

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ALEXANDRE GEMELLI

Aspectos da biologia, da detecção de resistência e associações de herbicidas  
visando ao controle de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate

Maringá

2013

ALEXANDRE GEMELLI

Aspectos da biologia, da detecção de resistência e associações de herbicidas  
visando ao controle *de Digitaria insularis* resistente ao glyphosate

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia  
do Departamento de Agronomia, Centro de  
Ciências Agrárias da Universidade Estadual  
de Maringá, como requisito parcial para a  
obtenção do título de Mestre em Agronomia-  
graduação em Agronomia

Área de concentração: Proteção de  
Plantas

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Rubem  
Silvério de Oliveira Jr.

Co-Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Jamil  
Constantin

Maringá

2013.

# FOLHA DE APROVAÇÃO

ALEXANDRE GEMELLI

Aspectos da biologia, da detecção de resistência e associações de herbicidas  
visando ao controle de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr.  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Jamil Constantin  
Universidade Estadual de Maringá

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fernando Storniolo Adegas  
EMBRAPA Soja

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ramiro Fernando López Overejo  
MONSANTO do Brasil

Aprovada em: 08 de fevereiro de 2013.

Local de defesa: Anfiteatro NAPD, NAPD, Bloco I-45, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

## DEDICATÓRIAS

Ofereço a Deus pelo dom da vida e pelas oportunidades que me dá para o meu crescimento como homem e espírito.

Aos meus pais, Eugênio Gemelli e Ester Bernardete Borin Gemelli, os quais nunca deixarão de ser os eternos “meus amigos”.

À minha irmã Aline Gemelli, a minha eterna parceira, pois sem ela eu nunca conheceria o verdadeiro sentimento da amizade.

À minha namorada Talita Mayara de Campos Jumes, a mulher que deu sentido à minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (PGA), pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado.

Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro por meio da bolsa de estudos concedida.

Ao meu orientador Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr., que tem sido grande conselheiro e amigo desde meu ingresso no curso de Agronomia.

Ao meu co-orientador Dr. Jamil Constantin, que contribuiu muito para o meu crescimento profissional e pessoal durante estes anos de convívio.

Ao Dr. Fernando Storniolo Adegas e Dr. Ramiro Fernando López Ovejero, por se disporem a participar da banca examinadora deste trabalho.

À secretária do Programa de Pós-graduação em Agronomia, Érika Cristina T. Sato, pelo atendimento profissional e competente durante este período de convivência.

Aos funcionários do Departamento de Agronomia/UEM, Milton Lopes da Silva e Luis Machado Homem, pela presteza e apoio na condução dos experimentos.

Aos amigos membros do Núcleo de Estudos Avançados em Ciência das Plantas Daninhas da Universidade Estadual de Maringá (NAPD/UEM), Alessandra Francischini, Antonio Neto, Denis Biffe, Diego Alonso, Éder Blainski, Eliezer Gheno, Fabiano Rios, Felipe Fornazza, Gizelly Santos, Guilherme Braga, Hudson Takano, Hugo Dan, Jethro Osipe, João Arantes, Luiz Franchini, Michel Raimondi, Naiara Guerra, Pedro Martini, Rodrigo Franciscon e Talita Jumes, pela amizade e companheirismo durante este período e indispensável colaboração nos trabalhos desenvolvidos.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para a conclusão deste trabalho, expresso

Muito obrigado!

## EPÍGRAFE

*“If you want to go quickly, go alone.  
If you want to go far, go together.”*  
(PROVÉRPIO AFRICANO)

## Aspectos da biologia, da detecção de resistência e associações de herbicidas visando ao controle de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate

### RESUMO

A resistência de *Digitaria insularis* ao glyphosate é um fato preocupante para a agricultura brasileira, pois esta planta daninha perene e rizomatosa pode se desenvolver e florescer durante o ano todo, nas condições climáticas da maioria das regiões agrícolas brasileiras. Este trabalho teve como objetivo, estudar alguns aspectos da biologia, da detecção de resistência e associações de herbicidas visando o controle de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate. Constatou-se que a metodologia de detecção de resistência de *D. insularis* via teste de germinação com solução de glyphosate é viável apenas com teste qualitativo. A temperatura do ar do município de Maringá-PR ao longo do ano não foi um fator limitante para a germinação de capim-amargoso. Dentre as associações de herbicidas avaliadas, algumas das combinações com uma formulação de glyphosate, um inibidor da ACCase e um inibidor da ALS mostraram bons resultados no controle de *D. insularis* resistente ao glyphosate. Porém, nos estádios mais avançados do desenvolvimento desta planta daninha, os problemas de antagonismo nas misturas se ressaltaram. Somente poucas combinações demonstraram resultados satisfatórios e estáveis em todos os estádios avaliados.

**Palavras-chave:** capim-amargoso. pós-emergência. Resistência. misturas de herbicidas.

Aspects of biology, detection of resistance and herbicide associations aiming to control *Digitaria insularis* resistant to glyphosate

**ABSTRACT**

The resistance of *Digitaria insularis* to glyphosate is a worrying fact for Brazilian agriculture, because this perennial and rhizomatous weed can develop and flowering throughout the year in the climatic conditions of most agricultural regions of Brazil. This work aimed to study some aspects of biology, detection of resistance and herbicide associations for the control of *Digitaria insularis* resistant to glyphosate. It was found that the method for detection of *D. insularis* resistance via germination test with glyphosate solution is feasible only with qualitative test. The air temperature in Maringá-PR throughout the year was not a limiting factor for germination of sourgrass. Among the herbicide associations evaluated, some combinations with a formulation of glyphosate and ACCase inhibitor and an inhibitor of ALS showed good results in controlling *D. insularis* resistant to glyphosate. However, in advanced stages of development of this weed, the problems of antagonism in mixtures emphasized. Only a few combinations showed satisfactory results and stability at all stages evaluated.

**Keywords:** sourgrass. post-emergence. resistance. herbicide mixtures.

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Herbicidas registrados na Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná - SEAB - 14/8/2012 para o controle de capim-amargoso ( <i>Digitaria insularis</i> ). .....	7
Tabela 2. Compilação dos casos de comprovação de resistência de gramíneas à glyphosate e herbicidas inibidores da ACCase registrados no mundo (Adaptado a partir de Heap, 2012). .	12
Tabela 3. Dados referentes aos locais de coleta de sementes de <i>Digitaria insularis</i> (capim-amargoso). .....	19
Tabela 4. Porcentagem de plântulas normais de <i>Digitaria insularis</i> submetidas ao teste de germinação com solução de glyphosate, segundo teste de Tukey.....	20
Tabela 5. Identificação dos biótipos de capim-amargoso resistentes ao glyphosate mediante germinação das sementes em placa de petri contendo solução com 400 mg e.a. L <sup>-1</sup> de glyphosate (Roundup Ready).....	21
Tabela 6. Parâmetros do modelo logístico ajustado, doses estimadas para a obtenção de 50, 80 e 95% de controle ou de redução do acúmulo massa seca (C <sub>50</sub> , C <sub>80</sub> e C <sub>95</sub> respectivamente) e fator de resistência (FR) obtidos para as populações de <i>D. insularis</i> quando submetidas a diferentes doses do herbicida glyphosate. ....	30
Tabela 7. Tabela com a descrição dos herbicidas e doses aplicados em quatro estádios de desenvolvimento de <i>D. insularis</i> e respectivas cores atribuídas para facilitar o entendimento dos resultados.....	35
Tabela 8. Tabela com a descrição das associações de herbicidas aplicados em quatro estádios de desenvolvimento de <i>D. insularis</i> . ....	37
Tabela 9. Condições climáticas no momento das aplicações dos tratamentos.....	38
Tabela 10. Resultados de controle e rebrota de capim-amargoso ( <i>D. insularis</i> ) 60 dias após a aplicação de associações de herbicidas inibidores da EPSPS, ACCase e ALS em quatro estádios de seu desenvolvimento.....	42
Tabela 11. Resultados de controle de capim-amargoso ( <i>D. insularis</i> ) 60 dias após a aplicação de associações de herbicidas inibidores da EPSPS, ACCase e ALS, além da caracterização das misturas segundo modificação da análise de Colby (1967) em três estádios de seu desenvolvimento.....	43
Tabela 12. Resumo dos melhores resultados dos tratamentos até o terceiro estágio de desenvolvimento de <i>D. insularis</i> (pré-florescimento), classificados pela ausência de rebrota e pelo nível de controle, além da caracterização das misturas segundo modificação da análise de Colby (1967).....	44

