroxydim = 250 g kg⁻¹; propaquizafof = 1,25; diclofop-methyl = 2,5; haloxyfop-methyl = 0,5; quizalofop-p-ethyl = 2,0; fluazifop-p-butyl = 2,0; fenoxaprop-p-ethyl = 0,82)

DMS^a (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas.

DMS^b (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre biotipos.

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

sethoxydim, diclofop, e fenoxaprop, nas doses 1/4 da recomendada; e o biotipo B apresentou maior tolerância aos herbicidas sethoxydim e fenoxaprop, nas doses 1/4 da recomendada. Nas doses acima das doses recomendadas, os menores níveis de controle com os biotipos resistentes, aos 14 DAA, foram observados para o biotipo A com diclofop na dose 16D, e com sethoxydim na dose 64D. Para o biotipo B, os menores níveis de controle acima das doses recomendadas foram verificados com sethoxydim nas doses 16D e 64D. Foram verificados níveis de controle equivalentes aos obtidos com o biotipo S, nos seguintes tratamentos: biotipo B na dose 4D com clethodim; biotipos A e B na dose 16D com clethodim; biotipo B na dose 16D para clethodim, butroxydim e haloxyfop; biotipos A e B na dose 64D com clethodim e biotipo B na dose 64D para clethodim, butroxydim e propaquizafop.

Na avaliação da fitomassa obtida aos 15 DAA (Tabela 6) foram verificadas diferenças significativas entre herbicidas e doses, para cada biotipo avaliado, sendo também significativas as suas diferenças encontradas entre os biotipos (vide Anexo - Tabela A2).

Embora tenha ocorrido redução na produção de fitomassa, em alguns tratamentos com altas doses, as plantas não chegaram a morrer e, em muitos casos, foram apenas sensivelmente injuriadas. A colheita das parcelas, realizada aos 15 dias após a aplicação dos herbicidas, dá uma indicação da provável recuperação das plantas provenientes destes tratamentos.

A comparação do efeito das doses sobre a produção de fitomassa mostra que os tratamentos afetaram significativamente o biotipo suscetível.

Os biotipos resistentes, tanto nas doses abaixo, como acima das recomendadas, apresentaram maior tolerância ao herbicida sethoxydim. Nas doses acima das recomendadas, apresentaram maior tolerância ao herbicida sethoxydim.

Os dados da porcentagem de controle visual aos 14 DAA foram submetidos à análise de regressão não linear, através do modelo proposto por Seefeldt et al., (1995), sendo as curvas de dose-resposta da porcentagem de controle estão apresentadas nas Figuras 1 a 9.

Tabela 6. Fitomassa (g) recém colhida aos 15 DAA⁽¹⁾ de biótipos de *Brachiaria plantaginea*, em casa-de-vegetação. Holambra/SP - 1998.

DOSES ⁽²⁾	HERBICIDAS	Biotipo A	Biotipo B	Biotipo S	MÉDIAS
0 D	sethoxydim	20,2 B a	34,9 A a	28,6 A a	27,6
	clethodim	24,4 B a	38,0 A a	34,2 A a	31,9
	butroxydim	19,2 B a	37,6 A a	33,7 A a	29,6
	propaquizafop	20,3 B a	34,2 A a	29,9 A a	27,8
	diclofop-methyl	18,5 B a	37,4 A a	33,2 A a	29,1
	haloxyfop-methyl	21,1 B a	31,0 A a	32,5 A a	27,9
	quizalofop-p-ethyl	22,8 B a	35,2 A a	32,9 A a	30,0
	fluazifop-p-butyl	19,6 B a	32,7 A a	32,0 A a	27,7
	fenoxaprop-p-ethyl	24,4 B a	36,9 A a	36,5 A a	32,3
	MÉDIAS	21,1	35,3	32,6	
1/16 D	sethoxydim	21,5 B abc	31,6 A ab	11,1 C	20,5
	clethodim	13,6 B c	31,0 A ab	4,8 C b	14,6
	butroxydim	21,6 A abc	26,4 A b	4,5 B c	15,7
	propaquizafop	17,6 B bc	32,1 A ab	13,3 B b	20,2
	diclofop-methyl	21,4 B abc	37,9 A ab	26,4 AB a	27,3
	haloxyfop-methyl	26,3 A ab	35,3 A ab	8,2 B bc	21,6
	quizalofop-p-ethyl	21,2 B abc	35,9 A ab	13,7 C b	22,7
	fluazifop-p-butyl	28,2 A a	35,4 A a	4,8 B c	20,1
	fenoxaprop-p-ethyl	24,2 B ab	38,8 A ab	14,4 C b	24,8
	MÉDIAS	21,5	33,4	10,4	
1/4 D	sethoxydim	23,9 A a	32,5 A abc	3,7 B ab	17,4
	clethodim	13,8 B b	21,1 A d	3,4 C ab	11,4
	butroxydim	13,6 B b	28,5 A abcd	2,7 C b	12,6
	propaquizafop	15,2 B ab	22,5 A bcd	3,4 C ab	12,2
	diclofop-methyl	22,0 A ab	29,0 A abcd	8,0 B a	18,5
	haloxyfop-methyl	20,4 A ab	23,2 A bcd	3,7 B ab	14,1
	quizalofop-p-ethyl	21,8 A ab	22,0 A cd	2,7 B b	13,5
	fluazifop-p-butyl	22,7 B ab	33,9 A ab	2,5 C b	16,5
	fenoxaprop-p-ethyl	19,2 B ab	39,5 A a	3,8 C ab	17,7
	MÉDIAS	19,0	27,7	3,7	
1 D	sethoxydim	16,6 B a	32,0 A a	2,4 C b	14,1
	clethodim	7,8 A bc	5,9 AB c	3,0 B b	5,4
	butroxydim	7,0 A c	6,2 AB c	2,3 B b	4,9
	propaquizafop	14,2 A ab	17,4 A b	2,1 B b	9,8
	diclofop-methyl	23,4 A a	31,4 A a	9,3 B a	20,2
	haloxyfop-methyl	16,9 A a	6,6 B c	2,9 C b	7,8
	quizalofop-p-ethyl	18,4 A a	15,8 A b	2,3 B b	10,6
	fluazifop-p-butyl	18,7 B a	30,4 A a	3,1 C b	15,0
	fenoxaprop-p-ethyl	19,4 B a	37,3 A a	2,4 C b	16,3
	MÉDIAS	15,4	18,3	3,1	

Continua...

Continuação...

Tabela 6. Fitomassa (g) recém colhida aos 15 DAA⁽¹⁾ de biótipos de *Brachiaria plantaginea*, em casa-de-vegetação. Holambra/SP - 1998.

DOSES ⁽²⁾	HERBICIDAS	Biotipo A	Biotipo B	Biotipo S	MÉDIAS
4 D	sethoxydim	22,7 B a	36,3 A a	2,5 C a	17,0
	clethodim	4,0 A d	2,8 A f	2,0 A a	2,9
	butoxydim	6,1 A d	6,2 A def	1,9 B a	4,5
	propaquizafop	12,8 A bc	9,6 A d	2,1 B a	7,3
	diclofop-methyl	17,2 A ab	12,2 A cd	3,6 B a	10,1
	haloxyfop-methyl	7,9 A cd	3,6 B ef	2,2 B a	4,3
	quizalofop-p-ethyl	13,0 A bc	7,8 A de	2,9 B a	7,3
	fluazifop-p-butyl	17,4 B ab	30,5 A ab	1,9 C a	13,6
	fenoxaprop-p-ethyl	17,7 A ab	20,3 A bc	2,3 B a	11,6
MÉDIAS		12,4	12,3	2,4	
16 D	sethoxydim	17,8 B a	32,8 A a	2,6 C a	14,8
	clethodim	2,7 A e	2,0 A d	1,5 A a	2,1
	butoxydim	4,3 A de	2,4 A d	1,6 A a	2,7
	propaquizafop	8,6 A bcd	4,0 B d	1,9 B a	4,4
	diclofop-methyl	16,0 A ab	9,7 B bc	3,4 C a	8,9
	haloxyfop-methyl	5,8 A cde	2,8 AB d	2,4 B a	3,5
	quizalofop-p-ethyl	7,7 A cd	4,5 AB cd	2,5 B a	4,7
	fluazifop-p-butyl	11,8 A abc	15,7 A b	1,6 B a	8,3
	fenoxaprop-p-ethyl	9,7 A bcd	14,5 A b	2,1 B a	7,8
MÉDIAS		8,7	8,0	2,2	
64 D	sethoxydim	16,2 A a	13,5 A a	1,6 B a	8,9
	clethodim	1,3 A d	1,9 A b	2,4 A a	1,9
	butoxydim	3,4 A bcd	2,6 A b	2,6 A a	2,9
	propaquizafop	5,9 A bc	2,7 AB b	2,0 B a	3,3
	diclofop-methyl	8,4 A b	4,8 AB b	2,2 B a	4,8
	haloxyfop-methyl	2,9 A cd	2,2 A b	2,2 B a	2,4
	quizalofop-p-ethyl	6,9 A bc	3,1 B b	2,6 B a	4,0
	fluazifop-p-butyl	7,7 A bc	11,7 A a	1,9 B a	6,4
	fenoxaprop-p-ethyl	7,0 A bc	3,2 B b	2,1 B a	3,9
MÉDIAS		6,0	4,4	2,1	
CV (%)		15,17			
DMS ^a (5%)		1,09			
DMS ^b (5%)		0,83			

⁽¹⁾ DAA = dias após aplicação dos herbicidas⁽²⁾ D = doses de campo recomendadas em L ha⁻¹ (sethoxydim = 1,25; clethodim = 0,45; butoxydim = 250 g kg⁻¹; propaquizafop = 1,25; diclofop-methyl = 2,5; haloxyfop-methyl = 0,5; quizalofop-p-ethyl = 2,0; fluazifop-p-butyl = 2,0; fenoxaprop-p-ethyl = 0,82)DMS^a (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas.DMS^b (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre biótipos.

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Para todos herbicidas estudados, a curva de dose-resposta do biotipo suscetível encontra-se sempre na posição superior do gráfico, e a dos biotipos resistentes abaixo, indicando menor eficiência de controle desses pelos herbicidas inibidores da ACCase, mesmo nas doses acima das recomendadas (Figura 1 a 9).

O coeficiente de declividade da reta biologicamente reflete a taxa de redução nos níveis de controle em função do aumento logarítmico da dose do herbicida (Streibig et al., 1995) (Tabela 7).

A resposta da fitomassa aos tratamentos não foi possível de ser avaliada utilizando-se o modelo log-logístico, devido à grande dispersão dos dados. Por isso, a estimativa do GR_{50} para a variável fitomassa, foi realizada através de um modelo exponencial (Tabela 8).

As Figuras 10 a 18 apresentam a produção de fitomassa recém-colhida pelos biotipos resistentes e suscetível de *B. plantaginea*, quando tratados com herbicidas CHD e APP, com as médias ajustadas segundo um modelo exponencial. O biotipo suscetível apresenta uma queda acentuada na produção de fitomassa, mesmo nas doses abaixo da recomendada, enquanto as curvas correspondentes à resposta dos biótipos resistentes posicionam-se sempre acima, no gráfico, indicando um menor efeito dos herbicidas na produção de fitomassa. As curvas obedecem ao mesmo padrão encontrados para a variável porcentagem de controle, uma vez que os biotipos resistentes não foram controlados satisfatoriamente pelos herbicidas inibidores da ACCase, independente do grupo químico a que pertenciam.

Em todas as figuras observa-se que o biotipo A apresenta uma produção de fitomassa inicial nas testemunhas (sem herbicidas) e em algumas doses baixas, menor que a fitomassa produzida pelo biotipo suscetível. Isto ocorreu por causa da diferença nas condições de germinação encontradas entre as amostras dos biotipos trabalhados. O biotipo A apresentou menor velocidade de germinação e, conseqüentemente, menor produção de fitomassa por ocasião da aplicação dos herbicidas.

Tabela 7. Parâmetros estimados para a variável porcentagem de controle visual aos 14 DAA⁽¹⁾ e erros padrões assintóticos, para elaboração de curvas de dose-resposta de herbicidas inibidores da ACCase a biotipos de *Brachiaria plantaginea*, segundo modelo log-logístico⁽²⁾.

HERBICIDAS	PARÂ-METROS	Biotipo A	Biotipo B	Biotipo S
sethoxydim	b	0,31 ± 0,04	0,65 ± 0,07	0,98 ± 0,19
	GR₅₀	31,34 ± 9,80	34,90 ± 5,74	0,04 ± 0,01
clethodim	b	0,77 ± 0,07	0,93 ± 0,08	0,21 ± 0,22
	GR₅₀	0,24 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,02 ± 0,01
butoxydim	b	0,57 ± 0,06	0,69 ± 0,08	1,26 ± 0,65
	GR₅₀	0,44 ± 0,08	0,58 ± 0,09	0,03 ± 0,01
propaquizafop	b	0,38 ± 0,04	0,57 ± 0,05	1,14 ± 0,28
	GR₅₀	2,88 ± 0,59	1,13 ± 0,18	0,04 ± 0,01
diclofop-methyl	b	0,39 ± 0,06	0,59 ± 0,08	0,66 ± 0,12
	GR₅₀	10,44 ± 3,40	4,21 ± 0,96	0,12 ± 0,03
haloxyfop-methyl	b	0,52 ± 0,05	0,78 ± 0,08	1,32 ± 0,40
	GR₅₀	3,01 ± 0,49	0,56 ± 0,07	0,04 ± 0,01
quizalofop-p-ethyl	b	0,39 ± 0,05	0,43 ± 0,05	1,88 ± 0,75
	GR₅₀	3,79 ± 0,96	0,81 ± 0,19	0,05 ± 0,01
fluazifop-p-butil	b	0,44 ± 0,04	0,41 ± 0,04	0,73 ± 0,20
	GR₅₀	4,74 ± 0,89	3,88 ± 0,76	0,02 ± 0,01
fenoxaprop-p-ethyl	b	0,40 ± 0,04	0,74 ± 0,07	1,02 ± 0,23
	GR₅₀	9,91 ± 2,19	5,71 ± 0,80	0,04 ± 0,01

(1) DAA = dias após aplicação dos herbicidas

(2) Equação do modelo log-logístico utilizado: $y = \{(D-C) / [1 + \exp (b (\log GR_{50} - \log dose))]\} + C$

Nota: Os parâmetros D e C do modelo foram considerados D = 100 e C = 0, para todos herbicidas.

Tabela 8. Parâmetros estimados para a variável fitomassa recém colhida aos 15 DAA⁽¹⁾, com os respectivos erros padrões assintóticos segundo modelo exponencial⁽²⁾ utilizado para elaboração de curvas de dose-resposta de herbicidas inibidores da ACCase em biotipos de *Brachiaria plantaginea*..

HERBICIDAS	PARÂ- METROS	Biotipo A	Biotipo B	Biotipo S
sethoxydim ⁽³⁾	a	16,13 ± 3,61	34,32 ± 0,79	0
	b	2,27 ± 3,64	- 0,31 ± 0,03	28,51 ± 1,44
	t	20,16 ± 39,61	- -	0,07 ± 0,01
clethodim	a	0	0	0
	b	19,54 ± 1,71	36,79 ± 1,53	32,30 ± 1,78
	t	1,12 ± 0,35	0,49 ± 0,07	0,05 ± 0,18
butroxydim	a	0	0	0
	b	19,29 ± 1,53	31,19 ± 2,22	33,86 ± 1,54
	t	1,47 ± 0,57	0,72 ± 0,16	0,03 ± 0,01
propaquizafop	a	6,98 ± 1,64	0	2,61 ± 3,18
	b	10,72 ± 1,84	30,77 ± 1,48	6,20 ± 4,09
	t	6,24 ± 3,57	2,39 ± 0,47	1,87 ± 5,67
diclofop-methyl ⁽³⁾	a	6,26 ± 6,47	7,05 ± 2,51	0
	b	17,79 ± 6,23	28,77 ± 3,14	29,58 ± 2,82
	t	33,78 ± 34,22	3,16 ± 1,13	0,16 ± 0,04
haloxyfop-methyl	a	4,45 ± 1,89	0	0
	b	19,39 ± 2,43	34,4 ± 1,71	32,57 ± 1,54
	t	2,35 ± 0,99	0,68 ± 0,12	0,05 ± 0,01
quizalofop-p-ethyl	a	7,53 ± 1,92	0	0
	b	14,98 ± 2,32	34,25 ± 2,15	32,89 ± 1,48
	t	4,07 ± 2,07	1,25 ± 0,27	0,07 ± 0,01
fluazifop-p-butil	a	8,97 ± 2,25	11,85 ± 3,19	0
	b	14,13 ± 2,48	22,55 ± 3,43	32,03 ± 1,39
	t	8,04 ± 4,26	11,64 ± 5,23	0,04 ± 0,01
fenoxaprop-p-ethyl	a	7,22 ± 2,21	0	0
	b	15,44 ± 2,39	38,05 ± 1,36	36,31 ± 1,35
	t	10,43 ± 4,89	12,83 ± 2,19	0,07 ± 0,01

(1) DAA = dias após aplicação dos herbicidas

(2) Equação do modelo exponencial utilizado: $y = a + b \exp(-x/t)$

(3) Para sethoxydim (biotipo B) foi utilizado o modelo linear: $y = a + bx$

Tabela 9. Taxa de resistência para porcentagem de controle visual em relação à testemunha sem herbicida aos 14 DAA⁽¹⁾ e fitomassa recém-colhida, de biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com herbicidas inibidores da ACCase.

HERBICIDAS	GR ₅₀ ⁽²⁾ (L ha ⁻¹ de p.c. ⁽³⁾)			Taxa de Resistência ⁽⁴⁾	
	Biotipo A	Biotipo B	Biotipo S	Biotipo A	Biotipo B
Controle percentual aos 14 DAA⁽⁵⁾					
sethoxydim	31,34	34,90	0,04	783,5	872,5
clethodim	0,24	0,24	0,02	12,0	12,0
butroxydim	0,44	0,58	0,03	14,7	19,3
propaquizafop	2,88	1,13	0,04	72,0	28,3
diclofop-methyl	10,44	4,21	0,12	87,0	35,1
haloxyfop-methyl	3,01	0,56	0,04	75,3	14,0
quizalofop-p-ethyl	3,79	0,81	0,05	75,8	16,2
fluazifop-p-butyl	4,74	3,88	0,02	237,0	194,0
fenoxaprop-p-ethyl	9,91	5,71	0,04	247,8	142,8
Fitomassa recém-colhida⁽⁶⁾					
sethoxydim ⁽⁷⁾	> 80,0	56,14	0,05	> 1600,0	1122,8
Clethodim	0,77	0,34	0,04	19,3	8,5
Butroxydim	1,02	0,51	0,02	51,0	25,5
Propaquizafop	8,17	1,66	0,78	10,5	2,1
diclofop-methyl	17,75	8,54	0,09	197,2	94,9
haloxyfop-methyl	5,59	0,47	0,03	186,3	15,7
quizalofop-p-ethyl	8,70	0,87	0,05	174,0	17,4
fluazifop-p-butyl	10,59	15,00	0,02	529,5	750,0
Fenoxaprop-p-ethyl	10,44	8,89	0,05	208,8	177,8

(1) DAA = dias após aplicação dos herbicidas

(2) GR₅₀ = dose de herbicida necessária para reduzir 50% do controle ou da produção de fitomassa.

(3) p.c. = produto comercial

(4) Taxa de resistência = GR₅₀(A ou B)/GR₅₀(S)

(5) Dados de GR₅₀ transferidos da tabela 8

(6) Dados de GR₅₀ estimados através da substituição no modelo exponencial, do valor de y pelo valor de 50% da fitomassa máxima estimada para cada biotipo.

(7) Não foi possível calcular o GR₅₀ para o biotipo A, com o herbicida sethoxydim, uma vez que o valor máximo utilizado na escala de doses dos bioensaios não foi suficiente para alcançar este parâmetro.

Os valores de GR_{50} para a variável porcentagem de controle, apresentados na Tabela 9, comprovam a diferença de sensibilidade entre os biotipos estudados. Para todos os herbicidas, os biotipos resistentes necessitaram de doses maiores que as recomendadas, para ter o controle reduzido em 50%. O biotipo suscetível, por sua vez, apresentou o controle reduzido em 50%, com doses menores do que as de campo recomendadas. Estes resultados evidenciam a ocorrência de resistência cruzada destes biotipos aos herbicidas inibidores da ACCase, dos grupos químicos dos ariloxifenoxipropionatos e das ciclohexanodionas.

A estimativa dos valores de GR_{50} para a produção de fitomassa recém-colhida, foi realizada com a substituição de y , na equação, pelo valor 50% da produção de fitomassa máxima estimada para cada biotipo, aplicada ao modelo exponencial apresentado. Nota-se que o GR_{50} dos biotipos resistentes são superiores em muitas vezes em relação às estimativas do GR_{50} para o biotipo suscetível. Estes dados também comprovam a grande diferença de sensibilidade entre os biotipos estudados, confirmando as observações realizadas com a avaliação percentual de controle visual.

O cálculo do GR_{50} para os herbicidas apresentou diferenças entre os biotipos. Na Tabela 9, verifica-se que os valores de GR_{50} para o biotipo A foram, em sua maioria, maiores do que os obtidos para o biotipo B, para as duas variáveis (porcentagem de controle e produção de fitomassa) estudadas. Dessa forma, elegeu-se o biotipo A para dar prosseguimento aos estudos sobre o mecanismo de resistência, uma vez que o mesmo apresentou maiores fatores de resistência para a maioria dos herbicidas estudados.

Os bioensaios em casa-de-vegetação mostraram que os biotipos resistentes de *B. plantaginea* apresentaram fatores de resistência elevados para porcentagem de controle (biotipo A = 783,5 e biotipo B = 872,5), e para fitomassa (biotipo A = 1600 e biotipo B = 1122,8), em relação ao herbicida sethoxydim (Tabela 9). Ensaios *in vivo* realizados com sethoxydim apresentam valores variáveis de fator de resistência para diferentes espécies: *Avena fatua* (152) (Heap et al., 1993); *Setaria faberi* (134) (Stoltenberg & Wiederholt, 1995) e *Digitaria sanguinalis* (337) (Wiederholt & Stoltenberg, 1995). No entanto, Heap

Digitaria sanguinalis (337) (Wiederholt & Stoltenberg, 1995). No entanto, Heap & Morrison (1996) encontraram para um biotipo resistente de *Setaria viridis* um fator de resistência >2981, para sethoxydim.

Os resultados encontrados evidenciam a ocorrência de resistência cruzada dos biotipos estudados aos herbicidas pertencentes aos grupos químicos dos ariloxifenoxipropionatos e ciclohexanodionas. Powles & Howat (1990) descrevem a resistência cruzada de plantas daninhas quando biotipos que desenvolveram a resistência após uma pressão de seleção por um herbicida, exibem resistência a outro herbicida, que geralmente apresenta o mesmo mecanismo de ação. No caso dos inibidores da ACCase, a resistência de plantas daninhas ocorre devido à mutação da ACCase, que a torna insensível à ação dos herbicidas. Entretanto, estas mutações podem ocorrer em diferentes locais do gene codificador da ACCase, sendo este fato provavelmente o responsável pelos graus variáveis de insensibilidade aos herbicidas APP e CHD.

