Tolerância de espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp) a herbicidas na cultura de cana-de-açúcar

NIVEA MARIA PICCOLOMINI DIAS

Tese apresentada ao Centro de
Energia Nuclear na Agricultura,
Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em
Ciências, Área de Concentração:
Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro - 2004

Tolerância de espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp) a herbicidas na cultura de cana-de-açúcar

NIVEA MARIA PICCOLOMINI DIAS
Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof. Dr. **VALDEMAR LUIZ TORNISIELO**

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências, Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro - 2004

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Dias, Nivea Maria Piccolomini

Tolerância de espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp)
a herbicidas na cultura de cana-de-açúcar / Nivea Maria
Piccolomini Dias. - - Piracicaba, 2004.

103p. : il.

Tese (doutorado) - - Centro de Energia Nuclear na
Agricultura, 2004.

1. Absorção (Fisiologia) 2. Dinâmica de populações
3. Fitotecnia 4. Plantas daninhas I. Título

CDU 633.61:632.954

***Aos meus pais, Irineu e Regina, pelo apoio, compreensão
e lição de vida***

DEDICO.

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

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Valdemar Luiz Tornisielo, pela confiança, amizade e orientação.

Ao Prof. Dr. Pedro Jacob Christoffoleti, autor de muitas idéias que fazem parte este trabalho, agradeço pela orientação, apoio, amizade e confiança em mim depositada.

À Prof^a Dra. Sônia Maria de Stefano Piedade, do Departamento de Ciências Exatas da ESALQ/USP, pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Prof^a Dra. Thais Scotti do Canto-Dorow, da Universidade Federal de Santa Maria, pelo auxílio na identificação das espécies de *Digitaria*.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal/ESALQ, Aparecido Serrano e aos Técnicos Aparecido Mendes, Luiz Ferrari e Ony, pela presteza e apoio na condução dos experimentos de campo e em casa-de-vegetação.

Aos funcionários do CENA/USP, Dra. Jussara, João Salvador, Rosângela, Dorelli, Marília, João Geraldo, Cláudia, Neuda, Regina e Alzira, pelo apoio técnico e amizade.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo.

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação do CENA/USP, pela oportunidade de realizar o curso.

Aos amigos de pós-graduação pelo companheirismo e apoio nos momentos difíceis, Janaynna, Raquel, Lili, Fernanda, Felipe Villanueva e ao Ramiro pelas sugestões durante a elaboração da tese.

Ao Luiz Fernando pelo incentivo, paciência, compreensão e auxílio na fase final deste trabalho.

À todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	viii
SUMMARY.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 Descrição das espécies do gênero <i>Digitaria</i> de ocorrência mais comum no Estado de São Paulo como planta daninha.....	5
2.1.1 <i>Digitaria horizontalis</i>	6
2.1.2 <i>Digitaria ciliaris</i>	7
2.1.3 <i>Digitaria nuda</i>	8
2.1.4 <i>Digitaria sanguinalis</i>	9
2.2 Chave para a identificação das espécies de <i>Digitaria</i> conhecidas como capim-colchão no Estado de São Paulo segundo Canto- Dorow, 2004.....	10
2.3 Seleção da flora daninha em áreas agrícolas.....	12
2.4 Utilização de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar no Brasil.....	13
2.5 Mecanismos de tolerância de plantas daninhas a herbicidas.....	14
2.5.1 Baixa concentração do herbicida no local de ação.....	14
2.5.2 Metabolização e/ou detoxificação do herbicida.....	15
2.5.3 Alteração no local de ação dos herbicidas.....	16
2.6 Métodos utilizados para o estudo de tolerância de plantas daninhas a herbicidas.....	16
2.6.1 Estudo do nível da tolerância através de curvas de dose-resposta	17
2.6.2 Estudo da absorção, translocação e metabolismo com a utilização de herbicida radiomarcado com ^{14}C (^{14}C -Herbicida).....	18

3 IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE ESPÉCIES DE CAPIM- COLCHÃO INFESTANTE DA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE SÃO PAULO, E EFICÁCIA DE HERBICIDAS NO CONTROLE DE <i>Digitaria nuda</i>	
Resumo.....	21
Summary.....	22
3.1 Introdução.....	23
3.2 Material e Métodos.....	25
3.2.1 Eficácia agrônômica de herbicidas no controle de <i>Digitaria nuda</i>	25
3.2.2 Identificação taxonômica das espécies de capim-colchão.....	28
3.2.2.1 Local de coleta	28
3.2.2.2 Identificação das espécies.....	30
3.3 Resultados e Discussão.....	32
3.3.1 Eficácia agrônômica de herbicidas no controle de <i>Digitaria nuda</i>	32
3.3.2 Identificação taxonômica das espécies de capim-colchão.....	35
3.4 Conclusões.....	38
4 CURVAS DE DOSE RESPOSTA DE DUAS ESPÉCIES DE CAPIM- COLCHÃO A HERBICIDAS UTILIZADOS NA CULTURA DE CANA-DE- AÇÚCAR	
Resumo.....	40
Summary.....	42
4.1 Introdução.....	43
4.2 Material e Métodos.....	46
4.2.1 Fonte de sementes das espécies de capim-colchão.....	46
4.2.2 Avaliação da eficácia de controle das espécies de capim-colchão através de herbicidas (casa-de-vegetação).....	47
4.2.3 Curvas de dose-resposta dos herbicidas imazapyr, tebuthiuron, ametrina e metribuzin para duas espécies de capim-colchão.....	48
4.3 Resultados e Discussão.....	50
4.4 Conclusões.....	57

5 ABSORÇÃO FOLIAR E TRANSLOCAÇÃO DO HERBICIDA DIURON POR ESPÉCIES SUSCETÍVEL E TOLERANTE DE CAPIM-COLCHÃO (<i>Digitaria</i> spp)	
Resumo.....	59
Summary.....	60
5.1 Introdução.....	61
5.2 Material e Métodos.....	64
5.2.1 Curvas de dose-resposta das espécies de capim-colchão ao herbicida diuron.....	64
5.2.2 Absorção e translocação do herbicida diuron pelas plantas de capim-colchão.....	66
5.3 Resultados e Discussão.....	68
5.3.1 Curvas de dose-resposta das espécies de capim-colchão ao herbicida diuron.....	68
5.3.2 Absorção e translocação do herbicida diuron pelas plantas de capim-colchão.....	70
5.4 Conclusões.....	76
6 ABSORÇÃO RADICULAR E TRANSLOCAÇÃO DE ¹⁴ C-IMAZAPYR E ¹⁴ C-METRIBUZIN EM ESPÉCIES SUSCETÍVEL E TOLERANTE DE CAPIM-COLCHÃO (<i>Digitaria</i> spp)	
Resumo.....	77
Summary.....	78
6.1 Introdução.....	79
6.2 Material e Métodos.....	82
6.3 Resultados e Discussão.....	84
6.4 Conclusões.....	93
7 CONCLUSÕES GERAIS.....	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96

TOLERÂNCIA DE ESPÉCIES DE CAPIM-COLCHÃO (*Digitaria* spp) A HERBICIDAS NA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Autora: Nivea Maria Piccolomini Dias

Orientador: Prof. Dr. Valdemar Luiz Tornisielo

RESUMO

É conhecido que a utilização repetitiva e consecutiva dos mesmos herbicidas, ou de herbicidas diferentes, porém com mesmo mecanismo de ação, exerce uma pressão de seleção sobre as populações de plantas daninhas controladas. As duas formas principais de resposta das populações de plantas daninhas resultantes da pressão de seleção dos herbicidas são a mudança da flora pela seleção de espécies de plantas daninhas tolerantes, ou a seleção de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas. Na prática têm sido observadas, pelos produtores de cana-de-açúcar, mudanças de flora pela seleção de algumas espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp), as quais não têm sido controladas eficientemente pelos herbicidas normalmente recomendados

para o seu controle. Suspeita-se que estas populações selecionadas são constituídas por diferentes espécies de capim-colchão, que apresentam níveis maiores de tolerância aos herbicidas. Sendo assim, os objetivos desta pesquisa foram: (i) identificar taxonomicamente as espécies de capim-colchão infestante da cultura da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, e avaliar a eficácia de herbicidas no controle de *Digitaria nuda* a nível de campo; (ii) comparar a suscetibilidade das espécies *D. nuda* e *D. ciliaris* aos herbicidas do grupo químico das triazinas, uréias substituídas, imidazolinonas, triazinonas e aos herbicidas, cujo mecanismo de ação é a inibição da síntese de caroteno, e quantificar o nível de tolerância das espécies através da elaboração de curvas de dose-resposta; (iii) determinar, com a utilização de ^{14}C -herbicida, a absorção e translocação pelas espécies *Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris* dos herbicidas diuron (via folha) e imazapyr e metribuzin (via raiz). A identificação das espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp) foi efetuada seguindo chave de identificação existente na literatura. No estudo da eficácia de herbicidas no controle de *Digitaria nuda* a nível de campo, foram utilizados oito tratamentos herbicidas, aplicados em condições de pré-emergência. As avaliações de controle foram realizadas aos 15, 30 e 60 dias após a aplicação (DAA). O estudo da eficácia de herbicidas no controle das espécies *Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris*, foram conduzidos em casa-de-vegetação. Foram utilizados oito tratamentos herbicidas, aplicados em condições de pré-emergência. As avaliações de controle foram realizadas aos 14 e 21 (DAA). O estudo do nível de tolerância foi realizado em casa-de-vegetação do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP, Piracicaba/SP, através de curvas de dose-resposta. Os estudos de absorção e translocação foram conduzidos em câmara de crescimento, e as análises realizadas no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de

Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), em Piracicaba, SP, utilizando-se ^{14}C -herbicida, medindo-se a radioatividade em diferentes partes das plantas. Os resultados permitiram concluir que: (i) a espécie *Digitaria nuda* foi selecionada pela aplicação repetitiva dos herbicidas utilizados no controle de capim-colchão na cultura da cana-de-açúcar; demonstrando ser mais tolerante aos herbicidas dos grupos químicos das imidazolinonas e uréias substituídas, quando comparada à *Digitaria ciliaris*; (ii) a partir das curvas de dose-resposta, pode ser verificado que a *Digitaria nuda* demonstrou ser mais tolerante que a *Digitaria ciliaris* aos herbicidas diuron, imazapyr e tebuthiuron; (iii) a absorção e translocação não foram os mecanismos responsáveis pela tolerância apresentada pela *Digitaria nuda* aos herbicidas diuron e imazapyr.

TOLERANCE OF THE CRABGRASS SPECIES (*Digitaria spp*) TO HERBICIDES IN THE SUGARCANE CROP

Author: Nivea Maria Piccolomini Dias

Adviser: Prof. Dr. Valdemar Luiz Tornisielo

SUMMARY

It is known that the repetitive and successive use of the same or different herbicides, but with same mechanism of action, impose a selection pressure on the weed population controlled. The two main forms of weed population response resulted from the selection pressure of the herbicide is, weed species shifts, through selection of the tolerant species of weed, or selection of resistant biotypes within the population. It has been observed by sugarcane growers weed species shifts within the genus (*Digitaria spp*). It is suspected that the populations selected are constituted by different crabgrass species, with higher level of herbicide tolerance. The objectives of the research were: (i) identify taxonomically the crabgrass infesting the sugarcane crop in São Paulo state – Brazil, and to study herbicide efficacy in the control of the *Digitaria nuda* in field

conditions; (ii) compare the susceptibility of *D. nuda* and *D. ciliaris* to herbicides of the chemical groups triazine, substituted urea, imidazolinone, triazinone, and inhibitors of carotene synthesis, and quantify the level of susceptibility of the species, through dose-response curves; (iii) determine, by using ^{14}C -herbicide, the absorption and translocation by the species *Digitaria nuda* and *Digitaria ciliaris* of herbicides diuron (by leaf), and imazapyr and metribuzin (by root). The identification of the crabgrass species (*Digitaria* spp) was carry out following a identification key published in the literature. In the study of herbicides efficacy in the control of *Digitaria nuda* in field conditions, eight herbicide treatments, applied in pre-emergence were used, and the control percentage was evaluated at 15, 30 and 60 days after herbicide application (DAA). The study of herbicide efficacy to control the species *Digitaria nuda* and *Digitaria ciliaris* were conducted in greenhouse. Eight herbicide treatments, applied in pre-emergence were used, and the control percentage was evaluated at 14 and 21 days after herbicide application (DAA). The study of the level of tolerance was conducted in the greenhouse of the Department of Crop Science, University of São Paulo, Piracicaba/SP – Brazil, through dose-response curves; The study of absorption and translocation were conducted in a growth chamber, and the ^{14}C -herbicide analysis was done in the Laboratory of Ecotoxicology of the Center of Nuclear Energy Applied to Agriculture, Piracicaba/SP, Brazil, using ^{14}C -herbicide, measuring radioactivity in different plant parts. The results allowed to conclud that: (i) the specie *Digitaria nuda* was selected by repetitive applications of the herbicides used in the control of the crabgrass in the sugarcane crop, showing that the specie is more tolerant to the herbicides of the chemical group of imidazolinone and substituted urea, when compared to *Digitaria ciliaris*; (ii) From the dose-response

curves study, it was observed that *Digitaria nuda* showed more tolerance than *Digitaria ciliaris* to the herbicides diuron, imazapyr and tebuthiuron; (iii) The absorption and translocation were not the mechanism responsible for the tolerance showed by *Digitaria nuda* to the herbicides diuron and imazapyr.

1 INTRODUÇÃO

A cultura de cana-de-açúcar ocupa posição de destaque no cenário agrícola nacional, gerando do plantio à industrialização, cerca de 700.000 empregos diretos, numa área plantada de aproximadamente cinco milhões de hectares, que corresponde a mais ou menos 8% da área cultivada no país (Assis, 1994). No entanto, um dos fatores de redução de rendimento da cultura é a interferência negativa causada pela infestação das plantas daninhas. Para que esta interferência seja eliminada é necessária a adoção de medidas de controle das plantas daninhas, cuja execução representa percentual significativo no custo de produção da cultura. O controle de plantas daninhas pode ser feito através de métodos culturais, mecânicos, físicos e químicos (aplicação de herbicidas). Dentre estes, o mais utilizado é o químico; sendo que, no Brasil, as vendas totais de agroquímicos no ano 2000 superaram 2.500 milhões de dólares, dos quais, 52% foram herbicidas. A aplicação de herbicidas na cultura de cana-de-açúcar representa aproximadamente 20% do total de herbicidas comercializados no país (SINDAG, 2001).

As plantas daninhas infestantes das culturas agrícolas estão representadas por grande diversidade específica, cuja composição florística responde a um ambiente comum proporcionado pelas condições agroecológicas da cultura. Assim, a distribuição espacial e específica de plantas daninhas, que infestam a cultura da cana-de-açúcar, depende

basicamente do sistema de produção praticado pelos produtores. Por outro lado, é importante que os mesmos conheçam as infestantes de sua área, para utilizar um manejo adequado destas plantas, e principalmente monitorar constantemente qualquer tipo de mudança de flora daninha, tanto ao nível de espécies predominantes, quanto de biótipos dentro de cada espécie (Christoffoleti, 1998).

A aplicação sistemática de um método de controle seleciona, em uma comunidade de plantas daninhas, os indivíduos com carga genética para suportar a ação do agente de controle, sem que seu crescimento e desenvolvimento sejam significativamente afetados. Se o mesmo herbicida ou a aplicação seqüencial de herbicidas diferentes, porém, com o mesmo mecanismo de ação é utilizado no manejo de plantas daninhas, durante diversos anos agrícolas, a mudança na composição específica das plantas daninhas, e/ou seleção do biótipo resistente, dentro de uma espécie, tem maior probabilidade de ocorrência. É comum, em sistemas de monocultivo de áreas extensivas, que certos herbicidas sejam preferencialmente aplicados no controle de plantas daninhas na cultura. Desta forma, o agricultor muitas vezes aplica apenas um único herbicida nas diversas safras agrícolas (Christoffoleti, 2000).

As plantas daninhas da família botânica Poaceae (conhecida comumente por gramíneas) são as principais plantas daninhas infestantes da cultura da cana-de-açúcar, tanto nas áreas de plantio, como nas áreas de soqueiras colhidas após a queima. As espécies de gramíneas, conhecidas por capim-colchão, pertencentes ao gênero *Digitaria*, estão entre as espécies de maior freqüências nas lavouras de cana-de-açúcar no Brasil. O gênero *Digitaria* inclui cerca de 300 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios (Canto-Dorow, 2001a).

No estado de São Paulo foram identificadas 13 espécies, sendo que, a diferenciação visual destas espécies é difícil de ser feita no campo, devido a grande semelhança morfológica entre elas (Kissmann, 1997).

Dentre os herbicidas mais utilizados no controle destas plantas daninhas na cultura de cana-de-açúcar, destacam-se os herbicidas dos grupos químicos das triazinas, uréias substituídas, imidazolinonas, isoxalolinonas e triazinonas (Lorenzi, 2000a). Recentemente, no entanto, têm-se observado falhas no controle do capim-colchão (*Digitaria* spp) em diversos campos de produção da cana-de-açúcar, onde os herbicidas dos grupos químicos das triazinas e uréias substituídas vinham sendo utilizados, de forma repetitiva, há vários anos. Esta aplicação repetitiva tem imposto uma pressão de seleção específica no gênero *Digitaria*, ou seja, as espécies do gênero *Digitaria* predominante nas áreas de cana-de-açúcar, de alta suscetibilidade a estes herbicidas, foram sendo substituídas pelas espécies de *Digitaria*, de maior tolerância (Dias, et al., 2003).

A compreensão da dinâmica de espécies de plantas daninhas do gênero *Digitaria* (capim-colchão), e dos mecanismos de tolerância destas plantas daninhas a algumas classes de herbicidas recomendados auxiliam nas recomendações de manejo das plantas daninhas, evitando ou retardando o aparecimento do fenômeno. Sendo assim, os objetivos deste trabalho foram: (i) identificação taxonômica das espécies de capim-colchão infestante da cultura da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo e eficácia de herbicidas no controle de *Digitaria nuda* a nível de campo; (ii) comparar a suscetibilidade das espécies *D. nuda* e *D. ciliaris* aos herbicidas do grupo químico das triazinas, uréias substituídas, imidazolinonas, triazinonas e aos herbicidas, cujo mecanismo de ação é a inibição da síntese de caroteno, e quantificar o nível de tolerância das

espécies através da elaboração de curvas de dose-resposta; (iii) determinar, com a utilização de ^{14}C -herbicida, a absorção e translocação pelas espécies *Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris* dos herbicidas diuron (via folha) e imazapyr e metribuzin (via raiz).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Descrição das espécies do gênero *Digitaria* de ocorrência mais comum no Estado de São Paulo como planta daninha

O gênero *Digitaria* pertence à família Poaceae (Gramineae), subfamília Panicoideae, tribo Paniceae (Kissmann, 1997). O gênero inclui cerca de 300 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios.

Quatorze espécies foram encontradas no Estado de São Paulo, treze das quais haviam sido citadas anteriormente: *Digitaria corynotricha*, *D. neesiana*, *D. insularis*, *D. eriantha*, *D. fuscescens*, *D. connivens*, *D. sejuncta*, *D. filiformis*, *D. violascens*, *D. horizontalis*, *D. bicornis*, *D. sanguinalis* e *D. ciliaris* (Canto-Dorow, 2001a) e uma, a *D. nuda*, foi citada pela primeira vez em áreas cultivadas com cana-de-açúcar por Dias et al. (2003).