Tabela 13. Resumo dos melhores resultados dos tratamentos até o quarto estágio (E4) de desenvolvimento de <i>D. insularis</i> (florescimento pleno), classificados pela ausência de rebrota e pelo nível de controle, além da caracterização das misturas segundo modificação da análise de Colby (1967). .....	45
Tabela 14. Controle proporcionado por três formulações de glyphosate, quizalofop, clethodim, [imazapic + imazapyr] e imazethapyr utilizados isolados, em associações duplas e triplas quando aplicados em pós-emergência de <i>D. insularis</i> resistente ao glyphosate no estágio de pré-florescimento (E3). .....	49
Tabela 15. Controle proporcionado por três formulações de glyphosate, quizalofop, clethodim, [imazapic + imazapyr] e imazethapyr utilizados isolados, em associações duplas e triplas quando aplicados em pós-emergência de <i>D. insularis</i> resistente ao glyphosate no estágio de florescimento pleno (E4). .....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Exemplo de plântula normal de <i>Digitaria insularis</i> (A) e de plântulas com inibição do crescimento (B).....	18
Figura 2. Influência da temperatura do ar sobre a germinação de capim-amargoso resistente ao longo do ano no município de Maringá-PR. ....	23
Figura 3. Curva dose-resposta de <i>D. insularis</i> ao glyphosate com plantas cultivadas em vasos e mantidas em casa-de-vegetação baseada nos dados de controle (A) e nos resultados de massa seca (B) em relação à testemunha sem aplicação do herbicida. ....	29
Figura 4. Curva dose resposta de <i>D. insularis</i> ao glyphosate com plantas cultivadas em canteiros baseada nos dados de controle em relação à testemunha sem aplicação do herbicida. ....	30
Figura 5. Temperatura do ar mínima e máxima média mensal durante o período de outubro de 2011 a setembro de 2012. ....	32

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>2</b>
<i>Aspectos da biologia do capim-amargoso (Digitaria insularis).....</i>	<i>2</i>
<i>Herbicidas para o controle de Digitaria insularis.....</i>	<i>6</i>
<i>Mecanismos de resistência de Digitaria insularis ao glyphosate.....</i>	<i>9</i>
<i>Associações de herbicidas e seus entraves.....</i>	<i>13</i>
<b>I. ENSAIOS PRELIMINARES .....</b>	<b>16</b>
<i>Material e Métodos I.....</i>	<i>16</i>
<i>Resultados e Discussão I.....</i>	<i>20</i>
<i>Conclusões I.....</i>	<i>24</i>
<b>II. ENSAIO CURVA DOSE-RESPOSTA DE CAPIM-AMARGOSO AO GLYPHOSATE .....</b>	<b>25</b>
<i>Material e Métodos II.....</i>	<i>25</i>
<i>Resultados e discussão II: .....</i>	<i>28</i>
<i>Conclusões II.....</i>	<i>34</i>
<b>III. EFICÁCIA DE CONTROLE DE MISTURAS DE HERBICIDAS APLICADAS AO LONGO DO CICLO DE DESENVOLVIMENTO DE DIGITARIA INSULARIS .....</b>	<b>35</b>
<i>Material e Métodos III: .....</i>	<i>35</i>
<i>Resultados e Discussão III.....</i>	<i>41</i>
<i>Conclusões III.....</i>	<i>54</i>
<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>56</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>58</b>

## INTRODUÇÃO

Dentro da área de Ciência das Plantas Daninhas, um assunto que tem aumentado de importância e frequência em debates entre técnicos e produtores é o da resistência de plantas daninhas a herbicidas, principalmente com relação ao glyphosate, visto que este é o herbicida mais utilizado na cadeia produtiva brasileira de commodities agrícolas. O sucesso da introdução de culturas transgênicas resistentes ao glyphosate levou à utilização massiva do herbicida glyphosate na maioria das práticas de manejo de plantas daninhas dentro do ciclo das culturas, ou seja, uma forte pressão de seleção tem sido exercida. Aliado a esse fato, temos a grande dificuldade de descoberta, desenvolvimento e registro de novos herbicidas com novos mecanismos de ação. Portanto, as perspectivas para o futuro do manejo de plantas daninhas apresentam-se como sendo de problemas extremamente complexos e exigem programas de manejo tão diversificados quanto os problemas.

Nesse contexto, o capim-amargoso (*Digitaria insularis*) tem mostrado indícios de que será o foco principal de estratégias de controle químico nos próximos anos, visto que essa planta daninha já é naturalmente menos susceptíveis ao glyphosate do que outras espécies do gênero *Digitaria* e recentemente foram registrados casos de resistência a este herbicida. Atualmente tem sido comum entre os produtores com problemas relacionados a essa espécie, a utilização de glyphosate associado com um herbicida inibidor da ACCase, ambos em altas dosagens e com aplicações sequenciais. Este é o cenário que pode favorecer a seleção de biótipos com resistência múltipla devido à grande pressão de seleção exercida com essa estratégia.

Neste cenário, devido à dificuldade de introdução de novos herbicidas e mecanismos de ação no mercado, parece evidente que as futuras práticas de manejo de plantas daninhas serão baseadas principalmente nas moléculas herbicidas já utilizadas atualmente. O fator que poderá ser decisivo no sucesso de um determinado sistema de manejo é o conhecimento profundo da biologia das plantas daninhas. Somente aliando o conhecimento adequado do desenvolvimento das plantas com os métodos de controle disponíveis será possível superar os problemas dinâmicos observados atualmente.

Assim, este trabalho teve como objetivo estudar alguns aspectos da biologia, da detecção de resistência e associações de herbicidas visando ao controle de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Aspectos da biologia do capim-amargoso (*Digitaria insularis*)

#### **Botânica**

O gênero *Digitaria* compreende cerca de 300 espécies de plantas distribuídas em diferentes regiões do mundo, tanto de clima tropical quanto subtropical (Canto-Dorow, 2001). O capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Fedde) é uma espécie nativa de regiões tropicais e subtropicais da América, onde é frequentemente encontrado em pastagens, cafezais, pomares e em áreas ruderais como beira de estradas e terrenos baldios (Machado et al., 2008).