A resistência observada encaixa-se no conceito proposto por Holt & LeBaron (1990) e Warwick (1991) pois manifesta-se dentro de um mesmo mecanismo de ação, e em grupos químicos diferentes. A análise do histórico destas áreas admite a hipótese da seleção destes biotipos resistentes ter sido causada pelo uso intensivo de herbicidas de um mesmo mecanismo de ação, como afirma Sawicki (1987). De acordo com o conceito de Powles & Howat (1990), trata-se de resistência cruzada, uma vez que os resultados obtidos com os biotipos resistentes são semelhantes tanto para os herbicidas do grupo químico dos ariloxifenoxipropionatos, como para as ciclohexanodionas.

Figura 1. Curvas de dose-resposta da porcentagem de controle visual aos 14 DAA, em biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com sethoxydim, segundo modelo log-logístico.

Figura 2. Curvas de dose-resposta da porcentagem de controle visual aos 14 DAA, em biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com clethodim, segundo modelo log-logístico.

Figura 3. Curvas de dose-resposta da porcentagem de controle visual aos 14 DAA, em biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com butroxydim, segundo modelo log-logístico.

Figura 4. Curvas de dose-resposta da porcentagem de controle visual aos 14 DAA, em biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com propaquizafop, segundo modelo log-logístico.

Figura 5. Curvas de dose-resposta da porcentagem de controle visual aos 14 DAA, em biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com diclofop-methyl, segundo modelo log-logístico.

Figura 6. Curvas de dose-resposta da porcentagem de controle visual aos 14 DAA, em biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com haloxyfop-methyl, segundo modelo log-logístico.

Figura 7. Curvas de dose-resposta da porcentagem de controle visual aos 14 DAA, em biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com quizalofop-p-ethyl, segundo modelo log-logístico.

Figura 8. Curvas de dose-resposta da porcentagem de controle visual aos 14 DAA, em biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com fluazifop-methyl, segundo modelo log-logístico.

Figura 9. Curvas de dose-resposta da porcentagem de controle visual aos 14 DAA, em biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com fenoxaprop-p-ethyl, segundo modelo log-logístico.

Figura 10. Curvas de dose-resposta da fitomassa recém colhida aos 14 DAA dos biotipos **A** e **S** de *Brachiaria plantaginea* tratados com sethoxydim, segundo modelo exponencial. A curva para o biotipo **B** foi obtida segundo modelo linear.

Figura 11. Curvas de dose-resposta da fitomassa recém colhida aos 14 DAA dos biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com clethodim, segundo modelo exponencial.

Figura 12. Curvas de dose-resposta da fitomassa recém colhida aos 14 DAA dos biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com butroxydim, segundo modelo exponencial.

Figura 13. Curvas de dose-resposta da fitomassa recém colhida aos 14 DAA dos biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com propaquizafop, segundo modelo exponencial.

Figura 14. Curvas de dose-resposta da fitomassa recém colhida aos 14 DAA dos biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com diclofop-methyl, segundo modelo exponencial.

Figura 15. Curvas de dose-resposta da fitomassa recém colhida aos 14 DAA dos biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com haloxyfop-methyl, segundo modelo exponencial.

Figura 16. Curvas de dose-resposta da fitomassa recém colhida aos 14 DAA dos biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com quizalofop-p-ethyl, segundo modelo exponencial.

Figura 17. Curvas de dose-resposta da fitomassa recém colhida aos 14 DAA dos biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com fluzifop-p-butil, segundo modelo exponencial.

Figura 18. Curvas de dose-resposta da fitomassa recém colhida aos 14 DAA dos biotipos de *Brachiaria plantaginea* tratados com fenoxaprop-p-ethyl, segundo modelo exponencial.

4. CONCLUSÕES

Nas condições em que os ensaios foram realizados, os resultados obtidos permitem extrair as seguintes conclusões:

- As populações de *B. plantaginea* estudadas apresentaram níveis variados de sensibilidade aos herbicidas APP e CHD testados, sendo que a população suscetível foi eficazmente controlada por estes produtos;
- Os biotipos resistentes estudados apresentaram resistência cruzada a diferentes herbicidas pertencentes aos grupos químicos APP e CHD;
- De modo geral, o biotipo A apresentou maior resistência em relação ao outro biotipo testado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTLETT, M.S. Properties of sufficiency and statistical tests. *Proc. Royal Soc.*, v.160, p. 268-282, 1937.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; CORTEZ, M.G. e VICTORIA FILHO, R. Resistance of alexanderweed (*Brachiaria plantaginea*) to ACCase inhibitor herbicides in soybean from Paraná State - Brazil. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, CHICAGO, 1998. **Abstracts**. Chicago: WSSA, 1998. p. 65.
- CORTEZ, M.G. CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R.; DE PRADO, R. Differential tolerance to graminicides in *Brachiaria plantaginea* biotypes found in Brazil. In: 11th SYMPOSIUM OF EUROPEAN WEED RESEARCH SOCIETY, 1999. **Proceedings**. Basel: Switzerland, 1999. p.164
- DE PRADO, R.; LOPEZ, N. Resistencia a herbicidas: Detección en campo y laboratorio. In: I CURSO SOBRE EL USO DE HERBICIDAS EN LA AGRICULTURA MODERNA. Cordoba/Espanha, 1999. Resumos. ETSIAM/UCO, 1999. p. 52.
- DEVINE, M.D. Mechanisms of resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: a review. **Pesticide Science**, v.51, p.259-264, 1997.
- DEVINE, M.D.; SHIMABUKURO, R.H. Acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides. In: POWLES, S.B. ; HOLTUM, J. A.M. eds **Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry**, p.141-169. CRC Press, London. 1994.

- FREITAS, R.R. de; CARVALHO, A. de; ALVARENGA, A. A.de Quebra de dormência e germinação de sementes de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v.2, p.31-35. 1990.
- GAZZIERO, D.L.P; CHRISTOFFOLETI, P.J.; MACIEL, C.D.M.; SCARAMUZA JÚNIOR., J.R. Resistência de biótipos de *Brachiaria plantaginea* aos herbicidas inibidores da ACCase aplicados em soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. 21, Caxambu/MG,1997. **Resumos**. Caxambu:SBCPD, 1997. p.88.
- HEAP, I.M. The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. **Pesticide Science**, v.51, p.235-243, 1997.
- HEAP, I.M.; MORRISON, I.N. Resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides (Group 1) herbicides in Green foxtail (*Setaria viridis* L. Beav.). WSSA **Abstracts**. Denver, Colorado. 55: p.164. 1982.
- HEAP, I.M.; MURRAY, B.G.; LOEPPKY, H.A.; MORRISON, I.N. Resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides in wild oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v.41, p.232-238, 1993.
- HOLT, J.S.; LeBARON, H.M. Significance and distribution of herbicide resistance. **Weed Technology**, n.4, p.141-49, 1990.
- KISSMANN, K.G. **Plantas infestantes e nocivas**. 1ed. São Paulo, SP: BASF Brasileira S.A., 1991. 603p.
- LILLIEFORS, H.W. On the Kolmogorov – Smirnov test for normality with mean and variance unknown. **Journal American Statistical**, v.62, p.399-402, 1967.

- MALLORY-SMITH, C.A.; THILL, D.C.; MORISHITA, D. **Herbicide-resistant weeds and their management**. Corvallis: Oregon State University. PNW Extension Publication, 1993. 437p.
- POWLES, S.B.; PRESTON, C. **Herbicide cross resistance and multiple resistance in plants**. Department of crop protection. Waite Agricultural Research Institute. University of Adelaide. South Australia, 1995. 34 p.
- RYAN, G.F. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. **Weed Science**, v.18, p.614-616, 1970.
- SAWICKI, R.M. Definition, detection and documentation of insecticide resistance. In: FORD, M.G.; HOLLMAN, D.W.; KHAMBAY, B., SAWICKI, R.M. **Combating Resistance to Xenobiotics: Biological and Chemical Approaches**. Ellis Horwood, Ed. Chichester, 1987. p.105-117.
- SEEFELDT, S.S.; FUERST, E.P.; IRZYK, G.P.; GEALY, D.R.; SHUKLA, A. HOFFMAN, D.; BREWSTER, B.D. Diclofop-resistant *Avena fatua* from the Willamette Valley of Oregon, **Weed Science**, v.44, p.776-781, 1996.
- SEEFELDT, S.S.; GEARLY, D.R.; BREWSTER, B.D.; FUERST, E.P. Cross-resistance of several diclofop-resistant wild oat (*Avena fatua*) biotypes from the Willamette Valley of Oregon. **Weed Science**, v.42, p.430-437, 1994.
- SEEFELDT, S.S.; JENSEN, J.E.; FUERST, E.P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**. v. 9, n.2, p. 218-227, 1995.
- SENDULSKY, T. Brachiaria: taxonomy of cultivated and native species in Brazil. **Hoehnea**, v.7, p.99-139, 1978.

- SILVERTOWN, J.W. **Introduction to plant population ecology**. New York: Longman. 2.ed. 1987. 220p.
- STOLTENBERG, D.E.; WIEDERHOLT, R.J. Giant foxtail (*Setaria faberi*) resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione herbicides. **Weed Science**, v.43, p.527-535, 1995.
- STOLTENBERG, D.E.; WYSE, D.L. Regrowth of Quackgrass (*Agropyron repens*) Following Postemergence Applications of Haloxyfop and Sethoxydim. **Weed Science**. v. 34, p.664-668, 1986.
- VIDAL, R.A.; FLECK, N.G. Three weed species with confirmed resistance to herbicides in Brazil. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE OF AMERICA, 1997. **Abstracts**. p. 100.
- WIEDERHOLT, R.J.; STOLTENBERG, D.E. Cross-resistance of a large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) accession to aryloxyphenypropionate and cyclohexanedione herbicides. **Weed Technology**, v.9, n.3, p.518-524, 1995.

CAPÍTULO IV

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETIL COENZIMA A CARBOXILASE (ACCase) EM BIOTIPOS DE *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.

RESUMO: Experimentos de laboratório foram conduzidos para determinar o mecanismo de resistência em biotipo resistente de *B. plantaginea*. Os resultados dos ensaios de absorção e translocação demonstraram que apesar dos biotipos resistente (R) e suscetível (S) apresentarem diferenças quanto a absorção e translocação, verificadas em ambos herbicidas testados (sethoxydim e tepraloxym), estas não são suficientes para justificar a resistência aos herbicidas inibidores da ACCase. Comparados ao biotipo S, a ACCase isolada de R apresentou I_{50} (concentração de herbicida necessária para inibir 50% da atividade da ACCase) 216,7 vezes maior para o sethoxydim, e 2,3 vezes maior para o tepraloxym. Desta forma é possível concluir-se que a resistência aos CHD sethoxydim e tepraloxym, é devido a presença de uma forma tolerante, ou alterada de ACCase nas plantas resistentes.

Palavras-chave: atividade ACCase, mecanismos de resistência, herbicidas APP e CHD, plantas daninhas resistentes.

SUMMARY: Laboratory experiments were conducted to determine the mechanism of resistance in biotypes of *B. plantaginea*. The results of absorption and translocation assays showed that even though resistant (R) and susceptible

(S) biotypes presented differences in absorption and translocation, for both herbicides (sethoxydim and tepraloxydim), these are not enough to justify the resistance to ACCase inhibitor herbicides. Compared to S biotype, the ACCase isolated from R biotype presented I_{50} (concentration of herbicide necessary to inhibit 50% of the ACCase activity) 216.7 times higher for sethoxydim, and 2.3 times higher for tepraloxydim. So it is possible to conclude that the resistance to CHD sethoxydim and tepraloxydim is due to the presence of a tolerant form, or altered of ACCase in resistant plants.

Key words: ACCase activity, resistant mechanisms; APP and CHD herbicides, resistant weeds.

1 INTRODUÇÃO

Os herbicidas devem atingir os pontos meristemáticos sensíveis em suas formas tóxicas e em concentrações suficientes para interromper o crescimento e desenvolvimento normal de células sensíveis. Além disso, as injúrias causadas pelos herbicidas devem se manter num nível mínimo, durante o período crítico, após o qual os prejuízos resultam irreversíveis e a morte das células é inevitável.

Dentre os mecanismos gerais conhecidos até o momento, existem pelo menos dois que podem explicar o desenvolvimento da resistência a herbicidas (Sherman et al., 1996) e influenciar o modo de ação destes compostos: a) translocação reduzida do herbicida pelo biotipo resistente e; b) perda de sensibilidade ou afinidade da enzima pelo local de ação.

A translocação dos herbicidas nas plantas pode ser determinada pelo tipo de aplicação do produto, em pré ou pós-emergência. O movimento dos herbicidas após a sua absorção via foliar pode seguir rotas diferentes, segundo seu transporte se realize no xilema ou no floema. Enquanto o transporte de herbicidas via xilema segue livremente o fluxo de água na planta até as margens foliares e os espaços intercelulares (Bromilow & Chamberlain,

1991), o transporte via floema vai depender de dois fatores diferenciados: o gradiente de concentração do herbicida entre as células do floema e do mesófilo, e a capacidade das células floemáticas reterem o herbicida durante o transporte (Tryee et al., 1979).

A absorção e a translocação de diclofop-methyl e de outros herbicidas APP parecem não ser significativas na ação seletiva destes herbicidas entre plantas resistentes e suscetíveis (Duke & Kenyon, 1988; Shimabukuro, 1990).

A maioria dos herbicidas APP e CHD são particularmente ativos sobre gramíneas anuais, com pouca atividade sobre plantas perenes. As diferenças entre os herbicidas, quanto a mobilidade no floema, responsáveis pela quantidade de herbicida translocado das folhas aos rizomas e pela atividade biológica dos compostos individuais, podem ser consideradas como causas da variação nos níveis de atividade destes produtos em plantas daninhas perenes. A translocação destes herbicidas ocorre via apossimplasto e varia com o herbicida, a espécie daninha e o estágio de desenvolvimento das mesmas (Ahrens, 1994). Os compostos ésteres dos APP são rapidamente absorvidos pelas folhas e raízes de plantas resistentes e suscetíveis, porém o transporte a longa distância pode ser limitado, principalmente no caso do diclofop (Shimabukuro, 1990 e Devine et al., 1992). Compostos auxínicos parecem aumentar levemente a absorção e conjugação do éster de diclofop-methyl, porém a translocação e detoxificação são muito pouco afetadas (Ladlie, 1991).

A modificação no sítio de ação do herbicida (ACCase) é um fator muito importante na resistência aos herbicidas. A atividade ACCase de plantas suscetíveis é inibida pelos herbicidas APP e CHD, enquanto que a enzima procedente de plantas resistentes não é afetada pela ação destes herbicidas (Walker et al., 1988; Hoppe, 1989).

Pesquisas sobre o mecanismo de resistência aos APP e CHD em *Setaria viridis* (Marles et al., 1993), *Lolium rigidum* (Tardif et al., 1993) e *Avena sterilis* (Maneechote et al., 1994) revelaram que formas alteradas da ACCase são muito menos sensíveis a estes herbicidas.

Para a maioria dos biotipos de plantas daninhas resistentes aos APP e CHD, analisados até o momento, o caráter resistente é conferido por uma mutação na ACCase que reduz sua sensibilidade aos herbicidas. A resistência, nos casos estudados, está controlada por um só gen nuclear, dominante ou semidominante (Parker et al., 1999a; Betts et al., 1992 e Morrison et al., 1992), existindo em geral uma boa correlação entre o nível de sensibilidade do local de ação *in vitro* e o grau de resistência que o biótipo apresenta *in vivo*. Ainda que nem sempre seja válido comparar dados derivados de diferentes biotipos, com os quais foram utilizados protocolos ligeiramente modificados, os padrões de resistência apresentados pelos distintos biotipos resistentes caracterizados parecem indicar a existência de diversas mutações na ACCase, capazes de proporcionar diferentes graus de resistência aos herbicidas APP e CHD (Devine, 1997). Desta maneira, é possível identificar biotipos que apresentam resistência somente a determinados herbicidas APP, a APP e CHD ou somente CHD (Devine, 1997).

O desenvolvimento de resistência a herbicidas, foi verificado em populações de *Lolium multiflorum* intensivamente tratadas com diclofop-methyl ou outros herbicidas APP e CHD. A resistência ao diclofop, no biótipo de *L. multiflorum* encontrado, foi correlacionada a uma ACCase insensível a estes herbicidas (Shimabukuro & Hoffer, 1991).

O uso repetido de graminicidas em monocultivo de trigo selecionou uma grande quantidade de biotipos de gramíneas resistentes: dois biotipos de *Lolium multiflorum* (Gronwald et al., 1989 e Giménez-Espinosa et al., 1993); numerosos biotipos resistentes de *Avena fatua* (Heap et al., 1993); um biótipo de *Lolium rigidum* (Tardif et al., 1993); um biótipo de *Avena sterilis* (Mansooji et al., 1992); biotipos de *Setaria* spp. (Stoltenberg & Wiederholt, 1993); um biótipo de *Sorghum halepense* (Smeda et al., 1993) e um biótipo de *Eleusine indica* (Marshall et al., 1994). O estudo dos valores de I_{50} de herbicidas APP e CHD (concentração de herbicida necessária para inibir 50% da atividade da ACCase *in vitro* para alguns destes biotipos) tem mostrado que existe uma ACCase mais resistente que a existente nos biotipos suscetíveis. A redução de afinidade entre o herbicida e seu local de ação se explica pela

modificação no nível do local de encaixe da ACCase, ainda que não se tenha determinado onde se localiza o gen mutacionado, ou por gens mutacionados, como é o caso de resistência a herbicidas inibidores fotossintéticos.

Para os estudos dos mecanismos de ação de biotipo resistente de *B. plantaginea*, optou-se por utilizar o herbicida sethoxydim, principal representante da família dos CHD, por causa do alto fator de resistência obtido com este herbicida nos biotipos resistentes estudados no Capítulo III, além de ter sido o primeiro herbicida CHD amplamente utilizado em todo o mundo, o primeiro e mais intensivamente utilizado, graminicida seletivo à cultura de soja, no Brasil.

O herbicida sethoxydim é um CHD de aplicação em pós-emergência, com atividade sistêmica e alta translocação pelo xilema e floema. Foi introduzido no Brasil no início da década de 80 pela Basf S.A. De rápida absorção via foliar, aplicado em cobertura total das plantas daninhas e da cultura; requer a adição de óleo mineral como adjuvante e um período mínimo de uma hora sem chuva após a aplicação. Controla principalmente monocotiledôneas anuais em culturas de soja, feijão, algodão e girassol, entre outras. A dose recomendada de ingrediente ativo é de 1,25 kg ha⁻¹, com volume de calda para aplicação entre 100 e 300 L ha⁻¹, sendo o momento ideal para tratamento quando as plantas daninhas apresentam entre 2-4 folhas e 20 a 25 dias após a semeadura da cultura (Rodrigues & Almeida, 1998).

A necessidade de controle seletivo de uma grande variedade de monocotiledôneas tem originado a introdução de novos herbicidas graminicidas capazes de controlar gramíneas em culturas dicotiledôneas em baixas doses, e que talvez possam servir de alternativa ao uso de sethoxydim em áreas onde foram identificados problemas de resistência. O CHD tepraloxydim é um herbicida de aplicação em pós-emergência em fase de registro no Brasil, sendo porém já utilizado na Europa. É especialmente indicado para o controle de gramíneas (perenes e anuais), em culturas de soja, algodão, beterraba, brássicas, canola e girassol. De grande atividade, é facilmente absorvido por via foliar translocando-se em toda a planta até os pontos de crescimento. As doses recomendadas variam de 50 a 100 g i.a. ha⁻¹, com recomendação de

volume de calda para aplicação de 200 L ha⁻¹, devendo sempre ser utilizado junto com o adjuvante específico. Os sintomas de fitotoxicidade mais evidentes nas espécies sensíveis são: paralização no crescimento das plantas, amarelecimento de folhas jovens entre 5 e 10 dias após a aplicação e coloração avermelhada em algumas espécies de gramíneas. O período ideal para tratamento das plantas daninhas com tepraloxymid em pós-emergência inicia-se quando as plantas apresentam folhas entre quatro e seis folhas verdadeiras, indo até o final do perfilhamento (Boletim Basf Alemanha¹).

O objetivo do trabalho apresentado neste capítulo foi estudar as possíveis diferenças entre os biotipos R e S de *B. plantaginea*, que justificam o comportamento resistente frente aos herbicidas inibidores da ACCase. Para isso, foram utilizados os herbicidas sethoxydim e tepraloxymid com as moléculas marcadas com [¹⁴C].

A caracterização do mecanismo de resistência se efetuou com base nos seguintes aspectos:

- Estudo dos processos de absorção e translocação nos biotipos R e S de *B. plantaginea*;
- Estudo da ACCase de ambos biotipos como possível local de ação primário do sethoxydim e do tepraloxymid.

¹ BASF Artengesellschaft Plant Protection Product: Draft label text for the combinations product BAS 620-H plus Dash HC. September, 1998.12p.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Absorção e translocação de herbicidas CHD em biotipos de *B. plantaginea*

2.1.1 Local

Os estudos dos mecanismos de resistência a herbicidas inibidores da ACCase em *B. plantaginea* foram baseados nos trabalhos de De Prado et al. (1991), Menendez et al. (1994) e Menendez & De Prado (1996 e 1997).

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios e instalações do Departamento de Química Agrícola y Edafología, da Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes, da Universidade de Córdoba, na Espanha.

2.1.2 Material vegetal

As sementes de biotipos de *B. plantaginea*, resistentes e suscetíveis, foram previamente tratadas para a quebra de dormência (Capítulo 3 - item 2.2). Em seguida, foram semeadas separadamente em bandejas de 35 x 50 x 5 cm, contendo areia e matéria orgânica na proporção 1:1, cobertas com plástico para acelerar o processo de germinação. As bandejas foram mantidas em uma câmara de crescimento com temperatura dia/noite de 32/18°C, fotoperíodo de 18 h de luz ($350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e umidade relativa constante de 80%, irrigando-se diariamente, visando a manutenção de umidade satisfatória.

Até aqui, a forma de obtenção das plântulas foi a mesma para os ensaios de absorção/translocação e atividade da ACCase.

Para os ensaios de absorção e translocação, realizou-se o transplante aos sete dias após a semeadura, para vasos plásticos com capacidade de 200 mL, contendo substrato à base de areia e matéria orgânica na proporção de 2:1 (Tabela 1). Estabeleceu-se a densidade de quatro plantas

por vaso. Após o transplante os vasos foram regados, com uma solução a 0,5 g L⁻¹ de fertilizante, contendo 20% de N, 20% de P₂O₅ e 20% de K₂O. As plantas foram mantidas em câmara de crescimento nas condições anteriormente descritas até a sua utilização nos ensaios de absorção e translocação.

Tabela 1. Composição do substrato utilizado nos bioensaios com biotipos de *B. plantaginea*, em câmara de crescimento.