As espécies *D. horizontalis*, *D. nuda*, *D. ciliaris* e *D. sanguinalis* são muito parecidas morfologicamente, sendo que, a campo a diferenciação visual, sem auxílio de uma lente de aumento é muito difícil de ser feita.

A identificação taxônômica destas espécies do gênero *Digitaria* conhecidas como capim-colchão, só é possível, com utilização de uma lente de aumento de no mínimo 25 vezes, e são realizadas, principalmente, com base nas características morfológicas da espigeta.

Entre essas espécies a *D. horizontalis*, *D. ciliaris* e *D. nuda* são encontradas como planta daninha no Estado de São Paulo (Lorenzi, 2000a; Dias et al., 2003). Já a *D. sanguinalis* é mais freqüente apenas na região Sul do país.

2.1.1 *Digitaria horizontalis*

Planta anual, decumbente, 20-74cm de altura, colmos floríferos geniculados na base, glabros, nós glabros ou pilosos. Bainhas de 3,5-7cm de comprimento, tricomas tuberculados, esparsos ou densos, em toda a extensão. Lâminas de 4-20cm de comprimento, 3-9cm de largura, linear-lanceoladas, planas, face abaxial glabra ou pilosa a velutina, tricomas tuberculados, densos, em toda a sua extensão, face adaxial pilosa a velutina, tricomas densos ou esparsos, na região ligular ou em toda a sua extensão, escabras nas margens e sobre as nervuras, na face adaxial. Lígula de 1-2mm de comprimento, membranosa, truncada e erosa. Panícula de 4-19cm de comprimento, ramos unilaterais 3-13, de 4-12cm de comprimento, ráquis alada, 0,8mm de largura, pilosa, tricomas tuberculados, esparsos em toda a sua extensão, margens escabras. Espiguetas são duas por nó, 2-2,2(2,7)mm de comprimento, 0,5-0,6mm de largura, lanceoladas; gluma inferior presente, 0,1-0,3mm de comprimento, aguda; gluma superior 0,8-1,2mm de comprimento, 0,2-0,3mm de largura, até 1/2 do comprimento do lema inferior, aguda, pilosa, tricomas agudos, esbranquiçados, densos ou esparsos; lema inferior de 2-2,2(2,7)mm de comprimento, 0,5-0,6mm de largura, agudo, piloso nas margens entre as nervuras laterais, tricomas agudos, densos ou esparsos, não ultrapassando o ápice do lema; pálea inferior ausente; antécio superior de 1,7-1,9(2,5)mm de comprimento, 0,4-0,6mm de

largura, com flor bissexuada, lanceolado, agudo, com papilas em fileiras longitudinais, castanho claro na maturidade. Anteras de 0,6-0,7mm de comprimento Cariopse de 1,6mm de comprimento, 0,5 mm de largura, zona do embrião 1/2 do comprimento da cariopse (Canto-Dorow, 2001b).

2.1.2 *Digitaria ciliaris*

Planta anual, decumbente, (6)15-110cm de altura, colmos floríferos eretos, glabros, nós glabros ou pilosos. Bainhas de (1,5)3-8(15,5)cm de comprimento, tricomas tuberculados, densos em toda a extensão. Lâminas de (1,2)5-23cm de comprimento, 2-10,5mm de largura, linear-lanceoladas, planas, face abaxial glabra ou pilosa, tricomas tuberculados, densos ou esparsos, em toda a sua extensão, face adaxial glabra ou pilosa, tricomas tuberculados, densos ou esparsos, na região ligular ou em toda a sua extensão, escabras nas margens e sobre as nervuras, na face adaxial. Lígula de 1,5-3mm de comprimento, membranosa, arredondada, erosa. Panícula (1,5)6,5-22cm de comprimento, ramos unilaterais em número de (2)3-10 de (1,5)6,5-20cm de comprimento, ráquis alada, 1mm de largura, glabra, margens escabras, Espiguetas em número de dois por nó, (2,2)2,5-3,2(3,4)mm de comprimento, 0,7-0,9(1,1)mm de largura, lanceoladas; gluma inferior presente, 0,3-0,4(0,6)mm de comprimento, aguda; gluma superior 1,6-2,1mm comprimento, 0,3-0,5mm de largura, 1/2-3,4 do comprimento do lema inferior, aguda, pilosa, tricomas agudos, esbranquiçados, densos; lema inferior (2,2)2,5-3,2(3,4)mm de comprimento 0,7-0,9(1,1)mm de largura, agudo, piloso nas margens e entre as nervuras laterais, tricomas agudos, densos ou esparsos, não ultrapassando o ápice do lema; pálea inferior ausente; antécio superior (2,1)2,4-3,2(3,3)mm de comprimento, 0,5-

0,8mm de largura, com flor bissexuada, lanceolado, agudo, com papilas em fileiras longitudinais, castanho claro na maturidade. Anteras 0,7-1,1mm de comprimento. Cariopse 1,7-2,1mm de comprimento, 0,6-0,8 mm de largura, zona do embrião menor do que 1/2 do comprimento da cariopse (Canto-Dorow, 2001b).

2.1.3 *Digitaria nuda*

Planta anual, decumbente, 14-70cm de altura. Colmos floríferos geniculados na base, glabros; nós glabros ou pilosos. Bainhas de 2-4cm de comprimento, glabras ou hirsutas, tricomas tuberculados, esparsos ou densos, em toda a sua extensão ou somente nas margens. Lâminas de 1,5-8cm de comprimento, 2-5mm de largura, lanceoladas a oval-lanceoladas, planas, face abaxial glabra ou pilosa, tricomas tuberculados, densos ou esparsos, em toda a sua extensão, face adaxial pilosa, tricomas tuberculados densos ou esparsos, em toda a sua extensão ou na região ligular, escabras nas margens e sobre as nervuras, nas faces abaxial e adaxial. Lígula de 0,6-2mm de comprimento, membranosa, arredondada, erosa. Panícula 1,4-5,5cm de comprimento, ramos unilaterais em número de 2-6, de 2-4,5cm de comprimento, ráquis alada, 0,6mm de largura, glabra ou pilosa, tricomas tuberculados de 2-5mm de comprimento, esparsos em toda a sua extensão, margens escabras. Espiguetas em número de dois por nó, 2-2,4mm de comprimento, 0,6-0,7mm de largura, lanceoladas; gluma inferior ausente; gluma superior 0,9-1,2mm de comprimento, 0,3-0,5mm de largura, até 1/2 do comprimento do lema inferior, aguda, pilosa, tricomas agudos, esbranquiçados, esparsos, nas margens e entre as nervuras, ultrapassando o ápice da gluma; lema inferior 2-2,1mm de comprimento

0,6-0,7mm de largura, agudo, piloso nas margens e entre as nervuras laterais, tricomas agudos, densos, ultrapassando o ápice do lema em 0,2-0,4mm; pálea inferior ausente; antécio superior 1,8-2,2mm de comprimento, 0,4-0,6mm de largura, com flor bissexuada, lanceolado, agudo, com papilas em fileiras longitudinais, castanho claro na maturidade. Anteras 0,3-0,4mm de comprimento. Cariopse 1,2mm de comprimento, 0,4-0,6mm de largura, lanceolada, zona do embrião 1/2 do comprimento da cariopse (Canto-Dorow, 2001b).

2.1.4 *Digitaria sanguinalis*

Planta anual, decumbente, 33-90cm de altura. Colmos floríferos geniculados na base, glabros; nós glabros ou pilosos. Bainhas de 4-5cm de comprimento, tricomas tuberculados, esparsos ou densos, em toda a extensão. Lâminas de 5-8cm comprimento, 0,3-0,6mm largura, linear-lanceoladas, planas, face abaxial e adaxial pilosas, tricomas tuberculados, densos ou esparsos, em toda a sua extensão, escabras nas margens. Lígula de 0,5-1mm de comprimento, membranosa, arredondada, denticulada. Panícula de 7-10cm de comprimento, ramos unilaterais em número de 4-10, de 7-10cm de comprimento; ráquis alada, 0,8mm de largura, glabra, margens escabras; Espiguetas em número de dois por nó, 2,5-3,2mm de comprimento, 0,7-0,9mm de largura, lanceoladas; gluma inferior presente, 0,2-0,3mm de comprimento, aguda; gluma superior 1,3-1,6mm de comprimento, 0,3-0,4mm de largura, até 1/2 do comprimento do lema inferior, aguda, pubescente, tricomas agudos, esbranquiçados, esparsos, nas margens, ultrapassando o ápice da gluma; lema inferior de 2,5-3,2mm de comprimento, 0,7-0,8mm de largura, nervuras eqüidistantes e não eqüidistantes, a central lisa e as

laterais escabras em toda a sua extensão, tricomas agudos, esbranquiçados, esparsos, não ultrapassando o ápice do lema; pálea inferior presente, 0,2mm de comprimento; antécio superior 2,4-3,1mm de comprimento, 0,6-0,8mm de largura, com flor bissexuada, lanceolado, agudo, com papilas em fileiras longitudinais, castanho claro na maturidade. Anteras 0,8mm de comprimento. Cariopse de 1,3-1,8mm de comprimento, 0,6mm de largura, zona do embrião menor do que 1/2 do comprimento da cariopse (Canto-Dorow, 2001b).

2.2 Chave para a identificação das espécies de *Digitaria* conhecidas como capim-colchão no Estado de São Paulo segundo Canto-Dorow (2004).

1. Presença de tricomas na ráquis.
2. Gluma I ausente; tricomas ultrapassando o ápice do lema I

.....***D. nuda***

a. espigueta, vista dorsal, sem gluma inferior; **b.** espigueta, vista ventral, com gluma superior

2'. Gluma I presente; tricomas não ultrapassando o ápice do lema I

.....***D. horizontalis***

a. espiguetas, vista dorsal, com gluma inferior na base; **b.** espiguetas, vista ventral, com gluma superior

1'. Ausência de tricomas na ráquis.

3 Gluma I ausente..... ***D. nuda***

3'. Gluma I presente.

4. Indumento igual nas espiguetas, somente tricomas macios nas margens.

5. Nervuras lisas no lema I; gluma II $\frac{1}{2}$ até $\frac{3}{4}$ do comprimento do lema II; lígula de 1,5-3mm de comprimento.....***D. ciliaris***

a. espiguetas, vista dorsal, com gluma inferior na base; **b.** espiguetas, vista ventral, com gluma superior

5'. Nervuras escabras no lema I; gluma II até $\frac{1}{2}$ do comprimento do lema II; lígula 0,5-1mm de comprimento.....***D. sanguinalis***

a. espiguetas, vista dorsal, com gluma inferior na base; **b.** espiguetas, vista ventral, com gluma superior

2.3 Seleção da flora daninha em áreas agrícolas

As plantas daninhas surgiram através de um processo dinâmico de evolução, adaptando-se aos distúrbios ambientais provocadas pela natureza, ou pelo homem, através da agricultura, sendo que, esta evolução continua até hoje, em resposta à utilização de produtos químicos no controle de plantas daninhas (Christoffoleti, 1998). Quando se utilizam os mesmos herbicidas ou herbicidas diferentes, mas com mesmo mecanismo de ação, de forma repetitiva, está se exercendo uma pressão de seleção. Este tipo de situação ocorre em sistemas intensivos de monocultivo, onde os herbicidas são aplicados com o objetivo de eliminar quase toda a comunidade de plantas daninhas incidentes (Christoffoleti, 2000). As duas formas principais de resposta das plantas daninhas, causada pela pressão de seleção dos herbicidas, é a mudança na flora pela seleção de espécies de plantas daninhas tolerantes, ou seleção intraespecífica de biótipos resistentes aos herbicidas (Christoffoleti, 1998).

A tolerância de plantas daninhas a herbicidas é resultado da capacidade inata da espécie em suportar aplicações de herbicidas, nas doses recomendadas, sem alterações marcantes em seu crescimento e/ou desenvolvimento. A suscetibilidade também é uma característica inata de uma espécie. Nesse caso, há alterações com efeitos marcantes no crescimento e desenvolvimento da planta, como resultado de sua incapacidade de suportar a ação do herbicida (Christoffoleti, 2000).

Já a resistência de plantas daninhas a herbicidas pode ser definida como a ocorrência natural da habilidade hereditária de alguns biótipos de plantas daninhas, dentro de uma população, os quais são capazes de sobreviver a um tratamento herbicida, que sob condições normais de uso,

controlaria efetivamente esta população de plantas daninhas (Oliveira & Constantin, 2001). A resistência não é uma característica comum inerente da população, mas foi selecionada por pressão de seleção (Oliveira & Constantin, 2001).

A hipótese do presente trabalho de pesquisa é que o uso repetitivo de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar tem causado pressão de seleção, induzindo a uma mudança na flora específica de capim-colchão, selecionando espécies mais tolerantes aos herbicidas convencionalmente utilizados na cultura. Desta forma, é descartada, neste trabalho, a hipótese de seleção de biótipos resistentes de capim-colchão a herbicidas.

2.4 Utilização de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar no Brasil

O controle de plantas daninhas na agricultura é feito através de diversos métodos, incluindo cultural, mecânico, físico e químico. No entanto, atualmente, o controle de plantas daninhas através de herbicidas é o principal método utilizado na agricultura, sendo que, no Brasil, as vendas de agroquímicos superaram no ano 2000 os 2.500 milhões de dólares, dos quais 52% foram herbicidas. A cultura de cana-de-açúcar foi uma das principais consumidoras de herbicidas, acumulando mais de 11% das vendas (SINDAG, 2001).

Os herbicidas mais recomendados para o controle de *Digitaria* spp. na cultura da cana-de-açúcar classificados de acordo com o mecanismo de ação com que atuam nas plantas são: ametrina, diuron, tebuthiuron, metribuzin, diuron + hexazinone (Inibidores de FSII), isoxaflutole (inibidores da síntese de caroteno), imazapic e imazapyr (inibidores de

ALS) principalmente aplicados em pré-emergência (Lorenzi, 2000b; Andrei, 2003).

2.5 Mecanismos de tolerância de plantas daninhas a herbicidas

A seletividade está relacionada à tolerância diferencial, e pode ser derivada de uma aplicação, na qual, o tempo ou o espaço separe duas espécies de plantas de sensibilidade semelhante. Na ausência desses dois casos, a seletividade pode ocorrer devido à atuação diferencial de um herbicida nas plantas, o que acontece basicamente porque estas diferem quanto a fatores relacionados à absorção, translocação e metabolismo (Oliveira & Constantin, 2001).

Existem pelo menos três mecanismos gerais que podem explicar a resistência e/ou tolerância de plantas daninhas a herbicidas, e influenciar o modo de ação destes compostos: baixa concentração do herbicida no local de ação, menor absorção e/ou translocação do herbicida, maior metabolização e/ou detoxificação do herbicida a substâncias menos fitotóxicas (Prado et al., 1990; Sherman et al., 1996), e perda de afinidade do herbicida pelo sítio de ação específico (Sherman et al., 1996).

2.5.1 Baixa concentração do herbicida no local de ação

Uma das condições necessárias para atuação de um herbicida é que ele alcance o local de ação na planta, em uma concentração suficiente para que ocorra o controle. As baixas concentrações de um herbicida no local de ação podem ocorrer devido a pequena retenção da calda do herbicida aplicado na superfície da folha, redução da absorção

e/ou translocação na planta, ou pela ocorrência de fenômenos de seqüestro 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 tolerância em inúmeras culturas e plantas daninhas (Hess, 1985; Ladlie, 1991).

A compartimentalização, compreendida como seqüestro do herbicida ou de seus metabólitos em um local específico da célula, pode levar a tolerância da planta daninha, pois, o herbicida não atinge o interior da organela alvo de sua atividade inibitória. A menor concentração do herbicida paraquat no citoplasma das células, e acúmulo do mesmo no vacúolo foi responsável pela tolerância a esse herbicida demonstrada por *Hordeum glaucum* (Preston et al., 1992). O seqüestro do diuron em outras organelas na cultura do algodão, com redução da quantidade do herbicida atingindo o sítio de ação, neste caso o cloroplasto, foi responsável pela tolerância das plantas de algodão ao diuron (Strang & Rogers, 1971).

2.5.2 Metabolização e/ou detoxificação do herbicida

A metabolização é um importante mecanismo de tolerância de plantas daninhas, sendo caracterizado pela capacidade das plantas em degradar o herbicida em componentes menos tóxicos, antes que o produto alcance o seu sítio de ação. Em plantas daninhas tolerantes ao grupo químico das uréias substituídas, somente dois mecanismos tem sido identificados. Redução da absorção e/ou translocação e metabolização do herbicida (detoxificação) (Menendez & Prado, 1997).

2.5.3 Alteração no local de ação dos herbicidas

A tolerância devido a alteração no sítio de ação dos herbicidas está baseada em alterações da proteína alvo do herbicida. Estas alterações são originárias de mutações que ocorrem naturalmente nas populações de plantas daninhas e não são provocadas pelo herbicida (Warwick, 1991).

A modificação no sítio de ação e metabolismo acelerado têm sido propostos como os mecanismos responsáveis pela tolerância das plantas daninhas aos herbicidas do grupo químico das triazinas (Gronwald, 1994). O grupo químico das triazinas age no fotossistema II (PSII), inibindo a fotossíntese. A inibição acontece pela ligação dos herbicidas desse grupo ao sítio de ligação da Q_B , na proteína D1 do fotossistema II, causando, por consequência, o bloqueio do transporte de elétrons de Q_A para Q_B , isso interrompe a fixação de CO_2 , e a produção de ATP e $NADPH_2$, os quais são essenciais para o crescimento das plantas. No caso das triazinas, a tolerância ocorre devido a diferentes conformações do sítio de ação destes herbicidas, na proteína D_1 , localizada na membrana tilacóide do cloroplasto. Assim, os herbicidas desse grupo não conseguem se ligar ao sítio de ligação da Q_B da proteína D_1 do fotossistema II (PSII), que se localiza nas membranas do tilacóides dos cloroplastos, não conseguindo desta forma bloquear o transporte de elétrons (Menendez, 1997).

2.6 Métodos utilizados para o estudo da tolerância de plantas daninhas a herbicidas

2.6.1 Estudo do nível da tolerância através de curvas de dose-resposta

A comprovação científica dos níveis de tolerância de espécies de plantas daninhas aos herbicidas pode ser feita através da construção de curva de dose-resposta, à partir de ensaios conduzidos em casa-de-vegetação. Este procedimento permite através de gráfico, a interpretação dos resultados de forma objetiva e possibilita a comparação adequada do comportamento de uma espécie frente a um herbicida aplicado em diversas doses (Cortez, 2000). Rayan (1970) desenvolveu metodologia de experimentação em condições de casa-de-vegetação, para comprovação científica da resistência de biótipos de plantas daninhas aos herbicidas pertencentes ao grupo químico das triazinas. Nesta metodologia, foram utilizadas diversas doses do herbicida em teste, geralmente em escala logarítmica, incluindo a dose comercial e várias doses acima e abaixo da recomendada.

Seefeldt et al. (1995) sugeriram o modelo log-logístico como método mais adequado para análise da curva de dose-resposta, sendo GR_{50} um dos parâmetros da equação. O índice GR_{50} representa a dose do herbicida necessária para reduzir 50% do crescimento de uma população de planta ("growth rate"), normalmente calculado à partir do acúmulo de biomassa ou porcentagem de controle. Este índice permite comparar o grau diferencial de suscetibilidade a herbicidas entre espécies tolerantes e suscetíveis (Cortez, 2000; Monqueiro et al., 2000; Christoffoleti, 2002), e também a determinação da seletividade de variedades tolerantes de culturas, comparadas com cultivares não melhorados para esta característica (Pornprom & Yong, 1997). O GR_{50} pode, portanto, ser usado para comparar a suscetibilidade diferencial entre espécies.