O Brasil é o país com maior diversidade de espécies do gênero *Digitaria*, sendo constatada a presença de 26 espécies nativas e de 12 exóticas. Entre estas espécies, atualmente, uma das que apresenta mais ampla distribuição geográfica é o capim-amargoso, ocorrendo na maioria dos ambientes favoráveis à agricultura, desde o continente asiático ao americano (Mondo et al., 2010). *Digitaria insularis* possui vários nomes comuns, destacando-se os seguintes no Brasil: capim-amargoso, capim-flecha, capim-açú, capim-pororó e milheto-gigante. Na língua inglesa o nome comum é *sourgrass*, que pode ser traduzido como capim-ácido, devido ao paladar ácido que esta planta apresenta quando ingerida.

Existem muitas sinonímias para *Digitaria insularis*, entre elas *Andropogon insularis* L.; *Trichachne insularis* (L.) Nees; *Tricholaena insularis* (L.) Griseb.; *Valota insularis* (L.) Chase; *Digitaria insularis* (L.) Mezex Ekman; *Panicum leucophaeum* Kunth, in Humb. & Bonpl.; *Acicar pasacchariflora* Raddi; *Trichachnes acchariflora* Nees; *Digitaria sacchariflora* (Nees) Henrard; *Leptocoryphium penicilligerum* Speg. e *Panicum insulare* (L.) G. Mey. var. *sacchariflorum* (Nees) Hack. Ex Stuckert. Contudo, o nome científico mais aceito é *Digitaria insularis* por ser o primeiro nome dado a esta espécie, sendo, portanto, o mais antigo (Canto-Dorow, 2001).

Nas últimas décadas, principalmente após o advento do sistema de plantio direto, esta espécie vem crescendo de importância dentro da agricultura brasileira, sendo este aumento relacionado às suas características de agressividade. Características de agressividade são definidas como características que proporcionam a sobrevivência do indivíduo em ambientes sujeitos aos mais variados tipos e intensidades de limitações ao crescimento e ao desenvolvimento das plantas (Brighenti & Oliveira, 2011).

Entre elas, destacam-se a capacidade de formação de rizomas, que apesar de curtos são bem evidentes, formando notáveis touceiras (Clayton et al., 2006) e a capacidade de disseminação de propágulos (sementes) praticamente durante todo o verão (Lorenzi, 2000;

Kissmann & Groth, 1997). As sementes desta espécie são revestidas por muitos pelos, os quais auxiliam sua dispersão a longas distâncias, o que, aliado ao grande percentual germinativo, permite que essa planta se dissemine com grande facilidade (Kissmann & Groth, 1997).

### ***Germinação e emergência***

Em condições de temperaturas constantes de 20 e 30°C a germinação das sementes de *D. insularis* depende da presença de luz. Já em condições de temperaturas alternadas, entre 15°C e 35°C, a germinação é semelhante tanto na presença quanto na ausência de luz, superando facilmente 90% de germinação após 10 dias (Pyon, 1975; Mondo et al., 2010). Além disso, segundo Pyon (1975), quando a presença de luz é necessária, com fotoperíodo de 8 a 12 horas de luz, as sementes germinaram mais rápido, mostrando índices de germinação próximos à 70% já aos 5 dias.

A necessidade dessa variação de temperatura durante a germinação geralmente está associada com modificações na permeabilidade do tegumento das sementes à água e a trocas gasosas (Braccini, 2011). É possível ainda que a alternância de temperatura interfira no equilíbrio entre substâncias promotoras e inibidores de dormência em sementes, como a relação entre as formas do fitocromo, vermelho e vermelho-distante (Mondo et al., 2010).

A emergência das plântulas de *D. insularis* é afetada pela profundidade do solo na qual as sementes são posicionadas. Maior porcentagem e maior velocidade de emergência ocorrem quando as sementes se encontram entre 1 e 3 cm de profundidade (Pyon et al, 1977; Martins et al., 2009). Além disso, Pyon et al. (1977) constataram que as sementes de capim-amargoso são mais tolerantes ao estresse hídrico durante a germinação em comparação à *Panicum maximum*, isto é, as sementes de *D. insularis* apresentam maior capacidade de germinar e se desenvolver sob condições de baixo potencial hídrico do solo em comparação com as plantas de capim-colonião (*P. maximum*).

A emergência de *D. insularis* e de outras espécies de plantas daninhas foi estudada por Lacerda (2003) por dois anos em sistemas de semeadura direta e convencional. O autor notou que maiores oscilações na temperatura e na precipitação promoveram maiores fluxos de germinação, fato este que corrobora com as condições ótimas para a germinação descritas por Mondo et al. (2010) e Pyon et al. (1977). Contudo, ainda não estão disponíveis informações suficientes para explicar quais são os períodos mais favoráveis para a ocorrência de fluxos de emergência de capim-amargoso no campo durante o ano todo. Neste sentido, a umidade do solo pode exercer papel fundamental no entendimento desses fluxos, principalmente para gramíneas, tal como abordado por Calado et al. (2009).

### ***Crescimento, desenvolvimento e reprodução***

*D. insularis* é uma gramínea de ciclo perene com metabolismo fotossintético do tipo C4 (Kissmann & Groth, 1997), porém apresenta crescimento inicial lento até 45 dias após a emergência (DAE). Dos 45 aos 105 DAE o seu crescimento é acelerado, apresentando aumento exponencial de matéria seca. Esse comportamento foi observado para raiz+rizoma, colmo e folha (folha+inflorescência). Na fase de crescimento exponencial, parte do incremento de massa seca das raízes a partir dos 45 DAE se deve à formação dos rizomas (Machado et al., 2006).

Nos ensaios de Machado et al. (2006) a emissão de inflorescências em *D. insularis* ocorreu entre os 63 e 70 DAE, quando a planta se desenvolveu no período de Abril a Agosto em Viçosa-MG. Enquanto que nos estudos de Pyon et al. (1977) esta planta daninha precisou em torno de 105 dias para florescer quando submetida a fotoperíodo fixo superior a 11 horas de luz, embora sob fotoperíodo de 9 horas de luz tenha sido necessário um tempo maior (não descrito pelo autor).

Assim, Pyon et al. (1977) atribuiu as diferenças no tempo para o florescimento de *D. insularis* ao acúmulo segundo cada fotoperíodo avaliado, ou seja, quanto maior era o fotoperíodo, maior era a quantidade de fotoassimilados em uma mesma unidade de tempo, portanto mais rápida era a formação da panícula. E descartou a hipótese de que a formação da panícula (florescimento) era induzida ou controlada por uma condição específica de luz.

Não obstante, Marques et al. (2012a) ainda apresentam uma nova abordagem para o estudo da influência do fotoperíodo sobre o desenvolvimento de *D. insularis*. Estes autores estudaram o desenvolvimento desta planta daninha no período em que o fotoperíodo é crescente (verão) em contraste com o período no qual é decrescente (outono–inverno). Concluíram que o comportamento desta espécie nas duas condições é bem diferente e que sob fotoperíodo crescente o capim-amargoso acumula três vezes mais massa seca do que no outro período.