(%)							pH
M.O.	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	MgO	N _{orgânico}	Fe	(H ₂ O)
90	0,2	0,2	1	0,2	1,12	0,2	6,0

Para os ensaios de atividade da ACCase, as plantas permaneceram nas bandejas e foram regadas com a mesma solução fertilizante citada anteriormente. As plantas foram mantidas em câmara de crescimento nas mesmas condições anteriormente descritas. Passados 20 dias após a semeadura foram cortadas a parte aérea das plantas que estavam no estágio de quatro a cinco folhas definitivas. O material vegetal assim obtido foi acondicionado em pacotes de papel alumínio contendo 3 g de plantas, e imediatamente mergulhados em nitrogênio líquido. Estas amostras permaneceram armazenadas em um “freezer” à temperatura de – 80°C, até o momento de sua utilização.

2.1.3 Metodologia geral

Os estudos de absorção e translocação de sethoxydim e tepraloxymid foram realizados com dois biotipos de *B. plantaginea*, sendo um suscetível (S) e um resistente (R) (biotipo A do Capítulo 3).

O método utilizado baseou-se na técnica de oxidação de amostras de partes da planta para quantificar a absorção e translocação em diferentes períodos após a aplicação dos herbicidas.

Na elaboração da solução para aplicação dos herbicidas, foram utilizadas moléculas radioativamente marcadas. Foram selecionados vasos dos biotipos R e S que apresentavam plantas uniformes e bem desenvolvidas, e com dois pares de folhas definitivas. As gotas da solução contendo herbicida foram depositadas sobre a superfície adaxial da segunda folha definitiva de cada planta, numa concentração de herbicida radioativo previamente calculada para se alcançar a quantidade de radiação desejada (especificadas nos próximos itens).

A absorção e translocação dos herbicidas foram estudadas em diferentes períodos após aplicação do herbicida (3, 6, 12, 24 e 48 horas). Após decorrido cada período, as plantas foram retiradas dos vasos e divididas em três partes (raízes, folha tratada e parte aérea) com o objetivo de quantificar a radioatividade em cada uma delas. As folhas tratadas foram lavadas com 5 mL de metanol a 80%, para eliminar o herbicida não absorvido. O metanol utilizado na lavagem das folhas (líquido de lavagem) foi misturado com líquido de cintilação e levados para posterior medição da radioatividade residual. As outras partes da planta (raízes e parte aérea restante) foram colocadas em cones de celulose Packard e levadas para secar em estufa a 60 °C, durante 48 horas. Após este período as amostras foram submetidas a combustão em um oxidador Packard Sample Oxydizer Modelo 307.

A combustão se realizou em uma atmosfera rica em oxigênio (oxidação), de forma que todo o $[^{14}\text{C}]$ presente nas amostras passasse a $[^{14}\text{CO}_2]$ (De Prado *et al.*, 1990 e 1993; Giménez-Espinosa, 1997 e Menendez, 1997). O $[^{14}\text{CO}_2]$ desprendido passou através de uma coluna que continha “Carbosorb” como suporte, substância capaz de retê-lo e transformá-lo em carbamato. As amostras de carbamato resultantes de cada tratamento foram coletadas individualmente e adicionadas a 5 mL de líquido de cintilação (Permafluor). A radioatividade contida neste meio foi posteriormente medida num espectômetro de cintilação líquida, modelo Beckman LS 6000 TA.

2.1.4 Tratamentos com sethoxydim

Nos ensaios de absorção e translocação foram estudadas as possíveis diferenças na absorção e movimentação do sethoxydim entre os biotipos R e S. Para isso, foi utilizada uma mistura composta de [^{14}C]-sethoxydim com uma atividade específica de $1,39 \text{ kBq } \mu\text{g}^{-1}$, e a formulação comercial Poast na concentração de 184 g L^{-1} de i.a., na qual foi adicionado 0,5% (v:v) de óleo mineral (surfactante).

A concentração final de sethoxydim na solução aplicada foi correspondente à dose de campo recomendada de 368 g ha^{-1} de i. a. (equivalente a $2,0 \text{ L ha}^{-1}$ do produto comercial) em um volume de aplicação de 200 L ha^{-1} de solução.

A concentração final de sethoxydim radiomarcado na solução foi correspondente a $1,37 \text{ MBq } \mu\text{L}^{-1}$, e a quantidade total de radioatividade aplicada por planta foi de $2,74 \text{ MBq}$, tanto para os ensaios de absorção como para os de translocação.

A solução assim formulada foi aplicada sobre a segunda folha definitiva das plantas dos biotipos R e S, na forma de quatro micro gotas de $0,5 \text{ } \mu\text{L}$ cada uma, usando um microaplicador (Hamilton PB 6000 Dispenser, Hamilton Co., Reno, NV).

Após a aplicação do herbicida, a absorção e a translocação foram estudadas em diferentes períodos (3, 6, 12, 24 e 48 horas), nos quais as plantas permaneceram incubadas em câmara de crescimento, nas condições citadas no item 2.2. Cumprido cada período de incubação, as plantas foram divididas e levadas para combustão, conforme descrito no item 2.1.3.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada período de incubação avaliado, para os biotipos R e S. O experimento foi repetido três vezes.

2.1.5 Tratamentos com tepraloxymid

Nos ensaios de absorção e translocação foram estudadas as possíveis diferenças na absorção e translocação do tepraloxymid entre os biotipos R e S. Para isso, foi utilizada uma mistura composta de [^{14}C]-tepraloxymid com uma atividade específica de $1,39 \text{ kBq } \mu\text{g}^{-1}$, e a formulação BAS 620H na concentração de 200 g L^{-1} de i.a., na qual foi adicionado o adjuvante Dash na proporção de 1:4 (v:v) de herbicida.

A concentração final de tepraloxymid na solução aplicada foi correspondente a dose de campo recomendada de 50 g ha^{-1} de i. a. (equivalente a $0,25 \text{ L ha}^{-1}$ do produto comercial) em um volume de aplicação de 200 L ha^{-1} de solução.

A concentração final de tepraloxymid radiomarcado na solução foi correspondente a $594 \text{ kBq } \mu\text{L}^{-1}$, e a quantidade total de radioatividade aplicada por planta foi de $1,19 \text{ MBq}$, tanto para os ensaios de absorção como para os de translocação.

A solução assim formulada foi aplicada sobre a segunda folha definitiva das plantas dos biotipos R e S, na forma de quatro micro gotas de $0,5 \text{ } \mu\text{L}$ cada uma, usando um microaplicador (Hamilton PB 6000 Dispenser, Hamilton Co., Reno, NV).

Após a aplicação do herbicida, a absorção e a translocação foram estudadas em diferentes períodos (3, 6, 12, 24 e 48 horas), nos quais as plantas permaneceram incubadas em câmara de crescimento, nas condições citadas no item 2.2. Cumprido cada período de incubação, as plantas foram divididas e levadas para combustão, conforme descrito no item 2.1.3.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada período de incubação, para os biotipos R e S. O experimento foi repetido três vezes.

2.1.6 Análise dos dados

A quantidade de herbicida absorvida foi determinada como sendo a porcentagem da radioatividade presente no interior da planta (soma da radioatividade liberada pelas diferentes partes: raízes + folha tratada + parte aérea) em relação à radioatividade total recuperada (radioatividade presente no líquido de lavagem + radioatividade total presente no interior da planta).

A taxa de absorção foi calculada medindo-se a radioatividade liberada pela combustão das amostras e a radioatividade no líquido de lavagem, sendo expressa como a porcentagem da radioatividade recuperada, segundo a fórmula:

$$\text{Taxa de absorção (\%)} = \frac{[^{14}\text{C}] \text{ tecido vegetal queimado}}{[^{14}\text{C}] \text{ tecido vegetal queimado} + [^{14}\text{C}] \text{ líq. lavagem folhas}} \times 100$$

A translocação foi calculada pela porcentagem da radioatividade presente em cada parte da planta em relação à radioatividade total aplicada na planta.

Foram calculadas as médias obtidas nos três experimentos, tanto nos de absorção como nos de translocação, e os respectivos erros padrões.

2.2 Atividade da ACCase em biotipos de *B. plantaginea*

Os ensaios de atividade da ACCase realizados neste trabalho foram baseados nas metodologias utilizadas por Menendez & De Prado (1996), as quais foram adaptadas de Gronwald et al. (1992).

Nestes ensaios foi realizada a extração da ACCase presente nas plantas de dois biotipos de *B. plantaginea*, um suscetível (S) e um resistente (R), e avaliada a suscetibilidade da enzima aos herbicidas CHD, sethoxydim e

tepraloxymid, visando conhecer a origem da diferença de tolerância destes biotipos a estes herbicidas. A medida da atividade enzimática foi realizada através da radioatividade estável em meio ácido, após a reação com os herbicidas. Foram medidas a atividade da ACCase *in vitro* em cada uma das várias concentrações dos herbicidas testados, para os biotipos R e S.

2.2.1 Extração da ACCase

As plantas utilizadas para os estudos de atividade da ACCase foram obtidas conforme descrito no item 2.2. O material vegetal congelado foi retirado do “freezer” e imediatamente pulverizado com nitrogênio líquido em um pote de porcelana. O pó obtido foi homogeneizado a uma proporção de 1:3 (p:v) com uma solução tampão de extração [Hepes-KOH 0,1 M (pH 7,5), glicerol 0,5 M, Na₂ EDTA 2 mM, DTT 5 mM e PMSF 0,32 mM] durante dois minutos, usando um agitador magnético. O homogeneizado foi posteriormente filtrado através de quatro capas de “cheesecloth” e duas de Miracloth (Calbiochem) e centrifugado durante 30 minutos a 24.000 *g*. O sobrenadante foi fracionado com sulfato de amônio, e o material precipitado a 50% sob agitador, durante 20 minutos. Esta solução foi centrifugada durante 15 minutos a 24.000 *g*. Após retirado da centrífuga, desprezou-se o sobrenadante e o “pellet” resultante foi ressuspensionado em 1 mL de solução tampão [Tricina-KOH 0,1 M (pH 8,3), glicerol 0,5 M, KCl 50 mM, Na₂ EDTA 2 mM e DTT 0,5 mM]. O “pellet” ressuspensionado foi aplicado a uma minicolumna de 10 mL de Sephadex G-25, equilibrada com a solução tampão. As frações foram eluídas utilizando a mesma solução tampão. Todo o processo de extração foi realizado em câmara fria à temperatura de 4 °C.

2.2.2 Bioatividade enzimática para sethoxydim e tepraloxymid

O procedimento para estudo da atividade enzimática foi idêntico para os dois herbicidas, diferindo somente nas concentrações de sethoxydim e tepraloxymid utilizadas para compor a mistura de reação.

A mistura de reação foi composta de solução tampão [Tricina-KOH 0,1 M (pH 8,3), glicerol 0,5 M, KCl 50 mM, Na₂ EDTA 2 mM e DTT 0,5 mM], ATP 3,75 mM, MgCl₂ 50 mM, NaH[¹⁴CO₃] (com atividade específica de 2,1 MBq μ mol⁻¹) 15 mM, 50 μ L de extrato vegetal, acetil-CoA 5 mM e metanol com diferentes concentrações de ingrediente ativo do herbicida, totalizando um volume de 200 μ L. A temperatura para a realização do ensaio foi 34°C. Todos os componentes da mistura utilizada no ensaio, exceto o acetil-CoA, foram pré-incubados em banho-maria durante 1 minuto. Após este período, foi acrescentado o acetil-CoA para dar início a reação. Passados 5 minutos, a reação foi detida adicionando-se 30 μ L de HCl 4 N. As amostras foram levadas para evaporar a 60°C, sob uma corrente de nitrogênio gasoso, sendo posteriormente acrescentados 0,5 mL de etanol a 50% e 5 mL de líquido de cintilação. A atividade enzimática das frações obtidas foi determinada pela da incorporação da radioatividade estável em meio ácido, presente após a reação (NaH[¹⁴CO₃] incorporado à síntese de malonil-CoA). A radioatividade na forma de malonil-CoA foi determinada por um espectômetro de cintilação líquida, modelo Beckman LS 6000 TA. Como teste em branco foi utilizada a mesma mistura de reação sem acetil-CoA. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, para os biotipos R e S, e repetidos quatro vezes.

2.2.3 Análise dos dados

Os valores de I₅₀ (concentração de herbicida necessária para inibir 50% da atividade enzimática) para cada biotipo e herbicida testados foram determinados através de curvas onde foram plotados os valores de porcentagem de inibição, obtidos nos experimentos, nas diferentes concentrações testadas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Absorção e translocação de herbicidas CHD em biotipos de *Brachiaria plantaginea*

Os herbicidas sethoxydim e tepraloxym apresentaram por uma alta capacidade de absorção foliar. A porcentagem de sethoxydim absorvido foi aumentando com o passar do tempo, alcançando 69,3% no biotipo S e 87,3% no biotipo R, após 48 horas de incubação (Tabela 1). O mesmo foi verificado com o tepraloxym que apresentou, após 48 horas da aplicação, 67,6% e 65,2% de absorção para os biotipos R e S, respectivamente (Tabela 1).

Foram observadas maiores diferenças na absorção entre os biotipos R e S, em relação ao herbicida sethoxydim, durante o período observado. Porém, para o herbicida tepraloxym, os biotipos R e S apresentaram absorções equivalentes (Figura 1).

A cinética do processo de absorção do sethoxydim mostra um aumento contínuo na quantidade de herbicida absorvido até 6 horas após a aplicação, para o R, e até 12 horas após a aplicação para o biotipo S (Figura 1). Posteriormente, a quantidade de sethoxydim presente no tecido foliar se estabiliza para o biotipo resistente, alcançando às 12 horas da aplicação o valor máximo absorvido de 70,6% do herbicida aplicado; e para o biotipo suscetível, alcançando às 48 horas da aplicação alcançou o valor máximo absorvido de 87,3% do herbicida aplicado (Tabela 1). O herbicida sethoxydim apresentou uma aumento na absorção pelo biotipo S, a partir das 6 horas da aplicação. Este efeito, ainda que em menor grau, também foi observado com o herbicida tepraloxym (Figura 1).

A cinética do processo de absorção do tepraloxym mostra um aumento contínuo e mais rápido, em relação ao sethoxydim, na quantidade de herbicida absorvido até 6 horas após a aplicação, para os biotipos R e S

Tabela 1. Absorção foliar de herbicidas CHD marcados com $[^{14}\text{C}]$, em biotipos de *Brachiaria plantaginea*.

Período de Incubação (horas)	sethoxydim (% de $[^{14}\text{C}]$ recuperado)	
	Biotipo Resistente	Biotipo Suscetível
3	78,3 $\pm$ 1,5	84,8 $\pm$ 2,7
6	72,5 $\pm$ 1,9	73,8 $\pm$ 2,6
12	70,6 $\pm$ 1,9	84,3 $\pm$ 2,3
24	68,0 $\pm$ 2,0	76,4 $\pm$ 1,5
48	69,3 $\pm$ 1,9	87,3 $\pm$ 2,2

Período de Incubação (horas)	tepraloxydim (% de $[^{14}\text{C}]$ recuperado)	
	Biotipo Resistente	Biotipo Suscetível
3	87,1 $\pm$ 0,9	87,1 $\pm$ 0,3
6	80,4 $\pm$ 1,7	79,8 $\pm$ 0,9
12	69,8 $\pm$ 4,9	73,5 $\pm$ 2,6
24	67,2 $\pm$ 13,4	68,2 $\pm$ 4,8
48	67,6 $\pm$ 2,0	65,2 $\pm$ 3,5

Nota: Os valores expressam médias de três experimentos, com os respectivos erros padrões.

(Figura 1). Posteriormente, a quantidade de tepraloxydim presente no tecido foliar se estabiliza, alcançando às 48 horas da aplicação os valores 67,6% e 65,2% do herbicida aplicado nos biotipos resistente e suscetível, respectivamente (Tabela 1).

Figura 1. Absorção foliar de herbicidas CHD radioativamente marcados, em biotipos de *Brachiaria plantaginea*. Os dados representam médias de três experimentos e as barras indicam os erros padrões.

Após a queima das diferentes partes das plantas em um oxidador, quantificou-se a radioatividade que continham, cujos resultados estão na Tabela 2.

Os herbicidas estudados apresentaram um padrão de translocação similar frente aos biotipos R e S, caracterizado por uma acumulação máxima de radioatividade no tecido foliar durante as primeiras 12 horas, seguidos de uma lenta porém contínua diminuição neste conteúdo conforme o herbicida se translocava para o restante da planta (Figuras 2 e 3).

Tanto o biotipo R como o S apresentaram uma distribuição similar dos herbicidas absorvidos, durante o período de incubação avaliados (Figuras 2 e 3).

A translocação de sethoxydim ocorreu seguindo o mesmo padrão em ambos biotipos R e S (Figura 2), ou seja, verificou-se uma diminuição na quantidade de herbicida na folha tratada após as primeiras 6 horas, para logo ir aumentando na parte aérea e raízes.

Para o herbicida tepraloxymid, a distribuição na folha tratada segue reduz-se até as 12 horas após a aplicação, aumentando a partir daí as quantidades na parte aérea e raízes (Figura 3).

Em termos absolutos, o herbicida sethoxydim foi o que apresentou maior efeito sistêmico com valores de herbicida translocado (% da radioatividade aplicada que se detecta fora da região de aplicação) situados entre 23,9% para o R, e 27,2% para o S, da radioatividade aplicada, transcorridas 24 horas da aplicação. Os valores mais altos de translocação até a raiz foram observados com o tepraloxymid (10,0% para R e 10,7% para S, da radioatividade aplicada) (Tabela 2). Assim, tepraloxymid foi o herbicida mais eficiente na mobilização a partir da área tratada (folhas) ao restante da planta (parte aérea e raiz) (Figura 3).

Os resultados obtidos indicam que a baixa sensibilidade do biotipo R ao sethoxydim pode ser de alguma forma influenciada pela diminuição em sua capacidade de absorver o herbicida; porém as diferenças observadas não são suficientes para explicar a elevada taxa de resistência encontrada neste biotipo.

Tabela 2. Translocação de herbicidas CHD marcados com [¹⁴C], em biotipos de *Brachiaria plantaginea*.

Período de Incubação (horas)		sethoxydim (% de [¹⁴ C] recuperado)					
		Biotipo Resistente			Biotipo Suscetível		
		Folha tratada	Parte aérea	Raiz	Folha tratada	Parte aérea	Raiz
3		71,4 ± 0,8	1,5 ± 0,2	0,7 ± 0,1	77,2 ± 1,9	1,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1
6		60,5 ± 1,0	5,6 ± 0,4	3,8 ± 0,5	63,2 ± 1,7	5,0 ± 0,2	3,2 ± 0,4
12		54,4 ± 0,7	10,2 ± 1,0	5,3 ± 0,2	71,8 ± 2,4	7,8 ± 0,5	3,8 ± 0,3
24		48,3 ± 0,8	12,2 ± 0,5	6,1 ± 0,6	60,9 ± 1,2	9,6 ± 0,8	4,6 ± 0,2
48		40,6 ± 4,0	21,7 ± 2,5	6,1 ± 0,3	65,7 ± 2,4	15,8 ± 0,5	5,2 ± 0,2

Período de Incubação (horas)		tepraloxymid (% de [¹⁴ C] recuperado)					
		Biotipo Resistente			Biotipo Suscetível		
		Folha tratada	Parte aérea	Raiz	Folha tratada	Parte aérea	Raiz
3		66,0 ± 2,1	13,5 ± 1,0	7,1 ± 0,7	69,5 ± 0,2	10,2 ± 0,3	6,8 ± 0,5
6		57,4 ± 1,6	12,8 ± 0,3	10,0 ± 0,5	56,2 ± 0,5	12,7 ± 0,6	10,7 ± 0,4
12		35,1 ± 8,9	28,1 ± 11,7	5,7 ± 0,3	44,2 ± 6,2	23,6 ± 7,7	5,6 ± 1,1
24		38,6 ± 2,2	23,9 ± 9,1	4,5 ± 1,1	37,7 ± 2,8	27,2 ± 2,8	3,0 ± 0,5
48		43,8 ± 0,8	18,5 ± 2,1	4,7 ± 0,1	38,0 ± 6,9	23,1 ± 9,3	4,0 ± 0,4

Nota: Os valores expressam médias de três experimentos, com os respectivos erros padrões

Figura 2. Translocação do herbicida [^{14}C]-sethoxydim em biotipos de *Brachiaria plantaginea*. Os dados representam médias de três experimentos e as barras indicam os erros padrões.

Figura 3. Translocação do herbicida [^{14}C]-tepraloxym em biotipos de *Brachiaria plantaginea*. Os dados representam médias de três experimentos e as barras indicam os erros padrões.

A partir da análise dos casos estudados de absorção e translocação de sethoxydim realizados com várias espécies, como: *Lolium multiflorum* (Gronwald et al., 1992), *Avena fatua* (Heap et al., 1993) e *Setaria viridis* (Heap & Morrisom, 1996 e Marles et al., 1993), constatou-se que a absorção de herbicida poucas horas após o tratamento foi alta, havendo uma rápida translocação do herbicida desde a folha tratada até o restante da planta, embora sem diferenças entre biotipos resistentes e suscetíveis. Nos casos dos biotipos de *B. plantaginea*, a absorção foi maior do que nas espécies citadas nestes trabalhos, porém com uma baixa translocação do herbicida, permanecendo a maior parte do tempo na folha tratada, após 48 horas da aplicação.

Nos ensaios realizados, ambos biotipos mostraram uma alta taxa de absorção dos herbicidas. Com estes resultados, acredita-se que os processos relacionados com a entrada dos herbicidas dentro da planta não contribuem de forma significativa para a diferente sensibilidade observada em ambos biotipos, tal como havia sido observado em alguns casos de biotipos de plantas daninhas resistentes a sethoxydim descritos até o momento (Wiederholt & Stoltenberg, 1995; Stoltenberg & Wiederholt, 1995; Hall et al., 1997).

3.2 Atividade da ACCase em biotipos de *Brachiaria plantaginea*

O estudo da atividade da ACCase procedente de folhas de *B. plantaginea* mostrou que existem diferenças nos valores de I_{50} entre os biotipos R e S estudados, para ambos herbicidas (Tabela 3).

Os herbicidas sethoxydim e tepraloxym são potentes inibidores da ACCase e pertencem ao grupo químico das ciclohexanodionas (CHD); no entanto, a análise da taxa de resistência para o biotipo R sugere que é necessário uma dose de sethoxydim 216,7 vezes superior para se atingir os mesmos níveis de inibição na ACCase extraída de plantas do biotipo S. Para o tepraloxym, verificou-se no biotipo R a necessidade de uma dose 2,3 vezes superior para se obter o mesmo efeito de inibição da ACCase com o biotipo S.

Tabela 3. Efeito de herbicidas CHD sobre a atividade da ACCase isolada de tecidos foliares de biotipos de *Brachiaria plantaginea*.