O modelo log-logístico proposto por Seefeldt et al. (1995) que, relaciona a resposta da planta (y) com a dose do herbicida (x) é a seguinte:

$$y = f(x) = C + \frac{D - C}{1 + \left(\frac{x}{GR_{50}}\right)^b} = C + \frac{D - C}{1 + \exp(b(\log(x) - \log(GR_{50})))}$$

sendo D o limite superior da curva; C o limite inferior da curva; b a declividade da curva, e GR_{50} a dose correspondente a 50% de resposta. O valor D corresponde à resposta média da testemunha e o valor C corresponde à resposta média com doses altas de herbicida. O parâmetro b descreve a declividade da curva em torno do GR_{50} .

2.6.2. Estudo da absorção, translocação e metabolismo com a utilização de herbicida radiomarcado com ^{14}C (^{14}C -herbicida).

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 plásmatica) ou nos tecidos vasculares por onde ocorrem a translocação do herbicida (Cortez, 2000). Sendo assim, 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.

A tolerância de plantas daninhas, em razão do metabolismo do herbicida a compostos não fitotóxicos, é um mecanismo de tolerância em que a planta degrada o herbicida antes que este cause danos irreversíveis à ela. Os produtos de 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., 1992).

Para os estudos da absorção, translocação e metabolismo dos herbicidas nas plantas são utilizados herbicidas radiomarcados (^{14}C -herbicida). O uso da técnica de marcação de moléculas com o radioisótopo ^{14}C permite realizar muitos estudos sobre o comportamento do herbicida na planta, fornecendo resultados confiáveis, de alta resolução e sensibilidade. Isto possibilita verificar a distribuição de herbicidas na planta e identificar os principais metabólitos formados durante o processo de degradação da molécula.

Os estudos de absorção e translocação de herbicidas são feitos utilizando-se ^{14}C -herbicidas através de aplicação na planta (via folha ou via raiz). Após cada período de incubação (horas ou dias) após a aplicação do herbicida, as plantas são coletadas e divididas em três partes: raízes, parte aérea e folha tratada (aplicação via folha) ou em duas partes: parte aérea e raiz (aplicação via raiz), posteriormente a radioatividade são medidas nas diferentes partes da planta por espectrometria de cintilação líquida (Prado et al., 1990; Dias, et al., 2003).

Os estudos de metabolismo são realizados identificando-se os metabólitos por co-cromatografia em TLC. As plantas utilizadas neste estudo são tratadas com ^{14}C -herbicida da mesma forma que as plantas

utilizadas no estudo de absorção e translocação (Prado et al., 1990). As diferentes partes das plantas: raízes, parte aérea e folha tratada (aplicação via folha) ou parte aérea e raiz (aplicação via raiz) são coletadas separadamente e moídas. O processo de extração do herbicida, é feito com a utilização de um extrator especificado para o herbicida estudado. Alíquotas do substrato obtido a partir da extração são aplicadas em placas de TLC de celulose microcristalina, padrões do herbicida estudado e de seus principais metabólitos também são aplicados nas placas como referência (co-cromatografia). Após a secagem, as placas são lidas em Radioscanner para localização e quantificação da radioatividade.

3 IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE ESPÉCIES DE CAPIM-COLCHÃO INFESTANTE DA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE SÃO PAULO, E EFICÁCIA DE HERBICIDAS NO CONTROLE DE *Digitaria nuda*

Resumo

O uso repetitivo de herbicidas dos grupos químicos das triazinas e uréias substituídas tem imposto uma pressão de seleção de espécies tolerantes de capim-colchão (*Digitaria* spp) a esses herbicidas, na cultura da cana-de-açúcar, causando o fenômeno de mudança de espécies, pela redução das populações suscetíveis de espécies de capim-colchão, e aumentando a proporção de espécies tolerantes desse gênero de planta daninha. A fim de elucidar cientificamente este fenômeno, sob condições de produção de cana no campo, foi desenvolvida esta pesquisa com os seguintes objetivos: a) avaliar a eficácia agronômica de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar no controle da *D. nuda* em condições de campo e b) identificação taxonômica das espécies de *Digitaria* selecionadas por herbicidas em áreas de aplicação repetitiva de herbicidas. No experimento de campo foram utilizados oito tratamentos herbicidas, aplicados em condições de pré-emergência. As avaliações de controle foram realizadas aos 15, 30 e 60 dias após a aplicação (DAA). A

identificação das espécies das populações de *Digitaria*, foram efetuadas, seguindo a chave analítica de identificação proposta por Canto-Dorow (2001b), através da observação das características morfológicas das plantas. A espécie *D. nuda* foi selecionada pela aplicação repetitiva dos herbicidas utilizados no controle de capim-colchão na cultura da cana-de-açúcar. A espécie *D. nuda* demonstrou, de maneira geral, ser controlada em níveis abaixo do esperado, pelos herbicidas diuron, tebuthiuron, diuron + hexazinone, imazapyr e imazapic. No entanto, os herbicidas ametrina, isoxaflutole e metribuzin apresentaram boa eficácia de controle até os 60 DAA.

TAXONOMIC IDENTIFICATION OF CRABGRASS SPECIES INFESTING SUGARCANE CROP IN SÃO PAULO STATE AND HERBICIDE EFFICACY TO CONTROL *Digitaria nuda*

Summary

The repetitive use of herbicides from the chemical groups triazines and substituted ureas has imposed a selection pressure of tolerant species of crabgrass (*Digitaria* spp) to herbicides, in the sugarcane crop, causing the phenomenon of weed species shift, by reducing the populations of susceptible crabgrass species and increasing the proportion of tolerant species of this weed genus. In order to elucidate

scientifically this phenomenon, under field growers conditions, it was developed this research with the following objectives: a) to evaluate the agronomic efficacy of herbicides used in the sugarcane crop to control *D. nuda* in field conditions and b) taxonomic identification of the *Digitaria* species selected by herbicides in areas that received repetitive applications of these herbicides. In the field experiments, eight herbicide treatments, applied in pre-emergence were used, and the control percentage was evaluated at 15, 30 and 60 days after herbicide application (DAA). The identification of species of the *Digitaria* population were carry out following the analytical identification key proposed by Canto-Dorow (2001b), through the observation of morphology characteristics of the plants. The specie *D. nuda* was selected by repetitive application the herbicides used to control crabgrass in the sugarcane crop. The specie *D. nuda* showed, in general, was controlled in a lower level, by the herbicides diuron, tebuthiuron, diuron + hexazinone, imazapyr and imazapic, however, the herbicides ametryne, isoxaflutole and metribuzin showed good efficacy to control until 60 DAA.

3.1 Introdução

O gênero *Digitaria* inclui cerca de 300 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios (Canto-Dorow, 2001a). O Brasil é o país das Américas com maior número de espécies de *Digitaria*, apresentando 26 nativas, das quais nove exclusivas, e 12 exóticas. A riqueza específica nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e

Nordeste, é mais ou menos equivalente, havendo um decréscimo expressivo na região Norte. Nessas regiões, as espécies habitam formações geralmente abertas como campos naturais, cerrados, sendo comum em locais alterados, algumas espécies tem sido utilizadas como forragem, outras destacam-se por serem plantas daninhas de culturas (Canto-Dorow & Longhi-Wagner, 2001).

No Estado de São Paulo foram identificadas 13 espécies, sendo que algumas destas espécies são muito parecidas entre si, e as características diferenciais não se encontram de forma constante, havendo tipos intermediários, que mesmo pessoas especializadas em taxonomia têm dificuldades em classificá-las. Ocorrendo um complexo de plantas do gênero *Digitaria* no Brasil, com diferenciação visual a campo bastante difícil, o nome vulgar (capim-colchão) é aplicado indistintamente, valendo mais os hábitos regionais, do que uma definição a nível de espécie (Kissmann, 1997). Desta forma, as espécies *Digitaria horizontalis* Willd., *Digitaria ciliaris* (Retz.) Koeler e *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. são conhecidas no Estado de São Paulo pelo nome vulgar de capim-colchão (Lorenzi, 2000a). A identificação taxômica destas espécies do gênero *Digitaria* conhecidas como capim-colchão só é possível com utilização de uma lente de aumento de no mínimo 25 vezes e são realizadas, principalmente, com base nas características morfológicas da espiguetas.

As espécies mais comuns, encontradas como planta daninha no Estado de São Paulo, são *Digitaria horizontalis* e *Digitaria ciliaris* (Lorenzi, 2000a). Estas plantas são altamente agressivas, como infestantes, relatada como problema em 60 países, infestando mais de 30 culturas de importância econômica. No Brasil constituem problema sério em muitas culturas de primavera e verão (Kissmann, 1997).

Os herbicidas recomendados para o controle dessas duas espécies são: ametrina, diuron, tebuthiuron, metribuzin, diuron + hexazinone, isoxaflutole, imazapyr e imazapic, principalmente aplicados em pré emergência (Lorenzi, 2000b; Andrei, 2003).

Recentemente, no entanto, tem-se observado falhas no controle do capim-colchão (*Digitaria* spp) em diversos campos de produção da cana-de-açúcar, onde os herbicidas dos grupos químicos das triazinas e uréias substituídas vinham sendo utilizados de forma repetitiva há vários anos (Dias et al., 2003).

Suspeita-se que esta aplicação repetitiva tem imposto uma pressão de seleção específica no gênero *Digitaria*, em áreas de cana-de-açúcar, de alta suscetibilidade a estes herbicidas. Assim, as espécies suscetíveis foram sendo substituídas por uma outra espécie de *Digitaria*, de maior tolerância a estes herbicidas.

Sendo assim, os objetivos do presente trabalho foram: a) avaliar a eficácia agronômica de herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar no controle da *D. nuda* em condições de campo e b) identificação taxonômica das espécies de *Digitaria* selecionadas por herbicidas em áreas de aplicação repetitiva de herbicidas.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Eficácia agronômica de herbicidas no controle de *Digitaria nuda*

O experimento foi instalado na Fazenda Santana, pertencente à Usina Costa Pinto, localizada no município de Piracicaba, Estado de São Paulo. Nesta área ocorreu após vários anos de uso de herbicidas

aumento significativo das infestações e redução gradual da eficácia de controle de capim-colchão pelos herbicidas, que geralmente controlavam esta planta daninha. Este fato foi relatado pelo histórico de controle do talhão de cana informado pelos técnicos da unidade de produção. O plantio da cana (variedade RB 855113) foi realizado em 16 de julho de 1999, em espaçamento de 1,40 m entre linha, e o experimento foi instalado no mês de julho de 2002, após ter sido realizado o terceiro corte da cana, e aplicação de vinhaça por aspersão ($300 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$). O solo da área experimental foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo, cuja análise física e química encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Análise⁽¹⁾ química e granulométrica do solo da área experimental

PH	M.O.	P	K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
	CaCl ₂ (mg dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)	Mmolc dm ⁻³						(%)
5,8	13	11	3,3	39	10	20	52	72	72
Areia Total (%)		Silte (%)		Argila Total (%)			Classe de textura		
78		2		20			Média-argilosa		

⁽¹⁾ Resultados fornecidos pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas - ESALQ/USP

O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso, quatro repetições e 9 tratamentos. A parcela foi constituída de 7 metros de largura por 9 metros de comprimento, com dois metros de bordadura lateral. Os tratamentos utilizados encontram-se na Tabela 2. Os herbicidas foram aplicados em pré emergência das plantas daninhas e da cultura, com um pulverizador costal pressurizado, com ponta de pulverização tipo leque (Teejet 80.015E), com jato calibrado numa altura

média de 50 cm da superfície alvo. Os herbicidas foram aplicados dissolvidos em água a um volume de pulverização correspondente a 300 L ha⁻¹ de calda, numa pressão de 40lb pol⁻². A temperatura do ar no início da aplicação era de 25°C e do solo de 22°C, sendo a umidade relativa do ar de 45%. O solo encontrava-se úmido no momento da aplicação, devido a aplicação de vinhaça (300 m³ ha⁻¹).

Tabela 2. Tratamentos utilizados no experimento de eficácia de herbicidas

Herbicidas		Concentração	Dose
Nome comum	Nome comercial	g L ⁻¹ ou g kg ⁻¹	i.a. kg ha ⁻¹
Ametrina	Herbipak	500	2,5
Diuron	Karmex	800	2,4
Tebuthiuron	Combine	500	1,2
Diuron + hexazinone	Velpar K	468+132	0,936+0,264
Imazapyr	Contain	250	0,175
Isoxaflutole	Provence	750	0,1125
Metribuzin	Sencor	480	1,92
Imazapic	Plateau	700	0,098
Testemunha*	----	----	----

* Na testemunha não foi efetuado nenhum tipo de controle

O efeito dos tratamentos sobre o crescimento das plantas foi avaliado como a porcentagem de controle visual, aos 15, 30 e 60 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA), considerando-se 0% para nenhum controle, e 100% para controle total, comparados à testemunha sem aplicação de herbicida. Os dados obtidos foram submetidos à

análise de variância. Constatadas diferenças significativas, os tratamentos foram comparados entre si através do teste de Tukey (5%).

3.2.2 Identificação taxonômica das espécies de capim-colchão

3.2.2.1 Local de coleta

Diante dos inúmeros casos suspeitos de tolerância, apontados em várias localidades produtoras de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, foram selecionadas duas áreas caracterizadas pela utilização intensiva de herbicidas, como principal técnica de controle de plantas daninhas para coleta de sementes, e identificação de populações de capim-colchão com suspeita de tolerância, e uma área cultivada com a cultura de fumo, onde não havia sido realizada aplicação de herbicidas utilizados para o controle de planta daninha na cultura de cana-de-açúcar, área na qual esperava-se que não tenha ocorrido seleção específica no gênero *Digitaria*.

Para as duas áreas produtoras de cana-de-açúcar que foram selecionadas foi levantado o histórico da utilização de herbicidas (Tabela 3 e 4), com o fim de utilizá-lo como subsídio ao monitoramento e análise evolutiva da pressão de seleção específica no gênero *Digitaria*.

As sementes foram coletadas nas seguintes áreas:

1-) Usina Costa Pinto, localizada no município de Piracicaba, Estado de São Paulo. A coleta de sementes foi feita após instalação do experimento de campo, descrito anteriormente, cujos tratamentos estão descritos na Tabela 2. Foram coletadas as sementes das plantas que não

foram controladas pelos tratamentos. O histórico da utilização de herbicidas desta área, está descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Histórico da utilização de herbicidas e doses, na área da Usina Costa Pinto, onde foram coletadas amostras de populações de capim-colchão após instalação do experimento de campo.

Ano	Estágio da cana-de-açúcar	Herbicidas	Nome comercial	Dose i.a. (kg ha ⁻¹)
1999	CP-AM ⁽¹⁾	Ametryne	Gesapax 500	2,0
		MSMA	MSMA 720	1,152
2000	1C ⁽²⁾	Ametryne	Gesapax 500	2,0
		Imazapyr	Contain	0,109
2001	2C	Imazapyr	Contain	0,109
2002	3C	Sulfentrazone	Boral	0,713
		Isoxaflutole	Provence	0,111
		Imazapic	Plateau	0,146

⁽¹⁾ Cana planta com ciclo de ano e meio (18 meses)

⁽²⁾ 2C, 3C e 4C, são os números de cortes (colheitas)

2-) Usina EQUIPAV, localizada no município de Promissão, Estado de São Paulo, na qual foram coletadas sementes de populações com suspeita de tolerância, localizadas na Fazenda Brasília, área de cultivo da cana-de-açúcar. O histórico de utilização de herbicidas está descrito na Tabela 4.

3-) Estação Experimental da Cooperativa dos Fornecedores de Cana-de-açúcar de Piracicaba, localizada no município de Tietê, Estado de São Paulo, na qual foi coletada uma população de *Digitaria*, em área que nunca recebeu aplicação de herbicidas utilizados para o controle de planta daninha na cultura de cana-de-açúcar. Nesta área o produtor fazia,

há vários anos, o cultivo orgânico de fumo, portanto, durante este período não havia histórico de uso de herbicida. Desta forma, considerou-se a hipótese de que nesta área a população de capim-colchão era constituída por uma espécie suscetível aos herbicidas de cana-de-açúcar.

Tabela 4. Histórico da utilização de herbicidas e doses na área da Usina EQUIPAV, onde foram coletadas amostras de populações de capim-colchão com suspeita de tolerância.

Ano	Estágio da cana-de-açúcar	Herbicidas	Nome comercial	Dose i.a. (kg ha ⁻¹)
1997	CP-AM ⁽¹⁾	MSMA	MSMA 720	1,152
1998	2C ⁽²⁾	Diuron + hexazinone	Velpar K	0,936 + 0,264
		Ametrina	Gesapax	2,0
		Diuron	Cention	1,5
1999	3C	Diuron + hexazinone	Velpar K	0,936 + 0,264
2000	4C	Diuron + hexazinone	Velpar K	0,936 + 0,264
		Ametrina	Gesapax	1,25
		Diuron	Karmex 500	2,5
2001	5C	Diuron + hexazinone	Velpar K	0,936 + 0,264
		Ametrina	Gesapax	1,25
		Diuron	Karmex 500	2,5

⁽¹⁾ Cana planta com ciclo de ano e meio (18 meses)

⁽²⁾ 2C, 3C, 4C e 5C, são os números de cortes (colheitas)

3.2.2.2 Identificação das espécies

Foi efetuada a identificação das espécies das populações de *Digitaria* coletadas, seguindo a chave analítica de identificação proposta por Canto-Dorow (2001b). Na identificação foram utilizadas plantas

herborizadas e as características utilizadas para diferenciação das espécies estão descritas na Tabela 5 e foram examinadas com a utilização de lupa de X25.

Tabela 5. Quadro comparativo de características morfológicas das espécies de *Digitaria* conhecidas como capim-colchão (Canto-Dorow, 2004).

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

Na Usina Costa Pinto foram coletadas cerca de 30 exemplares das plantas que não foram controladas em cada tratamento. As sementes foram colhidas e semeadas separadamente por tratamento em vasos em casa-de-vegetação, após o florescimento, 4 plantas de cada tratamento foram herborizadas e identificadas. Na Usina EQUIPAV foram coletadas cerca de 50 exemplares das plantas com suspeita de pertencerem à

espécie tolerante e na Estação Experimental da Cooperativa dos Fornecedores de Cana-de-açúcar de Piracicaba, foram coletas cerca de 50 exemplares. As sementes das plantas foram colhidas e semeadas em vasos em casa-de-vegetação, após o florescimento, 4 plantas de cada área foram herborizadas e identificadas.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Eficácia agrônômica de herbicidas no controle de *Digitaria nuda*

Através do experimento de campo foi possível conhecer, de forma qualitativa, a tolerância da população de capim-colchão, presente na Usina Costa Pinto, a um ou mais herbicidas utilizados no controle desta espécie de capim-colchão na cultura da cana-de-açúcar. Os resultados de porcentagem de controle, aos 15, 30 e 60 dias após aplicação dos herbicidas (DAA), estão descritos na Tabela 6.

Nas avaliações realizadas aos 15 DAA, não foram verificadas diferenças significativas entre os herbicidas, sendo que, todos os herbicidas apresentaram níveis de controle, em torno de 90%. Aos 30 DAA, foram verificadas diferenças entre os herbicidas, sendo que, o imazapic apresentou o menor nível de controle (5%).