Da mesma forma, houve diferença também no tempo para a emissão da panícula, que variou entre 100 (fotoperíodo crescente) e 126 dias (fotoperíodo decrescente) após a semeadura. Essas diferenças citadas se mantiveram quando o crescimento de *D. insularis* foi analisado sob o aspecto de acúmulo de graus dias. Apesar de os autores não terem discutido este assunto, é plausível afirmar que em períodos com menor acúmulo de massa seca o controle de *D. insularis* possa ser mais fácil, devido a possível menor formação de parte aérea e acúmulo de fotoassimilados nos rizomas.

O acúmulo de massa seca de *D. insularis* descrito por Machado et al. (2006) (30,66 g por planta aos 98 DAE) é superior quando comparado com outra gramínea como *B. plantaginea*, a qual apresentou 23,87 g por planta aos 143 DAE (Carvalho et al., 2007). Porém esse acúmulo não é tão expressivo quanto o de uma espécie como *Brachiaria brizantha* cv. MG5 (53,6 g por planta aos 70 DAE), quando destinada à utilização como forrageira (Silva et al., 2005).

Em áreas onde há uso contínuo de glyphosate, constata-se que plantas originárias de sementes, quando jovens, são controladas facilmente por esse herbicida; contudo, quando elas se desenvolvem e formam rizomas, seu controle é mais difícil. Dessa forma, infere-se que o melhor período para controle de *D. insularis* é quando os rizomas ainda não foram formados, período que para Machado et al. (2006) compreende até os 45 DAE.

Plantas de *D. insularis* provenientes de rizomas apresentam folhas com maior índice estomático, quando comparadas com plantas provenientes de sementes, para as duas faces da epiderme. Esta condição pode representar uma melhoria na habilidade de absorção de CO<sub>2</sub> (Batista et al., 2010). Além disso, plantas provenientes de rizomas mostram lâmina foliar mais espessa devido à maior espessura da cutícula e das faces adaxial e abaxial da epiderme (Machado et al., 2008).

A maior espessura da folha quando relacionada ao aumento da dimensão do mesófilo pode ser uma característica de plantas adaptadas à sombra (Castro et al., 1987; Taiz & Zeiger, 2004). Por outro lado, a maior espessura da folha quando relacionada à epiderme e cutícula mais espessas, são características de plantas que se adaptam a condições de estresse hídrico (Costa et al. (2012). Além disso, as características anatômicas foliares podem mudar com o avanço do desenvolvimento da planta (Marques et al., 2012b).

Tais estruturas das folhas também podem influenciar na deposição, retenção, absorção e translocação de soluções aplicadas sobre as folhas, funcionando como barreiras, e, dessa forma, estar associadas à maior ou menor resistência ou tolerância de determinada planta a herbicidas (Costa et al., 2010). Contudo, ainda são necessários trabalhos que estudem a correlação entre a composição lipídica da cutícula e da epiderme com a absorção de herbicidas.

Ainda não existem trabalhos que caracterizem os meios de dispersão das sementes de capim-amargoso, porém, devido ao diminuto tamanho e peso das mesmas estima-se que o principal meio de dispersão seja pelo vento, apesar de não se saber até que distância elas possam chegar. Além disso, as sementes dessa planta daninha aderem com facilidade a tecidos, podendo ser transportadas nas roupas dos trabalhadores e em alguns revestimentos de veículos.

Curiosamente, é comum encontrar sementes de *D. insularis* aderidas às sementes de capim-carrapicho, as quais possuem numerosos espinhos em sua estrutura.

Nesse sentido, espera-se que os fluxos de emergência desta planta daninha dependam da profundidade em que se encontram as sementes e das condições de umidade do solo, devido ao vento ser o provável principal meio dispersão das sementes do capim-amargoso. Sendo assim, as sementes normalmente se encontram nas camadas superficiais do solo e, portanto mais dependentes de boas condições de umidade para germinar do que sementes que estão em maiores profundidades.

Quando se trata de plantas oriundas de sementes no início de seu desenvolvimento, Pyon (1975) verificou a baixa capacidade competitiva de capim-amargoso em relação à *P. maximum* e à *Cenchrus ciliaris* em condições normais de luminosidade. E ainda, quando estas espécies se desenvolveram sob condições de até 60% de sombreamento, *D. insularis* teve sua altura, número de perfilhos e matéria seca reduzidos drasticamente em relação às demais espécies avaliadas. *D. insularis* não aumentou sua capacidade competitiva em relação a essas espécies mesmo com a aplicação de nitrogênio.

Assim, pode-se inferir que o capim-amargoso proveniente de semente tem baixa capacidade competitiva no início de seu desenvolvimento. Essas informações estão em concordância com o período de crescimento inicial lento descrito por Machado et al. (2006) e suportam a afirmação de que o início do desenvolvimento de *D. insularis* é o período de maior sensibilidade dessa planta daninha ao controle cultural e químico.

Deste modo, o ponto-chave no manejo de *Digitaria insularis* é que, uma vez estabelecida, a planta se torna muito rústica devido à formação de inúmeros rizomas e com o conjunto destes ocorre a formação de grandes touceiras. Uma vez ocorrido o processo de perenização, esta planta pode florescer e disseminar sementes com baixos níveis de dormência durante o ano todo.

### **Herbicidas para o controle de *Digitaria insularis***

Atualmente existem poucos ingredientes ativos registrados no Brasil para o controle de *Digitaria insularis* (Tabela 1). Além disso, excetuando-se o glyphosate, os herbicidas disponíveis são geralmente recomendados para aplicação em pré-emergência ou em pós-emergência precoce.

**Tabela 1.** Herbicidas registrados na Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná - SEAB - 14/8/2012 para o controle de capim-amargoso (*Digitaria insularis*).

Herbicidas	Modalidade de Aplicação <sup>1/</sup>			
	PRE	POSi	POSt	POSf
Alachlor	R <sup>2/</sup>	X	X	X
Amônio-glufosinato	X	R	R	SI
Clethodim	X	R	R	SI
[Clethodim+Fenoxaprop-p-ethyl]	X	R	SI	SI
Diuron	R	R	X	X
Glyphosate	X	R	R	R
[Diuron + Hexazinone]	R	X	X	X
Mesotrione	X	R	SI	SI
Pendimethalin	R	X	X	X
Quizalofop-p-ethyl	X	R	SI	SI
Quizalofop-p-tefuryl	X	R	SI	SI
Sethoxydim	X	R	SI	SI
Trifluralin	R	X	X	X

<sup>1/</sup> PRE = Herbicida aplicado em pré-emergência; POSi = Herbicida aplicado em pós-emergência até o segundo perfilho da espécie; POSt = Herbicida aplicado em pós-emergência quando a espécie encontra-se em perfilhamento pleno mas antes do florescimento; POSf = Herbicida aplicado em pós-emergência quando as plantas apresentam inflorescência; <sup>2/</sup> X = Não recomendado; SI = Sem informação; R = Recomendado (as informações de época de aplicação se referem às bulas de cada herbicida disponibilizadas pelos respectivos fabricantes em 2010)

Quando se trata do controle de *D. insularis* em pré-emergência, existem mecanismos de ação que possuem eficácia sobre capim-amargoso nessa modalidade: inibidores de divisão celular, inibidores do fotossistema II, inibidores da síntese de carotenoides, inibidores da ALS e inibidores da Protox. Aliado a isso, o capim-amargoso apresenta desenvolvimento inicial lento, sendo facilmente suprimido pela cultura ou mesmo por outras plantas daninhas nesse período (Pyon, 1977).