Herbicida	I ₅₀ (µM) ⁽¹⁾		Taxa de Resistência ⁽²⁾
	Biotipo Resistente	Biotipo Suscetível	
Sethoxydim	650,0 ± 28,9	3,0 ± 0,7	216,7
Tepraloxym	2,0 ± 0,2	0,9 ± 0,2	2,3

⁽¹⁾ I₅₀ = concentração de herbicida necessária para reduzir 50% da atividade da ACCase.

⁽²⁾ Taxa de resistência = I₅₀(R)/I₅₀(S)

Nota: Os valores expressam médias de quatro experimentos, com os respectivos erros padrões.

Em vários trabalhos realizados com a metodologia aqui utilizada observou-se que a ACCase de biotipos resistentes mostrou-se menos sensível ao efeito inibidor dos herbicidas APP e CHD testados, de modo que as taxas de resistência obtidas para sethoxydim, em outras plantas daninhas têm sido, na maioria das vezes superior a 100 (Stoltemberg & Wiederholt, 1995; Hall & Powles, 1997 e Shukla et al., 1997).

Devine (1997) apresenta distintos resultados de taxas de resistência para sethoxydim, medidos em relação à inibição da ACCase, para *Setaria viridis* (423), *Setaria faberi* (192) e *Avena fatua* (105).

Embora os valores do fator de resistência sejam relativamente próximos em alguns casos, verifica-se que a atividade das ACCases ao sethoxydim (valores de I₅₀), tanto em biotipos resistentes quanto em biotipos suscetíveis, é bastante variável dependendo da espécie de planta estudada.

As concentrações referentes ao I₅₀ para o biotipo S foram inferiores (3,0 µM para o sethoxydim e 0,9 µM para o tepraloxym) às concentrações referentes ao I₅₀ do biotipo R (650,0 µM para o sethoxydim e 2,0 µM para o tepraloxym). Isto mostra que a sensibilidade da ACCase presente no biotipo R manifesta-se igualmente no biotipo S, porém diferentemente em relação ao herbicida estudado, embora pertencente ao mesmo grupo químico. Estes resultados podem estar relacionados ao fato do sethoxydim ter sido um dos herbicidas selecionadores da resistência deste biotipo, no campo.

A ocorrência de uma ou mais mutações genéticas, no processo de seleção dos biotipos resistentes, podem ocasionar perda de afinidade do

herbicida pelo local de ação (no caso a ACCase) (Devine & Shimabukuro, 1994; Gronwald, 1994 e Saari et al., 1994. Para a maioria das plantas daninhas resistentes aos herbicidas APP e CHD estudadas até o momento, a resistência é conferida por uma mutação na ACCase que reduz a sensibilidade aos herbicidas (Betts et al., 1992; Morrison et al., 1992 e Parker et al., 1999). Há em geral, uma boa correlação entre a sensibilidade *in vitro* da ACCase e a taxa de resistência apresentada nos ensaios *in vivo*, como podem ser observados pelos resultados apresentados no Capítulo 3. Os diferentes padrões de resistência aos diferentes inibidores da ACCase parecem indicar que diferentes mutações podem estar envolvidas no desenvolvimento de biotipos resistentes (Devine, 1997).

A ocorrência desta capacidade de alteração no sítio de ação pode ser a base do futuro desenvolvimento de populações resistentes ao tepraloxymid, e reafirma a dificuldade em se prever a efetividade de novos herbicidas em biotipos que apresentem resistência cruzada por alteração na enzima, já que estes podem desenvolver resistência às novas moléculas, inclusive por breves períodos de tratamento contínuo (Cornes et al., 1995).

Os valores da taxa de resistência encontrados na atividade da ACCase do biotipo R podem estar relacionados aos valores encontrados para porcentagem de controle e redução de fitomassa recém colhida (Capítulo 3 - Tabela 9/biotipo B). Os dados bioquímicos comprovam que a ACCase extraída das plantas resistentes de *B. plantaginea* apresentam menor sensibilidade aos herbicidas inibidores da ACCase, pertencentes ao grupo químico CHD.

Comparando-se os resultados de inibição da ACCase isolada com os obtidos pela planta inteira (Capítulo 3 - Tabela 9/biotipo B), verifica-se que os valores de GR₅₀ foram maiores que os observados para I₅₀, de um mesmo herbicida. Isso ocorre possivelmente porque nos estudos *in vitro* ocorre um isolamento do fator envolvido no mecanismo de resistência (ACCase) que é analisado isoladamente. Nos bioensaios *in vivo* são medidos o efeito total dos possíveis mecanismo(s) causador(es) da resistência. Nos estudos *in vivo* os valores GR₅₀ encontrados para as variáveis analisadas seriam a soma dos

efeitos de sensibilidade da ACCase e diferenças na absorção dos herbicidas, verificadas entre os biotipos resistente e suscetível.

4 CONCLUSÕES

Nas condições em que os experimentos foram realizados, os resultados obtidos permitem extrair as seguintes conclusões:

- As diferenças na capacidade de absorção do sethoxydim e do tepraloxymid encontradas nos biotipos resistente e suscetível de *B. plantaginea* não foram suficientes para justificar a ocorrência da resistência a estes herbicidas;
- O processo de translocação dos herbicidas pelas diferentes partes da planta parece não contribuir de maneira significativa na resistência aos herbicidas CHD, no biotipo estudado;
- Considerando a inibição da ACCase como o mecanismo de ação dos herbicidas CHD, o estudo da sensibilidade da ACCase ao sethoxydim mostrou diferenças significativas entre os biotipos resistente e suscetível estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHRENS, W.H. (Ed.) **Herbicide handbook**. 7. ed. Champaign, WSSA, 1994. 352p.
- BETTS, K.J.; EHLKE, N.J.; WYSE, D.L.; GRONWALD, J.W.; SOMMERS, D.A. Mechanism of inheritance of diclofop resistance in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). **Weed Science**, n.40, p.184-189, 1992.
- BORGEAIS, L.; KENKEL, N.C.; MORRISON, I.N. Characterization of cross-resistance patterns in acetyl-CoA carboxylase inhibitor resistance wild oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v.45, p.750-755. 1997
- BROMILOW, R.H.; CHAMBERLAIN, K. Pathways and mechanisms of transport of herbicide in plants. In: KIRKWOOD, R.C., ed **Targest sites for herbicides action**. Plenum Press, Nueva York, p.245-284. 1991.
- CORNES, D.W.; MILLS, C.E.; RYAN, P.J. Development and management of resistance to aryloxyphenoxypropionates in *Alopecurus myosuroides* in the UK. **Proc. International Symp. Weed and Crop Resistance to Herbicides**, Cordoba, Spain, p.229-230, 1995.
- DE PRADO, R.; MENÉNDEZ, J.; TENA, M. Response to substituted ureas, triazines and chloroacetanilides in a biotype of *Alopecurus myosuroides* resistant to chlorotoluron. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE - WEEDS. p. 1065-1070, 1991.
- DE PRADO, R.; MENENDEZ, J.L. Cross-resistance and herbicide metabolism in *Alopecurus myosuroides* Huds. In: **Regulation of Enzymatic System Detoxifying Xenobiotics in Plants** (HATZIOS, K. K., ed.). Kluwer Academic Publisher, p. 351-366. 1997.

- DE PRADO, R.; ROMERA, E.; JORRIN, J. Effects of chloroacetamides and photosynthesis-inhibiting herbicides on growth and photosynthesis in sunflower (*Helianthus annuus* L.) and *Amaranthus hybridus* L. **Weed Research**. n.33, p. 369-374, 1993b.
- DEVINE, M.D. Mechanisms of resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: a review. **Pesticide Science**, v.51, p.259-264, 1997.
- DEVINE, M.D.; McISAAC, S.A.; ROMANO, M.L.; HALL, J.C. Investigation of the Mechanism of Diclofop Resistance in Two Biotypes of *Avena Fatua*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.42, p.88-96, 1992b.
- DEVINE, M.D.; SHIMABUKURO, R.H. Acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides. In: POWLES, S.B. ; HOLTUM, J. A.M. eds **Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry**, p.141-169. CRC Press, London. 1994.
- DUKE, S.O.; KENYON, W. H. Polycyclic alkanolic acids. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. eds. **Herbicides: Chemistry, Degradation, and Mode of Action** Marcel Dekker, New York, p. 71-116. 1988.
- GIMENEZ-ESPINOSA, M.R.M. Mecanismos de tolerância de garbanzo a piridato e y a los herbicidas ariloxifenoxipropionatos. Interacción entre la tolerância a herbicidas y la resistência a *Fusarium oxysporum*. Cordoba, 1997. 251p. (Tese Doutorado) – Escuela Técnica de Ingenieros Agrônomos y de Montes – Universidad de Cordoba/Espanha.
- GRONWALD, J.,W.; EBERLEIN, C.V.; BETTS, K.J.; ROSCOW, K.M.; EHLKE, N.J.; WYSE, D.L. Diclofop resistance in a biotype of Italian rye-grass. **Plant Physiology** 89 (Abstract no. 685), 115. 1989.

- GRONWALD, J.W. Herbicides inhibiting acetyl-CoA carboxylase. **Biochemical Society Transactions**, v. 22, n.3, p.616-621, 1994b.
- GRONWALD, J.W.; EBERLEIN, C.V.; BETTS, K.J.; BAERG, R.J.; EHLKE, N.J.; WYSE, D.L. . Mechanism of diclofop resistance in na Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) biotype. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 44, p.126-139, 1992.
- HALL, L.M.; TARDIFF, F.; POWLES, S.B. Mechanism of cross and multiple resistance in *Alopecurus mysuroides* and *Lolium rigidum*. **Phytoprotecion**, v. 73, p.17-23, 1994.
- HEAP, I.M.; MORRISON, I. N. Resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides in Green Foxtail (*Setaria viridis*). **Weed Science**, v.44, p.25-30. 1996.
- HEAP, I.M.; MURRAY, B.G.; LOEPPKY, H.A.; MORRISON, I.N. Resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides in wild oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v.41, p.232-238, 1993.
- HOPPE, H.H. Fatty acid biosynthesis – a target site of herbicide action. In: BÖGER, P.; SANDMANN, G., eds **Target sites of herbicide action**, CRC Press, Boca Ration. p.65-83, 1989.
- LADLIE, J.S. Guide to herbicide injury symptoms in soybeans with “look-alike” symptoms. Hollamdale: Agri-Growth Research, 1991, 86 p.
- MANEECHOTE, C.; HOLTUM, J.M.; PRESTON, C.; POWLWS, S.B. Resistant acetyl-CoA carboxylse is a mechanism of herbicide resisitance in a biotype of *Avena sterilis* spp ludoviciana. **Plant Cell Physiology**, v.35, p.27-35, 1994.

- MANSOOJI, ^aM.; HOLTUM, J.^aM.; BOUTSALIS,P.; MATTHEWS, J.M.; POWLRS, S.B. Resistance to aryloxyphenoxypropionate herbicides in two wild oat species (*Avena fatua* and *Avena sterilis*). **Weed Science**, v.40, p.599-605, 1992.
- MARLES, M.A.S.; DEVINE, M.D.; HALL, J.C. Herbicide resistance in *Setaria viridis* conferred by a less sensitive form of acetyl coenzyme A carboxylase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, p.7-14, 1993.
- MARSHALL G.; KIRKWOOD, R.C.; LEACH, G.E. Comparative studies on graminicide-resistant and susceptible biotypes of *Eleusine indica*. **Weed Research**, v. 34, n.3, p.177-185, 1994.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, J.L.; DE PRADO, R. Diclofop metabolism in resistant biotypes of *Lolium rigidum* Gaudin. **Proceedings of the International Symposium on Weed and Crop Resistance to Herbicide**, Cordoba, Spain, 1996, p.97-98.
- MENENDEZ, J. Mecanismos de resistência a herbicidas en biotipos de *Alopecurus myosuroides* huds. Cordoba, 1997. 246p. Tese (Doutorado) - Escuela Técnica de Ingenieros Agrónomos y de Montes - Universidad de Cordoba/Espanha.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, R. Detoxification of chlorotoluron in a chlorotoluron - resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. Comparison between cell cultures and whole plants. **Physiologia Plantarum**. v.99, p.97-104, 1997.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, R. Diclofop-methyl cross-resistance in a chlorotoluron resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 56, p.123-133, 1996.

- MENENDEZ, J.; JORRIN, J.; ROMERA, E.; DE PRADO, R. Resistance to chlorotoluron of a slender foxtail (*Alopecurus myosuroides*) biotype. **Weed Science**, v. 42, p. 340-353, 1994.
- MORRISON, I.N.; BOURGEOIS, L. Approaches to managing ACCase inhibitor resistance in wild oat on the Canadian prairies. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds**, Brighton, England, p. 567-576. 1995
- PARKER, W.B.; MARSHALL, L.C.; BURTON, J.D.; SOMERS, D.A. WYSE, D.L.; GRONWALD, J.W.; GENGENBACH, B.G. Dominant mutations causing alterations in acetyl-Coenzyme A carboxylase confer tolerance to cyclohexanedione and aryloxyphenoxypropionate herbicides in maize. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, n.87, p.7175-7179. 1990a.
- POWLES, S.B.; PRESTON, C. **Herbicide cross resistance and multiple resistance in plants**. Department of crop protection. Waite Agricultural Research Institute. University of Adelaide. South Australia, 1995. 34 p.
- RODRIGUES, B.N. e ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 4. ed. Londrina: IAPAR, 1998, 648p.
- SAARI, L.L.; COTTEMAN, J.C.; THILL, D.C.. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In: **Herbicide Resistance in Plants** (Powles, S. B., y Holtum, J.A.M., CRC Press, Boca Raton, pp. 83-140. 1994
- SHERMAN, T.D.; VAUGHN, K.C.; DUKE, S.O. Mechanism of action and resistance to herbicides. In: DUKE, S.O (Ed.) **Herbicides Resistant Crops**. Boca Raton: CRC press, 1996. p.14-28.

- SHIMABUKURO, R.H. Selectivity and Mode of Action of the Postemergence Herbicide Diclofop-Methyl. **Plant Growth Regul. Soc. Am. Q.**, v.18, p.37-54, 1990.
- SHIMABUKURO, R.H.; HOFFER, B.L.. Metabolism of diclofop-methyl in susceptible and resistant biotypes of *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.39, p.251-258, 1991
- SHUKLA, A.; DUPONT, S.; DEVINE, M.D. Resistance to ACCase-inhibitor herbicides in wild oat: evidence for target site-based resistance in two biotypes from Canada. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.57, p.147-155, 1997.
- SMEDA, R.J.; BARENTINE, W.L.; SNIPES, C.E. Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) resistance to postemergence grass herbicides. **Weed Science Society of America**. Abstract no. 53. 1993.
- STOLTENBERG, D.E.; WIEDERHOLT, R.J. Giant foxtail (*Setaria faberi* Herm.) resistance to acetylCoA carboxylase inhibitors. **Weed Science Society of America**. Abstract no. 183. 1993.
- TARDIF, F.J.; POWLES, S.B. Herbicide multiple-resistance in a *Lolium rigidum* biotype is endowed by multiple mechanisms: isolation of a subset with resistant acetyl-CoA carboxylase. **Physiologia Plantarum**, v.91, p.488-494, 1994.
- WALKER, K.A.; RIDLEY, S.M.; LEWIS, T.; HARWOOD, J.L. Fluazifop, a grass selective herbicide which inhibits acetyl-CoA carboxylase in sensitive plants species. **Biochemistry Journal**, v.254, p.307-310, 1988.

WIEDERHOLT, R.J.; STOLTENBERG, D.E. Cross-resistance of a large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) accession to aryloxyphenypropionate and cyclohexanedione herbicides. **Weed Technology**, v.9, n.3, p.518-524, 1995.

CAPÍTULO V

ALTERNATIVA PARA O MANEJO AGRONÔMICO DE *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitch. RESISTENTE A HERBICIDAS APP E CHD, EM PLANTIO DIRETO, NA CULTURA DA SOJA.

RESUMO: Experimentos no campo e em casa-de-vegetação foram instalados com o objetivo de avaliar a eficácia de herbicidas inibidores da ACCase frente a herbicidas e misturas com outros mecanismos de ação, no controle de *B. plantaginea* resistente. O controle da população resistente no campo foi ineficiente com os herbicidas inibidores da ACCase testados, porém o herbicida clethodim foi o que proporcionou maiores níveis de controle aos 28 dias após aplicação (DAA) no campo (72,5%), e aos 14 DAA em casa-de-vegetação (47,4%). O herbicida nicosulfuron proporcionou os maiores níveis de controle da *B. plantaginea* resistente, tanto no campo (72,5% aos 28 DAA), quanto em casa-de-vegetação (75,2% aos 14 DAA). No campo, a mistura trifluralin+nicosulfuron proporcionou o melhor controle (75,0% aos 28 DAA). Apesar de não ser recomendado para a cultura da soja, o nicosulfuron e a mistura com trifluralin parecem representar uma alternativa de controle químico para populações resistentes de *B. plantaginea*, desde que utilizados com a variedade de soja COOETEC-201, tolerante a este herbicida.

Palavras-chave: manejo da resistência, biotipos resistentes, resistência no campo.

SUMMARY: Experiments under field and greenhouse conditions were conducted in order to evaluate the efficacy of ACCase inhibitor herbicides compared to isolated and mixtures of herbicide with other mechanism of action, on the control of resistant *B. plantaginea*. The control of the resistant population in the field was inefficient by the ACCase inhibitor herbicides tested, however, clethodim was the one with higher level of control at 28 days after treatment (DAT) in the field (72.5%), and at 14 DAT in the greenhouse (47.7%). The herbicide nicosulfuron gave the best control of de *B. plantaginea*, at field and greenhouse conditions (72.5% at 28 DAT - field; 75.2% at 14 DAT - greenhouse). In the field conditions, the mixture of trifluralin + nicosulfuron gave high level of control (75.0% at 28 DAT). Even tough it is not recommended to be sprayed in soybean, nicosulfuron and the mixture with trifluralin seem to be a alternative to chemical control of resistant population of de *B. plantaginea*, if the variety of soybean.

Key words: resistant management, resistents biotypes, resistance in field.

1 INTRODUÇÃO

O capim-marmelada [*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.], codificada como BRAPL no código Internacional da WSSA, é uma das plantas daninhas anuais mais freqüentes nos solos cultivados das regiões Centro e Sul do Brasil (Lorenzi, 1991). É particularmente importante na cultura da soja, possuindo alta capacidade competitiva, causadora de significativas perdas na produção.

A presença de plantas daninhas e a necessidade de se efetuar o controle são importantes fatores a serem considerados na cultura de soja, em razão destas plantas poderem causar perdas significativas das culturas conforme a espécie, a densidade e a distribuição na lavoura.

A presença de *B. plantaginea* em convivência com a cultura de soja pode provocar uma redução de 80% no rendimento final da cultura (Garcia et al., 1981).

Vários trabalhos têm demonstrado a existência de um período, durante o ciclo da cultura de soja, no qual a interferência das plantas daninhas será determinante na redução da produção e na qualidade dos grãos e sementes. Blanco et al. (1973) observaram que o período de competição para a soja estava compreendido entre 45 e 60 dias após a germinação; para Maia & Rafael (1978), este período situa-se entre 30 e 50 dias após a germinação. Resultados máximos na produção de soja foram obtidos com o controle de plantas daninhas, realizado até os 40-50 dias após a germinação da cultura (Durigan et al., 1983). Mesmo em condições com alta infestação (250 plantas m^{-2} de *B. plantaginea*) a competição com a soja se estabeleceu a partir do 35º dia após a emergência da cultura (Ministeri & Melhorança, 1984).

Quando um campo é submetido a práticas normais de cultivo como a aração, a gradagem e a adubação, a *B. plantaginea* emerge e, com a sua alta taxa de crescimento ocupa rapidamente a área disponível, evitando a competição com outras espécies (Carvalho, 1980).

Em geral, as maiores infestações de *B. plantaginea* ocorrem durante os meses mais quentes e chuvosos do ano, geralmente entre setembro e dezembro (Alcântara & Carvalho, 1982 e Lorenzi, 1991).

A sobrevivência de sementes no solo é um fator importante para o sucesso do estabelecimento de espécies anuais invasoras de áreas cultivadas. Ao final de vinte semanas, observou-se que aproximadamente 3% das sementes de *B. plantaginea*, enterradas no solo a 10 cm de profundidade, ainda permaneciam viáveis (Freitas, 1990). Desta forma, considerando a produtividade média de *B. plantaginea* em torno de 670 kg ha^{-1} (Whyte et al., 1975), após 20 semanas ainda são encontrados 500 g ha^{-1} de sementes. Esta é, seguramente, uma quantidade de sementes suficiente para garantir a sobrevivência desta espécie no local.

No sistema de plantio direto da cultura de soja, tem-se encontrado maior dificuldade no manejo de *B. plantaginea* pois a presença da palhada proporciona um maior acúmulo de sementes no banco superficial do solo. No momento da semeadura, a abertura de pequenos sulcos promove um

movimento de solo suficiente para que ocorra, nas linhas de plantio, uma considerável infestação (Kissmann, 1991).

Sementes produzidas durante o ano tendem a acumular-se na superfície do solo, onde germinam ou são incorporadas ao perfil do solo pelo manejo (Voll et al., 1995).

Entre as práticas agronômicas que influenciam a pressão de seleção e que geralmente são identificadas como desencadeadoras de fenômenos de resistência a herbicidas, pode-se destacar (Cussans, 1996): uso de monocultivo; adoção generalizada de um único sistema de cultivo (exemplo: plantio direto); uso massivo e exclusivo de herbicidas como única técnica de controle de plantas indesejáveis e dominância de um só herbicida, ou grupo de herbicidas, com o mesmo mecanismo de ação.

O uso de herbicidas tem sido uma prática eficiente no controle de plantas daninhas na soja, tendo como principal função reduzir a densidade ou a biomassa destas plantas, evitando que alcancem níveis capazes de causar danos por competição, na fase crítica da cultura (Barros, 1989).

Existem diversos herbicidas na aplicação em pré-plantio e pré-emergência bastante eficazes para o controle de *B. plantaginea*. Porém, para o controle seletivo na cultura de soja, em aplicações de pós-emergência, os herbicidas registrados no Brasil são restritos aos grupos químicos dos ariloxifenoxipropionatos (APP) e ciclohexanodionas (CHD). Condições ambientais desfavoráveis ou deficiência nas tecnologia de aplicação podem ser responsáveis pelo controle deficiente. Somado a estes fatores, podemos acrescentar as dificuldades no manejo de populações resistentes de *B. plantaginea*, dificultando ainda mais a eliminação da competição de plantas daninhas nesta cultura.

Outro fator limitante de grande importância é a falta de herbicidas graminicidas de aplicação em pós-emergência que controlem de forma efetiva as plantas daninhas ao longo do ciclo de cultivo. A soja, bem como a maioria das leguminosas é muito sensível aos herbicidas aplicados em pós-emergência, e à competição com as plantas daninhas.