O herbicida metribuzin apresentou maior nível de controle (99%), seguido do diuron +hexazinone (95% de controle), isoxaflutole (87%), ametryne (86%) e tebuthiuron (83%), respectivamente. O herbicida diuron apresentou um nível de controle de 68%, não diferenciando dos que apresentaram maior e menor nível de controle. Estes resultados evidenciam que inicialmente todos os herbicidas controlam a *D. nuda*,

porém, o residual do diuron, imazapyr e imazapic é inferior a 30 dias após a aplicação, sendo insuficiente para controlar as plantas daninhas durante o período crítico de competição da cana-de-açúcar.

Tabela 6. Porcentagem de controle visual⁽¹⁾ aos 15, 30 e 60 DAA⁽²⁾, do experimento de campo instalado na Usina Costa Pinto, para a população de capim-colchão com suspeita de tolerância aos herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar.

Herbicidas	Dose i.a. kg ha ⁻¹	Avaliação % de controle (DAA)		
		15	30	60
Ametrina	2,5	99 a	86 a	93 a
Diuron	2,4	95 a	68 ab	3 d
Tebuthiuron	1,2	99 a	83 a	33 cd
Diuron + hexazinone	0,936+0,264	89 a	95 a	55 bc
Imazapyr	0,175	80 a	35 bc	6 d
Isoxaflutole	0,1125	80 a	87 a	93 a
Metribuzin	1,92	93 a	99 a	97 a
Imazapic	0,098	94 a	5 c	0 d
Testemunha	----	0 b	0 c	0 d
C.V.		10,7	28,1	40,3
D.M.S (5%)		20,5	41,3	33,1

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

⁽²⁾ DAA = dias após aplicação dos herbicidas

D.M.S. (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas

Letras diferentes dentro de cada avaliação (colunas) demonstram diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey (p<0,05).

Na avaliação realizada aos 60 DAA, verificou-se um menor nível de controle por todos os herbicidas testados, em relação às avaliações realizadas aos 15 e 30 DAA. O herbicida metribuzin manteve seu nível de controle de 97%, sendo considerado o maior nível de controle, seguido da ametrina e isoxaflutole com 93% de controle. O herbicida imazapic apresentou o pior nível de controle tanto aos 30 DAA como aos 60 DAA. Aos 60 DAA, verificou-se uma drástica redução nos níveis de controle do diuron, seguido do imazapyr, tebuthiuron e diuron + hexazinone, respectivamente, em relação à avaliação realizada aos 30 DAA.

De maneira geral, observou-se que o imazapyr e imazapic foram os herbicidas que apresentaram os menores níveis de controle, e o metribuzin, ametrina e isoxaflutole foram os herbicidas que apresentaram maiores níveis de controle em todas as avaliações realizadas.

Verificou-se neste experimento que os herbicidas pertencentes aos grupos químicos das imidazolinonas (imazapyr e imazapic), uréias substituídas (diuron e tebuthiuron) não foram eficientes no controle da população de capim-colchão presente na Usina Costa Pinto. Já os herbicidas dos grupos químicos das triazinas (ametrina), triazinonas (metribuzin) e do grupo químico dos isoxazolinonas (isoxaflutole) foram os herbicidas que apresentaram os melhores níveis de controle.

Embora os herbicidas ametrina, metribuzin, diuron e tebuthiuron tenham o mesmo mecanismo de ação, o sítio específico de ação destes herbicidas são diferenciados (Christoffoleti et al., 2001). Portanto, esta pode ser a razão dos herbicidas ametrina e metribuzin, que apresentam mesmo sítio de ação (Pfister et al., 1981; Oettmeier et al., 1984) serem efetivos para o controle da *D. nuda* e dos herbicidas diuron e tebuthiuron não serem efetivos, pois o sítio de ação destes herbicidas são diferentes.

Alguns dos herbicidas utilizados neste experimento foram testados com aplicação em pré-emergência para as espécies *Digitaria horizontalis* e *Digitaria sanguinalis* (Lorenzi, 2000b). Sendo que nestes experimentos, a espécie *D. horizontalis* demonstrou-se altamente suscetível (mais que 95% de controle) aos herbicidas tebuthiuron, diuron + hexazinone, imazapic e imazapyr; suscetível (85 a 95 % de controle) aos herbicidas ametrina, diuron e isoxaflutole e pouco suscetível (menos que 50 % de controle) ao metribuzin. A espécie *D. sanguinalis* demonstrou-se altamente suscetível ao diuron + hexazinone; suscetível aos herbicidas ametrina e diuron; pouco suscetível ao metribuzin.

A partir disto, pode ser observado que os herbicidas que apresentaram os melhores níveis de controle para a espécie *D. horizontalis* (tebuthiuron, diuron + hexazinone, imazapic e imazapyr) foram os herbicidas que mostraram-se menos efetivos no controle da *D. nuda*. Já o herbicida metribuzin pelo qual as espécies *D. sanguinalis* e *D. horizontalis* mostraram-se pouco suscetível, foi um dos herbicidas mais efetivos no controle da *D. nuda*. Comprovando assim, a diferença da sensibilidade da espécie *D. nuda* aos herbicidas normalmente recomendados para o controle de capim-colchão na cana-de-açúcar.

3.3.2 Identificação taxonômica das espécies de capim-colchão

As espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp) encontradas nas 3 áreas estudadas de acordo com a observação das características morfológicas descritas na Tabela 5, estão descritas na Tabela 7.

Foram encontradas duas espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp), *Digitaria ciliaris* e *Digitaria nuda*, sendo que, a *Digitaria ciliaris* já havia sido citada para o Estado de São Paulo (Lorenzi, 2000a; Canto-

Dorow, 2001a), porém a *Digitaria nuda* foi então pela primeira vez citada como infestante para o Estado.

Na área produtora de fumo, onde não havia histórico de aplicação de herbicidas de cana-de-açúcar, a espécie encontrada foi a *D. ciliaris*.

Na EQUIPAV e na Usina Costa Pinto, áreas produtoras de cana-de-açúcar onde estão ocorrendo falhas no controle do capim-colchão, a espécie encontrada foi a *D. nuda*.

Tabela 7. Espécies de capim-colchão (*Digitaria* spp) encontradas nas áreas estudadas, seguindo-se a chave de identificação proposta por Canto-Dorow (2001 b).

Locais de coleta	Espécie
Usina Costa Pinto - Piracicaba/S.P.	<i>Digitaria nuda</i>
EQUIPAV - Fazenda Brasília - Promissão/ S.P.	<i>Digitaria nuda</i>
Cooperativa dos Produtores de Cana-de-açúcar - Cultura de fumo - Tietê/S.P.	<i>Digitaria ciliaris</i>

Obseando-se os históricos das áreas produtoras de cana-de-açúcar, pode-se observar que, na Usina EQUIPAV ocorreu a aplicação repetitiva durante cinco anos dos herbicidas do grupo químico das uréias substituídas (diuron + hexazinone e diuron), e das triazinas (ametrina).

Provavelmente esta aplicação repetitiva foi responsável pela pressão de seleção imposta ao gênero *Digitaria* nesta área. Na Usina Costa Pinto, embora não relatado na Tabela 3, foi relatado por técnicos

da unidade que foi feita a aplicação repetitiva destes herbicidas em anos anteriores aos apresentados no histórico (Tabela 3).

Provavelmente a *Digitaria ciliaris*, espécie predominante nas áreas de cana-de-açúcar, de alta suscetibilidade aos herbicidas do grupo químico das triazinas e uréias substituídas, foi sendo substituída pela *Digitaria nuda*, de maior tolerância a estes herbicidas, devido à pressão de seleção imposta pela aplicação repetitiva desses herbicidas. Já na área produtora de fumo, onde não havia sido aplicado estes herbicidas a espécie identificada foi a *D. ciliaris*, confirmando a hipótese de dinâmica populacional de mudança de espécies imposta pelos herbicidas.

A *Digitaria nuda*, ocorre em regiões tropicais de todos os continentes, sendo aparentemente mais abundante na África (Veldkamp, 1973), para onde foi originalmente descrita. A *D. nuda* já havia sido citada para o Rio Grande do Sul por Cavalheiro & Barreto (1981), sendo considerada adventícia no Estado. Esta espécie ocorre em locais de baixa altitude, estéreis, aparentemente preferindo solos arenosos (Veldkamp, 1973; Cavalheiro & Barreto, 1981). A *D. nuda* caracteriza-se por apresentar espiguetas com pelos proeminentes sobre seu ápice, e gluma inferior ausente; lâminas glabras, e raque sem pelos hispídeos. *D. nuda* é afim a *D. horizontalis*, sendo que, a *D. horizontalis* diferencia-se por apresentar espiguetas com pelos curtos e raque com pelos hispídeos de base tuberculada (Cavalheiro & Barreto, 1981).

D. ciliaris é muito afim a *D. sanguinalis*, sendo que a campo dificilmente podem ser diferenciadas através de observação a olho nú. *D. sanguinalis* diferencia-se por apresentar lígula de 0,6-1,0 mm de comprimento; gluma superior no máximo tão longa quanto a metade do comprimento da espiguetas, e lema estéril com nervuras laterais à nervura central, muito escabrosas (Cavalheiro & Barreto, 1981). A *D. ciliaris*

habita geralmente locais modificados, como jardins, lavouras, beira de estradas e terrenos baldios, pouco comum em campo nativo. Ocorre em solos secos, arenosos ou areno-argiloso, sendo menos freqüentes em solos orgânicos. A *D. sanguinalis* é mais freqüente na região Sul do país, sendo nativa na Europa, e foi introduzida em várias partes do mundo. Habita geralmente solos arenosos, terrenos modificados, beira de estradas, campo pastoreado e hortas.

D. horizontalis, *D. nuda*, *D. ciliaris* e *D. sanguinalis* são muito parecidas morfologicamente, sendo que, a campo dificilmente podem ser diferenciadas. *D. nuda*, *D. ciliaris* e *D. sanguinalis* diferenciam-se da *D. horizontalis* por não apresentarem pelos de base tuberculada sobre a raque. *D. ciliaris* e *D. sanguinalis* diferenciam-se também pelo maior tamanho das espiguetas.

A correta determinação das espécies que compõem os campos naturais é de grande importância para estudos fitossociológicos, ecológicos e agronômicos. A bibliografia paulista é deficiente para identificação da flora agrostológica, fornecendo, dessa forma, um sério obstáculo para realização dos estudos acima mencionados, pois faltam profissionais especializados na identificação de gramíneas.

3.4 Conclusões

A espécie de capim-colchão *D. nuda* foi selecionada pela aplicação repetitiva dos herbicidas utilizados no controle desta planta daninha na cultura da cana-de-açúcar, caracterizando um processo de dinâmica populacional de mudança específica de plantas daninhas tolerantes a herbicidas. A espécie *D. nuda* demonstrou ser, de maneira geral,

controlada em níveis abaixo do esperado, pelos herbicidas diuron, tebuthiuron, diuron + hexazinone, imazapyr e imazapic. No entanto, os herbicidas ametrina, isoxaflutole e metribuzin apresentaram boa eficácia de controle até os 60 dias após aplicação. Sendo assim, é importante que os produtores de cana-de-açúcar façam a identificação correta das espécies de capim-colchão em suas lavouras, e assim utilizar estratégias de manejo com recomendações de herbicidas mais indicados para manejo da espécie presente na área. A identificação correta das espécies de capim-colchão presente em sua área é importante, principalmente para produtores tradicionais, que vem utilizando o controle químico de plantas daninhas há muito tempo, para que assim seja conhecido a nível de seleção específica de capim-colchão em sua propriedade.

4. CURVAS DE DOSE RESPOSTA DE DUAS ESPÉCIES DE CAPIM-COLCHÃO A HERBICIDAS UTILIZADOS NA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

O objetivo desta pesquisa foi comparar a tolerância diferencial de duas espécies de capim-colchão (*Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris*) a herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar, através de curvas de dose-resposta. No primeiro experimento foram utilizadas duas espécies de capim-colchão (*Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris*) e oito tratamentos herbicidas, aplicados em condições de pré-emergência. As avaliações de controle foram realizadas aos 14 e 21 dias após a aplicação (DAA). No segundo experimento foi determinado o nível de tolerância, por meio de curva de dose-resposta, das espécies *D. nuda* e *D. ciliaris*, aos herbicidas imazapyr, tebuthiuron, ametrina e metribuzin. Os herbicidas foram aplicados em condições de pré emergência, em doses correspondentes a

múltiplos de 0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 da dose recomendada para aplicação de campo. A partir dos resultados da massa seca da parte aérea coletadas aos 21 DAA, foi feito o ajuste das curvas de dose-resposta. Pelos resultados obtidos, todos os herbicidas foram eficientes no controle de *D. ciliaris*. No controle da *Digitaria nuda*, os melhores resultados foram obtidos com os herbicidas ametrina, metribuzin e isoxaflutole. A relação (T/S) entre a dose requerida para reduzir 50% da massa seca (GR₅₀), aos 21 DAA, da espécie *D. nuda* (T), pelo GR₅₀ da *D. ciliaris* (S) foi de 16, para os herbicida imazapyr, e 6,3 para o tebuthiuron, demonstrando sensibilidade diferencial entre as espécies. Para o herbicida ametrina a relação T/S foi de 1,1, demonstrando que a espécie *D. nuda* não é tolerante a este herbicida. Para o metribuzin, na dose de campo, 1,92 kg i.a. ha⁻¹, a redução de massa seca foi de 80 e 90%, para *D. nuda* e *D. ciliaris*, respectivamente. Mesmo sendo controlada pelo metribuzin, a *D. nuda* apresentou um nível maior de tolerância a este herbicida, sendo esta tolerância confirmada pela relação T/S de 14,4. No presente trabalho pode-se concluir que, a espécie *D. nuda* é mais tolerante aos herbicidas inibidores de ALS e uréias substituídas, quando comparada a *D. ciliaris*. Provavelmente, a espécie *D. nuda* foi selecionada no campo pela utilização repetitiva destes herbicidas.

Dose-response curves of two species of crabgrass to herbicides used in the sugarcane crop.

Summary

The objective of this research was to compare the differential tolerance of two species of crabgrass (*Digitaria nuda* and *Digitaria ciliaris*) to herbicides used in the sugarcane crop, through dose-response curves. In the first experiment, two crabgrass species (*Digitaria nuda* and *Digitaria ciliaris*), and eight herbicide treatments, applied in pre-emergence were used, and the control percentage was evaluated at 14 and 21 days after herbicide application (DAA). In the second experiment, it was determined the level of tolerance through dose-response curve, of the species *D. nuda* and *D. ciliaris*, to the herbicides imazapyr, tebuthiuron, ametryne and metribuzin. The herbicides were applied in pre-emergence, at multiples rate of 0.0; 0.25; 0.5; 1.0; 2.0 and 4.0 of the recommended field rates. From the results of dry biomass, sampled at 21 DAA, it was built the dose-response curves. All of the herbicides studied were efficient in the control of *D. ciliaris*, however, for *D. nuda* the best results were obtained only with the herbicides ametryne, metribuzin and isoxaflutole. The rate (T/S) between the rate required to reduce 50% of the plant dry biomass

(GR₅₀), at 21 DAA, of the species *D. nuda* (T), by the GR₅₀ of *D. ciliaris* (S) was 16, for the herbicide imazapyr, and 6.3 for tebuthiuron, showing differential susceptibility of the species, however, for ametryne the rate T/S was 1.1, showing that the species *D. nuda* was not tolerant to this herbicide. For metribuzin, at the field recommended dose at 1.92 kg a.i. ha⁻¹, the reduction of dry biomass was 80 and 90% to *D. nuda* and *D. ciliaris*, respectively. Even though, it was controlled by metribuzin, *D. nuda* presented a higher level of tolerance to this herbicide, being this confirmed by rate T/S of 14.4. As general conclusion of the research, it can be stated that, the species *D. nuda* is more tolerant to ALS inhibiting herbicides and substituted urea, when compared to *D. ciliaris*. Probably, the species *D. nuda* was selected in the field by the repetitive use of these herbicides.

4.1 Introdução

A seleção de espécies de plantas daninhas tolerantes a herbicidas é um fenômeno que ocorre em praticamente todas as áreas agricultáveis no mundo, onde o uso intensivo de produtos químicos para o controle de plantas daninhas ocorre. A aplicação repetitiva de um ou mais herbicidas, com o mesmo mecanismo de ação, em uma população de plantas daninhas, seleciona os indivíduos de espécies com habilidade em

sobreviver aos tratamentos herbicidas (Jasieniuk et al., 1996). Este fenômeno caracteriza uma pressão de seleção, causada pelo uso intensivo do herbicida em uma população, e contribui para o aumento da proporção de indivíduos tolerantes para a próxima geração (Hidayat & Preston, 2001).

Na década de 70, o herbicida trifluralina foi utilizado continuamente, para controle de gramíneas em lavouras de soja no Brasil, até que em muitas áreas ocorreu a seleção do picão-preto (*Bidens pilosa*), tolerante a este herbicida, tornando-se necessário o uso alternativo da mistura metribuzin + trifluralina, para seu controle. Posteriormente, o uso continuado dessa mistura resultou na seleção da planta daninha leiteiro (*Euphorbia heterophylla*), a qual é tolerante aos dois herbicidas da mistura. Desta forma, fica comprovado que a aplicação repetitiva do mesmo herbicida em anos consecutivos em uma área gera um processo efetivo de seleção de espécies, que anteriormente eram consideradas de rara ocorrência, que passam a dominar a comunidade de plantas daninhas na área, devido a sua tolerância ao herbicida frequentemente utilizado (Gassen & Hass, 2001).

O capim-colchão é uma monocotiledonea, pertencente a família Poacea, considerada como uma das mais importantes plantas daninhas infestantes na cultura de cana-de-açúcar no Brasil. No entanto, o controle químico desta planta daninha é realizado pelos produtores de cana-de-açúcar, sem a preocupação de identificação das espécies na área,

partindo-se do suposto, que todos os herbicidas recomendados para o controle desta planta daninha apresentam a mesma eficácia para todas as espécies de capim-colchão. Embora, os herbicidas durante o seu processo de registro tenham sido testados e recomendados para as espécies *Digitaria horizontalis* Willd. e *Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel., existem outras espécies de capim-colchão no Brasil. Os herbicidas recomendados para o controle dessas duas espécies são: ametrina, diuron, tebuthiuron, metribuzin, diuron + hexazinone, isoxaflutole, imazapyr e imazapic, principalmente aplicados em condições de pré emergência (Lorenzi, 2000b).

Recentemente, no entanto, tem-se observado, em algumas áreas de produção comercial de cana-de-açúcar, falhas no controle do capim-colchão (*Digitaria* spp), onde principalmente os herbicidas dos grupos químicos das triazinas, e uréias substituídas vinham sendo utilizados, de forma repetitiva há vários anos (Dias et al., 2003). Suspeita-se, que as populações que foram selecionadas por estes herbicidas, são constituídas por diferentes espécies de capim-colchão, sendo que, provavelmente a *D. nuda* é a espécie de capim-colchão mais tolerante.