Para aplicações em pós-emergência, os mecanismos de ação se restringem aos inibidores da GS-GOGAT, ACCase, FSI, síntese de carotenoides e EPSPS. No entanto, das cinco opções, apenas três são de herbicidas com caráter sistêmico: inibidores da síntese de carotenoides, ACCase e EPSPS. Dentre eles, o glyphosate é o único herbicida que não possui restrição de uso em relação ao estágio das plantas de *D. insularis*, podendo ser utilizado até em plantas adultas (florescimento pleno) seguindo a dose recomendada.

Em plantas de capim-amargoso em estádios avançados de desenvolvimento, principalmente depois do florescimento, pode-se notar que após a aplicação de clethodim é possível remover a haste da panícula facilmente e as folhas jovens, devido à necrose dos tecidos meristemáticos e identificar a clorose das folhas; sintoma característico dos inibidores da ACCase em gramíneas (Roman et al., 2007). Porém, no capim-amargoso não ocorre a necrose total da planta e, aliás, dentro de pouco tempo é possível visualizar novos perfilhos sem quaisquer sintomas do herbicida. Nesse sentido, supõe-se que com avanço do desenvolvimento

do capim-amargoso, este possa apresentar algum mecanismo que diminua a translocação dos inibidores da ACCase até seu local de ação (Gemelli et al., 2012).

Plantas de capim-amargoso entouceiradas após serem submetidas à aplicação de herbicidas inibidores da ACCase não apresentam a necrose total de suas folhas. Normalmente as folhas ficam cloróticas e mantêm-se eretas, ou seja, a aplicação do herbicida não diminuiu drasticamente a área foliar da planta, a qual ainda é capaz de interferir na luminosidade do ambiente onde se encontra (Gemelli et al., 2012).

Os dois principais mecanismos de ação que apresentam ação pronunciada sobre gramíneas e podem atuar nos rizomas destas plantas, são os inibidores da EPSPS e os da ACCase. Contudo, já foram selecionadas populações de capim-amargoso resistentes ao primeiro e os herbicidas pertencentes ao segundo não conseguem destruir a parte aérea dessas plantas por completo, apesar de atuarem fortemente nas regiões meristemáticas acima do solo.

No manejo de *D. insularis*, os herbicidas inibidores do fotossistema I podem suprir parte da lacuna deixada pelos inibidores da ACCase, ou seja, apesar de não serem sistêmicos, estes herbicidas, se empregados corretamente, podem diminuir drasticamente a área foliar dessa planta apesar de não atuar nos órgãos de reserva. Se herbicidas de contato, tais como [paraquat+diuron] e amônio-glufosinato, são utilizados isoladamente em plantas de capim amargoso, é comum que ocorra a diminuição dos níveis de controle com o passar do tempo, devido à emissão de novos perfilhos provenientes das reservas acumuladas nos rizomas (Melo et al., 2010).

No início do desenvolvimento, as plantas de *Digitaria insularis* são mais facilmente controladas. Dornelles et al. (2004) verificaram níveis de controle acima de 85% com a utilização de atrazine, mesotrione e nicosulfuron quando as plantas se encontravam no estágio de 3 a 4 folhas. Já Adegas et al. (2010) demonstraram que empregando clethodim, fluazifop-p-buthyl, fenoxaprop-p-ethyl, tepraloxdim, [clethodim+fenoxaprop-p-ethyl], paraquat, haloxyzafop-methyl e imazapyr em plantas de capim-amargoso com até dois perfilhos é possível obter níveis de controle superiores a 90%.

No entanto, quando se trata de plantas em estágio avançado de desenvolvimento (florescidas) foram observados níveis de controle próximos a 50% com a utilização de [paraquat + diuron], porém com elevada ocorrência de rebrota (Procópio et al., 2006). Situação semelhante foi demonstrada com o uso de mesotrione aplicado em pós-emergência da cultura do milho para o controle da rebrota de plantas de capim-amargoso. Nesta situação, este herbicida proporcionou controle próximo a 70% aos 30 dias após a aplicação, contudo não

impediu a formação de grande massa vegetal de capim-amargoso ao final do ciclo da cultura do milho (Timossi et al., 2009).

Ainda são poucos os trabalhos que buscam definir programas de manejo para essa planta daninha, quando esta já passou pelo processo de perenização. Entretanto, com as informações atualmente disponíveis fica evidente que a utilização pontual de herbicidas inibidores da ACCase em pós-emergência poderá não ser a solução para o problema em todos os estádios de desenvolvimento de *D. insularis* (Correia & Durigan, 2009; Parreira et al., 2010).

Além disso, a dependência do uso de um único mecanismo de ação para o controle do capim-amargoso, especialmente em áreas com populações resistentes ao glyphosate, pode constituir uma fonte de pressão de seleção para a seleção de resistência a inibidores da ACCase. Com base em trabalhos visando ao controle de plantas já perenizadas, nota-se que o período de utilização de tais associações poderá apresentar “vida útil” muito pequena devido às altas doses empregadas e, portanto, elevar a pressão de seleção (Fornarolli et al., 2011).

Deste modo, parece claro que as alternativas para o controle de plantas adultas de *Digitaria insularis* deverão ser baseadas no uso de herbicidas com diferentes mecanismos de ação e estratégias de controle (translocação até os rizomas e destruição da área foliar). Com relação à translocação, pode ser que alguns inibidores da ALS, devido à sua capacidade de translocação, possam fazer parte do plano de manejo de *D. insularis* resistente ao glyphosate. Em muitos casos, o manejo de *D. insularis* não poderá ser realizado com êxito somente com uma única aplicação, já que esta é uma planta de ciclo perene, capaz de se estabelecer durante o ano todo, e as ações de manejo deverão ser realizadas o ano inteiro.

### **Mecanismos de resistência de *Digitaria insularis* ao glyphosate**

Em virtude de todos os aspectos e condições descritas anteriormente, é compreensível que alguns agricultores possam confundir a menor susceptibilidade a herbicidas em plantas de capim-amargoso após a perenização (formação de rizomas) com a resistência ao herbicida glyphosate. Principalmente em função da existência de populações de susceptibilidade intermediária (Correia et al., 2010) e do crescente aumento na dose de glyphosate requerida para o controle de capim-amargoso com o avanço de seu desenvolvimento (Melo, 2011).

Recentemente foi evidenciada a existência de biótipos de *D. insularis* resistentes ao glyphosate (Carvalho et al., 2011), cujos mecanismos que conferem resistência a essa planta estão relacionados à mais lenta absorção de glyphosate por plantas do biótipo resistente, assim como com a mais rápida metabolização do glyphosate em AMPA, glioxilato e sarcosina. Além

disso, a translocação é muito menor em plantas do biótipo resistente em relação ao susceptível, mesmo em plantas novas, com 3 a 4 folhas (Carvalho, 2011).