Apesar da ampla informação disponível sobre os fatores relacionados com a evolução das populações de plantas daninhas resistentes a herbicidas, a capacidade para predizer onde e como estas populações irão aparecer é ainda muito limitada (Moss, 1995 e Rubim, 1991). Em áreas agrícolas dos Estados Unidos da América do Norte, Austrália e Europa, as densidades de plantas daninhas resistentes a herbicidas têm alcançado níveis que comprometem seriamente a produção, ou pelo menos obrigam a adoção de importantes alterações nas práticas agrícolas (Rubim, 1996). Diante desta situação tem-se buscado delinear e desenvolver programas que possam auxiliar o agricultor na luta contra as plantas daninhas resistentes a herbicidas (Mathews, 1994; Jutsum & Graham, 1995; Morrison & Bourgeois, 1995 e Shaner, 1995). Estes programas se baseiam no conceito de rotação como fator-chave na luta contra a resistência (Cussans, 1996): rotação de culturas; rotação das técnicas de manejo e rotação de herbicidas e em estratégias de manejo integrado de plantas daninhas.

Para prevenir o aparecimento e/ou controlar o crescimento de populações resistentes de plantas daninhas aos herbicidas, é necessário modificar algumas práticas agrícolas (Christoffoleti et al., 1994), como:

- a) Uso de herbicidas alternativos: alguns herbicidas alternativos que ainda permanecem eficazes em populações de plantas daninhas resistentes, pode ser uma estratégia de sucesso, pelo menos a curto prazo;
- b) Uso de mistura de herbicidas: o uso de dois ou mais herbicidas com diferentes mecanismos de ação, aplicados como mistura de tanque ou de maneira seqüencial, devem reduzir a pressão de seleção do biotipo resistente. O valor de tal estratégia depende da eficácia relativa de cada um dos herbicidas na planta daninha alvo e a especificidade dos mecanismos de resistência;
- c) Manejo de herbicidas: a pressão de seleção será reduzida se forem usados herbicidas sem nenhuma ou pouca atividade residual no solo, assim como

se forem reduzidas as doses de herbicidas e o número de aplicações a cada ano agrícola;

- d) Rotação de culturas: muitas espécies daninhas estão em sincronia com culturas específicas, assim, a rotação de culturas pode reduzir o sucesso intrínseco destas plantas e, em muitas situações, permitir o uso de herbicidas alternativos.

É possível observar que todas as recomendações para prevenção e controle de resistência de plantas daninhas aos herbicidas são baseadas na associação de medidas alternativas que auxiliam o controle químico das mesmas. Dessa forma, o manejo integrado no controle de plantas daninhas torna-se uma alternativa viável e eficiente no manejo da resistência.

O uso de herbicidas nos programas de manejo integrado de plantas daninhas tem como objetivo reduzir e racionalizar o uso de herbicidas, mediante o uso de rotação de herbicidas, manutenção dos níveis de infestação economicamente aceitáveis ou o tratamento localizado com herbicidas (Nordmeyer et al., 1996).

O uso de técnicas alternativas como a rotação de culturas, rotação de herbicidas e adoção de manejo integrado no controle de plantas daninhas (Brown & Cotterman, 1994) representam importantes estratégias para evitar o aparecimento de resistência por parte das plantas. A adição de sulfato de amônio à calda do herbicida pode melhorar a eficácia sobre as populações de plantas daninhas resistentes. Algumas experiências com herbicidas alternativos e misturas com sulfato de amônio foram testadas, visando avaliar os efeitos sobre *B. plantaginea* resistente aos inibidores da ACCase.

Além da busca de novas alternativas que possam ser usadas no controle de biótipos de *B. plantaginea* resistente, foram estabelecidos como objetivos deste trabalho:

- Estudar a eficácia de alguns herbicidas e suas misturas sobre um biótipo resistente de *B. plantaginea*, em condições de campo e de casa-de-vegetação;

- Comparar a eficácia do controle de herbicidas inibidores da ACCase e de herbicidas alternativos com diferentes mecanismos de ação, no controle de um biótipo resistente de *B. plantaginea*, em condições de campo e de casa-de-vegetação;
- Estudar a resposta a herbicidas alternativos, de uma cultivar de soja, em condições de campo, como alternativa indireta de controle a plantas resistentes, a fim de propor vias alternativas de controle químico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados ensaios testando-se tratamentos químicos alternativos para o controle de *B. plantaginea* resistente a herbicidas inibidores da ACCase isolada (em vasos, na casa-de-vegetação), e em convivência com a cultura da soja (no campo, em Guarapuava/PR).

Faltam no Brasil opções de herbicidas graminicidas seletivos, utilizados em pós-emergência na cultura de soja, assim os tratamentos utilizados aqui foram selecionados a partir de observações realizadas pelo trabalho dos técnicos da Cooperativa Agrária Mista Entre Rios Ltda., que vinham utilizando adjuvantes na calda de aplicação destes herbicidas, visando melhorar a eficácia de controle.

2.1 Avaliação da sensibilidade de biotipos de *Brachiaria plantaginea* a herbicidas alternativos em bioensaio de casa-de-vegetação

2.1.1 Local

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP.

2.1.2 Material vegetal

As sementes foram coletadas da mesma área produtora de soja, onde posteriormente foi instalado o ensaio de campo, após a colheita da soja da safra 96/97. As sementes foram coletadas de várias plantas que sobreviveram aos tratamentos com herbicidas inibidores da ACCase. Foram recolhidas as sementes presentes no solo, liberadas naturalmente pelas plantas, para garantir um bom estágio de maturidade fisiológica das mesmas. Nesta área, o manejo de plantas daninhas de folhas estreitas apresentava histórico de uso intensivo de herbicidas CHD, nos últimos anos (vide Tabela 1 – Capítulo 3)

As amostras de sementes foram secas ao ar, e depois purificadas para se fazer a separação de solo, retirar o material inerte e as sementes chochas. Depois, as sementes resistentes e as suscetíveis, provenientes de áreas nunca antes tratadas com herbicidas, foram testadas para se conhecer as condições de germinação e possível necessidade do uso de técnicas para a quebra de dormência. Comprovada a ocorrência de dormência, utilizou-se a técnica imersão das sementes em ácido sulfúrico por 30 minutos, segundo a metodologia apresentada por Freitas et al., 1993.

As sementes resistentes e as suscetíveis foram semeadas separadas e diretamente em vasos plásticos com capacidade de 500 mL, contendo substrato à base de solo e matéria orgânica, na proporção 3:1 (Tabela 1). Os vasos foram irrigados diariamente para a manutenção de umidade satisfatória. Foi realizado um desbaste aos nove dias após a semeadura visando manter a densidade de cinco plantas por vaso. Para receber os tratamentos com os herbicidas foram selecionados vasos com plantas de aspecto uniforme e iniciando em média, a emissão do primeiro perfilho.

2.1.3 Tratamentos

Como delineamento experimental foram adotados blocos inteiramente casualizados com 26 tratamentos (2 biotipos, 11 herbicidas e 2 testemunhas) e quatro repetições.

Os herbicidas foram pulverizados sobre a parte aérea das plantas, utilizando-se um pulverizador pressurizado com ar comprimido e instalado em laboratório, com ponta de pulverização do tipo leque (Teejet 80.03E), com jato calibrado na altura de 50 cm da superfície do alvo. Os herbicidas foram aplicados dissolvidos em água, em um volume de pulverização correspondente a 300 L ha⁻¹ de calda, numa pressão de 40 lb pol⁻².

Tabela 1. Análises⁽¹⁾ química e granulométrica do substrato utilizado no bioensaio com populações de *B. plantaginea*, em casa-de-vegetação.

pH	M.O.	P	S-SO ₄	K	Ca	Mg	Al	SB	T	V
CaCl ₂	(g dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)	(mmole dm ⁻³)							
6,6	43	504	127	17,6	103	30	0	150,6	166,6	90
Areia (%)						Silte		Argila	Classe	
Muito Grossa	Grossa	Média	Fina	Muito Fina	Total	(%)	(%)	(%)	de Textura	
1	4	11	23	8	47	14	39		argilosa	

⁽¹⁾ Resultados fornecidos pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Ciência do Solo - ESALQ/USP.

Após a pulverização, as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação, sendo irrigadas diariamente diretamente no solo.

Os herbicidas utilizados nos tratamentos em pós-emergência e as respectivas doses e produto comercial utilizados estão descritos na Tabela 2.

2.1.4 Avaliações

No ensaio de casa-de-vegetação foram avaliados a porcentagem de controle visual aos 7 e 14 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA), e a fitomassa recém colhida aos 15 DAA.

As avaliações de controle de plantas daninhas foram efetuadas empregando-se escala visual, considerando-se 0% para nenhum controle e 100% para controle total, comparados à testemunha sem herbicida.

2.1.5 Análise dos dados

Os dados originais de porcentagem de controle e da produção de fitomassa recém-colhida, foram submetidos aos testes de Lilliefors (1967) para se verificar a normalidade dos mesmos, e ao teste de Bartlett (1937) para se verificar a homogeneidade das variâncias. Nos casos em que os dados não apresentavam distribuição normal ou variâncias homogêneas, foram utilizadas transformações nos dados, de acordo com a variável testada.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa SAS¹. As médias significativas pelo teste de F a 5% de probabilidade (Tabela A3 - Anexo), foram diferenciadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

2.2 Avaliação de herbicidas alternativos no controle de população resistente de *Brachiaria plantaginea* em condições de campo

2.2.1 Local

O ensaio foi conduzido em área de uma fazenda particular (Fazenda Três Capões), município de Guarapuava, região sudoeste do Paraná,

¹ SAS – Statistical Analysis System Institute, Cary, NC (versão 6.0) 27512.

cujo proprietário era cooperado da Cooperativa Agrária Mista Entre Rios Ltda., a qual participou na condução do experimento. Anteriormente, ensaios conduzidos em condições controladas de casa-de-vegetação (Capítulo 3) permitiram comprovar a hipótese que a infestação de *B. plantaginea* presente nesta área se tratava de população resistente a herbicidas inibidores da ACCase.

A comunidade de plantas daninhas na área era composta basicamente de *B. plantaginea*, cobrindo cerca de 80% do solo.

O ensaio foi instalado em área cultivada com a cultura de soja, onde o manejo de plantas daninhas de folhas estreitas vinha sendo feito há vários anos com os herbicidas inibidores da ACCase pertencentes ao grupo químico dos CHD, sendo que nos últimos anos, os níveis de controle obtidos vinham se mostrando muito abaixo do esperado.

O solo do tipo latossolo vermelho apresentou após a análise química e granulométrica, os resultados expostos na Tabela 3.

Tabela 3. Análises⁽¹⁾ química e granulométrica do solo da área experimental. Guarapuava/PR - 1997.

pH	M.O.	P	S-SO ₄	K	Ca	Mg	Al	SB	T	V
CaCl ₂	(g dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)		(mmolc dm ⁻³)						
5,7	58	604	328	18,7	110	30	0	58,3	80,1	72
Areia (%)						Silte		Argila	Classe	
Muito Grossa	Grossa	Média	Fina	Muito Fina	Total	(%)		(%)	de Textura	
-	5	11	27	15	58	20		22	argilosa	

⁽¹⁾ Resultados fornecidos pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Ciência do Solo - ESALQ/USP.

2.2.2 Tratamentos

Como delineamento experimental foram adotados blocos casualizados com dez tratamentos e quatro repetições. As parcelas apresentavam 10 linhas de soja espaçadas de 0,5 m, com 7,0 m de

comprimento, com uma área total de 35,0 m², e 24,0 m² de área útil. Os tratamentos utilizados no ensaio estão descritos na Tabela 4.

A pulverização de manejo foi realizada no dia 25 de setembro de 1997, empregando-se os herbicidas Roundup e Esteron nas dosagens de 1,5 L ha⁻¹ e 0,5 L ha⁻¹, respectivamente, visando a eliminação da vegetação resultante do cultivo de trigo no inverno. Antes da semeadura da soja, foram aplicados ainda os herbicidas Zapp e Bladex nas dosagens de 1,25 L ha⁻¹ e 1,0 L ha⁻¹, respectivamente.

Tabela 4. Tratamentos utilizados no experimento de campo com a cultura de soja com infestação de *B. plantaginea* resistente a herbicidas inibidores da ACCase. Guarapuava/PR - 1997.

HERBICIDAS		Concentração	Dose aplicada	Época de
Nome comum	Nome comercial	de i.a. ⁽¹⁾ g L ⁻¹	L ha ⁻¹ de p.c. ⁽²⁾	aplicação
sethoxydim ⁽³⁾	Poast	184	1,20	POS ⁽⁶⁾
fluazifop	Fusilade	125	1,50	POS ⁽⁶⁾
fenoxaprop	Podium	110	0,80	POS ⁽⁶⁾
clethodim ⁽⁴⁾	Select	240	0,35	POS ⁽⁶⁾
clethodim ⁽⁴⁾ + sulf. amônio	Select	240	0,35 + 2%	POS ⁽⁶⁾
nicosulfuron	Sanson	40	1,50	POS ⁽⁶⁾
trifluralin ⁽⁵⁾ + nicosulfuron	Premierlin + Sanson	600 + 40	2,50 + 0,75	PRE ⁽⁷⁾ / POS ⁽⁶⁾
pendimethalin ⁽⁵⁾	Herbadox	500	3,00	PRE ⁽⁷⁾
Testemunha capinada	-	-	-	-
Testemunha sem capina	-	-	-	-

(1) i.a. = ingrediente ativo

(2) p.c. = produto comercial

(3) Recebeu a adição de Assist 0,5 % v:v

(4) Recebeu a adição de Dytrol 0,5 % v:v

(5) Herbicidas aplicados oito dias após a semeadura da soja.

(6) Pós-emergência em relação às plantas daninhas e cultura.

(7) Pré-emergência em relação às plantas daninhas e cultura.

Entre os tratamentos alternativos optou-se pela inclusão do herbicida nicosulfuron, apesar de não haver registro deste herbicida para a cultura de soja. Por esta razão, foi utilizada neste experimento a cultivar de soja COODETEC-201 por ser considerada tolerante ao herbicida nicosulfuron.

A soja foi semeada em 18 de outubro de 1997, de forma mecânica, com espaçamento de 0,5 m entre linhas, colocando-se 18 sementes por metro linear, a uma profundidade de 3 cm da superfície do solo. Durante a semeadura realizou-se adubação na linha com 200 kg ha⁻¹ da fórmula NPK + Zn. As condições climáticas após a semeadura caracterizaram-se por chuvas e temperaturas regulares.

A aplicação dos herbicidas em pré-emergência foi realizada aos oito dias após a semeadura da soja e os demais tratamentos 33 dias após a semeadura. Na operação de pulverização utilizou-se um pulverizador costal de pressão constante e pressurizado com CO₂, equipado com barra de 2,0 m de comprimento equipada com pontas de pulverização de jato leque Teejet 110.02, espaçadas de 0,5 m uma da outra. A pressão de trabalho foi de 28 lb pol⁻² resultando num volume de aplicação de 210 L ha⁻¹. As condições ambientais no momento da aplicação dos herbicidas foram: temperatura de 23°C, umidade relativa do ar no início da aplicação (09:30 horas) de 64% e no final da aplicação (11:00 horas) de 52%.

A *B. plantaginea*, que no momento da aplicação dos herbicidas encontrava-se na fase inicial de perfilhamento, apresentava uma densidade média de 336 planta m⁻².

No momento da pulverização dos herbicidas de aplicação em pós-emergência, a cultura já apresentava o segundo trifólio. As condições climáticas após a aplicação dos herbicidas, e durante a condução do ensaio, foram caracterizadas por chuvas e temperaturas regulares.

O tratamento testemunha capinada foi mantido no limpo durante todo o período de condução do ensaio, mediante capinas com enxada e arranquio manual das plantas daninhas.

Não foram necessárias aplicações de outros agroquímicos para controle de pragas ou doenças, durante o ciclo da cultura.

2.2.3 Avaliações

Foram avaliadas a porcentagem de controle visual, a densidade de infestação de *B. plantaginea* e a fitotoxicidade dos herbicidas à cultura. A colheita da soja tornou-se impraticável por causa do abafamento da cultura, provocado pelo altíssimo nível de infestação nas parcelas, que impediu de realizar a avaliação de produtividade da soja.

As avaliações de controle de plantas daninhas foram efetuadas visualmente aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA), empregando-se escala visual de controle, considerando-se 0% para nenhum controle e 100% para controle total, comparados à testemunha sem capina.

A densidade de *B. plantaginea* foi avaliada aos 14 DAA mediante a contagem de plantas presentes dentro de um quadrado de 0,25 x 0,25 m (625 cm²), lançado três vezes aleatoriamente dentro das parcelas.

As avaliações de fitotoxicidade foram realizadas aos 7, 14 e 28 DAA, de forma visual, utilizando-se escala percentual em que 0% equivale à ausência de danos ou sintomas fitotóxicos e 100% a dano total ou morte da cultura, comparados à testemunha capinada.

2.2.4 Análise dos dados

No ensaio de campo foram avaliadas a porcentagem de controle visual aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA), a densidade de plantas de *B. plantaginea* aos 14 DAA e a fitotoxicidade à soja aos 7, 14 e 28 DAA.

As avaliações de controle de plantas daninhas foram efetuadas empregando-se escala visual, considerando-se 0% para nenhum controle e 100% para controle total, comparados à testemunha sem herbicida.

Os dados originais de porcentagem de controle, densidade de plantas e fitotoxicidade foram submetidos aos testes de Lilliefors (1967) para se verificar a normalidade dos mesmos, e ao teste de Bartlett (1937) para se

verificar a homogeneidade das variâncias. Nos casos em que os dados não apresentavam distribuição normal ou variâncias homogêneas, foram utilizadas transformações nos dados, de acordo com a variável testada.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa SAS¹. As médias significativas pelo teste de F a 5% de probabilidade (vide Tabela A4 - Anexo) foram diferenciadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação da sensibilidade de biotipos de *Brachiaria plantaginea* a herbicidas alternativos em bioensaio de casa-de-vegetação

Os resultados de controle com herbicidas alternativos sobre biotipos resistente e suscetível de *B. plantaginea* estão apresentados na Tabela 1.

Na avaliação inicial, os tratamentos testados não apresentaram diferenças significativas na eficácia de controle, nos biotipos testados. Porém, já no início das observações, verificou-se significativa diferença no controle médio obtido entre os biotipos resistente (R) e suscetível (S). Aos 14 DAA, os tratamentos testados apresentaram uma distinta eficácia. Os herbicidas que melhor controlaram o biotipo S foram o fenoxaprop, seguido pelo sethoxydim. O herbicida nicosulfuron foi o que melhor controlou o biotipo R, com 75,2% de controle, embora estes valores tenham sido próximos aos obtidos com o biotipo S, com 70,2%. Quando comparados entre si, o tratamento com nicosulfuron foi o único considerado equivalente para os dois biotipos.

Tabela 1. Porcentagem de controle visual^(1,5) aos 7 e 14 DAA⁽²⁾ para biotipos de *Bracharia plantaginea*, em casa-de-vegetação. ESALQ/USP - Piracicaba/SP, 1998.

HERBICIDAS	Doses		% Controle 7 DAA			% Controle 14 DAA		
	i.a. ⁽³⁾ (g ha ⁻¹)	p.c. ⁽⁴⁾ (L ha ⁻¹)	Biotipo R	Biotipo S	MÉDIAS	Biotipo R	Biotipo S	MÉDIAS
sethoxydim	220,8	1,20	21,8	42,5	31,7 a	19,5 d	B 90,6 b	A 57,2
fluzafop	187,5	1,50	21,8	32,4	27,0 a	24,8 cd	B 67,6 cd	A 45,8
fenoxaprop	88	0,80	27,1	42,4	34,6 a	30,0 bcd	B 100,0a	A 77,4
clethodim	84	0,35	25,4	32,4	28,9 a	47,4 b	B 67,8 cd	A 57,8
clethodim + sulf. amônio	84	0,35 + 2%	34,9	32,5	33,7 a	45,0 b	B 77,6 bc	A 62,0
clethodim (1/2 dose)	43,2	0,18	21,8	34,7	28,0 a	32,4 bcd	B 78,2 c	A 56,0
clethodim (1/2 dose) + sulf. amônio	43,2	0,18 + 2%	33,4	45,0	39,1 a	47,5 b	B 72,6 cd	A 60,4
propanaizafop	125	1,25	23,6	33,3	28,4 a	35,0 bcd	B 70,2 cd	A 52,8
propanaizafop + sulf. amônio	125	1,25 + 2%	28,7	28,5	28,6 a	42,5 bc	B 65,2 cd	A 53,9
propanaizafop (1/2 dose)	63	0,63	27,4	25,3	26,3 a	37,1 bcd	B 50,0 de	A 43,5
propanaizafop (1/2 dose) + sulf. amônio	63	0,63 + 2%	9,7	16,8	13,0 b	27,4 bcd	B 42,5 e	A 34,7
nicosulfuron	60	1,50	27,4	29,8	28,6 a	75,2 a	A 70,2 cd	A 72,7
sem herbicida	--	--	0,0	0,0	0,0 c	0,0 e	A 0,0 f	A 0,0
MÉDIAS			21,5 B	28,4 A	29,9	33,4	66,3	44,9
			CV (%)	17,54	CV (%)			
			DMS ^a (5%)	8,97	DMS ^a (5%)			
			DMS ^b (5%)	2,05	DMS ^b (5%)			

⁽¹⁾ Escala percentual onde 0% equivale a nenhum controle e 100% equivale a controle total, comparados à testemunha sem herbicida.

⁽²⁾ DAA = dias após aplicação dos tratamentos

⁽³⁾ i.a. = ingrediente ativo

⁽⁴⁾ p.c. = produto comercial

⁽⁵⁾ Na análise de variância os dados foram transformados para arc seno $\sqrt{x/100}$.

DMS^a (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas

DMS^b (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre biotipos

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

A produção de fitomassa foi mais reduzida no biotipo R, com o nicosulfuron (Tabela 2). No biotipo S observou-se a mesma tendência revelada nas avaliações de controle; as menores produções de fitomassa foram obtidas com os herbicidas fenoxaprop e sethoxydim.

Os herbicidas inibidores da ACCase quando em mistura com sulfato de amônio não apresentaram melhora na eficiência de controle, porém, estes resultados foram menores do que o esperado, tanto para a dose de campo utilizada no experimento como para dose abaixo da recomendada.

A adição de sulfato de amônio não influenciou a eficácia de controle do biotipo R, em nenhuma das variáveis avaliadas. Observou-se um acréscimo na eficácia do herbicida clethodim em adição ao sulfato de amônio sobre o biotipo S somente quando aplicado em dose abaixo da recomendada.

Tabela 2. Fitomassa (g) recém colhida e seca, aos 15 DAA⁽¹⁾ para biotipos de *Brachiaria plantaginea*, em casa-de-vegetação. ESALQ/USP - Piracicaba/SP, 1998.