No entanto, até o momento não está claro na literatura a quantificação da tolerância diferencial destas espécies aos herbicidas recomendados para o capim-colchão. Sendo assim, foi desenvolvida a presente pesquisa com os objetivos de comparar a suscetibilidade das espécies *D. nuda* e *D. ciliaris* aos herbicidas do grupo químico das

triazinas, uréias substituídas, imidazolinonas, triazinonas e aos herbicidas, cujo mecanismo de ação é a inibição da síntese de caroteno e quantificar o nível de tolerância das espécies através da elaboração de curvas de dose-resposta.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Fonte de sementes das espécies de capim-colchão

A população suscetível foi coletada em uma área sem histórico de aplicação de herbicidas em Piracicaba, S.P. Esta área foi cultivada por muitos anos com a cultura de fumo orgânico, ou seja, o controle de plantas daninhas foi feito por métodos não químico de controle. Esta população foi submetida a análise taxonômica (vide capítulo 3), e identificada como *Digitaria ciliaris*. A população tolerante foi coletada em uma área cultivada com cana-de-açúcar em Piracicaba, S.P., caracterizada pelo uso de herbicidas dos grupos químicos das triazinas e uréias substituídas durante sete anos, sendo identificada como *Digitaria nuda*. O histórico da utilização de herbicidas encontra-se descrito no capítulo 3, sendo que, a comunidade de capim-colchão nesta área foi submetida a intenso processo de pressão de seleção.

4.2.2 Avaliação da eficácia de controle das espécies de capim-colchão através de herbicidas (casa-de-vegetação)

Os experimentos foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação na, Universidade de São Paulo, Piracicaba, S.P.. Aproximadamente 10 sementes de cada espécie foram semeadas em vasos com capacidade de 500 mL, contendo solo autoclavado. A análise química e granulométrica do solo encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Análise⁽¹⁾ química e granulométrica do substrato utilizado no experimento

pH	M.O.	P	K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
CaCl ₂	(mg dm ⁻³)	(mg dm ⁻³)	Mmolc dm ⁻³						(%)
5,8	13	11	3,3	39	10	20	52	72	72
Areia Total (%)		Silte (%)		Argila Total (%)		Classe de textura			
78		2		20		média-argilosa			

⁽¹⁾ Resultados fornecidos pelo Laboratório de Análises de Solos do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas - ESALQ/USP

Os vasos foram irrigados diariamente visando a manutenção de umidade satisfatória. A aplicação dos herbicidas no solo foi feita com pulverizador pressurizado, com ar comprimido, na pressão de 207 kPa, instalado em laboratório, utilizando uma ponta de pulverização tipo leque (Teejet 80.015E), e volume de calda de 300 L ha⁻¹. Foi estabelecido um tratamento testemunha, que as plantas foram pulverizadas com água. As

plantas foram mantidas em casa-de-vegetação por 21 dias. O delineamento experimental utilizado foi de blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições. As doses dos herbicidas, quantificadas em ingrediente ativo (i.a.) foram: ametrina, $2,0 \text{ kg ha}^{-1}$; diuron, $2,4 \text{ Kg ha}^{-1}$; tebuthiuron, $1,0 \text{ Kg ha}^{-1}$; diuron + hexazinone, $0,936+0,264 \text{ Kg ha}^{-1}$; imazapyr, $0,125 \text{ Kg ha}^{-1}$; isoxaflutole, $0,112 \text{ Kg ha}^{-1}$; metribuzin, $1,92 \text{ Kg ha}^{-1}$ e imazapic, $0,105 \text{ Kg ha}^{-1}$.

O efeito dos tratamentos sobre o crescimento das plantas foi avaliado como a porcentagem de controle visual, aos 14 e 21 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA), considerando-se 0% para nenhum controle, e 100% para controle total, comparados à testemunha sem aplicação de herbicida. A massa seca da parte aérea foi avaliada aos 21 DAA. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Constatadas diferenças significativas, os tratamentos foram comparados entre si através do teste de Tukey (5%).

4.2.3 Curvas de dose-resposta dos herbicidas imazapyr, tebuthiuron, ametrina e metribuzin para duas espécies de capim-colchão

Os experimentos de curva de dose-resposta foram conduzidos em casa-de-vegetação, e instalados da mesma forma descrita anteriormente (item 4.2.2). Os herbicidas imazapyr, tebuthiuron, ametrina e metribuzin foram aplicados em pré emergência. As doses de herbicidas aplicadas

nos vasos foram múltiplos de 0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 da dose recomendada no campo. A dose de campo considerada foi de 2,5 kg ha⁻¹ para ametrina, 0,175 kg ha⁻¹ para imazapyr; 1,92 kg ha⁻¹ para metribuzin e; 1,2 kg ha⁻¹ para o tebuthiuron. A massa seca da parte aérea foi avaliada aos 21 DAA. O delineamento experimental utilizado foi de blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições. Os dados apresentados são as médias de dois experimentos, já que a análise de variância indicou que não houve diferença significativa entre os experimentos. A relação entre a massa seca e a dose de herbicida foi descrita por uma equação não linear proposto por Seefeldt et al. (1995):

$$y = f(x) = C + \frac{D - C}{1 + \left(\frac{x}{GR_{50}}\right)^b} = C + \frac{D - C}{1 + \exp(b(\log(x) - \log(GR_{50})))}$$

Onde C = limite inferior da curva, D = limite superior; b = declividade e GR₅₀ = dose correspondente a 50% de resposta. O valor D corresponde à resposta média da testemunha e o valor C corresponde à resposta média com doses altas de herbicida. O parâmetro b descreve a declividade da curva em torno do GR₅₀. Para o ajuste das equações e obtenção dos parâmetros estatísticos foi utilizado o procedimento PROC NLIN do SAS.

4.3 Resultados e Discussão

Os resultados de porcentagem de controle aos 14 e 21 (DAA) estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Porcentagem de controle visual⁽¹⁾ aos 14 e 21 DAA⁽²⁾ para as espécies *D. ciliaris* e *D. nuda*.

Herbicidas	Dose i.a. (kg ha ⁻¹)	Espécies			
		<i>D. ciliaris</i>		<i>D. nuda</i>	
		Avaliações (DAA)		Avaliações (DAA)	
		14	21	14	21
Ametryne	2,0	97a	98a	96a	95a
Diuron	2,4	96a	90b	75d	73ab
Tebuthiuron	1,0	95a	100a	91b	77ab
Diuron + hexazinone	0,936+0,264	95a	100a	91b	61ab
Imazapyr	0,125	93a	100a	0e	45b
Isoxaflutole	0,112	95a	100a	85c	97a
Metribuzin	1,92	94a	100a	75d	99a
Imazapic	0,105	85b	100a	0e	49b
Testemunha	----	0c	0c	0e	0c
C. V. (%)		3,3	8,1	2,2	3,0
D.M.S. (5%)		6,6	16,6	23,4	38,3

Médias seguidas por letras diferentes na coluna, diferem entre si a 5% (P<0,05).

D.M.S. (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas

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

⁽²⁾ DAA = dias após aplicação dos herbicidas

Aos 14 DAA todos os herbicidas estudados foram eficientes para o controle sendo que essa eficiência foi maior aos 21 DAA, exceto para o diuron.

Os herbicidas inibidores da ALS (imazapyr e imazapic) não apresentaram nenhum efeito de controle (0%) aos 21 DAA e os herbicidas tebuthiuron, diuron + hexazinone e diuron mostraram controles abaixo do aceitável. De maneira geral, os melhores resultados de controle foram apresentados pelos herbicidas ametrina, isoxaflutole e metribuzin.

Na avaliação da massa seca realizada aos 21 DAA (Tabela 3), a maior redução da massa seca para a *D. nuda* foi obtido com a aplicação dos herbicidas ametrina, isoxaflutole e metribuzin, e as menores reduções da massa seca foram obtidas com os herbicidas tebuthiuron, imazapic, imazapyr, diuron + hexazinona e diuron.

A maior tolerância da espécie *D. nuda* ao herbicida diuron em relação a espécie *D. ciliaris* já tinha sido verificado anteriormente por Dias et al. (2003), sendo que, a relação entre o GR₅₀ da espécie *D. nuda* e o GR₅₀ da espécie *D. ciliaris* foi de 2,7, comprovando a tolerância da espécie *D. nuda* a este herbicida.

Tabela 3. Massa seca (%) aos 21 DAA⁽²⁾ para as espécies *D. ciliaris* e *D. nuda*

Herbicidas	Dose i.a. (kg ha ⁻¹)	Espécies	
		<i>D. ciliaris</i>	<i>D. nuda</i>
Ametryne	2,0	5 b	6d
Diuron	2,4	21b	24c
Tebuthiuron	1,0	0b	27c
Diuron + hexazinone	0,936+0,264	0b	20c
Imazapyr	0,125	0b	37b
Isoxaflutole	0,112	0b	0d
Metribuzin	1,92	0b	0d
Imazapic	0,105	0b	23c
Testemunha	----	100a	100a
C. V. (%)		75,6	15,4
D.M.S. (5%)		34,3	8,1

Médias seguidas por letras diferentes na coluna, diferem entre si a 5% (P<0,05).

D.M.S. (5%) = Diferença mínima significativa para comparação entre herbicidas

⁽¹⁾ DAA = dias após aplicação dos herbicidas

A partir da equação (1) foram obtidos os parâmetros C, D, GR₅₀ e b, para os herbicidas estudados (Tabela 4).

Para a quantificação da tolerância das espécies *D. nuda* foi considerado a relação do GR₅₀ da espécie tolerante (T - *D. nuda*), dividido pelo GR₅₀ da espécie suscetível (S - *D. ciliaris*) (Tabela 4), como proposto por Hall et al. (1998) e Christoffoleti (2002). Para os herbicidas imazapyr,

metribuzin e tebuthiuron pode ser observado diferenças da sensibilidade entre as espécies.

Tabela 4. Parâmetros do modelo log-logístico (Seefeldt et al., 1995) obtidos para as curvas de dose-resposta das espécies *D. nuda* (tolerante) e *D. ciliaris* (suscetível), aos herbicidas imazapyr, tebuthiuron, ametryne e metribuzin.

Herbicidas	Espécies	D	C	GR ₅₀	B	R ²	T/S
Imazapyr	<i>D. nuda</i>	100	34,45	0,148	1,43	0,999	16,4
	<i>D. ciliaris</i>	100	13,65	0,009	2,52	0,999	
Tebuthiuron	<i>D. nuda</i>	99,94	19,61	0,795	1,50	0,987	5,68
	<i>D. ciliaris</i>	100	1,03	0,140	3,83	0,999	
Ametryne	<i>D. nuda</i>	100	3,015	0,278	6,20	0,999	1,13
	<i>D. ciliaris</i>	100	-0,085	0,315	4,64	0,999	
Metribuzin	<i>D. nuda</i>	100	9,109	0,141	2,59	0,999	15,7
	<i>D. ciliaris</i>	100	1,686	0,009	1,73	0,999	

D = limite superior da curva (resposta média da testemunha)

C = limite inferior da curva (resposta média com doses altas de herbicida)

GR₅₀ = dose correspondente a 50% da resposta

b = declividade da curva em torno do GR₅₀

T/S = divisão do GR₅₀ da espécie tolerante pelo GR₅₀ da espécie suscetível.

A análise de variância conjunta dos dados de massa seca das duas espécies foi significativa para os quatro herbicidas, mostrando efeito dos tratamentos (Figura 1).

Figure 1 - Curvas de dose-resposta dos herbicidas ametryn (a), imazapyr (b), tebuthiuron (c) e, metribuzin (d), das espécies *D. nuda* (DN) e *D. ciliaris* (DC). Os Símbolos e as linhas representam a massa seca obtida e a estimada, respectivamente.

A relação T/S foi de 16,4 para os herbicida imazapyr, 15,7 para o herbicida metribuzin e 5,68 para o tebuthiuron. No entanto, para o metribuzin na dose de campo 1,92 kg i.a. ha⁻¹ a redução de massa seca foi de 80 e 90% para *D. nuda* e *D. ciliaris*, respectivamente, mesmo sendo controlada pelo metribuzin a *D. nuda* (T) apresentou um alto nível de tolerância para este herbicida, com relação T/S de 15,7. Esse resultado pode ser explicado devido a elevada suscetibilidade da *D. ciliaris* (GR₅₀= 0,009). Embora o herbicida imazapyr não tenha sido eficiente no controle da *D. nuda*, este, apresentou aproximadamente a mesma relação T/S (16) comparado ao metribuzin, devido a alta suscetibilidade da *D. ciliaris* a esse herbicida. Para o herbicida ametrina não foi verificada diferenças na sensibilidade entre as espécies. Na dose de campo 2,5 kg i.a. ha⁻¹ a *D. nuda* apresentou uma redução da massa seca em torno de 95% e a *D. ciliaris* em torno de 98%, sendo esta observação confirmada pelo valor da relação T/S de 1,13.

De maneira geral pode-se observar que a *D. nuda* apresentou tolerância aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas (imazapyr e imazapic), estes herbicidas são inibidores da acetolactato sintase (ALS) e aos herbicidas do grupo químico das uréias substituídas (tebuthiuron e diuron). Por outro lado, os herbicidas pertencentes aos grupos químicos das triazinas e triazinonas (ametrina e metribuzin) e inibidores da síntese de caroteno (isoxaflutole) foram eficientes para o controle da *D. nuda*.

Embora os herbicidas ametrina, metribuzin, diuron e tebuthiuron tenham o mesmo mecanismo de ação, o sítio específico de ação destes herbicidas são diferenciados (Christoffoleti et al., 2001). Portanto, esta pode ser a razão dos herbicidas ametrina e metribuzin, que apresentam mesmo sítio de ação (Pfister et al., 1981; Oettmeier et al., 1984) serem efetivos para o controle da *D. nuda* e dos herbicidas diuron e tebuthiuron não serem efetivos, pois o sítio de ação destes herbicidas são diferentes. Já a mistura Diuron + hexazinone, apresenta em sua composição o hexazinone, cujo sítio de ação é o mesmo dos herbicidas metribuzin e ametrina, e o diuron, cujo sítio de ação é o mesmo do herbicida tebuthiuron. Desta forma, esperava-se que essa mistura fosse eficiente no controle da *D. nuda*, o que não ocorreu, uma das possíveis explicações para este comportamento, pode estar fundamentada no comportamento da mistura no solo. Diuron + hexazinone é uma mistura de um produto de alta solubilidade (hexazinone) e um de baixa solubilidade (diuron), sendo assim, é possível que o posicionamento dos dois herbicidas no solo seja afetado pelas condições climáticas após a aplicação, principalmente chuva, no caso, em condições de casa-de-vegetação, irrigação. Assim, é possível que após "chuvas" em alta intensidade, o hexazinone seja lixiviado abaixo da região de germinação do banco de sementes, porém o diuron permanece nesta região, mas a planta daninha não é controlada. Admitindo-se esta hipótese, é de se esperar que diuron + hexazinone se aplicado em condições de

precipitação pluvial normal seja efetivo no controle da *D. nuda*, porém em épocas de altas quantidades de chuva haja escapes de *D. nuda*. Esta hipótese pode ser confirmada na prática, pois existem diversos relatos de produtores afirmando que a mistura de diuron + hexazinone tem baixa eficácia de controle da *D. nuda* em épocas de alta precipitação pluvial.

4.4 Conclusões

As curvas de dose-resposta confirmam que os herbicidas imazapyr e tebuthiuron apresentam eficácia de controle significativamente menor da *D. nuda*, quando comparada com a espécie de *D. ciliaris*. Estas diferenças de controle explicam a ineficácia destes herbicidas ao nível de campo no controle da *D. nuda*. Por outro lado, o herbicida ametrina, e em menor grau o metibuzin controlam eficientemente de forma indistinta as duas espécies estudadas.

A espécie *D. nuda* é mais tolerante aos herbicidas inibidores da ALS e uréias substituídas estudados na pesquisa, quando comparada a *D. ciliaris*. Sendo assim, é possível inferir que em condições de campo, nas áreas onde as duas espécies encontram-se em mistura, com aplicação repetitiva destes herbicidas, existe uma pressão de seleção sobre essas populações, aumentando a proporção da espécie *D. nuda* na

comunidade de plantas daninhas. Assim, a correta identificação da espécie de capim-colchão e a proporção das espécies *D. ciliaris* e *D. nuda* infestando uma área devem ser determinadas para se obter um controle químico efetivo e racional.

5 ABSORÇÃO FOLIAR E TRANSLOCAÇÃO DO HERBICIDA DIURON POR ESPÉCIES SUSCETÍVEL E TOLERANTE DE CAPIM- COLCHÃO (*Digitaria* spp)

Resumo

Esta pesquisa teve o objetivo de comparar a absorção foliar e translocação de diuron em duas espécies de capim-colchão (*Digitaria ciliaris* e *D. nuda*), visando explicar o mecanismo de tolerância ao herbicida pela *D. nuda*. Para determinar o nível de tolerância das duas espécies de capim-colchão, plantas, em estágio vegetativo de três folhas verdadeiras, foram pulverizadas com doses do diuron. A partir dos resultados de massa seca das plantas coletadas aos 21 dias após aplicação (DAA) foi feito o ajuste das curvas de dose-resposta utilizando modelo log-logístico. Os estudos de absorção e translocação do herbicida foram feitos utilizando-se ^{14}C -diuron, medindo-se a radioatividade em diferentes partes das plantas a 0, 3, 6, 12, 24 e 48 horas após tratamento (HAT). Os resultados foram expressos em porcentagens obtidas em relação à radioatividade recuperada. A relação (T/S) entre a dose necessária para redução do acúmulo de massa seca da planta (GR_{50}) 21 DAA, da espécie *D. nuda* (T) e o GR_{50} da *D. ciliaris* (S) foi de 2,7, comprovando a diferença de sensibilidade entre as espécies. Não houve

diferenças nos resultados de absorção entre as espécies. A translocação foi mínima em ambas as espécies. No presente trabalho, concluiu-se que a absorção e/ou a translocação não foram os mecanismos de tolerância ao diuron presente na espécie *Digitaria nuda*.

FOLIAR ABSORPTION AND TRANSLOCATION OF THE HERBICIDE DIURON BY SUSCEPTIBLE AND TOLERANT SPECIES OF CRABGRASS (*Digitaria* spp)

Summary

The objective of this research was to compare the foliar absorption and translocation of diuron in two crabgrass species (*Digitaria nuda* and *D. ciliaris*), in order to explain the mechanism of tolerance to the herbicide by *D. nuda*. To determine the tolerance of the crabgrass species, plants, at the vegetative growth stage of three true leaves, were sprayed with rates of diuron. From the results of dry biomass of plants collected 21 days after application (DAA), it was adjusted dose-response curves by log-logistic model. The absorption and translocation studies were conducted using ^{14}C -diuron, measuring the radioactivity in different plant parts at 0, 3, 6, 12, 24 and 48 hour after application (HAT). The results were expressed as percentage related to the total radioactivity recovered. The relation (T/S) between the rate required to reduce plant dry biomass

(GR₅₀) at 21 DAA of the species *D. nuda* (T) and the GR₅₀ of *D. ciliaris* (S) was 2,7; showing differential susceptibility of the species. There was no difference in the results of absorption by the species. The translocation was minimum in both species. It was concluded that differential foliar absorption and/or translocation were not involved in the mechanism of tolerance to diuron present in *Digitaria nuda*.

5.1 Introdução

As espécies de plantas *Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris*, também conhecidas pelo nome popular de capim-colchão, são plantas daninhas infestantes de lavouras de cana-de-açúcar no Brasil. O gênero *Digitaria* inclui cerca de 300 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios (Canto-Dorow, 2001a). No estado de São Paulo, este gênero apresenta 13 espécies descritas, sendo que a diferenciação visual dessas espécies torna-se difícil de ser feita no campo devido a grande semelhança morfológica entre elas.