A identificação do mecanismo de resistência de *D. insularis* ao glyphosate (Carvalho, 2011) aliado à comprovação da mudança dos aminoácidos nas posições 182 e 310 da enzima EPSPS de plantas de capim-amargoso resistentes (Carvalho et al., 2012) e ao aumento natural da tolerância dessa planta ao glyphosate com o avanço do seu desenvolvimento reforçam a ideia proposta por Neve & Powles (2005) baseada na resistência de *Lolium rigidum* a inibidores da ACCase.

Neve & Powles (2005) verificaram que é possível em poucas gerações selecionar biótipos de *L. rigidum* (espécie alógama) resistentes à diclofop-methyl a partir de uma população susceptível com o uso de doses baixas do herbicida (abaixo da dose de registro do herbicida). Ao final da seleção empregada por estes autores, os mesmos constataram que os mecanismos de resistência tendem a ser de herança poligênica, ou seja, existe mais de um gene que condiciona a resistência de *L. rigidum* à diclofop-methyl.

Além disso, como a seleção dos biótipos resistente ocorreu com doses baixas, provavelmente os mecanismos de resistência não são sempre específicos ao herbicida empregado. A resistência neste caso pode ser condicionada por alterações de ordem mais ampla no metabolismo da planta daninha. Esta afirmação foi comprovada no mesmo estudo, com a constatação do aumento da tolerância do biótipo selecionado a herbicidas inibidores da ACCase e alguns inibidores da ALS concomitantemente à seleção da resistência à diclofop-methyl. Todavia, ressalta-se que os indivíduos selecionados a cada geração somente cruzavam entre si para produzir a geração seguinte, portando, não ocorreu a entrada de genótipos susceptíveis como é passível de ocorrência a campo.

Diferentemente, quando a seleção de biótipos resistentes ocorre pelo uso de doses altas, quando normalmente é constatada a resistência causada por uma alteração pontual no genoma da planta e muito específica que confere à enzima-alvo do herbicida a insensibilidade ao mesmo, tal como ocorre em alguns biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes a herbicidas inibidores da ACCase (Prado et al., 2000).

Melo (2011) constatou através de experimentos de dose-resposta de capim-amargoso ao glyphosate, que a dose necessária para proporcionar o controle de 90% das plantas (biótipo susceptível) no estágio de pré-florescimento foi de 2140 g e.a. ha<sup>-1</sup> de glyphosate. Esta dose é quase 50% maior do que a dose máxima de registro para esta planta daninha (1440 g e.a. ha<sup>-1</sup>) e quase 80% maior do que a dose média de glyphosate usada para a dessecação de manejo (1200

g e.a. ha<sup>-1</sup>), portanto é admissível afirmar que a seleção de biótipos de capim-amargoso resistente ao glyphosate vem sendo realizada por meio de doses baixas.

Desta forma é possível supor que existe semelhança entre a forma como tem ocorrido a seleção da resistência a herbicidas em *D. insularis* e *L. rigidum*. Portanto, é possível que os mecanismos que conferem a resistência do capim-amargoso ao glyphosate não sejam totalmente específicos, tal como demonstrado por Neve & Powles (2005) para *L. rigidum*. Logo, deve-se ter em mente que há probabilidade de ocorrência de resistência múltipla para essa espécie.

Neste sentido, na Tabela 2 há uma compilação dos biótipos de três espécies de gramíneas registradas com histórico de resistência à glyphosate, inibidores da ACCase ou a ambos os mecanismos (Adaptado de Heap, 2012).

**Tabela 2.** Compilação dos casos de comprovação de resistência de gramíneas à glyphosate e herbicidas inibidores da ACCase registrados no mundo (Adaptado a partir de Heap, 2012).

Nome científico	Registro de casos de resistência				T1	T2
	Local	ACCcase	Glyphosate	Múltipla	Ano(s)	
<i>Eleusine indica</i>	Malásia	1990	-	1997	7	0
<i>Eleusine indica</i>	Bolívia	2005	-	-	-	-
<i>Eleusine indica</i>	Brasil	2003	-	-	-	-
<i>Eleusine indica</i>	Colômbia	-	2006	-	-	-
<i>Eleusine indica</i>	Estados Unidos	-	2010	-	-	-
<i>Lolium multiflorum</i>	Chile	1998	2001	2006	3	5
<i>Lolium multiflorum</i>	Argentina	2009	2007	2010	2	1
<i>Lolium multiflorum</i>	Brasil	-	2003	2010	7	0
<i>Lolium multiflorum</i>	França	1993	-	-	-	-
<i>Lolium multiflorum</i>	Itália	1995	-	-	-	-
<i>Lolium multiflorum</i>	Espanha	-	2006	-	-	-
<i>Lolium multiflorum</i>	Reino Unido	1990	-	-	-	-
<i>Lolium multiflorum</i>	Estados Unidos	1987	2004	-	17	-
<i>Lolium rigidum</i>	Austrália	1984	1996	1999	8	3
<i>Lolium rigidum</i>	Israel	1998	-	2007	9	0
<i>Lolium rigidum</i>	África do Sul	1993	2001	2003	8	2
<i>Lolium rigidum</i>	Chile	1997	-	-	-	-
<i>Lolium rigidum</i>	França	1993	2005	-	12	-
<i>Lolium rigidum</i>	Iran	2007	-	-	-	-
<i>Lolium rigidum</i>	Itália	-	2007	-	-	-
<i>Lolium rigidum</i>	Arábia Saudita	1992	-	-	-	-
<i>Lolium rigidum</i>	Espanha	1992	2006	-	14	-
<i>Lolium rigidum</i>	Tunísia	1996	-	-	-	-
<i>Lolium rigidum</i>	Estados Unidos	-	1998	-	-	-
Média aproximada					9	2

T1: Período de tempo entre a comprovação de casos de resistência para ambos os mecanismos isoladamente (Glyphosate e ACCase); T2: Período de tempo a partir da comprovação da existência de biótipos resistentes aos dois mecanismos isoladamente e a comprovação do surgimento de um biótipo com resistência aos dois mecanismos (resistência múltipla).

Como o glyphosate e os herbicidas inibidores da ACCase são os principais herbicidas pós-emergentes usados como graminicidas, é normal que após a ocorrência de um biótipo resistente a um dos mecanismos, o uso do outro aumente intensamente e com isso também a pressão de seleção. Assim, com base nos registros de Heap (2012) foi confeccionada a Tabela 2. Nela foram criados dois parâmetros: o T1, que se refere ao período de tempo entre a comprovação de casos de resistência à glyphosate e ACCase isoladamente, e o T2, que caracteriza o período de tempo a partir da comprovação da existência de biótipos resistentes aos dois mecanismos isoladamente e a comprovação do surgimento de um biótipo com resistência aos dois mecanismos (resistência múltipla).

A média dos valores de T1 encontrados é de nove anos, ou seja, estima-se que depois do registro de resistência a um dos mecanismos de ação, a consequente maior pressão de seleção pelo outro mecanismo de ação leve à seleção de biótipos resistentes ao segundo mecanismo em nove anos. Todavia o valor médio para o T2 é de dois anos, o que significa que após a

comprovação da existência de biótipos resistentes à glyphosate e a ACCase isoladamente, em média dois anos após, já foi possível encontrar biótipos com resistência múltipla. Esses dados sugerem que basear o manejo de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate somente na utilização de herbicidas inibidores da ACCase pode ser uma medida com curta viabilidade de eficiência.