HERBICIDAS	Doses		Fitomassa Recém Colhida				
	i.a. ⁽²⁾ (g ha ⁻¹)	p.c. ⁽³⁾ (L ha ⁻¹)	Biotipo R		Biotipo S		MÉDIAS
sethoxydim	220,8	1,20	26,3 a	A	7,2	de B	16,7
fluzafop	187,5	1,50	28,9 a	A	11,9	bcde B	20,4
fenoxaprop	88	0,80	24,4 a	A	4,0	e B	14,2
clethodim	84	0,35	22,0 a	A	15,8	bc B	8,9
clethodim + sulf. amônio	84	0,35 + 2%	23,6 a	A	8,3	cde B	16,0
clethodim (1/2 dose)	43,2	0,18	23,5 a	A	10,0	cde B	16,8
clethodim (1/2 dose) + sulf. amônio	43,2	0,18 + 2%	25,7 a	A	12,5	bcd B	19,1
propaquizafop	125	1,25	28,1 a	A	16,0	bc B	22,0
propaquizafop + sulf. amônio	125	1,25 + 2%	27,3 a	A	18,6	b B	22,9
propaquizafop (1/2 dose)	63	0,63	27,4 a	A	19,0	b B	23,2
propaquizafop (1/2 dose) + sulf. amônio	63	0,63 + 2%	24,8 a	A	18,9	b B	21,8
nicosulfuron	60	1,50	12,3 b	A	14,5	b B	13,4
Testemunha sem herbicida	--	--	29,6 a	A	27,5 a	B	28,6
MÉDIAS			24,9		14,2		19,5
			CV (%)		17,47		
			DMS ^a (5%)		8,26		
			DMS ^b (5%)		4,81		

⁽¹⁾ DAA = dias após aplicação dos tratamentos

⁽²⁾ i.a. = ingrediente ativo

⁽³⁾ p.c. = produto comercial

DMS^a (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas

DMS^b (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre biotipos

Médias seguidas por letras distintas, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, diferem entre si a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Os herbicidas inibidores da ACCase utilizados nos tratamentos, quando aplicados sozinhos ou em mistura com sulfato de amônio, não foram eficientes, como se esperava, no controle do biotipo resistente, porém controlou satisfatoriamente o biotipo suscetível. Rodrigues & Almeida (1998) confirmam o bom controle exercido pelos herbicidas selecionados sobre a planta daninha *B. plantaginea*.

3.2 Avaliação de herbicidas alternativos no controle de população resistentes de *Brachiara plantaginea* em condições de campo

Os tratamentos com os herbicidas clethodim, nicosulfuron e a mistura trifluralin+nicosulfuron controlaram satisfatoriamente a planta daninha e o tratamento trifluralin+nicosulfuron apresentou os melhores resultados de controle em todas as avaliações efetuadas (Tabela 3).

De modo geral, os herbicidas inibidores da ACCase falharam no controle do biotipo resistente, no campo e em casa de vegetação, embora tenham controlado satisfatoriamente o biotipo suscetível. Tanto em casa-de-vegetação quanto no campo, o herbicida clethodim foi, entre os inibidores da ACCase testados, o que apresentou melhores resultados de controle sobre biotipo resistente. Estes resultados estão coerentes com os resultados de taxa de resistência encontrados para diferentes herbicidas na Tabela 9 (Capítulo 3), verificando-se que, embora também com pouca eficácia no controle dos biotipos resistentes de *B. plantaginea*, o herbicida clethodim foi o que apresentou a menor taxa de resistência entre os inibidores da ACCase avaliados.

O herbicida alternativo nicosulfuron utilizado isoladamente, repetiu em campo os resultados encontrados sobre o controle dos biotipos de *B. plantaginea* em casa-de-vegetação. Embora estatisticamente iguais, a mistura trifluralin+nicosulfuron, que também se apresenta como uma alternativa no controle de *B. plantaginea* resistente, apresentou os melhores resultados de controle no campo, em todas as avaliações efetuadas. Estes

Tabela 3. Porcentagem de controle visual⁽¹⁾ aos 7, 14 e 28 DAA⁽²⁾, densidade de plantas de *Brachiaria plantaginea* aos 14 DAA, e fitotoxidade⁽³⁾ à cultura de soja aos 7, 14 e 28 DAA, em ensaio de campo. Guarapuava/PR, 1998.

HERBICIDAS	Doses		% de Controle ⁽⁶⁾				Densidade de plantas (nº pls m ⁻²)		Fitotoxidade à soja ⁽⁷⁾			
	i.a. ⁽⁴⁾ (g ha ⁻¹)	p.c. ⁽⁵⁾ (L ha ⁻¹)	7 DAA	14 DAA	28 DAA	28 DAA			7 DAA	14 DAA	28 DAA	28 DAA
sethoxydim	220,8	1,20	10,7 c	3,8 ef	5,0 c	258,9 a	10,0 d	0,0 d	0,0 d	0,0 d	0,0 c	
fluazifop-p-butil	187,5	1,50	19,5 c	24,0 de	25,0 c	175,6 ab	14,6 cd	2,8 bcd	0,9 c			
fenoxaprop-p-ethyl	88	0,80	22,4 c	10,0 def	5,0 c	228,4 a	16,6 cd	1,5 cd	1,5 c			
clethodim	84	0,35	70,5 b	81,0 b	72,5 ab	102,3 bcd	12,2 d	14,6 ab	6,5 bc			
clethodim + sulf. amônio	84	0,35 + 2%	26,3 c	36,0 cd	22,5 c	162,2 abc	17,2 bcd	10,4 abc	3,7 bc			
nicosulfuron	60	1,50	60,1 b	80,5 b	72,5 ab	72,4 cd	27,3 abc	20,0 a	12,2 ab			
trifluralin ⁽⁸⁾ + nicosulfuron (1/2 dose)	1500 + 30	2,50 + 0,75	72,6 b	87,8 ab	75,0 ab	59,3 d	37,4 a	26,9 a	22,3 a			
pendimethalin ⁽⁸⁾	1500	3,0	70,2 b	63,0 bc	65,0 b	59,0 bcd	31,9 ab	24,0 a	24,0 a			
Testemunha capinada	--	--	100,0 a	100,0 a	100,0 a	0,0 e	0,0 d	0,0 d	0,0 c			
Testemunha sem capina	--	--	0,0 d	0,0 f	0,0 d	239,2 a	0,0 e	0,0 d	0,0 c			
CV (%)			13,46	19,49	19,68	16,86	16,38	31,85	33,79			
DMS (5%)			13,69	20,69	31,98	4,48	1,54	2,22	2,00			

⁽¹⁾ Escala percentual onde 0% equivale a nenhum controle e 100% equivale a controle total, comparados à testemunha sem capina.

⁽²⁾ DAA = dias após aplicação dos tratamentos

⁽³⁾ Escala percentual onde 0% equivale a nenhum dano à cultura e 100% equivale a perda total da cultura.

⁽⁴⁾ i.a. = ingrediente ativo

⁽⁵⁾ p.c. = produto comercial

⁽⁶⁾ Na análise de variância os dados foram transformados para arc seno $\sqrt{x/100}$.

⁽⁷⁾ Na análise de variância os dados foram transformados para $\sqrt{x + 1}$. ⁽⁸⁾ Nas ocasiões avaliadas (7, 14 e 28 DAA), os tratamentos aplicados em pré-emergência encontravam-se com 32, 39 e 53 DAA, respectivamente.

DMS (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas

Médias seguidas por letras distintas e minúsculas nas colunas, diferem entre si a 5% de significância, pelo teste de Tukey.

resultados evidenciam assim, a importância de se evitar o uso contínuo, nas mesmas áreas, dos mesmos herbicidas ou de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação. Christoffoleti et al. (1994) afirmam que a rotação de culturas pode permitir o uso de diferentes herbicidas, podendo desta forma colaborar para reduzir a pressão de seleção sobre o agroecossistema.

Dentre os resultados apresentados na Tabela 3, verifica-se também uma relação direta entre densidade de plantas de *B. plantaginea* encontradas aos 14 DAA e os níveis de controle obtidos. As menores

densidades de plantas foram encontradas entre os tratamentos que apresentaram melhores níveis de controle (nicosulfuron, trifluralin+nicosulfuron e pendimethalin).

Quanto à fitotoxicidade, os herbicidas inibidores da ACCase não afetaram a soja. Entretanto, os tratamentos com os herbicidas nicosulfuron, trifluralin+nicosulfuron e pendimethalin, afetaram fracamente a cultura, sendo que a soja tratada com nicosulfuron apresentou uma sensível recuperação, resultando em fitotoxicidade mínima deste herbicida na avaliação, aos 28 DAA.

O Herbicide Resistance Action Committee (HRAC) recomenda, dentre as estratégias de prevenção da resistência o uso da rotação de culturas que permite a alternância de herbicidas, e de misturas com diferentes mecanismos de ação que apresentem eficácia similar no controle da planta daninha alvo.

O herbicida nicosulfuron, embora não exista registro do seu uso em cultura de soja, foi incluído entre os tratamentos como uma possibilidade de controle alternativo à *B. plantaginea* resistente, uma vez que foi utilizada no experimento a variedade de soja COODETEC-201, reconhecidamente tolerante a este herbicida. Desta forma, a utilização do herbicida nicosulfuron poderia justificar-se como produto alternativo em áreas com *B. plantaginea* resistente, não só na rotação de cultura com o milho como também na cultura da soja, desde que restrita ao uso da variedade citada.

Esta questão merece mais estudos, principalmente considerando-se a ausência de registro do uso deste herbicida na cultura e também a falta de

informações com relação a produtividade da soja, tratada nestas condições. O experimento de campo realizado para este trabalho não permitiu que a colheita da soja fosse realizada por causa da intensa infestação de *B. plantaginea* na ocasião da colheita.

Segundo Gressel & Segel (1990) o uso de herbicidas alternativos, com diferentes mecanismos de ação, pode tornar-se uma estratégia de sucesso no controle de plantas daninhas resistentes.

A utilização de herbicidas alternativos justifica-se à medida que se ampliam o espectro de controle necessário para a cultura da soja e as possibilidades de utilização de outras culturas em rotação. Novos herbicidas e estratégias de controle devem ser incluídos em programas de manejo, não só através de misturas, mas também em rotação de herbicidas.

Porém, no caso especial da cultura da soja em plantio direto, a restrição ao uso de herbicidas alternativos para o controle de plantas daninhas de folhas estreitas é grande, em função da falta de opções de graminicidas pós-emergentes seletivos à cultura e da necessidade de análises criteriosas quanto ao uso de herbicidas pré-emergentes.

O uso de herbicidas pré emergentes no sistema de plantio direto tem sido alvo de questionamentos por vários autores (Banks & Robinson, 1982; Rodrigues, 1993) e de técnicos ligados à extensão, a cooperativas, ao ensino e aos agricultores em geral. Alguns defendem a hipótese de que, no plantio direto pode-se reduzir ou até mesmo eliminar o uso de herbicidas de pré-emergência com o efeito físico e/ou alelopático das coberturas mortas. Por outro lado, há os que argumentam sobre a necessidade de se aumentar a dose de herbicidas pré-emergentes pois a grande parte do produto que fica retida na palhada, ou ainda porque sofre adsorção pela elevada quantidade de matéria orgânica presente nos solos deste sistema de cultivo, impedindo assim a disponibilidade do produto nas plantas. Estas perdas, segundo alguns autores, poderiam chegar até 50%, dependendo das características físico-químicas do herbicida, da quantidade de palha e da quantidade de chuva após aplicação (Peixoto et al., 1997).

O uso de herbicidas alternativos pode converter-se em uma ajuda ou alternativa às práticas normalmente recomendadas no controle de plantas daninhas resistentes a herbicidas, tais como a rotação de culturas (nem sempre economicamente rentável), rotação de herbicidas (nem sempre possível) e rotação de práticas culturais (nem sempre admitidas pelo agricultor).

Segundo o Comitê Brasileiro de Resistência de Plantas aos Herbicidas (CBRPH), é recomendável para a prevenção e manejo da resistência o manejo integrado de plantas daninhas, mantendo o ambiente desfavorável para estas plantas com a utilização isolada ou combinada dos métodos biológicos, culturais, mecânicos, químicos e físicos de controle. Também é necessário, um monitoramento constante e efetivo das áreas agrícolas, visando o desenvolvimento de métodos econômicos, eficientes e capazes de preservar o ambiente, e controlar as plantas daninhas.

4. CONCLUSÕES

Nas condições em que os experimentos foram realizados, os resultados obtidos permitem extrair as seguintes conclusões:

- A população de *Brachiaria plantaginea* do experimento de campo em Guarapuava/PR é resistente a herbicidas inibidores da ACCase;
- No bioensaio em casa-de-vegetação foi possível comprovar diferenças significativas entre os biotipos resistente e suscetível de *Brachiaria plantaginea*;
- No bioensaio em casa-de-vegetação e no experimento de campo o herbicida nicosulfuron apresentou equivalência no controle do biotipo resistente;
- No campo, a mistura trifluralin+nicosulfuron apresentou o melhor controle observado;
- O herbicida nicosulfuron e a mistura trifluralin+nicosulfuron podem representar uma alternativa de controle químico de populações resistentes à *Brachiaria plantaginea*, desde que utilizados com a soja da variedade COODETEC-201.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, E.N. DE; CARVALHO, D.A. de Controle de plantas daninhas. **Informe agropecuário**, v.8, n.90, p.30-33, 1982.
- BANKS , P.A.; ROBINSON, E.L. The influence off straw mulch on the soil reception and persisitence of metribuzin. **Weed Science**. v.30, p. 164-168, 1982
- BARTLETT, M.S. Properties of sufficiency and statistical tests. Proc. Royal Soc., v.160, p. 268-282, 1937.
- BLANCO, H.G. Catálogo das espécies de mato infestantes de áreas cultivadas no Brasil; gramíneas de ciclo anual. **O Biológico**, São Paulo, v.41, n.1, p.6-14, 1975.
- BROWN, H.M.; COTTERMAN, J.C. Recent advances in sulfonylurea herbicides. In: STETTER, J. ed. **Herbicides Inhibiting Branched-Chain Acid Biosynthesis** Springer-Verlag, New York. 1994.
- CARVALHO, D.A. de Contribuição ao conhecimento da competição específica de malervas na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Rio Claro, UNESP, 1980. 65p (Dissertação de MS) UNESP-Rio Claro
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; CORTEZ, M.G. e VICTORIA FILHO, R. Resistance of alexanderweed (*Brachiaria plantaginea*) to ACCase inhibitor herbicides in soybean from Paraná State - Brazil. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, CHICAGO, 1998. **Abstracts**. Chicago: WSSA,1998. p. 65.

- CUSSANS, G.W. Which weed management strategies are appropriate? **Proc. 2nd Int. Weed Control Congress**, Copenhagen, p.1159-1166. 1996.
- FREITAS, R.R. de; CARVALHO, A. de; ALVARENGA, A. A.de Quebra de dormência e germinação de sementes de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v.2, p.31-35. 1990.
- GARCÍA TORRES, L.; FERNÁNDEZ-QUINTANILLA, C. **Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas**. Mundi-Prensa. Madrid. 1991. 348p.
- GRESSEL, J.; SEGEL, L.A. Herbicide rotations and mixtures: effective strategies to delay resistance. In: GREEN, M.B.; LeBARON, H.L.; MOBERG, W.R. **Managing Resistance to Agrochemicals: from Fundamental Research to Practical Strategies**. American Chemical Society. Washington, 1990. p.430-458.
- JUTSUM, A. R.; GRAHAM, J. C. Managing weed resistance: the role of the agrochemical industry. **Proc. Brighton Crop Prot. Con.** Weeds, p. 557-566. 1995.
- KISSMANN, K.G. **Plantas infestantes e nocivas**. 1ed. São Paulo, SP: BASF Brasileira S.A., 1991. 603p.
- LILLIEFORS, H.W. On the Kolmogorov – Smirnov test for normality with mean and variance unknown. **Journal American Statistical**, v.62, p.399-402, 1967.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 2ed. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1991. 440p.

- MARLES, M.A.S.; DEVINE, M.D.; HALL, J.C. Herbicide resistance in *Setaria viridis* conferred by a less sensitive form of acetyl coenzyme A carboxylase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, p.7-14, 1993.
- MORRISON, I.N.; BOURGEOIS, L. Approaches to managing ACCase inhibitor resistance in wild oat on the Canadian prairies. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds**, Brighton, England, p. 567-576. 1995
- MOSS, S.R. Techniques for determining herbicide resistance.. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds**, Brighton, England, n. 38, p.547-556. 1985.
- NORDMEYER, H.; HÄUSLER, A.; NIEMANN, P. Weed mapping as a tool for patchy weed control. **Proc. 2nd Int. Weed Control Com.** Copenhagen, p.119-124. 1996.
- PEIXOTO, R.T.G.; AHRENS, D.C.; SAMAHA, M.J. **Plantio direto: o caminho para uma agricultura sustentável**. Ponta Grossa, PR: IAPAR, PRP?PG, 1997. 275p.
- RODRIGUES, B.N. e ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 4. ed. Londrina: IAPAR, 1998, 648p.
- RODRIGUES, B.N. Influência da cobertura morta no comportamento dos herbicidas imazaquin e clomazone. **Planta Daninha**. v.11, n.1/2, p. 21-28, 1993.
- RUBIM, B. Herbicide resistant weeds. The inevitable phenomenon: mechanisms, distribution and significance. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v.15, p.17-32, 1996.

RUBIM, B. Herbicide resistance in weeds and crops, progress and prospects.
In: CASELEY, J.C.; CUSSANS, G.W.; ATKIN, R.K.. **Herbicide Resistance in Weeds and Crops**. Butterworth-Heinemann Ed. Oxford, 1991. pp. 387-414.

SHANER, D.L. Studies on the mechanism and genetics of resistance: their contribution to herbicide resistance management. **Proc. Brighton Crop Prot. Conf.-Weeds**, p.537-545. 1995.

VOOL, E.; GAZZIERO, D.L.P.; QUINA, E.; KRYZANOWSKI, F.C. Avaliação fisiológica de sementes de *Brachiaria plantaginea* com procedimentos da superação de dormência. **Revista Brasileira de Sementes**. v.18. p.186-192. 1996.

WHYTE, R.O.; MOIR, T.R.G.; COOPER, J.P. Las gramíneas en la agricultura. Roma, **FAO**, 1975. 464p.

CAPÍTULO VI

CONCLUSÕES GERAIS

Do estudo da resistência de biotipos de *Brachiaria plantaginea* a herbicidas inibidores da ACCase, obteve-se as seguintes conclusões gerais:

- a) Com relação a identificação de populações resistentes e a ocorrência de resistência cruzada em biotipos de *B. plantaginea*:
 - As populações de *B. plantaginea* estudadas apresentaram níveis variados de sensibilidade aos herbicidas APP e CHD testados, sendo que a população suscetível foi eficazmente controlada por estes produtos;
 - Os biotipos resistentes estudados apresentaram resistência cruzada a diferentes herbicidas pertencentes aos grupos químicos APP e CHD;
 - De modo geral, o biotipo A apresentou maior resistência em relação ao outro biotipo testado.
- b) Com relação ao mecanismo de resistência em biotipos de *B. plantaginea* resistente a herbicidas do grupo químico CHD:
 - As diferenças na capacidade de absorção do sethoxydim e do tepraloxydim encontradas nos biotipos resistente e suscetível de *B. plantaginea* não foram suficientes para justificar a ocorrência da resistência a estes herbicidas;

- O processo de translocação dos herbicidas pelas diferentes partes da planta parece não contribuir de maneira significativa na resistência aos herbicidas CHD, no biotipo estudado;
 - Considerando a inibição da ACCase como o mecanismo de ação dos herbicidas CHD, o estudo da sensibilidade da ACCase ao sethoxydim mostrou diferenças significativas entre os biotipos resistente e suscetível estudados.
- c) Com relação a alternativas de controle químico para *B. plantaginea* existente em cultura de soja, no plantio direto:
- A população de *Brachiaria plantaginea* do experimento de campo em Guarapuava/PR é resistente a herbicidas inibidores da ACCase;
 - No bioensaio em casa-de-vegetação foi possível comprovar diferenças significativas entre os biotipos resistente e suscetível de *Brachiaria plantaginea*;
 - No bioensaio em casa-de-vegetação e no experimento de campo o herbicida nicosulfuron apresentou equivalência no controle do biotipo resistente;
 - No campo, a mistura trifluralin+nicosulfuron apresentou o melhor controle observado;
 - O herbicida nicosulfuron e a mistura trifluralin+nicosulfuron podem representar uma alternativa de controle químico de populações resistentes à *Brachiaria plantaginea*, desde que utilizados com a soja da variedade COODETEC-201.

CAPÍTULO VII

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

- AHRENS, W.H. (Ed.) **Herbicide handbook**. 7. ed. Champaign, WSSA, 1994. 352p.
- ALBAN, C.; BALDET, P.; DOUCE, R. Localization and characterization of two structurally different forms of acetyl-CoA carboxylase in young pea leaves, of which one is sensitive to aryloxyphenoxypropionate herbicides. **Biochemical Journal** n.300, p.557-565, 1994.
- ALCÂNTARA, E.N. DE; CARVALHO, D.A. de Controle de plantas daninhas. **Informe agropecuário**, v.8, n.90, p.30-33, 1982.
- BANKS , P.A.; ROBINSON, E.L. The influence off straw mulch on the soil reception and persisistence of metribuzin. **Weed Science**. v.30, p. 164-168, 1982
- BARTLETT, M.S. Properties of sufficiency and statistical tests. Proc. Royal Soc., v.160, p. 268-282, 1937.
- BETTS, K.J.; EHLKE, N.J.; WYSE, D.L.; GRONWALD, J.W.; SOMMERS, D.A. Mechanism of inheritance of dicloflop resistance in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). **Weed Science**, n.40, p.184-189, 1992.

- BLANCO, H.G. Catálogo das espécies de mato infestantes de áreas cultivadas no Brasil; gramíneas de ciclo anual. **O Biológico**, São Paulo, v.41, n.1, p.6-14, 1975.
- BOLDT, L.D.; BARRETT, M. Effects of Diclofop and Haloxyfop on Lipid Synthesis in Corn (*Zea mays*) and Bean (*Phaseolus vulgaris*). **Weed Science**, v.39, p.143-148, 1991.
- BORGEAIS, L.; KENKEL, N.C.; MORRISON, I.N. Characterization of cross-resistance patterns in acetyl-CoA carboxylase inhibitor resistance wild oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v.45, p.750-755. 1997
- BREZEANU, A.G.; DAVIS, D.G.; SHIMABUKURO, R.H. Ultrastructural effects and translocation of methyl 2-(4-(2,4-dichloro-phenoxy)phenoxy) propanoate in wheat (*Triticum aestivum*) and wild oat (*Avena fatua*). **Canadian Journal of Botanic**, v.54, p.2038-48, 1976.
- BROMILOW, R.H.; CHAMBERLAIN, K. Pathways and mechanisms of transport of herbicide in plants. In: KIRKWOOD, R.C., ed **Targest sites for herbicides action**. Plenum Press, Nueva York, p.245-284. 1991.
- BROWN, H.M.; COTTERMAN, J.C. Recent advances in sulfonylurea herbicides. In: STETTER, J. ed. **Herbicides Inhibiting Branched-Chain Acid Biosynthesis** Springer-Verlag, New York. 1994.
- BURNET, M.W.; LOVEYS, B.R.; HOLTUM, J.A.M.; POWLES, S.B. Increased detoxification is a mechanism of simazine resistance in *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 46, p. 207-218, 1993.