O herbicida diuron [3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetiluréia] do grupo químico das uréias substituídas, tem sido utilizado para controlar o capim-colchão na cultura da cana-de-açúcar. Recentemente, no entanto, tem-se observado falhas no controle do capim-colchão (*Digitaria* spp), com o herbicida diuron, em diversos campos de produção da cana-de-açúcar, onde os herbicidas dos grupos químicos das triazinas, e uréias substituídas vinham sendo utilizados de forma repetitiva, há vários anos.

Esta aplicação repetitiva tem imposto uma pressão de seleção específica no gênero *Digitaria*, ou seja, a *Digitaria ciliaris*, espécie predominante nas áreas de cana-de-açúcar, de alta suscetibilidade às uréias substituídas, foi sendo substituída pela *Digitaria nuda*, de maior tolerância a estes herbicidas. Suspeita-se assim, que as populações, que foram selecionadas por estes herbicidas, são constituídas por diferentes espécies de capim-colchão, que apresentam níveis maiores de tolerância.

A comprovação científica dos níveis de tolerância de espécies de plantas daninhas aos herbicidas pode ser feita através da construção de curva de dose-resposta, à partir de ensaios conduzidos em casa-de-vegetação. Rayan (1970) desenvolveu metodologia de experimentação em condições de casa-de-vegetação, para comprovação científica da resistência de biótipos de plantas daninhas aos herbicidas pertencentes ao grupo químico das triazinas. Nesta metodologia, foram utilizadas diversas doses do herbicida em teste, geralmente em escala logarítmica, incluindo a dose comercial recomendada do herbicida. Seefeldt et al. (1995) sugeriram o modelo log-logístico como método mais adequado para análise da curva de dose-resposta, sendo GR_{50} um dos parâmetros da equação. O índice GR_{50} representa a dose do herbicida necessária para reduzir 50% do crescimento de uma população de planta ("growth rate"), normalmente calculado à partir do acúmulo de biomassa ou porcentagem de controle. Este índice permite comparar o grau diferencial de suscetibilidade a herbicidas entre espécies tolerantes e suscetíveis (Cortez, 2000; Monqueiro et al., 2000; Christoffoleti, 2002) e também a determinação da seletividade de variedades tolerantes de cultura, comparadas com cultivares não melhorados para esta característica (Pornprom & Yong, 1997). O GR_{50} pode, portanto, ser usado para comparar a suscetibilidade diferencial entre espécies.

Existem pelo menos quatro mecanismos gerais, que podem explicar a resistência e/ou tolerância de uma planta a herbicidas: redução da concentração do herbicida no local de ação; absorção foliar e/ou translocação reduzida do herbicida; metabolização e/ou destoxificação intensa do herbicida a substâncias menos fitotóxicas; e perda de afinidade do herbicida pelo local de ação devido a uma alteração deste local, resultante de variabilidade genética (Sherman et al., 1996).

Para uma boa atuação de um herbicida no controle de plantas é necessário que o ingrediente ativo alcance o local de ação na planta, em concentração suficiente para que ocorra o controle. Baixas concentrações de um herbicida no local de ação podem ocorrer em virtude da redução no tempo de retenção do herbicida pela superfície da folha, redução da absorção e/ou translocação do herbicida pela planta, ou pela ocorrência de fenômenos de seqüestração em organelas celulares, onde o herbicida permanece metabolicamente inativo (Powles & Holtum, 1994). A deficiência de movimentação do herbicida na planta, em razão da absorção e/ou translocação reduzidas, pode ser a causa da tolerância ou seletividade em inúmeras culturas, e plantas daninhas (Hess, 1985; Ladlie, 1991).

Baseado no exposto, o presente trabalho teve por objetivos determinar o nível de tolerância por meio de curva de dose-resposta, das espécies de capim-colchão *Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris*, ao herbicida diuron, e verificar se o mecanismo de tolerância da espécie *Digitaria nuda* ocorre, devido aos fenômenos de absorção e/ou translocação reduzidos na planta.

5.2 Material e Métodos

Para estabelecer as curvas de dose-resposta e a absorção e translocação do diuron, os experimentos foram conduzidos, respectivamente, em casa-de-vegetação, e em câmara de crescimento do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP, Piracicaba, SP. As análises quantitativas do ^{14}C -diuron foram realizadas no Laboratório de Ecotoxicologia do CENA/USP, Piracicaba, SP. As sementes de capim-colchão foram obtidas na Estação Experimental da Agrocosmus (Arthur Nogueira, SP), provenientes de populações de *D. ciliaris* e *D. nuda*.

5.2.1 Curvas de dose-resposta das espécies de capim-colchão ao herbicida diuron

Cerca de 10 sementes das espécies *D. ciliaris* e *D. nuda* foram semeadas a 1 cm de profundidade, em vasos de 12 cm de diâmetro, com capacidade de 500 mL, contendo uma mistura de solo e terra vegetal. Os vasos foram colocados em casa-de-vegetação, irrigando-se diariamente, visando a manutenção da umidade do solo satisfatória. Quatorze dias após a semeadura, as plantas, que emergiram, foram desbastadas para quatro plantas por vaso, sendo o diuron aplicado quando as plantas estavam no estágio de três folhas definitivas. A aplicação foi feita com pulverizador pressurizado com ar comprimido, na pressão de 207 kPa, instalado em laboratório, utilizando uma ponta de pulverização tipo leque (Teejet 80.015E), e volume de calda de 300 L ha^{-1} . Após a pulverização, as plantas foram mantidas em casa-de-vegetação.

As doses de diuron utilizadas seguiram uma escala logarítmica, calculada à partir da dose recomendada, ou seja 0,0; 0,01; 0,1; 1,0 e 10

vezes a dose recomendada. Assim, para o herbicida diuron, cuja dose recomendada é 2,4 kg ha⁻¹ de i.a., as doses utilizadas foram 0; 0,024; 0,24; 2,4 e 24, kg ha⁻¹, adicionando espalhante adesivo da marca comercial Agral na concentração de 0,1% v/v de calda aplicada.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2 x 5), como fatores, duas espécies de capim-colchão (*D. nuda* e a *D. ciliaris*), e cinco doses de diuron, num total de 10 tratamentos, e quatro repetições. O experimento foi repetido duas vezes.

Aos 21 dias após a aplicação do herbicida (DAA), a parte aérea total das plantas foram coletadas, sendo posteriormente seca em estufa a 45°C, durante três dias, até obter massa seca constante, usando balança de precisão. Os resultados de massa seca foram inicialmente submetidos à análise de variância, na qual as doses foram consideradas variáveis independentes, com o objetivo de observar se o aumento da dose de herbicida resultou em efeito significativo na resposta das plantas, e servindo de base para o teste de precisão no ajuste do modelo não linear.

Em seguida, a relação entre a massa seca e a dose de herbicida foi descrita por uma equação não linear proposto por Seefeldt et al. (1995), visando estimar o valor de GR₅₀. A equação matemática (Seefeldt et al., 1995), que relaciona a resposta da planta (y) com a dose do herbicida (x) é a seguinte:

$$y = f(x) = C + \frac{D - C}{1 + \left(\frac{x}{GR_{50}} \right)^b} = C + \frac{D - C}{1 + \exp(b(\log(x) - \log(GR_{50})))}$$

sendo, D o limite superior da curva; C o limite inferior da curva; b a declividade da curva, e GR_{50} a dose correspondente a 50% de resposta. O valor D corresponde à resposta média da testemunha, e o valor C corresponde à resposta média com doses altas de herbicida. O parâmetro b descreve a declividade da curva em torno do GR_{50} .

Para ajuste da equação e obtenção dos parâmetros estatísticos, os dados foram submetidos a análise de regressão não linear. Valores iniciais de D, C e GR_{50} foram utilizados para que as iterações fossem executadas, e assim, obter as melhores estimativas através da combinação destes valores. Para estimativa dos valores iniciais foi observado a tendência dos valores originais em gráfico, e assim, foi possível visualizar os valores iniciais de C, D e GR_{50} . Para os valores de b foram feitas diversas tentativas com valores variando entre 1 e 6.

A partir das equações, foram construídos gráficos, usando a escala logarítmica para as doses do herbicida (variável independente x). Para a massa seca (variável dependente y) foi empregada escala linear. Para o ajuste da equação, e obtenção dos parâmetros estatísticos, foi utilizado o procedimento PROC NLIN do SAS.

5.2.2 Absorção e translocação do herbicida diuron pelas plantas de capim-colchão.

Várias sementes das espécies de *D. ciliaris* e *D. nuda* foram semeadas em vasos plásticos (500 mL), contendo a mesma mistura de solo e terra vegetal, utilizado no experimento anterior. O desbaste foi realizado dez dias após a emergência, sendo deixada uma planta por vaso. As plantas foram mantidas em câmara de crescimento, com temperatura de 32° C durante um fotoperíodo de 18h de luz ($650 \mu\text{mol m}^{-2}$

2 s^{-1}) e 18° C durante um período subsequente de 6h de escuro, e umidade relativa do ar constante de 80%, irrigando-se diariamente, visando a manutenção da umidade do solo satisfatória.

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6×2 , com quatro repetições. Foi utilizada a dose recomendada do herbicida diuron no campo, $2,4 \text{ kg ha}^{-1}$ de i.a., seis épocas de avaliações, e duas espécies de capim-colchão, *D. ciliaris* e *D. nuda*. Acrescido a estes, foi utilizado um tratamento sem aplicação do herbicida (testemunha). O experimento foi repetido três vezes.

A aplicação do herbicida foi feita com microseringa, na forma de micro gotas de aproximadamente $0,3 \text{ }\mu\text{L}$, na face adaxial da terceira folha definitiva da planta, aplicando-se $3,0 \text{ }\mu\text{L}$ da suspensão por folha. Esta suspensão continha o diuron na formulação comercial (Karmex), o produto radioativo (^{14}C -diuron, $0,7 \text{ kBq }\mu\text{L}^{-1}$) e o surfactante (Agral, $0,1 \%$), totalizando a dose recomendada de $2,4 \text{ kg ha}^{-1}$.

A absorção e a translocação foram avaliadas 0, 3, 6, 12, 24 e 48 horas após a aplicação do herbicida. Após cada período de incubação, as plantas foram retiradas dos vasos, e divididas em três partes (raízes, parte aérea e folha tratada). As análises dos tecidos das raízes, parte aérea e folha tratada foram realizadas através da oxidação em oxidador biológico (OX 500, Harvey Instruments). Posteriormente, a radioatividade foi quantificada por espectrometria de cintilação líquida (Packard TR-1600). A folha tratada de cada planta foi lavada com 5 mL de metanol 80% , para determinar a quantidade de herbicida não absorvida. A absorção do herbicida pela folha foi determinada como sendo, a porcentagem da radioatividade, presente no interior da planta (raízes +

folha tratada + parte aérea), em relação à radioatividade total recuperada (líquido de lavagem + radioatividade no interior da planta). A translocação foi calculada como sendo a porcentagem de radioatividade presente em cada parte da planta, em relação à radioatividade total recuperada. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e posterior aplicação do teste de comparação múltipla (teste de Tukey) ao nível de 5%.

Estudos qualitativos de absorção e translocação foram realizados por meio de autoradiografia. As plantas utilizadas neste estudo foram tratadas da mesma forma descrita anteriormente nos estudos de absorção e translocação. As plantas foram lavadas, prensadas, secas e, a autoradiografia foi feita em Radioimagem (Packard – Cyclone).

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Curvas de dose-resposta das espécies de capim-colchão ao herbicida diuron

A partir das equações log-logística foram elaboradas as curvas de dose-resposta (Figura 1); os parâmetros C, D, GR₅₀ e b encontram-se na Tabela 1. As equações ajustaram-se de forma precisa, com valores de R² de 0,91 para *D. ciliaris* e de 0,89 para *D. nuda* (Figura 1).

Houve redução significativa ($P \leq 0,05$) da massa seca das duas espécies com o aumento da dose de diuron aplicada, ocorrendo diferença de sensibilidade entre as espécies - *D. nuda* necessitou de doses maiores para apresentar a mesma redução no crescimento. A dose de campo 240 mg m⁻² proporcionou redução da massa seca em torno de 70 e 90% para *D. nuda* e *D. ciliaris*, respectivamente.

Figura 1 - Curva de dose-resposta pelo modelo log-logístico das espécies *Digitaria ciliaris* (• ----) e *D. horizontalis* (■ —) ao herbicida diuron. Os símbolos representam os valores observados e as curvas foram obtidas à partir do modelo. Valores médios dos dois experimentos.

Para a quantificação da tolerância das espécies *D. ciliaris* (suscetível) e *D. nuda* (tolerante) ao herbicida diuron foi determinada a relação entre o GR₅₀ da espécie tolerante (T) dividido pelo GR₅₀ da espécie suscetível (S) como proposto por Hall et al. (1998), Cortez, (2000) e Christoffoleti (2002). A relação T/S (Tabela 1) foi de 2,7, comprovando a tolerância da *D. nuda* ao herbicida diuron.

Tabela 1. Parâmetros do modelo log-logístico (Seefeldt et al., 1995) obtidos para as curvas de dose-resposta das espécies *D. ciliaris* e *D. nuda* ao herbicida diuron.

Espécie	D (%)	C (%)	GR ₅₀ (kg ha ⁻¹)	b	T/S
<i>D. ciliaris</i>	90,55	4,06	0,48	1,40	2,7
<i>D. nuda</i>	98,04	0,72	1,30	1,16	

D = limite superior da curva (resposta média da testemunha); C = limite inferior da curva (resposta média com doses altas de herbicida); GR₅₀ = dose correspondente a 50% da resposta; b = declividade da curva em torno do GR₅₀; T/S = divisão do GR₅₀ da espécie tolerante pelo GR₅₀ da espécie suscetível.

Os valores T/S representam índices comparativos da espécie tolerante em relação a espécie suscetível para redução de 50% da fitomassa. Fica evidente por este resultado que a espécie *D. nuda* apresenta um nível de tolerância bem mais acentuada ao diuron que espécie *D. ciliaris*.

5.3.2 Absorção foliar e translocação do herbicida diuron pelas plantas de capim-colchão

Os resultados de absorção e translocação foram expressos em porcentagens obtidas em relação à radioatividade recuperada. A análise de variância não demonstrou interação entre os fatores espécie e tempo para todos os parâmetros avaliados (absorção, translocação aérea, translocação raiz e translocação total). Ambas as espécies apresentaram valores comparáveis de absorção nas avaliações de 0, 3, 6 e 12 horas após aplicação (HAT) (Figura 2).

Figura 2 - Absorção do herbicida diuron às espécies *Digitaria ciliaris* (—●—) e *D. nuda* (—■—). Valores médios dos três experimentos.

Apesar das diferenças não terem sido significativas estatisticamente, verificou-se que a *D. nuda* teve uma tendência a apresentar maior absorção em relação a *D. ciliaris* nas avaliações de 24 e 48 HAT (Figura 2). Com o passar do tempo, a quantidade de diuron absorvida pelas plantas aumentou de forma considerável, principalmente nas primeiras 24 horas (Figura 2).

No final do experimento (48 horas) cerca de 29 e 39 % do diuron aplicado foi absorvido pelas espécies *D. ciliaris* e *D. nuda*, respectivamente.

A radioatividade não foi distribuída em toda planta, concentrando-se na folha tratada, menos de 1% da radioatividade aplicada foi translocada para a parte aérea e raiz (Tabela 2).

Tabela 2. Translocação do herbicida diuron nas espécies *Digitaria ciliaris* (suscetível) e *D. nuda* (tolerante). Valores médios dos três experimentos.

Tempo após aplicação (h)	Translocação Total (%)		Translocação Aérea (%)		Translocação Raiz (%)	
	D.C.	D.N.	D.C.	D.N.	D.C.	D.N.
0	0,49	0,20	0,25	0,13	0,05	0,07
3	0,18	0,13	0,14	0,08	0,05	0,04
6	0,19	0,12	0,12	0,06	0,06	0,05
12	0,18	0,19	0,14	0,15	0,04	0,04
24	0,18	0,13	0,13	0,10	0,05	0,03
48	0,19	0,13	0,14	0,10	0,05	0,03

D.C. = *D. ciliaris*; D.N. = *D. nuda*

* Médias não diferiram significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

Os estudos de autoradiografia das plantas ilustraram esses resultados em ambas as espécies (Figura 3). No tempo zero, imediatamente após a aplicação, a radioatividade encontrava-se distribuída na planta na forma das gotas aplicadas, sendo que, a radioatividade foi sendo redistribuída pela folha tratada com o passar do tempo.

Figura 3 - Autoradiografia após aplicação de ^{14}C -diuron nas espécies *Digitaria ciliaris* no tempo 0 (a) e 48h (b) e *D. nuda* no tempo 0 (c) e 48h (d).

Estes resultados de baixa translocação do diuron a partir da folha tratada era esperado, pois este herbicida pertence ao grupo químico das uréias substituídas, que apresentam translocação apoplástica, sendo assim, sua translocação preferencial é via raiz-parte aérea (Rodrigues & Almeida, 1998). O local de ação do herbicida diuron é nas folhas, os sintomas de fitotoxicidade da planta pela ação do herbicida aparecem inicialmente nas folhas, que ficam com tonalidade verde-claro, tornando-se finalmente necróticas. Este herbicida tem como mecanismo de ação a inibição do fotossistema II (PSII), inibindo a fotossíntese, sendo que, esta inibição acontece pela ligação dos herbicidas desse grupo ao sítio de ligação da Q_B , na proteína D1 do fotossistema II, o qual se localiza nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos, causando, por consequência, o bloqueio do transporte de elétrons de Q_A para Q_B . Isso interrompe a

fixação de CO₂, e a produção de ATP, e NADPH₂, os quais são essências para o crescimento das plantas (Menendez, 1997).

A redução da concentração do diuron no local de ação não foi responsável pela tolerância da *D. nuda*, pois não houve diferenças na absorção e retenção do herbicida entre esta espécie, e a *D. ciliaris*.

Em outras espécies, o mecanismo de tolerância da planta *Torilis arvensis* é maior ao diuron do que *Lolium rigidum*, sendo essa diferença devida à translocação diferencial do ¹⁴C-diuron entre as espécies (Prado et al., 1990). Neste estudo, entretanto, a translocação não foi responsável pela tolerância diferencial encontrada entre *D. ciliaris* e a *D. nuda*, pois ambas as espécies apresentaram valores semelhantes e muito baixos de translocação. Para Lii-Chyuan et al. (1978), a absorção e a translocação também não são os mecanismos responsáveis pela diferença de tolerância entre dois cultivares de cana-de-açúcar ao diuron, sendo a cultivar PR980 mais tolerante, que PR1048, por metabolizar esse herbicida.

Existem outros mecanismos que podem ter causado maior tolerância da *D. nuda* ao diuron, dentre estes mecanismos, pode-se destacar o metabolismo do herbicida. A metabolização é um importante mecanismo de tolerância de plantas daninhas a herbicidas, sendo caracterizada pela capacidade que algumas espécies têm de degradar o herbicida em componentes menos tóxicos, antes que o produto alcance o seu sítio de ação. Uma população de *Digitaria sanguinalis*, resistente ao herbicida fluazifop-p-butil, no Sul da Austrália, tem como causa o aumento do metabolismo do herbicida fluazifop-p-butil, sendo este, o mecanismo responsável pela resistência desta população (Hidayat & Preston, 1997).

A mudança no sítio de ação dos herbicidas é outro mecanismo de tolerância, essa alteração é baseada na mutação gênica, que resulta em alteração da proteína alvo. Estas mutações ocorrem em frequência natural nas populações de plantas daninhas, e não são induzidas pelo herbicida, sendo que, geralmente ocorrem em frequências muito baixas, e variáveis (Warwick, 1991).