Ressalta-se ainda que as informações descritas anteriormente se baseiam nos registros de Heap (2012) e são apenas especulações sobre o assunto, visto que não há muito conhecimento com respeito à genética populacional de *Digitaria insularis*. Portanto foi feita apenas uma análise comparativa com as informações já difundidas sobre as espécies de gramíneas já registradas com resistentes aos mecanismos de ação citados. No entanto, com a atual intensificação do uso de herbicidas é possível que os eventos de resistência ocorram de maneira mais frequente no futuro próximo.

### **Associações de herbicidas e seus entraves**

A associação de herbicidas é uma prática comum quando se busca o melhor controle de plantas daninhas de difícil controle com glyphosate (Monquero et al., 2001) e de grande valia quando se espera diminuir os riscos de seleção de um biótipo resistente (Diggle et al., 2003). Ademais, o uso de glyphosate normalmente é necessário para o controle do complexo de plantas daninhas presentes nas áreas agrícolas, mesmo em áreas onde já houve a seleção de plantas daninhas resistentes.

Entretanto, o tema associação de herbicidas é muito polêmico na literatura científica. A mesma associação pode ser sinérgica, aditiva e ou antagonística. A título de exemplo, Burke et al. (2004) constataram que a associação entre clethodim e imazapic para o controle de *Digitaria sanguinalis* é altamente antagonística, enquanto que Lancaster et al. (2008) verificaram que para a mesma espécie esta mistura não apresenta antagonismo. Neste contexto, Burke et al. (2004) também constataram que o antagonismo entre clethodim e imazapic pode ocorrer mesmo se os produtos forem aplicados separados por um curto prazo de tempo.

Provavelmente as diferenças encontradas entre os resultados se devem à grande gama de fatores envolvidos neste tipo de comparação. Com relação aos herbicidas temos as interações entre as formulações, pois um mesmo princípio ativo pode estar em conjunto com diferentes adjuvantes dependendo da marca comercial e estes por sua vez podem modificar a eficiência do outro princípio ativo associado. Por exemplo, Norris (2001) averiguou que o antagonismo ou sinergismo de glyphosate em mistura com imazethapyr depende da formulação de glyphosate em relação ao controle de capim-arroz (*Echinochloa crusgalli*). Outro ponto

importante é que, o efeito sinérgico de uma mistura de herbicidas pode ocorrer no controle de uma determinada planta daninha e não de outra (Werlang & Silva, 2002).

Com relação aos fatores ligados à planta temos as condições de estresse por seca, alagamento e frio, as quais podem prejudicar a eficiência de um herbicida sobre uma determinada planta daninha (Zhou et al., 2007). Já quanto aos aspectos relacionados à tecnologia de aplicação, pode-se ressaltar a qualidade de água e fatores como o pH, dureza e salinidade como características que podem diminuir a eficiência dos herbicidas (Mueller et al., 2006), e ainda interagir de maneira diferenciada com cada princípio ativo.

Barnes & Lawrence (2004) indicam que o cloransulan antagoniza os herbicidas inibidores da ACCase pertencentes somente ao grupo químico ariloxifenoxipropionatos, tais como fluazifop-p, quizalofop e [fluazifop + fenoxaprop]. Porém, cloransulan não diminui o controle de gramíneas anuais quando associado aos inibidores da ACCase pertencentes ao grupo químico das ciclohexanodionas, tais como clethodim e sethoxydim. Relatam ainda que o aumento da dose dos graminicidas (quizalofop principalmente) é uma das estratégias para se vencer o efeito antagonístico de suas associações. O aumento das doses de glyphosate também foi uma estratégia indicada por Vidal et al. (2003) para vencer os efeitos antagonístico encontrados em misturas contendo esse herbicida.

Com relação à planta, há implicações quanto à absorção e translocação dos herbicidas quando aplicados em associação ou de forma sequencial em um período curto de tempo. O antagonismo entre nicosulfuron e mesotrione, por exemplo, pode ser atribuído à menor absorção e translocação do primeiro quando combinado com o segundo (Schuster et al., 2007), fato que leva à queda nos níveis de controle em relação ao nicosulfuron aplicado sozinho (Schuster et al., 2008).

Bromoxynil pode inibir o transporte de quizalofop-p-ethyl no floema de plantas de milho (Kim et al., 2006). Ou ainda, trifloxysulfuron-sodium combinado com clethodim reduz a sensibilidade da enzima ACCase de *Eleusina indica* ao clethodim por causar a diminuição da atividade fotossintética desta planta daninha, apesar de não interferir na absorção, translocação e metabolismo do clethodim no capim-pé-de-galinha (Burke & Wilcut, 2003).

Curiosamente, mesmo para misturas que frequentemente são antagonísticas como os casos das associações entre inibidores da ACCase e mimetizadores de auxina como o 2,4-D (Trezzi et al., 2007), com a mistura de clodinafop e 2,4-D, ou ainda, com 2,4-D combinado com clethodim ou quizalofop (Blackshaw et al., 2006), podem existir casos em que as associações de herbicidas pertencentes a esses mecanismos de ação apresentem comportamento diferente.

Neste sentido Mccullough et al. (2011) descrevem que aminocyclopyrachlor (mimetizador de auxina) melhora o controle de *Digitaria ischaemum* por fenoxaprop (inibidor da ACCase), quando ambos são utilizados em conjunto.

Confirmando a ideia de que uma dada associação de herbicidas pode ser sinérgica ou aditiva em certas plantas daninhas e antagonística em outras, Steele et al. (2008) reportaram que diuron em associação com glyphosate é uma excelente opção para o controle de *Ipomoea cordatotriloba* apesar de o primeiro reduzir a absorção e translocação do segundo. No entanto, estes autores sugerem que a restrição da translocação de glyphosate favorece o controle das espécies com maior relação parte aérea/raiz e desfavorece o controle das plantas daninhas que apresentam sistema radicular maior.

Dessa forma, o estudo das interações entre herbicidas quando aplicados de forma associada, comumente chamada de mistura em tanque, é tão complexo e variável quanto qualquer outro tema dentro da Ciência das Plantas Daninhas. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar alguns aspectos da biologia, da detecção de resistência e associações de herbicidas visando o controle de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate.

## I. ENSAIOS PRELIMINARES

### Material e Métodos I

#### *Caracterização das populações estudadas de D. insularis resistente ao glyphosate*

Em uma área agrícola localizada próximo ao aeroporto do Município de Maringá-PR, cujas coordenadas são 23°28'20.05"S e 51°59'57.64", à 552 metros de altitude, foi coletada uma amostra de sementes de capim-amargoso (*D. insularis*) no dia 17 de Outubro de 2011. Esta amostra foi chamada de Aeroporto Novo (N). No momento da coleta, as panículas desta espécie se encontravam plenamente desenvolvidas, o que significa dizer que naquela ocasião, com leve agitação das panículas as sementes se desprendiam com facilidade.

Essa condição é determinante para o sucesso da germinação das sementes dessa espécie, pois, com um teste simples de germinação em placas de petri verificou-se que as sementes que não se desprendiam prontamente da panícula não germinavam, enquanto que as demais apresentavam altos índices de germinação. Nesse sentido, este estágio de desenvolvimento desta planta daninha será descrito como 'florescimento pleno'.