- BURNET, M.W.M; LOVEYS, B.R.; HOLTUM, J.A.M.; POWLES, S.B. A mechanism of chlorotoluron resistance in *Lolium rigidum*. **Planta**, n.190, p.182-189, 1993.
- BURTON, J.D.; GRONWALD, J.W.; KEITH, R.A.; SOMERS, D.A.; GENGENBACH, B.G.; WYSE, D.L. Kinetics of Inhibition of Acetyl-Coenzyme A Carboxylase by Sethoxydim and Haloxypop. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 9, p.100-109, 1991.
- BURTON, J.D.; GRONWALD, J.W.; SOMERS, D.A.; BURLE, G.G.; WYSE, D.L. Inhibition of corn acetyl CoA carboxylase by cylclohexanodione and aryloxypropionate herbicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 34, p. 76-85, 1989.
- BURTON, J.D.; GRONWALD, J.W.; SOMERS, D.A.; CONNELLY, J.A.; GENGENBACH, B.G.; WYSE, D.L. Inhibition of Plant Acetyl-oenzyme A Carboxylase by the Herbicidez Sethoxydim and Haloxypop. **Biochemical Biophys. Res. Commum.**, v.148, p.1039-1044, 1987.
- CARVALHO, D.A. de Contribuição ao conhecimento da competição específica de malervas na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Rio Claro, UNESP, 1980. 65p (Dissertação de MS) UNESP-Rio Claro
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; CORTEZ, M.G. e VICTORIA FILHO, R. Resistance of alexanderweed (*Brachiaria plantaginea*) to ACCase inhibitor herbicides in soybean from Paraná State - Brazil. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, CHICAGO, 1998. **Abstracts**. Chicago: WSSA,1998. p. 65.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v.12, n.1, p.13-20.,1994.

- COBLE, H.D. Weed management tools and their impact on the agro-ecosystem. **Proc. 2nd Int. Weed Control Congress**, Copenhagen, p. 1143-1146. 1996.
- COLE, D.J. Detoxification and activation of agrochemicals in plants. **Pesticide Science**, v.42, p.209-222, 1994.
- CORBETT, J.R.; WRIGHT, D.; BAILLIE, A.C. **The biochemical mode of action of pesticides**. Academic Press, London. 1984.
- CORNES, D.W.; MILLS, C.E.; RYAN, P.J. Development and management of resistance to aryloxyphenoxypropionates in *Alopecurus myosuroides* in the UK. **Proc. International Symp. Weed and Crop Resistance to Herbicides**, Cordoba, Spain, p.229-230, 1995.
- CORTEZ, M.G. CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R.; DE PRADO, R. Differential tolerance to graminicides in *Brachiaria plantaginea* biotypes found in Brazil. In: 11th SYMPOSIUM OF EUROPEAN WEED RESEARCH SOCIETY, 1999. **Proceedings**. Basel: Switzerland, 1999. p.164
- COUPLAND, D. The role of compartmentation of herbicides and their metabolites in resistance mechanisms. In: CASELEY, J.; C. CUSSANS, G.W.; ATKIN, R.K. eds **Herbicides resistance in weeds and crops**. Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford. p-263-278. 1991.
- CUSSANS, G.W. Which weed management strategies are appropriate? **Proc. 2nd Int. Weed Control Congress**, Copenhagen, p.1159-1166. 1996.
- DE PRADO, R.; DOMINGUEZ, C.; TENA, M. Caracterización of triazine-resistant biotypes of common lambsquarters (*Chenopodium album*), Hairy Fleabane (*Conyza bonariensis*), and Yellow Foxtail (*Setaria glauca*) found in Spain. **Weed Science**, n.37, p.1-4, 1996.

- DE PRADO, R.; DOMINGUEZ, C.; TENA, M. Triazine resistance in biotypes of *Solanum nigrum* and four *Amaranthus species* found in Spain. **Weed Research**. n.33, p.17-24, 1993a.
- DE PRADO, R.; LOPEZ, N. Resistencia a herbicidas: Detección en campo y laboratorio. In: I CURSO SOBRE EL USO DE HERBICIDAS EN LA AGRICULTURA MODERNA. Cordoba/Espanha, 1999. Resumos. ETSIAM/UCO, 1999. p. 52.
- DE PRADO, R.; LOPEZ-MARTINEZ, N.; GIMENEZ-ESPINOSA, R. Herbicide resistant weeds in Europe: agricultural, physiological and biochemical aspects. In: DE PRADO, R., JORRIN, J., Y GARCIA-TORRES, L., (eds). **Weed and Crop Resistance to Herbicides**. Kluwer Academic Publisher, p. 17-27. 1997.
- DE PRADO, R.; MENÉNDEZ, J.; TENA, M. Response to substituted ureas, triazines and chloroacetanilides in a biotype of *Alopecurus myosuroides* resistant to chlorotoluron. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE - WEEDS. p. 1065-1070, 1991.
- DE PRADO, R.; MENENDEZ, J.L. Cross-resistance and herbicide metabolism in *Alopecurus myosuroides* Huds. In: **Regulation of Enzymatic System Detoxifying Xenobiotics in Plants** (HATZIOS, K. K., ed.). Kluwer Academic Publisher, p. 351-366. 1997.
- DE PRADO, R.; ROMERA, E.; JORRIN, J. Effects of chloroacetamides and photosynthesis-inhibiting herbicides on growth and photosynthesis in sunflower (*Helianthus annuus* L.) and *Amaranthus hybridus* L. **Weed Research**. n 33, p. 369-374, 1993b.

- DEVINE, M.; HALL, J.C.; ROMANO, M.L.; MARLES, M.A.S.; THOMPSON, L.W.; SHIMABULURO, R.H. Diclofop and fenoxaprop resistance in wild oat is associated with an altered effect on the plasma membrane electrogenic potential. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.45, p.167-177, 1993b.
- DEVINE, M.D. Mechanisms of resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: a review. **Pesticide Science**, v.51, p.259-264, 1997.
- DEVINE, M.D. The biochemical basis of herbicide resistance in wild oat. In: Wild Oats in World Agriculture. In: 4TH INT. OAT CONF. (Barr, A. R., Medd, R.W., eds.). Adelaide, Australia, **Proceedings**. p. 41-44. 1992a.
- DEVINE, M.D.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. **Physiology of Herbicide Action**. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. 1993a.
- DEVINE, M.D.; McISAAC, S.A.; ROMANO, M.L.; HALL, J.C. Investigation of the Mechanism of Diclofop Resistance in Two Biotypes of *Avena Fatua*.. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.42, p.88-96, 1992b.
- DEVINE, M.D.; SHIMABUKURO, R.H. Acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides. In: POWLES, S.B. ; HOLTUM, J. A.M. eds **Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry**, p.141-169. CRC Press, London. 1994.
- DITOMASO, J.M.; STOWE, A.E.; BROWN, P.H. Inhibition of Lipid Synthesis by Diclofop-Methyl is Age Dependent in Roots of Oat and Corn. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.45, p.210-219, 1993.
- DUKE, S.O. Modes of action of herbicides used in cotton. In: McWHORTER, C.G.; ABERNATHY, J.L, eds. **Weeds of Cotton: Characterization and Control** The Cotton Foundation, Memphis, TN, p. 403-437. 1992.

- DUKE, S.O.; KENYON, W. H. Polycyclic alkanolic acids. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. eds. **Herbicides: Chemistry, Degradation, and Mode of Action** Marcel Dekker, New York, p. 71-116. 1988.
- EBEL, J.; HAHLBROCK, K. Enzymes of flavone and flavonol glycoside biosynthesis. Coordinated and selective induction in cell-suspension cultures of *Petroselinum hortense*. **European Journal of Biochemistry**, v. 75, p. 201-209, 1977.
- EGLI, M.A.; GENGENBACH, B.; GRONWALD, J.W.; SOMERS, D.A.; WISE, D.L. Characterization of maize acetyl-Coenzyme A carboxylase. **Plant Physiology**, n.101, p.499-506, 1993.
- F.A.O. **Production Yearbook**. Vol. 51. 1997.
- FREITAS, R.R. de; CARVALHO, A. de; ALVARENGA, A. A.de Quebra de dormência e germinação de sementes de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. v.2, p.31-35. 1990.
- GARCÍA TORRES, L.; FERNÁNDEZ-QUINTANILLA, C. **Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas**. Mundi-Prensa. Madrid. 1991. 348p.
- GAZZIERO, D.L.P; BRIGHENTI, A.M.; MACIEL, C.D.G.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; ADEGAS, F.S. Resistência der amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da enzima ALS. **Planta Daninha**, v.16, p. 117-126, 1998.
- GAZZIERO, D.L.P; CHRISTOFFOLETI, P.J.; MACIEL, C.D.M.; SCARAMUZA JÚNIOR., J.R. Resistência de biótipos de *Brachiaria plantaginea* aos herbicidas inibidores da ACCase aplicados em soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. 21, Caxambu/MG,1997. **Resumos**. Caxambu:SBCPD, 1997. p.88.

- GILLET, M. **Las gramíneas forrajeras: descripción, funcionamiento, aplicaciones al cultivo de la hierba.** Zaragoza, Acribia, 1984. 355p.
- GIMENEZ-ESPINOSA, M.R.M. Mecanismos de tolerância de garbanzo a piridato e y a los herbicidas ariloxifenoxipropionatos. Interacción entre la tolerância a herbicidas y la resistência a *Fusarium oxysporum*. Cordoba, 1997. 251p. (Tese Doutorado) – Escuela Técnica de Ingenieros Agrônomos y de Montes – Universidad de Cordoba/Espanha.
- GRESSEL, J. Why get resistance ? It can be prevented or delayed. In: CASELEY, J.C.; CASELEY, G.W.; ATKIN, R.K. **Herbicide Resistance in Weeds and Crops.** Buterworth-Heinemann Ed. Osford, 1991. p.1-25.
- GRESSEL, J.; SEGEL, L.A. Herbicide rotations and mixtures: effective strategies to delay resistance. In: GREEN, M.B.; LeBARON, H.L.; MOBERG, W.R. **Managing Resistance to Agrochemicals: from Fundamental Research to Practical Strategies.** American Chemical Society. Washington, 1990. p.430-458.
- GRESSEL, J.L.; SEGEL, L.A. Interrelating factors controlling the rate of apperance of resistance: the outlook for the future. In: LeBARON, H. M.; GRESSEL, J.L., **Herbicide Resistance in Plants** John Wiley & Sons, New York, p.325-347. 1982.
- GRIGNON, C.; SENTENAC, H. pH and ionic conditions in the apoplast. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.42, p. 103-128, 1991.
- GRONWALD, J.W.; EBERLEIN, C.V.; BETTS, K.J.; ROSCOW, K.M.; EHLKE, N.J.; WYSE, D.L. Diclofop resistance in a biotype of Italian rye-grass. **Plant Physiology** 89 (Abstract no. 685), 115. 1989.

- GRONWALD, J.W. Lipid biosynthesis inhibitors. **Weed Science**, v.39, p.435-449, 1991.
- GRONWALD, J.W. Herbicides inhibiting acetyl-CoA carboxylase. **Biochemical Society Transactions**, v. 22, n.3, p.616-621, 1994b.
- GRONWALD, J.W. Resistance to photosystem II inhibiting herbicides. In: POWLES, S.B. ; HOLTUM, J. A.M. eds **Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry**, p. 27-60. 1994a.
- GRONWALD, J.W.; EBERLEIN, C.V.; BETTS, K.J.; BAERG, R.J.; EHLKE, N.J.; WYSE, D.L. . Mechanism of diclofop resistance in na Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) biotype. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, n. 44, p.126-139, 1992.
- GUNSOLUS, J.L. **Herbicide resistant weeds**. Extension Publication. Minnessota Extension Service. 1993. 468p.
- HALL, L.M.; TARDIFF, F.; POWLES, S.B. Mechanism of cross and multiple resistance in *Alopecurus mysuroides* and *Lolium rigidum*. **Phytoprotecion**, v. 73, p.17-23, 1994.
- HARWOOD, J.L. Fatty acid metabolism. Annu. Rev. Plant Physiol. **Plant Mol. Biol.**, v.39, p.101-138, 1988.
- HATZIOS, K.K.; PENNER, D. **Metabolism of herbicides in higher plants**. Minneapolis: Burgess, 1990. 142p.
- HÄUSLER, R.E.; HOLTUM, J.A.M.; POWLES, S.B. Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*). IV. Correlation between membrane effects and resistance to graminicides. **Plant physiology**, n.97, p.1035-1043, 1991

HEAP, I.M. International survey of herbicide-resistant weeds. Orlando (FL): WSSA/HRAC, 1997. 33 p. (Annual Report)

HEAP, I.M. The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. **Pesticide Science**, v.51, p.235-243, 1997.

HEAP, I.M.; KNIGHT, R. Variation in Cross-Resistance among Populations of Annual Ryegrass (*Lolium rigidum*) Resistant to Diclofop-Methyl. **Australian Journal of Agricultural Research**. v.41, p.21-128, 1990.

HEAP, I.M.; KNIGHT, R.A population of ryegrass tolerant to the herbicide diclofop-methyl. **Journal Austral. Ins. Agric. Sci.**, v.48, p.156-157, 1982.

HEAP, I.M.; MORRISON, I. N. Resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides in Green Foxtail (*Setaria viridis*). **Weed Science**, v.44, p.25-30. 1996.

HEAP, I.M.; MORRISON, I.N. Resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides (Group 1) herbicides in Green foxtail (*Setaria viridis* L. Beav.). WSSA **Abstracts**. Denver, Colorado. 55: p.164. 1982.

HEAP, I.M.; MURRAY, B.G.; LOEPPKY, H.A.; MORRISON, I.N. Resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides in wild oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v.41, p.232-238, 1993.

HERBERT, D.; COLE, D.J.; PALLETT, K.E.; HARWOOD, J.L. Susceptibilities of different tests systems from mayas (*Zea mays*), *Poa annua* and *Festuca rubra* to herbicides that inhibit the enzyme acetyl-coenzyme A carboxylase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 55, p.129-139, 1996.

- HESS, F.D. Herbicide absorption and translocation and their relationship to plant tolerance and susceptibility. In: DUKE, S.O. ed. **Weed Physiology**, vol. II: Herbicide Physiology CRC Press, Boca Raton. p.192-214., 1985.
- HOLT, J. Fitness and ecological adaptability of herbicide resistant biotypes. In: GREEN, M.B.; LeBARON, H.L.; MOBERG, W.K. **Managing Resistance to Agrochemicals: from Fundamental Research to Practical Strategies**. American Chemical Society. Washington, p.419-429. 1995.
- HOLT, J.S.; LeBARON, H.M. Significance and distribution of herbicide resistance. **Weed Technology**, n.4, p.141-49, 1990.
- HOLTUM, J. A.M. Herbicide resistant wild oats in Australia. In: **Wild Oats in World Agriculture**, Proc. 4th Int. Oat Conf. (Barr, A. R., Medd, R. W., eds.). Adelaide, Australia, p. 45-48. 1992.
- HOLTUM, J.A.M.; HÄUSLER, R.E.; DEVINE, M.D.; POWLES, S.B. Recovery of transmembrane potentials in plants resistant to aryloxyphenoxypropanoate herbicides: A phenomenon awaiting explanation. **Weed Science**, n.42, p.293-301, 1994.
- HOLTUM, J.A.M.; MATTHEWS, J.M.; HÄUSLER, R.E.; LILJEGREN, D.R.; POWLES, S.B. Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*).III. On the mechanism of resistance to diclofop-methyl. **Plant Physiology**, n.97, p.1026-1034, 1991.
- HOPPE, H.H. Differential Effect of Diclofop-Mehtyl on Fatty Acid Biosynthesis in Leaves of Sensitive and Tolerant Plant Species. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 23, p. 297-308, 1985.

- HOPPE, H.H. Fatty acid biosynthesis – a target site of herbicide action. In: BÖGER, P.; SANDMANN, G., eds **Target sites of herbicide action**, CRC Press, Boca Ration. p.65-83, 1989.
- HOSAKA, H.; TAKAGI, M. Biochemical effects of sethoxydim in excised root tips of corn (*Zea mays*). **Weed Science**, v.35, p.612-618, 1989.
- ISHIHARA, K.; KOSAKA, H.; KUBOTA, M.; KAMIMURA, H.; TAKAKUSA, M.; YASUDA, Y. Effects of sethoxydim on the metabolism of excised root tips of corn. In: GREENHALGH, R. ; ROBERTS, T. (eds.) **Pesticide Chemistry and Techonolgy**, Blackwell Scientific, Palo Alto, CA. 1987, p.187-190.
- JAGER, G. Herbicides. In: BÜCHEL, K. H. **Chemistry of pesticides** John Wiley & Sons, New York, p.322-392. 1983.
- JEFFCOAT, B.; HARRIES, W.N. Selectivity and mode of action of ethyl (±)-2-Nbenzoyl-3, 4-dichloroanilino) propionate in the control of *Avena* species in wheat. **Pesticide Science**, v. 4, p.891, 1973.
- JOSEPH, O.O.; HOBBS, S.L.A. & JANA, S. Diclofop Resistance in Wild Oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v. 38, p. 475-479, 1990.
- JUTSUM, A. R.; GRAHAM, J. C. Managing weed resistance: the role of the agrochemical industry. **Proc. Brighton Crop Prot. Con. Weeds**, p. 557-566. 1995.
- KAFIZ, B.; CAUSSANEL, J.P.; SCALLA, R.; GAILLARDON, P. Interaction Between Diclofop-methyl and 2,4-D in Wild Oat (*Avena fatua* L.) and Cultivated Oat (*Avena sativa* L.) and Fate of Diclofop-Methyl in Cultivated Oat. **Weed Research**, v. 29, p. 299-305, 1989.

KISSMANN, K.G. **Plantas infestantes e nocivas**. 1ed. São Paulo, SP: BASF Brasileira S.A., 1991. 603p.

KOBEK, K.; FOCKE, M.; LICHTENTHALER, H. K. Fatty acid biosynthesis and acetyl-CoA carboxylase is a target of diclofop, fenoxaprop and other ariloxo-phenoxy-propionic acid herbicides. **Z. Naturforsch.**, v.43, p.47-54, 1987.

KOBEK, K.; FOCKE, M.; LICHTENTHALER, H. K.; RETZLAFF, G.; WÜRZER, B. Inhibition of fatty acid biosynthesis in isolated chloroplast by cycloxdim and other cyclohexane-1,3-diones. **Physiology Plantarum**, v.72, p.492-498, 1988.

KONISHI, T.; SASAKI, Y. Compartmentalization of two forms of acetyl-CoA carboxylase in plants and the origin of their tolerance toward herbicides. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, USA, v.91, p.3598-3601, 1994.

LADLIE, J.S. Guide to herbicide injury symptoms in soybeans with "look-alike" symptoms. Hollamdale: Agri-Growth Research, 1991, 86 p.

LeBARON, H.M. Herbicide resitance in crops and weeds and its management. In: TROPICAL WEED SCIENCE CONFERENCE, 3, Kuala Lumpur/Malasia, 1992. **Proceedings**. p.23-24. 1992.

LeBARON, H.M.; GRESSEL, J. **Herbicide resistance in plants**. New York: John Wiley & Sons. 1982. 441p.

LICHTENTHALER, H.K.; KOBEK, K. Inhibition by sethoxydim of pigment accumulation and fatty acid biosynthesis in chloroplast of Avena seedlings. **Z. Naturforsch.**, v.42, p.1275-1279, 1987.

- LILLIEFORS, H.W. On the Kolmogorov – Smirnov test for normality with mean and variance unknown. **Journal American Statistical**, v.62, p.399-402, 1967.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 2ed. Nova Odessa, SP: Editora Plantarum, 1991. 440p.
- MALLORY-SMITH, C.A.; THILL, D.C.; MORISHITA, D. **Herbicide-resistant weeds and their management**. Corvallis: Oregon State University. PNW Extension Publication, 1993. 437p.
- MANEECHOTE, C.; HOLTUM, J.M.; PRESTON, C.; POWLWS, S.B. Resistant acetyl-CoA carboxylase is a mechanism of herbicide resistance in a biotype of *Avena sterilis* spp ludoviciana. **Plant Cell Physiology**, v.35, p.27-35, 1994.
- MANSOOJI, ^aM.; HOLTUM, J.^aM.; BOUTSALIS, P.; MATTHEWS, J.M.; POWLRS, S.B. Resistance to aryloxyphenoxypropionate herbicides in two wild oat species (*Avena fatua* and *Avena sterilis*). **Weed Science**, v.40, p.599-605, 1992.
- MARLES, M.A.S.; DEVINE, M.D.; HALL, J.C. Herbicide resistance in *Setaria viridis* conferred by a less sensitive form of acetyl coenzyme A carboxylase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, p.7-14, 1993.
- MARSHALL G.; KIRKWOOD, R.C.; LEACH, G.E. Comparative studies on graminicide-resistant and susceptible biotypes of *Eleusine indica*. **Weed Research**, v. 34, n.3, p.177-185, 1994.

- MATHEWS, J.M.; HOLTUM, J.A.M.; LILJEGREN, D.R.; FURNESS, B.; POWLES, S.B. Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*). I. Properties of the target enzymes acetyl-coenzyme A carboxylase and acetatolactate synthase. **Plant Physiology**, v.94, p.1180-1186, 1990.
- MATTHEWS, J.M. Management of herbicide resistant weed populations. In: POWLES, S.B.; HOLTUM, J.A.M., eds. **Herbicide Resistance in plants: Biology and biochemistry** p. 317-335, CRC PRESS, Boca Ration. 1994.
- MAXWELL, B.D.; MORTIMER, M. Selection for herbicide resistance. In: **Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry** (Powles, S. B., y Holtum, J. A. M., eds.). CRC Press, Boca Raton, p.1-25. 1994.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, J.L.; DE PRADO, R. Diclofop metabolism in resistant biotypes of *Lolium rigidum* Gaudin. **Proceedings of the International Symposium on Weed and Crop Resistance to Herbicide**, Cordoba, Spain, 1996, p.97-98.
- MENENDEZ J.; JORRIN, J.; TABERNER, A.; DE PRADO, R. Penetration, translocation and metabolization of diclofop-methyl in chlorotoluron-resistant and susceptible biotypes of *Alopecurus myosuroides*. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds**, Brighton, England 1993, p.213-220.
- MENENDEZ, J. Mecanismos de resistência a herbicidas en biotipos de *Alopecurus myosuroides* huds. Cordoba, 1997. 246p. Tese (Doutorado) - Escola Técnica de Ingenieros Agrónomos y de Montes - Universdiad de Cordoba/Espanha.