No caso das triazinas, também inibidor do Fotossistema II, a resistência e/ou tolerância ocorre devido a mutações que alteram o sítio de ação destes herbicidas, na proteína D_1 , localizada na membrana tilacóide do cloroplasto. A resistência aos herbicidas do grupo químico das triazinas em *Amaranthus hybridus* (Hirschberg & McIntosh, 1983), *Chenopodium album* (Bettini et al., 1987) é devida a alteração no sítio de ação dos herbicidas do grupo químico das triazinas. O gene *psbA* no genoma do cloroplasto codifica a proteína D_1 no PSII, a sequência de aminoácidos no gene *psbA* das plantas suscetíveis, e das plantas resistentes as triazinas são idênticas com exceção da posição 264 (Hirschberg & McIntosh, 1983; Bettini et al., 1987). Uma simples substituição da glicina pela serina reduz a afinidade das triazinas ao sítio de ligação da Q_B . Assim, os herbicidas desse grupo não conseguem se ligar ao sítio de ligação da Q_B da proteína D_1 do fotossistema II (PSII), não conseguindo desta forma bloquear o transporte de elétrons (Kelly et al., 1999).

Em plantas daninhas resistentes ao grupo químico das uréias substituídas somente dois mecanismos tem sido identificado. Redução da absorção e/ou translocação e metabolismo do herbicida (destoxificação) (Menendez & Prado, 1997).

O conhecimento sobre o mecanismo de tolerância das plantas daninhas aos herbicidas derivados do grupo químicos das triazinas e das

uréias substituídas é restrito. Portanto, o próximo passo será verificar se o metabolismo ou a alteração no sítio de ação do herbicida, são os mecanismos responsáveis pela maior tolerância apresentada pela *D. nuda*, pois neste trabalho a tolerância diferencial encontrada entre a *D. ciliaris* e *D. nuda* não foi devida a absorção e translocação diferencial.

5.4 Conclusões

A espécie *D. nuda* demonstrou ser mais tolerante ao herbicida diuron quando comparada a *D. ciliaris*. A relação (T/S) entre a dose necessária para redução do acúmulo de massa seca da planta (GR_{50}) 21 DAA da espécie *D. nuda*, e o GR_{50} da *D. ciliaris*, foi de 2,7, comprovando a diferença de sensibilidade entre as espécies. A redução da concentração do diuron no local de ação não foi responsável pela tolerância apresentada pela *D. nuda* ao herbicida diuron, pois não houve diferenças na absorção e translocação do herbicida entre esta espécie e a *D. ciliaris*.

6 ABSORÇÃO RADICULAR E TRANSLOCAÇÃO DE ^{14}C -IMAZAPYR E ^{14}C -METRIBUZIN EM ESPÉCIES SUSCETÍVEL E TOLERANTE DE CAPIM-COLCHÃO (*Digitaria* spp)

Resumo

As espécies *Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris*, conhecidas por capim-colchão, estão entre as espécies de maior freqüências em plantações de cana-de-açúcar no Brasil. Recentemente foi observado que, o herbicida imazapyr não tem sido efetivo no controle da espécie de capim-colchão *Digitaria nuda*, no entanto é efetivo no controle da espécie *Digitaria ciliaris*. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi determinar se a absorção radicular e/ou a translocação são os mecanismos responsáveis pela tolerância diferencial apresentada pelas espécies *Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris*, aos herbicidas imazapyr e metribuzin. Os estudos de absorção e translocação dos herbicidas imazapyr e metribuzin foram feitos utilizando-se ^{14}C -herbicida, medindo-se a radioatividade em diferentes partes das plantas a 0, 6, 12, 24, 48 e 72 horas após tratamento (HAT). Os resultados foram expressos em quantidades dos herbicidas imazapyr e metribuzin encontrados no interior da planta. A absorção e a translocação diferencial não foi o mecanismo de tolerância da espécie *D. nuda* ao imazapyr. Para o herbicida metribuzin, pelo qual

esta espécie é suscetível, os resultados de absorção e translocação da *D. nuda* não diferiram dos resultados da *D. ciliaris*, e para o herbicida imazapyr pelo qual a *D. nuda* se mostra tolerante, os resultados de absorção e translocação foram maiores para esta espécie, confirmando que este não é o mecanismo de tolerância.

ROOT ABSORPTION AND TRANSLOCATION OF ^{14}C -IMAZAPYR AND ^{14}C -METRIBUZIN BY SUSCEPTIBLE AND TOLERANT SPECIES OF CRABGRASS (*Digitaria* spp)

Summary

The species *Digitaria nuda* and *Digitaria ciliaris*, known by the common name of crabgrass, are among the species of greater frequency in sugarcane crop in Brazil. Recently, it has been observed that, the herbicide imazapyr has not been effective on the control of the crabgrass species *Digitaria nuda*, however it is effective on the control of the specie *Digitaria ciliaris*. Therefore, the objectives of this research was to determine if the radicular absorption and/or translocation were the responsible mechanism by differential tolerance showed by species *Digitaria nuda* and *Digitaria ciliaris*, to the herbicides imazapyr and metribuzin. The absorption and translocation studies of the herbicides

imazapyr and metribuzin were conducted using ^{14}C -herbicide, measuring the radioactivity in different plant parts at 0, 6, 12, 24, 48 and 72 hour after application (HAT). The results were expressed in amount of the herbicides imazapyr and metribuzin found inside of the plant. Differential absorption and translocation were not the tolerance mechanism of the specie *D. nuda* to the imazapyr. For the herbicide metribuzin, to which this specie is susceptible, the absorption and translocation results did not show differences in the results between the two species, and for the herbicide imazapyr, to which *D. nuda* showed tolerance, the results of absorption and translocation were greater for this specie, confirming that this is not the tolerance mechanism.

6.1 Introdução

Dentre as plantas daninhas da classe monocotiledôneas, a família Poaceae (Gramíneas) constitui-se nas principais plantas daninhas infestantes da cultura da cana-de-açúcar. As espécies *Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris*, conhecidas por capim-colchão, pertencentes ao gênero *Digitaria*, estão entre as espécies de maior freqüências em plantações de cana-de-açúcar no Brasil. Recentemente, no entanto, tem-se observado em certas áreas, falhas no controle do capim-colchão (*Digitaria* spp), onde os herbicidas dos grupos químicos das triazinas e uréias substituídas vinham sendo utilizados de forma repetitiva há vários anos (Dias et al., 2003).

Provavelmente, devido ao processo de seleção imposto sobre o gênero *Digitaria*, pela aplicação repetitiva destes herbicidas, a espécie *Digitaria ciliaris* de alta suscetibilidade a estes herbicidas, foi sendo substituída pela *Digitaria nuda* de maior tolerância (Dias et al., 2003).

Os herbicidas recomendados para o controle de capim-colchão são: ametrina, diuron, tebuthiuron, metribuzin, diuron + hexazinone, isoxaflutole, imazapyr e imazapic, principalmente aplicados em pré emergência (Almeida & Rodrigues, 1995; Lorenzi, 2000a; Andrei, 2003).

Estudos realizados anteriormente (Dias et al., 2004) indicam que o herbicida imazapyr não tem sido efetivo no controle da espécie de capim-colchão *Digitaria nuda*, sendo efetivo apenas no controle da espécie *Digitaria ciliaris*. Já o herbicida metribuzin tem demonstrado ser efetivo no controle de ambas as espécies, principalmente durante os 60 dias após a aplicação do herbicida (Dias et al., 2004).

O imazapyr é um herbicida sistêmico, inibidor da acetolactato sintase (ALS), bloqueando a biossíntese de três aminoácidos alifáticos de cadeia ramificada: valina, leucina e isoleucina. Esta inibição interrompe a síntese protéica que, por sua vez, interfere no crescimento celular (Anderson et al., 1985). O herbicida metribuzin tem como mecanismo de ação a inibição do transporte de elétrons no fotossistema II, sendo que, esta inibição acontece pela ligação dos herbicidas desse grupo ao sítio de ligação da Q_B , na proteína D1 do fotossistema II, o qual se localiza nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos, causando, por consequência, o bloqueio do transporte de elétrons de Q_A para Q_B . Isso interrompe a fixação de CO_2 , e a produção de ATP e $NADPH_2$, os quais são essências para o crescimento das plantas (Menendez, 1997).

A seletividade de um herbicida está relacionada à tolerância diferencial, e pode ser derivada de uma aplicação na qual o tempo ou o

espaço separe duas espécies de plantas de sensibilidade semelhante. Na ausência desses dois casos, a seletividade pode ocorrer devido à atuação diferencial de um herbicida nas plantas, o que acontece basicamente porque estas diferem quanto a fatores relacionados à absorção, à translocação e ao metabolismo, ou em relação ao manejo ou método de aplicação do mesmo (Oliveira & Constantin, 2001).

Existem pelo menos três mecanismos gerais que podem explicar a tolerância a herbicidas, e influenciar no modo de ação destes compostos: redução da concentração do herbicida no local de ação, absorção e/ou translocação do herbicida, metabolização, e/ou destoxificação do herbicida a substâncias menos fitotóxicas (Prado et al, 1990; Sherman et al., 1996), e perda de afinidade do herbicida pelo local de ação (Sherman et al., 1996).

Os herbicidas imazapyr e metribuzin possuem absorção radicular e foliar, sendo que o metribuzin apresenta uma absorção preferencialmente radicular. Como esses herbicidas são sistêmicos, tendo que ser translocados na planta para alcançar seus locais de ação, suspeita-se que, a absorção e/ou translocação diferencial podem ser os mecanismos de tolerância responsável pelas diferentes respostas apresentadas pelas espécies *D. nuda* e *D. ciliaris* aos herbicidas imazapyr e metribuzin.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi determinar se a absorção e/ou a translocação são os mecanismos responsáveis pela tolerância diferencial apresentada pelas espécies *Digitaria nuda* e *Digitaria ciliaris* aos herbicidas imazapyr e metribuzin.

6.2 Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos em câmara de crescimento do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP, Piracicaba, SP. As análises quantitativas do ^{14}C -imazapyr e ^{14}C -metribuzin foram realizadas no Laboratório de Ecotoxicologia do CENA/USP, Piracicaba, SP.

A espécie *Digitaria ciliaris* foi coletada em uma área experimental da Cooperativa dos produtores de cana-de-açúcar de Piracicaba, localizada no município de Tietê, sem histórico de aplicação de herbicidas. Esta área foi cultivada por muitos anos com a cultura de fumo orgânico, ou seja, o controle de plantas daninhas foi feito por métodos não químico de controle. A espécie *Digitaria nuda* foi coletada na Usina Costa Pinto, localizada no município de Piracicaba, Estado de São Paulo, em uma área cultivada com cana-de-açúcar, caracterizada pela aplicação de herbicidas recomendados para a cultura da cana-de-açúcar.

Várias sementes das espécies de *D. ciliaris* e *D. nuda* foram semeadas separadamente em bandejas de 35 x 50 x 10 cm, contendo areia e matéria orgânica na proporção de 1:1. As plantas foram mantidas em câmara de crescimento com temperatura de 32/18° C, fotoperíodo de 18h de luz ($650 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e umidade relativa constante de 80%. Após duas semanas as plantas foram transferidas para tubos de ensaio contendo solução nutritiva completa de Hoagland & Arnon (1950), diluída a 1/5 da concentração usual, antes do tratamento com herbicida. Quando estavam no estágio vegetativo de três a quatro folhas definitivas, as plantas foram transferidas para tubos de ensaio contendo 10 mL de solução de ^{14}C -imazapyr e ^{14}C -metribuzin. Para isto, foi preparada uma solução de imazapyr, com volume de 1000 mL, contendo o produto radioativo (^{14}C -imazapyr, 329 Bq ml^{-1}), na concentração de $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ de

i.a. do imazapyr e uma solução de metribuzin, com volume de 1000 mL, contendo o produto radioativo (^{14}C -metribuzin, 2913 Bq mL^{-1}) na concentração de 3,84 mg L^{-1} de i.a. do metribuzin. A determinação das concentrações das soluções dos herbicidas utilizadas nos experimentos foram baseadas na dose recomendada no campo de 0,125 Kg ha^{-1} para o imazapyr e 1,92 Kg ha^{-1} para o metribuzin, calculadas para o volume do tubo de ensaio (10 mL).

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 2 x 2, com quatro repetições. Foram utilizados seis épocas de avaliações, duas espécies de capim-colchão, *D. ciliaris* e *D. nuda*, e as doses recomendada dos herbicidas imazapyr e metribuzin no campo de 0,125 kg ha^{-1} para o imazapyr, e 1,92 kg ha^{-1} para o metribuzin. Acrescido a estes, foi utilizado um tratamento sem aplicação do herbicida (testemunha).

A absorção e a translocação foram avaliadas aos 0, 6, 12, 24, 48 e 72 horas após a aplicação do herbicida (HAT). Após cada período de incubação, as plantas foram retiradas dos tubos de ensaio, e divididas em duas partes (raízes e parte aérea). As análises dos tecidos das raízes, e parte aérea foram realizadas através da oxidação em oxidador biológico (OX 500, Harvey Instruments). Posteriormente, a radioatividade foi quantificada por espectrometria de cintilação líquida (Packard TR-1600). As raízes de cada planta foi lavada com 5 mL de acetonitrila para as plantas tratadas com o metribuzin e 5 mL de metanol para as plantas tratadas com imazapyr, para eliminar o herbicida não absorvido. A absorção total dos herbicida pelas plantas foi determinada como sendo a quantidade dos herbicidas imazapyr e metribuzin encontrado na planta (parte aérea e raíz). A translocação foi determinada como sendo a quantidade dos herbicidas encontrados na parte aérea. A absorção na

raiz foi considerada como sendo a quantidade de herbicida absorvido que permaneceu na raiz. Os resultados foram submetidos à análise de variância e posterior aplicação do teste de comparação múltipla (teste de Tukey) ao nível de 5%.

Estudos qualitativos de absorção e translocação foram realizados por meio de autoradiografia. As plantas utilizadas neste estudo foram tratadas da mesma forma descrita anteriormente nos estudos de absorção e translocação. As plantas foram lavadas, prensadas, secas e a autoradiografia foi feita em Radioimagem (Packard – Cyclone).

6.3 Resultados e Discussão

Os resultados de absorção e translocação foram expressos em massa (μg) do ingrediente ativo encontrados no interior da planta. A análise de variância não demonstrou interação entre os fatores espécie e tempo para todos os parâmetros avaliados (absorção, translocação aérea e translocação raiz) para os herbicidas metribuzin e imazapyr.

Ambas as espécies apresentaram valores comparáveis de absorção total do herbicida metribuzin nas avaliações de 0, 6, 12, 24, 48 e 72 horas após aplicação (HAT) (Figura 1).

Apesar das diferenças não terem sido significativas estatisticamente, verificou-se que a *D. nuda* teve uma tendência a apresentar maior absorção em relação a *D. ciliaris* nas avaliações de 24 e 48 HAT, e a *D. ciliaris* teve uma tendência a apresentar maior absorção em relação a *D. nuda* na avaliação de 72 HAT (Figura 1).

Figura 1 - Absorção do herbicida metribuzin nas espécies *Digitaria nuda* (DN) e *Digitaria ciliaris*. (DC)

Pode ser observado que a absorção total do herbicida metribuzin aumentou com o tempo. No final do experimento (72 horas) a espécie *D. nuda* apresentou um valor de $53.10^{-3} \mu\text{g}$ e a *D. ciliaris* teve um valor de $64.10^{-3} \mu\text{g}$.

Para o herbicida imazapyr pode ser observado que a espécie *D. nuda* apresentou maior absorção total nas avaliações de 6, 12, 24, 48 e 72 HAT (Figura 2) comparada com a absorção total da espécie *D. ciliaris*.

Os valores de absorção total do herbicida imazapyr aumentou com o tempo, sendo os maiores valores de absorção total observado na 72 HAT. Na avaliação de 72 HAT a espécie *D. nuda* teve um valor de absorção total de $110.10^{-3} \mu\text{g}$ e a espécie *D. ciliaris* um valor de $81.10^{-3} \mu\text{g}$.

Figura 2 - Absorção do herbicida imazapyr na espécies *Digitaria nuda* (DN) e *Digitaria ciliaris*. (DC)

A translocação do herbicida metribuzin para a parte aérea da planta aumentou com o passar do tempo para as duas espécies (Tabela 1), não havendo diferenças entre as espécies, sendo que a 72 HAT a espécie *D. nuda* apresentou uma translocação de $41.10^{-3} \mu\text{g}$ e a *D. ciliaris* um valor de $48.10^{-3} \mu\text{g}$.

Já para o herbicida imazapyr a espécie *D. nuda* demonstrou maior translocação do herbicida para a parte aérea em todas as avaliações efetuadas (Tabela 2). Na avaliação realizada 72 HAT a espécie *D. nuda* teve uma translocação de $102.10^{-3} \mu\text{g}$ e a *D. ciliaris* um valor de $73.10^{-3} \mu\text{g}$.

A quantidade do herbicida metribuzin que permaneceu na raiz aumentou com o tempo, não havendo diferenças entre as espécies (Tabela 1). A quantidade do herbicida imazapyr que permaneceu na raiz

também aumentou com o tempo (Tabela 2), sendo que a espécie *D. ciliaris* apresentou uma maior concentração do herbicida imazapyr na raiz comparada com a *D. nuda*, 72 HAT a espécie *D. nuda* reteve $8.10^{-3}\mu\text{g}$ e a espécie *D. ciliaris* $14.10^{-3}\mu\text{g}$.

Nos estudos de autoradiografia das plantas (Figura 3), pode ser observado que após 72 HAT a radioatividade foi distribuída em toda a planta em ambas as espécies para os herbicidas imazapyr e metribuzin.

Tabela 1. Translocação do herbicida metribuzin nas espécies *Digitaria ciliaris* (suscetível) e *D. nuda* (tolerante).

Tempo após aplicação (h)	Absorção Total (x 10 ⁻³ µg de i.a)			Translocação Aérea (x 10 ⁻³ µg de i.a)			Absorção Raiz (x 10 ⁻³ µg de i.a)		
	D.C.	D.N.	MÉDIAS	D.C.	D.N.	MÉDIAS	D.C.	D.N.	MÉDIAS
0	2,55	1,75	2,15 d	0,85	0,61	0,73 d	1,70	1,01	1,35 d
6	12,46	12,21	12,34 cd	7,02	9,17	8,09 cd	5,44	3,05	4,24 cd
12	17,39	19,47	18,43 c	10,88	15,86	13,37 cd	6,51	3,61	5,06 cd
24	21,34	30,61	25,98 bc	13,94	22,92	18,43 bc	7,40	7,70	7,55 bc
48	38,00	42,93	40,46 b	27,04	33,35	30,19 b	10,96	9,58	10,27 ab
72	63,39	52,83	58,11 a	48,23	40,69	44,46 a	15,16	12,14	13,65 a
MÉDIAS	25,86 A	26,63 A		17,99 A	20,43 A		7,86 A	6,18 A	
C.V. (%)	33,95			38,79			36,09		
D.M.S. ^a	6,13			5,13			1,74		
D.M.S. ^b	15,89			13,30			4,52		

D.C. = *D. ciliaris*; D.N. = *D. nuda*

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas na coluna, diferem entre si a 5% (P<0,05)

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas na linha, diferem entre si a 10% (P<0,1)

D.M.S.^a = Diferença mínima significativa para comparação entre espécies

D.M.S.^b = Diferença mínima significativa para comparação entre tempos

Tabela 2. Translocação do herbicida imazapyr nas espécies *Digitaria ciliaris* (suscetível) e *D. nuda* (tolerante).

Tempo após aplicação (h)	Absorção Total (x 10 ⁻³ µg de i.a)			Translocação Aérea (x 10 ⁻³ µg de i.a)			Absorção Raiz (x 10 ⁻³ µg de i.a)		
	D.C.	D.N.	MÉDIAS	D.C.	D.N.	MÉDIAS	D.C.	D.N.	MÉDIAS
0	3,79	2,81	3,30 d	1,99	1,46	1,72 c	1,80	1,35	1,58 c
6	18,15	20,06	19,10 cd	14,59	16,77	15,68 c	3,28	3,28	3,28 bc
12	22,18	30,37	26,28 cd	18,90	25,16	22,03 c	3,56	4,18	3,87 bc
24	34,64	41,69	38,16 bc	29,20	37,51	33,35 bc	5,43	5,03	5,23 bc
48	49,25	81,86	65,56 ab	35,14	76,83	55,99 ab	8,58	5,21	6,90 b
72	80,96	110,93	95,95 a	72,38	102,94	87,66 a	14,11	7,99	11,05 a
MÉDIAS	34,83 B	47,95 A		28,70 B	43,44 A		6,13 A	4,51 B	
C.V. (%)	42,19			49,97			41,06		
D.M.S. ^a	12,02			12,40			1,50		
D.M.S. ^b	31,16			32,16			3,90		

D.C. = *D. ciliaris*; D.N. = *D. nuda*

Médias seguidas por letras diferentes minúsculas na coluna, diferem entre si a 5% (P<0,05)

Médias seguidas por letras diferentes maiúsculas na linha, diferem entre si a 10% (P<0,1)

D.M.S.^a = Diferença mínima significativa para comparação entre espécies

D.M.S.^b = Diferença mínima significativa para comparação entre tempos

Figura 3 - Auto-radiografia após 72 horas da aplicação do herbicida ¹⁴C-metribuzin para a espécie *D. ciliaris* (a) e *D. nuda* (b) e para o herbicida ¹⁴C-imazapyr para a espécie *D. ciliaris* (c) e *D. nuda* (d).

Esses resultados de alta translocação do herbicida metribuzin a partir da raiz era esperado, pois este herbicida apresenta uma absorção radicular, com translocação pelo xilema, com movimento acrópeto, acumulando-se preferivelmente, nas folhas, caules e raízes (Rodrigues & Almeida, 1995). O herbicida imazapyr apresenta uma absorção radicular e foliar, sendo translocado tanto pelo xilema e floema, também essa característica pode explicar a distribuição deste herbicida em toda a planta.

Para o herbicida metribuzin, pelo qual as duas espécies são controladas, não foi observado diferenças na absorção e na translocação do herbicida, ambas as espécies apresentaram valores comparáveis de absorção e translocação.

Para o herbicida imazapyr, o qual não é efetivo no controle da *D. nuda*, sendo efetivo apenas no controle da *D. ciliaris*, foi observado que a *D. nuda* apresentou uma maior absorção e translocação do herbicida, comparada com a *D. ciliaris*, demonstrando que a redução do herbicida no local de ação não é o mecanismo responsável pela tolerância apresentada pela *D. nuda* ao herbicida imazapyr.

Em estudos realizados anteriormente com as espécies *D. nuda* e *D. ciliaris*, a tolerância diferencial encontrada entre as espécies ao herbicida diuron não foi devida a absorção e translocação diferencial (Dias et al., 2003). Sendo que, apesar das diferenças não terem sido significativas estatisticamente, verificou-se que a *D. nuda* teve uma tendência a apresentar maior absorção do diuron em relação a *D. ciliaris* nas avaliações de 24 e 48 horas após o tratamento com o herbicida.

A diferença da absorção e translocação entre biótipos de *Conyza albida*, resistente e suscetível ao herbicida imazapyr também não foi o mecanismo responsável pela resistência, pois ambas as espécies apresentaram valores comparáveis de absorção e translocação (Osuna & Prado, 2003).

Existem outros mecanismos que podem ter causado maior tolerância da *D. nuda* ao imazapyr, dentre estes mecanismos, pode-se destacar a mudança no sítio de ação dos herbicidas, no caso dos herbicidas pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas, a enzima alvo é a ALS, e com a alteração no sítio de ação, esta se torna insensível ao herbicida. A alteração da sensibilidade da ALS a herbicidas se dá devido a uma modificação no ponto de ligação do herbicida com a enzima (Guttieri et al., 1995; Lee et al., 1997), resultante da substituição da serina para asparagina, na posição 653 na seqüência de aminoácidos da ALS (Haughn & Somerville, 1990). Hydayat & Preston (2001) extraíram ALS

de populações resistentes e tolerantes de *Digitaria sanguinalis*, e estudaram a atividade da enzima na presença de três herbicidas do grupo químico das imidazolinonas (imazethapyr, imazapyr e imazametabenz) e observaram que não houve diferença entre a atividade da enzima extraída das plantas suscetível e resistente. A ALS extraída da planta resistente foi sensível aos três herbicidas. Assim, a resistência da *D. sanguinalis* aos herbicidas dos grupo químico das imidazolinonas também não ocorreu devido a insensibilidade da ALS ou seja, devido a alteração no local de ação da enzima. Já em biótipos de *Conyza albida* resistente e tolerante ao imazapyr foi observado que a redução da sensibilidade da ALS, na população resistente, foi o mecanismo responsável pela resistência desta população a este herbicida.

A metabolização é outro importante mecanismo de resistência e/ou tolerância de plantas daninhas a herbicidas, sendo caracterizada pela capacidade que alguns biótipos ou espécies têm de degradar o herbicida em componentes menos tóxicos, antes que o produto alcance o seu sítio de ação. O aumento do metabolismo do fluazifop-p-butil em *Digitaria sanguinalis* resistente ao herbicida fluazifop-p-butil no Sul da Austrália, foi o mecanismo responsável pela resistência desta população (Hidayat & Preston, 1997). Entretanto, não foi observada diferença entre o metabolismo do herbicida imazapyr em biótipos de *Conyza albida* resistente e tolerante a este herbicida.

O mecanismo de tolerância a um determinado herbicida varia com a espécie, como descrito acima, em que o mecanismo de resistência apresentado pela *D. sanguinalis* ao herbicida imazapyr não foi devido a alteração da sensibilidade da ALS, sendo o mecanismo responsável pela resistência apresentada pela *Conyza albida* ao imazapyr. Sendo assim, espécies diferentes apresentam mecanismos de tolerância/resistência

distintos para um mesmo herbicida. Portanto, não se pode generalizar os mecanismos de resistência/tolerância, sendo necessário verificar se o metabolismo, ou a alteração no sítio de ação do imazapyr são os mecanismos responsáveis pela maior tolerância da *D. nuda* a este herbicida, pois neste trabalho a tolerância diferencial encontrada entre a *D. ciliaris* e *D. nuda* não foi devida a absorção e translocação diferencial.

6.4 Conclusões

A absorção radicular e a translocação diferencial não foram os mecanismos de tolerância da espécie *D. nuda* ao imazapyr. Para o herbicida metribuzin pelo qual esta espécie é suscetível, os resultados de absorção e translocação da *D. nuda* não diferiram dos resultados da *D. ciliaris*. Para o herbicida imazapyr, pelo qual a *D. nuda* se mostra tolerante, os resultados de absorção e translocação foram maiores para esta espécie, demonstrando que a redução do herbicida no local de ação devido a redução da absorção e/ou translocação não é o mecanismo responsável pela tolerância apresentada pela *D. nuda* ao herbicida imazapyr.

7 CONCLUSÕES GERAIS

- Nos sistemas de produção de cana-de-açúcar, onde o capim-colchão é a planta daninha predominante, e cujo controle vem sendo feito pela aplicação repetitiva de herbicidas, houve uma seleção da espécie *Digitaria nuda*, que normalmente encontrava-se em baixa frequência nas lavouras de cana do estado de São Paulo.

- Os herbicidas ametrina, metribuzin e isoxaflutole apresentam os melhores níveis de controle para a população de capim-colchão, cuja espécie predominante é a *D. nuda*, sendo assim, estes herbicidas podem constituir importantes alternativas químicas em áreas problemáticas com estas plantas daninhas.

- A espécie *D. nuda* demonstrou ser mais tolerante aos herbicidas inibidores de ALS (imazapyr) e uréias substituídas (diuron e tebuthiuron), quando comparada a *D. ciliaris*.

- A partir das curvas de dose-resposta das espécies de *D. ciliaris* e *D. nuda* ao herbicida diuron, pôde ser verificado que a *D. nuda* é mais tolerante que a *D. ciliaris* a este herbicida.

- A absorção e a translocação não são os mecanismos responsáveis pela tolerância apresentada pela *D. nuda* ao herbicida diuron, pois não houve diferenças nos resultados de absorção e translocação do herbicida diuron entre as espécies.

- Para o herbicida metribuzin, pelo qual esta espécie é suscetível, os resultados de absorção e translocação da *D. nuda* não diferiram dos resultados da *D. ciliaris*.

- Para o herbicida imazapyr, pelo qual a *D. nuda* se mostra tolerante, os resultados de absorção e translocação foram maiores para esta espécie, demonstrando que a redução do herbicida no local de ação devido a redução da absorção e/ou translocação, não é o mecanismo responsável pela tolerância apresentada pela *D. nuda* ao herbicida imazapyr.

- Novos estudos bioquímicos e fisiológicos necessitam ser conduzidos com as espécies de capim-colchão no sentido de elucidar os mecanismos de tolerância da espécie *D. nuda*. A descoberta deste mecanismo poderá orientar recomendações futuras de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar, visando o controle racional desta importante planta daninha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, P.C.; HIBBERD, K.A. Evidence of the interaction of an imidazolinona herbicide with leucine, valine and iso-leucine metabolism. **Weed Science**, v.33, p.479-483, 1985.
- ANDREI, E. (Ed.) **Compêndio de defensivos agrícolas**. São Paulo: Andrei, 1999. 672p.
- ASSIS, P.E.P. Desarrollo tecnológico brasileño em la producción de azúcar de caña. **STAB**, v.13, n.1, p.10-12, 1994.
- BETTINI, P.; McNALLY, S.; DARMENCY, H.; GAZQUEZ, J.; DRON, M. Atrazine resistance in *Chenopodium album*: low and high levels of resistance to the herbicide are related to the same chloroplast *psbA* gene mutation. **Plant Physiology**, v.84, p.1442-1446, 1987.
- CANTO-DOROW, T.S. *Digitaria* Heister ex Haller. In: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A.M. (Ed.) **Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: HUCITEC, 2001a. p.143-150.
- CANTO-DOROW, T.S. O gênero *Digitaria* Haller (Poaceae - Panicoideae - Poniceae) no Brasil. Porto Alegre, 2001b. 386p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

CANTO-DOROW, T.S. Digitarias do grupo “capim-colchão” ou milhã ocorrentes no Brasil. Campinas, 2002. <http://www.hrac-br.com.br/trabalhos.htm> (13 abr. 2004).

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

CAVALHEIRO, E.M.; BARRETO, I.L. As espécies indígenas ou espontâneas do gênero *Digitaria*, Heister Ex Haller (Gramíneae) ocorrentes no Rio Grande do Sul. **Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas "Francisco Osório"**, v.8, p.171-315, 1981.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; CAETANO, R.S.X. Soil seed banks. **Scientia Agricola**, v.55, p.74-78, 1998.

CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase e acetil coenzima A carboxilise. Piracicaba, 2000. 211p. Tese (Livre-Docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; CORTEZ, M.G.; MONQUEIRO, P.A. Bases da Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas. In: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE MANEJO E CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS EM PLANTIO DIRETO, 3., Passo Fundo, 2001. **Resumos de palestras**. Passo Fundo: Editora Aldeia Norte, 2001. p.39-53.

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

CORTEZ, M.G. Resistência de biótipos de *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. a herbicidas inibidores da acetil coenzima a carboxilase. Piracicaba, 2000. 214p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

DIAS, N.M.P.; PEREIRA, M.R.D.B.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; BARELA, J.F.; TORNISIELO, V.L. Population dynamics of *Digitaria* spp submitted to selection pressure by herbicides in sugarcane crop **Journal of Environmental Science and Health Part B – Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v.40, n.1, p.1-8, 2004. (in press)

DIAS, N.M.P.; REGITANO, J.B.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; TORNISIELO, V.L. Absorção e translocação do herbicida diuron por espécies suscetível e tolerante de capim-colchão (*Digitaria* spp.) **Planta Daninha**, v.21, n.2, p.293-300, 2003.

DUKE, S.O. Modes of action of herbicides used in cotton. In: McWHORTER, C.G.; ABERNATHY, J.L. (Ed.) **Weeds of cotton: Characterization and control**. Memphis: The Cotton Foundation, 1992. p.403-437.

GASSEN, D.N.; HAASS, F.D. Manejo de plantas daninhas pós-colheita. **Revista Plantio Direto**, v.62, p.14-15, 2001.

GRONWALD, J.W. Resistance to photosystem II inhibiting herbicides. In: POWLES, B.; HOLTUM, J.A.M. **Herbicide resistance in plants** - biology and biochemistry. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.27-60.

GUTTIERI, M.J.; EBERLEIN, C.V.; THILL, D.C. Diverse mutations in the acetolactate synthase gene confer chlorsulfuron resistance in *Kochia (kochia scoparia)* biotypes. **Weed Science**, v.43, p.175-178, 1995.

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

HAUGHN, G.W.; SOMERVILLE, C.R. A mutation causing imidazolinone resistance maps to the *crsl* locus of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**, v.92, p.1081-1085, 1990.

HESS, F.D. Herbicide absorption and translocation and their relationship to plant tolerance and susceptibility. In DUKE, S.O. (Ed.) **Weed physiology**. Boca Raton: CRC Press, 1985. p.192-214. v.2: Herbicide physiology.

HIDAYAT, I.; PRESTON, C. Enhanced metabolism of fluazifop acid in a biotype of *Digitaria sanguinalis* resistant to the herbicide fluazifop-p-butyl. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.57, p.137-146, 1997.

- HIDAYAT, I.; PRESTON, C. Cross resistance to imazethapyr in a Fluazifop-*P*-butyl-resistant population of *Digitaria sanguinalis*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.71, p.190-195, 2001.
- HIRSCHBERG, J.; McINTOSH, L. Molecular basis of atrazine resistance in *Amaranthus hybridus*. **Science**, v.222, p.1346-1349, 1983.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soils**. Berkeley: California Agricultural Experimental Station, 1950. 347p.
- JASIENIUK, M.; BRÛLÉ-BABEL, A.L.; MORRISON, I.M. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. **Weed Science**, v.44, p.176-193, 1996.
- KELLY, S.T.; COATS, G.E.; LUTHE, D.S. Mode of the resistance of triazine-resistant annual bluegrass (*Poa annua*). **Weed Technology**, v.13, p.747-752, 1999.
- KISSMANN, K.G. **Plantas infestantes e nocivas - Tomo I: Plantas inferiores e monocledôneas**. São Bernardo do Campo: Editora BASF S.A., 1997. 824p.
- LADLIE, J.S. **Guide to herbicide injury symptoms in soybean with "look-alike" symptoms**. Hollamdale: Agri-Growth Research, 1991. 86p.
- LEE, Y.T.; CHANG, A.K.; DUGGLEBY, R.G. Effect of mutagenesis at serine 653 of *Arabidopsis thaliana* acetohydroxyacid syntase on

the sensitivity to imidazolinone and sulfonylureas herbicides. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v.452, p.341-345, 1999.

LII-CHYUAN, L.; SHIMABUKURO, R.H.; NALEWAJA, J.D. Diuron metabolism two sugarcane (*Saccharum officinarum*) cultivars. **Weed Science**, v.26, p.642-646, 1978.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: Terrestres e aquáticas. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2000a. 309p.

LORENZI, H. **Manual de identificação e de controle de plantas daninhas**: plantio direto e convencional. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2000b. 339p.

MENENDEZ, J. Mecanismos de resistencia a herbicidas en biotipos de *Alopecurus myosuroides* Huds. Córdoba, 1997. 246p. Tese (Doutorado) - Universidad de Córdoba.

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

MONQUEIRO, P.A.; CHRISTOFOLLETI, P.J.; DIAS, C.T.S. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja (*Glycine Max*). **Planta Daninha**. v.18, n.3, p.419-423, 2000.

- OETTMEIER, W.; MASSON, K.; SOLL, H.J.; DRABER, W. Herbicide binding at photosystem II: a new azido-triazinone photoaffinity label. **Biochemistry and Biophysics Acta**, v.767, p.590-595, 1984.
- OLIVEIRA JUNIOR, R.S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Ed. Agropecuária LTDA, 2001. 362p.
- OSUNA, M.D.; PRADO, R. Conyza albida: a new biotype with ALS inhibitor resistance. **European Weed Research Society Weed Research**, v.43, p.221-226, 2003.
- PFISTER, K.; STEINBACK, K.E.; GARDNER, G.; ARNTZEN, C.J. Photoaffinity labeling of an herbicide receptor protein in chloroplast membranes. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, v.78, p.981-985, 1981.
- PORNPROM, T.; YONG, P.J. Assessment of ALS-inhibiting herbicide tolerance in pepper cultivars. **Weed Science**, v.17, p.325-333, 1997.
- POWLES, C.; HOLTUM, J.A.M. **Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry**. Boca Raton: Lewis, 1994. 353p.
- PRADO, P.; SCALLA, R.; GAILLARDON, P. Differential toxicity of simazine and diuron to *Torilis arvensis* and *Lolium rigidum*. **Weed Research**, v.30, p.213-221, 1990.
- PRESTON, C.; HOLTUM, J.; POWLES, S. On the mechanisms of resistance to paraquat in *Hordeum glaucum* and *Hordeum leporium*. **Plant Physiology**, v.100, p.630-636, 1992.

- RAYAN, G.F. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. **Weed Science**, v.18, p.614-620, 1970.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. Londrina: IAPAR, 1998. 648p.
- SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT™ guide for personal computers**, Version 6. Cary: SAS Institute, 1987. 1028p.
- SEEFELDT, S.S.; JENSEN, S.E.; FUERST, E.P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationship. **Weed Technology**, v.9, p.218-227, 1995.
- SHERMAN, T.D.; VAUGHN, K.C.; DUKE, S.O. Mechanism of action and resistance to herbicides. In: DUKE, S.O. (Ed.) **Herbicide resistant crops**. Boca Raton: CRC Press, 1996. p.14-28.
- SINDICATO DAS INDÚSTRIAS DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS – SINDAG. <http://www.sindag.com.br> (15 jun. 2001).
- STRANG, R.H.; ROGERS, R.L. A microradiographic study of ¹⁴C-diuron absorption by cotton. **Weed Science**, v.19, p.355-362, 1971.
- VELDKAMP, J. F. A revision of *Digitaria* Haller (Gramineae) in Malesia. **Blumea**, v.21, n.1, p.1-80, 1973.
- WARWICK, S.I. Herbicide resistance in weed plants: physiology and population biology. **Annual Review in Ecology and Systematic**, v.22, p.95-144, 1991.

Errata

Página	Local	Onde se lê:	Leia-se:
31	Tabela 5 - 5ª coluna, penúltima linha	Não	Sim
53	Tabela 4 - 1ª coluna	Ametryne	Ametrina
69	Figura 1 - Título	<i>D. horizontalis</i>	<i>D. nuda</i>

Página 10, Item 2.2, Título, incluir: , adaptada

Página 31, Tabela 5, incluir: adaptado