- MENENDEZ, J.; DE PRADO, R. Detoxification of chlorotoluron in a chlorotoluron - resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. Comparison between cell cultures and whole plants. **Physiologia Plantarum**. v.99, p.97-104, 1997.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, R. Detoxification of chlorotoluron in a chlorotoluron - resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. Comparison between cell cultures and whole plants **Physiologia Plantarum**. v. 99, p.97-104, 1997.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, R. Diclofop-methyl cross-resistance in a chlorotoluron resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 56, p.123-133, 1996.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, R. La resistencia de las malas hierbas a los herbicidas. **Phytoma**, 94, 43-50, 1998.
- MENENDEZ, J.; JORRIN, J.; ROMERA, E.; DE PRADO, R. Resistance to chlorotoluron of a slender foxtail (*Alopecurus myosuroides*) biotype. **Weed Science**, v. 42, p. 340-353, 1994.
- MONQUEIRO, P.A. Biologia, manejo e caracterização bioquímica e genética de biotipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da acetolato sintase (ALS). ESALQ-Piracicaba, SP, 1999. 94p. (Dissertação Mestrado) – ESALQ – Universidade de São Paulo
- MORGAN, W.C. Alternatives to herbicides. **Plant Protection Quality**. v. 4, n.1, p. 33-37, 1989.

- MORRISON, I.N.; BOURGEOIS, L. Approaches to managing ACCase inhibitor resistance in wild oat on the Canadian prairies. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds**, Brighton, England, p. 567-576. 1995
- MOSS, S.R. Herbicide cross-resistance in slender foxtail (*Alopecurus myosuroides*). **Weed Science**, v. 38, p. 492-496, 1990,
- MOSS, S.R. Techniques for determining herbicide resistance.. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds**, Brighton, England, n. 38, p.547-556. 1985.
- MOSS, S.R.; CUSSANS, G.W. The development of herbicide-resistant populations of *Alopecurus myosuroides* (black-grass) in England. In: CASELEY, J.C.; CUSSANS, G.W.; ATKIN, R.K., eds, **Herbicide resistance in weeds and crops**, Butterworth-Heinemann, Oxford. p.45-55, 1991.
- NEALE, M.C.; SUTTON, A. European view of horticultural crop protection. In: D. TYSON, ed **Crop protection: Crisis for UK Horticulture?** British Crop Protection Council, Farnham. p.79-88, 1993.
- NIKOLAU, B. J.; Y HAWKE, J. C. Purification and characterization of maize leaf acetyl-coenzyme A carboxylase. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.228, p.86-96, 1984.
- NORDMEYER, H.; HÄUSLER, A.; NIEMANN, P. Weed mapping as a tool for patchy weed control. **Proc. 2nd Int. Weed Control Com.** Copenhagen, p.119-124. 1996.
- O'SULLIVAN, P.A. Diclofop. In: DONALD, W.W. **Systems of weed control in wheat in North America**, WSSA, Champaign, p.321-345, 1990.

OHLROGGE, J.; BROWSE, J. Lipid Biosynthesis. **The Plant Cell**, v.7, p.957-970, 1995.

OLIVEIRA, P.R.P. de; MASTROCOLA, M.A. Longevidade das sementes de gramíneas forrageiras tropicais (1). **Boletim da Indústria Animal**, n.41, p. 203-211, 1984.

PARKER, W.B.; MARSHALL, L.C.; BURTON, J.D.; SOMERS, D.A. WYSE, D.L.; GRONWALD, J.W.; GENGENBACH, B.G. Dominant mutations causing alterations in acetyl-Coenzyme. A carboxylase confer tolerance to cyclohexanedione and aryloxyphenoxypropionate herbicides in maize. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, n.87, p.7175-7179. 1990a.

PARKER, W.B.; SOMERS, D.A.; WYSE, D.L.; KEITH, R.A.; BURTON, J.D.; GRONWALD, J.W.; GENGENBACH, B.G. Selection and characterization of sethoxydim-tolerant maize tissue cultures. **Plant Physiology**, v.92. p.1220-1225, 1990b.

PEIXOTO, R.T.G.; AHRENS, D.C.; SAMAHA, M.J. **Plantio direto: o caminho para uma agricultura sustentável**. Ponta Grossa, PR: IAPAR, PRP?PG, 1997. 275p.

PILLMOOR, J.B.; CASELEY, J.C. The biochemical and physiological effects and mode of action of AC 222,293 against *Alopecurus myosuroides* Huds. and *Avena fatua* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.27, p.340-349, 1987.

PILMOOR, J.B.; LINDELL, S.D.; BRIGGS, G.G.; WRIGHT, K. In: RAGSDALE, N.N.; KEARNEY, P.C.; PLIMMER, J.R., **Eighth International Congress of Pesticide Chemistry, Options 2000**. American Chemical Society, Washington, D. C., p. 292-303. 1995.

- PONCHIO, J.A.R. Resistência de *Bidens pilosa* aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase. ESALQ-Piracicaba, 1997. 120p. (Tese Doutorado)- ESALQ - Universidade de São Paulo..
- PONCHIO, J.A.R.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R. ALS enzyme assay from *Bidens pilosa* biotypes of the Brazilian soybean areas to determine the sensitivity to imidazolinone and sulfonylurea herbicides. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, 36, Norfolk, 1996. **Proceedings**. p.79.
- POST-BEITTMILLER D.; JAWARSKI, J.G.; OHLROGGE, J.G. *In vivo* pools of free and acylated-acyl carrier proteins in spinach: Evidence for sites of regulation of fatty acid biosynthesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, p.1858-1865, 1991.
- POWLES, S.B.; PRESTON, C. **Herbicide cross resistance and multiple resistance in plants**. Department of crop protection. Waite Agricultural Research Institute. University of Adelaide. South Australia, 1995. 34 p.
- POWLES, S.B; HOLTUM, J.A.M. **Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry**. Boca Raton: Lewis, 1994, 353 p.
- PRESTON, C. Resistance to photosystem I disrupting herbicides. In: **Herbicide Resistance in Plants** (Powles, S. B., y Holtum, J. A. M., eds.). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, p. 61-82. 1994.
- RATTERMAN, D.M.; BALKE, N.E. 1989. Diclofop-methyl increases the proton permeability of isolated oat-root tonoplast. **Plant Physiology**, v. 91, p.756-765, 1989.

- RENDINA, A.R.; CRAIG-KENNARD, A.C.; BEAUDOIN, J.D.; BREEN, M.K. Inhibition of Acetyl-Coenzyme A Carboxylase by Two Classes of Grass-Selective Herbicides. **J. Agric. Food Chem.** v.38, p.1282-1287, 1990.
- RENDINA, A.R.; FELTS, J.M. Cyclohexanodione herbicides are selective and potent inhibitors of acetyl-CoA carboxylase from grasses. **Plant Physiology**, v.86, p.983-986, 1988.
- RODRIGUES, B.N. e ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 4. ed. Londrina: IAPAR, 1998, 648p.
- RODRIGUES, B.N. Influência da cobertura morta no comportamento dos herbicidas imazaquin e clomazone. **Planta Daninha**. v.11, n.1/2, p. 21-28, 1993.
- RUBIM, B. Herbicide resistant weeds. The inevitable phenomenon: mechanisms, distribution and significance. **Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v.15, p.17-32, 1996.
- RUBIM, B. Herbicide resistance in weeds and crops, progress and prospects. In: CASELEY, J.C.; CUSSANS, G.W.; ATKIN, R.K.. **Herbicide Resistance in Weeds and Crops**. Butterworth-Heinemann Ed. Oxford, 1991. pp. 387-414.
- RYAN, G.F. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. **Weed Science**, v.18, p.614-616, 1970.
- SAARI, L.L.; COTTEMAN, J.C.; THILL, D.C.. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In: **Herbicide Resistance in Plants** (Powles, S. B., y Holtum, J.A.M., CRC Press, Boca Raton, pp. 83-140. 1994

SASAKI, Y.; HAKAMADA, K.; SUAMA, Y.; NAGANO, Y.; FURUSAWA, I.; MATSUNO, R. Chloroplast-encoded protein as a subunit of acetyl-CoA carboxylase in pea plant.. **J. Biol. Chem.**, v.268, p.25118-25123, 1993.

SASAKI, Y.; KONISHI, T.; NAGANO, Y. The compartmentation of acetylcoenzyme A carboxylase in plants. **Plant Physiology**, v.108, p. 445-449, 1995.

SAWICKI, R.M. Definition, detection and documentation of insecticide resistance. In: FORD, M.G.; HOLLMAN, D.W.; KHAMBAY, B., SAWICKI, R.M. **Combating Resistance to Xenobiotics: Biological and Chemical Approaches**. Ellis Horwood, Ed. Chichester, 1987. p.105-117.

SECOR, J.; CSÉKE, C.; OWEN, W.J. The discovery of the selective inhibition of acetyl coenzyme A carboxylase activity by two classes of graminicides. **Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds**, Brighton, England, v.1, p.145-154. 1989.

SECOR, J.; CZEKE, C. Inhibition of acetyl-CoA carboxylase activity by haloxyfop and tralkoxydim. **Plant Physiology**., v.86, p.10-12, 1988.

SEEFELDT, S.S.; FUERST, E.P.; IRZYK, G.P.; GEALY, D.R.; SHUKLA, A. HOFFMAN, D.; BREWSTER, B.D. Diclofop-resistant *Avena fatua* from the Willamette Valley of Oregon, **Weed Science**, v.44, p.776-781, 1996.

SEEFELDT, S.S.; GEARLY, D.R.; BREWSTER, B.D.; FUERST, E.P. Cross-resistance of several diclofop-resistant wild oat (*Avena fatua*) biotypes from the Willamette Valley of Oregon. **Weed Science**, v.42, p.430-437, 1994.

SEEFELDT, S.S.; JENSEN, J.E.; FUERST, E.P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**. v. 9, n.2, p. 218-227, 1995.

- SENDULSKY, T. Brachiaria: taxonomy of cultivated and native species in Brazil. **Hoehnea**, v.7, p.99-139, 1978.
- SENTENAC H.; GRIGNON, C. Effect of H⁺ excretion on the surface pH of corn cells evaluated by using weak acid influx as a pH probe. **Plant Physiology**, v.84, p.1367-1372, 1987.
- SHANER, D.L. Herbicide resistance in North America: History, circumstances of development and current situation. In: De PRADO, R.; JRRIN, J.; GARCIA-TORRES, L. eds. **Weed and crop resistance to herbicides**, Kluwer, Dordrecht. p.29-38. 1997.
- SHANER, D.L. Studies on the mechanism and genetics of resistance: their contribution to herbicide resistance management. **Proc. Brighton Crop Prot. Conf.-Weeds**, p.537-545. 1995.
- SHANER, D.L.; SIMCOX, P. D.; ROBSON, P.A. *et al.* AC - 222,293 - translocation and metabolic selectivity. In: PROC. BRITISH PLANT PROT. CON. p. 333-339, 1983.
- SHERMAN, T.D.; VAUGHN, K.C.; DUKE, S.O. Mechanism of action and resistance to herbicides. In: DUKE, S.O. (Ed.) **Herbicides Resistant Crops**. Boca Raton: CRC press, 1996. p.14-28.
- SHIMABUKURO, R.H. ; HOFFER, B.L.. Effect of Diclofop on the Membrane Potentials of Herbicide-Resistent and Susceptible Annual Ryegrass Root Tips. **Plant Physiology**, v.98, p.1415-1422, 1992.
- SHIMABUKURO, R.H. Selectivity and Mode of Action of the Postemergence Herbicide Diclofop-Methyl. **Plant Growth Regul. Soc. Am. Q.**, v.18, p.37-54, 1990.

- SHIMABUKURO, R.H.; HOFFER, B.L. Diclofop action: physiological evidence for reversible binding to a receptor-like molecule. **Weed Sciences Society of America**. Abstracts 182. 1988.
- SHIMABUKURO, R.H.; HOFFER, B.L. Perturbation of transmembrane proton gradient and inhibition of fatty acid metabolism: Their roles in the mechanism of action of diclofop-methyl. **Weed Science Society of America**. Abstract no. 176. 1990.
- SHIMABUKURO, R.H.; HOFFER, B.L. Perturbation of the transmembrane proton gradient and resistance to AOPP herbicides. In: De PRADO, R.; JORRIN, J.; GARCIA-TORRES, L. eds. **Weed and crop resistance to herbicides**, Kluwer, Dordrecht. p.71-80. 1997.
- SHIMABUKURO, R.H.; HOFFER, B.L.. Metabolism of diclofop-methyl in susceptible and resistant biotypes of *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.39, p.251-258, 1991
- SHIMABUKURO, R.H.; WALSH, W.C.; HOERAUF, R.A. Metabolism and selectivity of diclofop-methyl in wild oat and wheat. **J. Agric. Food Chem.**, v.27, p.615-623, 1979.
- SHUKLA, A.; DUPONT, S.; DEVINE, M.D. Resistance to ACCase-inhibitor herbicides in wild oat: evidence for target site-based resistance in two biotypes from Canada. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.57, p.147-155, 1997.
- SILVERTOWN, J.W. **Introduction to plant population ecology**. New York: Longman. 2.ed. 1987. 220p.

- SINDAG - Sindicato da indústrias de defensivos agrícolas - Boletim 99, divulgado por e-mail.
- SMEDA, R.J.; BARENTINE, W.L.; SNIPES, C.E. Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) resistance to postemergence grass herbicides. **Weed Science Society of America**. Abstract no. 53. 1993.
- STOLTENBERG, D.E.; WIEDERHOLT, R.J. Giant foxtail (*Setaria faberi* Herm.) resistance to acetylCoA carboxylase inhibitors. **Weed Science Society of America**. Abstract no. 183. 1993.
- STOLTENBERG, D.E.; WIEDERHOLT, R.J. Giant foxtail (*Setaria faberi*) resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione herbicides. **Weed Science**, v.43, p.527-535, 1995.
- STOLTENBERG, D.E.; WYSE, D.L. Regrowth of Quackgrass (*Agropyron repens*) Following Postemergence Applications of Haloxyfop and Sethoxydim. **Weed Science**. v. 34, p.664-668, 1986.
- STUMPF, P.K. The biosynthesis of saturated fatty acids. In: STUMPF, P. K.; CONN, E.E. eds **The biochemistry of plants**. Vol. 9: Lipids: Structure and Function, v.9, p.121-157. Academy Press, New York. 1987.
- TARDIF, F.J.; POWLES, S.B. Herbicide multiple-resistance in a *Lolium rigidum* biotype is endowed by multiple mechanisms: isolation of a subset with resistant acetyl-CoA carboxylase. **Physiologia Plantarum**, v.91, p.488-494, 1994.
- THAI, K.M., JANA, S.; NAYLOR, J.M. Variability for response to herbicides in wild oat (*Avena fatua*) populations. **Weed Science**, v.33, p.829-835. 1985.

- UCHIYAMA, M.; WASHIO, N.; IKAI, T.; IGARASHI, H.; SUZUKI, K. Stereospecific responses to (R)-(+)- and (S)-(-)-quilazofop-ethyl in tissues of several plants. **Journal Pesticide Science**, v.11, p.459-467, 1986.
- VALVERDE, B.E.; CHAVES, L.; GONZALEZ, J.; GARITA, I. Field-evolved imazapyr resistance in *Ixophorus unisetus* and *Eleusine indica* in Costa Rica. **Proc. Brighton Crop Prot. Con. Weeds**, p. 557-566. 1993.
- VIDAL, R.A.; FLECK, N.G. Three weed species with confirmed resistance to herbicides in Brazil. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE OF AMERICA, 1997. **Abstracts**. p. 100.
- VOOL, E.; GAZZIERO, D.L.P.; QUINA, E.; KRYZANOWSKI, F.C. Avaliação fisiológica de sementes de *Brachiaria plantaginea* com procedimentos da superação de dormência. **Revista Brasileira de Sementes**. v.18. p.186-192. 1996.
- WAKIL, S.J.; STOOPS, J.K.; JOSHI, V.C. Fatty acid synthesis and its regulation. **Annu. Rev. Biochem.**, v.52, p.537-579, 1983.
- WALKER, K.A.; RIDLEY, S.M.; LEWIS, T. & HARWOOD, J.L. Action of Aryloxyphenoxy Carboxylic Acids on Lipid Metabolism. **Weed Science**. v.4, p. 71-84, 1989.
- WALKER, K.A.; RIDLEY, S.M.; LEWIS, T.; HARWOOD, J.L. Fluazifop, a grass selective herbicide which inhibits acetyl-CoA carboxylase in sensitive plants species. **Biochemistry Journal**, v.254, p.307-310, 1988.
- WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA. **Herbicide handbook**, 6th Edition. Champaign :WSSA. 1989. 515p.

- WELLER, S.C. Herbicide resistance in weeds: In: **Herbicide action: an intensive course on activity, selectivity, behavior and fate of herbicides in plants and soils**. Purdue University. West Lafayette, 1992. 666 p.
- WHITEHEAD, C.W.; SWITZER, C.M. The differential response of strains of wild carrot to 2,4-D and related herbicides. **Canadian Journal of Plant Science**. v. 43, p.255-262, 1962.
- WHYTE, R.O.; MOIR, T.R.G.; COOPER, J.P. Las gramineas en la agricultura. Roma, **FAO**, 1975. 464p.
- WIEDERHOLT, R.J.; STOLTENBERG, D.E. Cross-resistance of a large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) accession to aryloxyphenylpropionate and cyclohexanedione herbicides. **Weed Technology**, v.9, n.3, p.518-524, 1995.
- WOODBURN, A.T. Global and regional market estimates. In: Allan Woodburn Associates, **Agrochemicals-Executive Review**, 6th edition, , Edinburgh. p.12-13. 1995.
- WRIGHT, J.P.; SHIMABUKURO, R.H. Effects of diclofop and diclofop-methyl on the membrane potentials of wheat and oat coleoptiles. **Plant Physiology**, v. 85, p.188-193, 1987.
- WRIGHT, J.P.; SHIMABUKURO, R.H. Effects of diclofop and diclofop-methyl on the membrane potentials of wheat and oat coleoptiles. **Plant Physiology**, v.85, p.188-193, 1987.

WSSA. N.E. HUMBURG, S.R. COLBY, R.G. LYM, E.R. HILL, W.J. MCAVOY, L.M. KITCHEN Y R. PRASAD, eds., **Herbicide Handbook of the Weed Science Society of America**, 6th edition, Weed Science Society of America, Champaign, Illinois. 1989. 301p.

ZADOKS, J.C.. The cost of the change in plant protection. *Journal Plant. Protection In the Tropics*, v.9, n.2, p.151-159. 1992.

ANEXOS

Tabela A2. Resumo da análise de variância para as variáveis controle percentual aos 7 e 14 DAA, e fitomassa recém colhida e seca, obtidas do bioensaio com biotipos resistentes e suscetível de *Brachiaria plantaginea* em casa-de-vegetação. Holambra/SP, 1998.

QUADRADOS MÉDIOS (probabilidade > F)				
Causas de Variação	G.L.	% Controle 7 DAA ⁽¹⁾	% Controle 14 DAA ⁽¹⁾	Fitomassa recém colhida (g)
Biotipos	2	35214,65 (0,00001)	68341,34 (0,00001)	220,56 (0,00001)
Herbicidas	8	2346,67 (0,00001)	3803,89 (0,00001)	18,62 (0,00001)
Doses	6	46305,50 (0,00001)	73463,02 (0,00001)	156,83 (0,00001)
Biotipos x Herbicidas	16	542,95 (0,00001)	643,32 (0,00001)	4,96 (0,00001)
Biotipos x Doses	12	1737,97 (0,00001)	2895,25 (0,00001)	18,75 (0,00001)
Herbicidas x Doses	48	148,99 (0,00001)	236,94 (0,00001)	1,82 (0,00001)
Biotipos x Herbicidas X Doses	96	110,46 (0,00001)	134,69 (0,00001)	0,97(0,00001)
Resíduo	567	31,28	44,02	0,28
Total	755	C.V.(%) 15,67	13,59	15,17

(1) Dados originais previamente transformados em arc sen $\sqrt{x/100}$.

Tabela A2. Resumo da análise de variância para as variáveis controle percentual aos 7 e 14 DAA, e fitomassa recém colhida e seca, obtidas do bioensaio com biotipos resistentes e suscetível de *Brachiaria plantaginea* em casa-de-vegetação. Holambra/SP, 1998.

QUADRADOS MÉDIOS (probabilidade > F)				
Causas de Variação	G.L.	% Controle 7 DAA ⁽¹⁾	% Controle 14 DAA ⁽¹⁾	Fitomassa recém colhida (g)
Biotipos	2	35214,65 (0,00001)	68341,34 (0,00001)	220,56 (0,00001)
Herbicidas	8	2346,67 (0,00001)	3803,89 (0,00001)	18,62 (0,00001)
Doses	6	46305,50 (0,00001)	73463,02 (0,00001)	156,83 (0,00001)
Biotipos x Herbicidas	16	542,95 (0,00001)	643,32 (0,00001)	4,96 (0,00001)
Biotipos x Doses	12	1737,97 (0,00001)	2895,25 (0,00001)	18,75 (0,00001)
Herbicidas x Doses	48	148,99 (0,00001)	236,94 (0,00001)	1,82 (0,00001)
Biotipos x Herbicidas X Doses	96	110,46 (0,00001)	134,69 (0,00001)	0,97(0,00001)
Resíduo	567	31,28	44,02	0,28
Total	755	C.V.(%) 15,67	13,59	15,17

(1) Dados originais previamente transformados em arc sen $\sqrt{x/100}$.

Tabela A3. Resumo da análise de variância para as variáveis controle percentual aos 7 e 14 DAA, e fitomassa recém colhida, obtidas do bioensaio com biotipos resistente e suscetível de *Bracharia plantaginea* em casa de vegetação. ESALQ/USP - Piracicaba/SP. 1998.

Causas de Variação		G.L.	QUADRADOS MÉDIOS (probabilidade > F)		
			% Controle 7 DAA ⁽¹⁾	% Controle 14 DAA ⁽¹⁾	Fitomassa recém colhida (g)
Biotipo	1	539,25 (0,00013)	9566,74 (0,00001)	2998,18 (0,00001)	
Herbicidas	12	777,48 (0,00001)	1815,59 (0,00001)	141,99 (0,00001)	
Biotipo x herbicida	12	40,45 (0,15446)	575,05 (0,00001)	88,70 (0,00001)	
Resíduo	78	27,56	25,22	11,66	
Total	103	C.V. (%) 17,54	11,18	17,47	

⁽¹⁾ Dados originais previamente transformados em arc sen $\sqrt{x/100}$.

Tabela A4. Resumo da análise de variância para as variáveis controle percentual aos 7, 14 e 28 DAA, e densidade de plantas daninhas aos 14 DAA, obtidas em experimento de campo. Guarapuava/PR, 1998.

Causas de Variação		G.L.	QUADRADOS MÉDIOS (probabilidade > F)			
			% Controle 7 DAA ⁽¹⁾	% Controle 14 DAA ⁽¹⁾	% Controle 28 DAA	Densidade de plantas (2) (n° pls/m²)
Tratamentos		9	2647,08 (0,00001)	3362,84 (0,00001)	5316,94 (0,00001)	87,64 (0,00001)
Blocos		3	13,57 (0,73702)	45,39 (0,60629)	22,50 (0,94043)	8,53 (0,078798)
Resíduo		27	31,60	72,21	172,50	3,39
Total		39	C.V.(%) 13,46	19,49	19,68	16,86

⁽¹⁾ Dados originais previamente transformados em arc sen $\sqrt{x/100}$.

⁽²⁾ Dados originais previamente transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.