A área agrícola citada foi escolhida para a coleta porque possui um longo histórico de uso de glyphosate, sendo constatado baixo nível de controle e o escape de plantas de *D. insularis*, mesmo com a aplicação de até 1980 g e.a. ha<sup>-1</sup> de glyphosate. Por isso, as plantas de *D. insularis* presentes nessa área foram consideradas como resistentes ao glyphosate, pois a dose de 1440 g e.a. ha<sup>-1</sup> ou 3,0 L p.c. ha<sup>-1</sup> de Roundup transorb<sup>®</sup> é tida como suficiente para o controle de plantas adultas de *D. insularis* segundo o registro desse herbicida no MAPA (2012).

A densidade dessa espécie na área de coleta era muito alta, sendo possível constatar a ocorrência de grandes 'reboleiras' com até 40 plantas por metro quadrado, das quais, várias já estavam com mais de 15 perfilhos e pelo menos cinco plantas já se apresentavam em florescimento pleno. A infestação da área era tamanha que o produtor realizou a gradagem pesada de toda a área após a colheita do milho safrinha (2012).

Todas as condições descritas anteriormente serviram de base para a afirmação de que aquela população de *D. insularis* era resistente ao glyphosate, pois não se tratava de poucas ocorrências de escapes dessa espécie, mas sim, de uma área amplamente infestada, mesmo após sucessivas aplicações de altas dosagens de glyphosate. Assim, as sementes do biótipo resistente estudado no experimento II e experimento III foram provenientes da amostra (N) coletada em Outubro de 2011. Já o biótipo susceptível (S), estudado nos experimentos citados, foi proveniente de uma coleta em um terreno abandonado na cidade de Terra Roxa, PR. Estes dois

biótipos foram escolhidos para a realização dos experimentos devido à grande quantidade de sementes coletadas.

### ***Metodologia alternativa para teste de resistência de D. insularis ao glyphosate***

Para o primeiro ensaio foram utilizadas sementes de três biótipos, o susceptível S e o resistente N, já descritos no item 3.1.1., e um terceiro coletado na área localizada ao lado do aeroporto velho (V). A área de coleta do biótipo V apresentava grandes reboleiras com plantas de capim-amargoso perenizadas, porém havia uma densidade menor de plantas em comparação à área de coleta do biótipo N.

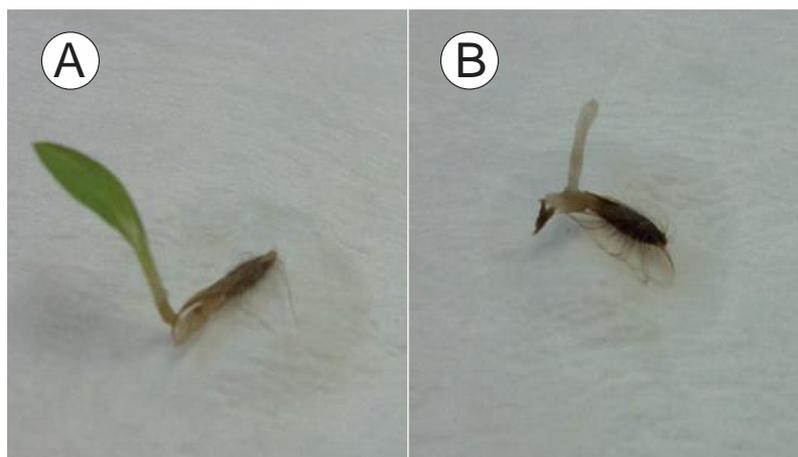
Primeiramente foi avaliada qual a concentração de glyphosate necessária para inibir ou pelo menos atrasar a germinação e o desenvolvimento das plântulas de capim-amargoso. A partir da metodologia descrita por Carvalho (2011), foram selecionadas para esta primeira etapa duas concentrações de glyphosate, de 200 e 400 mg e.a. L<sup>-1</sup> (miligrama de equivalente ácido por litro).

Cada unidade experimental foi composta por uma placa de petri (9 cm) com duas folhas de papel germitest. Devido à pequena quantidade de sementes disponível, foram utilizadas três repetições com 25 sementes cada. Para o ensaio foram selecionadas apenas as sementes bem formadas, a fim de se obter o máximo de germinação.

Em cada placa de petri já com o papel germitest adicionou-se 5 mL da solução correspondente ao tratamento. Cada biótipo foi submetido às concentrações: padrão (água destilada), 200 e 400 mg e.a. L<sup>-1</sup> de glyphosate (sal de isopropilamina). O produto comercial utilizado foi o Roundup Ready<sup>®</sup>. Posteriormente as sementes foram distribuídas sobre o papel umedecido de modo que os pelos das sementes mantivessem bom contato com o papel.

As placas de petri foram mantidas em câmara de crescimento com condições controladas. As condições de temperatura e luminosidade utilizadas foram baseadas no trabalho de Mondo et al. (2010), os quais verificaram que sob temperatura alternada de 35-20°C e com fotoperíodo de 8 horas a germinação das sementes de *D. insularis* ultrapassava 95%.

As placas de petri foram mantidas nessa condição durante 10 dias, sendo umedecidas com água destilada sempre que necessário. Ao final desse período foi realizada a contagem das plantas germinadas. Estas foram divididas em dois grupos. No primeiro grupo, chamados de plântulas normais, foram classificadas plantas que apresentavam limbo foliar expandido e radícula íntegra, sem dano (Figura 1A). No segundo grupo, chamado de plantas com injúrias, foram classificadas aquelas cujas radículas apresentavam-se necrose na região terminal e com limbo foliar enrolado, clorótico ou mesmo ausente (Figura 1B).



**Figura 1.** Exemplo de plântula normal de *Digitaria insularis* (A) e de plântulas com inibição do crescimento (B)

Os dados de contagem de sementes germinadas foram convertidos em porcentagem de cada uma das categorias descritas anteriormente. Os resultados do teste de germinação foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de média de Tukey, à 5% de probabilidade.

Na segunda etapa foi utilizada a mesma metodologia anterior, porém, utilizando somente a concentração de 400 mg e.a. L<sup>-1</sup> de glyphosate e quatro repetições. Nesta etapa foram comparados sete biótipos suspeitos de resistência em comparação a um biótipo S, por meio do teste de Dunnet a 5% de probabilidade, além de avaliar a porcentagem de plantas resistentes entre os biótipos estudados. Além dos biótipos N, V e S já utilizados na primeira etapa, foram coletados mais cinco biótipos provenientes de área com suspeita da presença de plantas resistente ao glyphosate (Tabela 3). A densidade de plantas nas áreas de coleta destes cinco biótipos era pequena, constituindo-se de pequenas reboleiras dispersas na área. Devido a este fato não foi possível coletar grande quantidade de sementes e por isso nenhum desses cinco foi escolhido para a realização de ensaios posteriores.

**Tabela 3.** Dados referentes aos locais de coleta de sementes de *Digitaria insularis* (capim-amargoso).

Ref.	Nome	Suspeita de resistência	Latitude	Longitude	Município	Data de Coleta
S	Lote baldio	Susceptível	24°10'32.16"S	54°05'14.36"O	Terra Roxa	27/08/2011
7	Lote 07	Resistente	24°07'48.80"S	54°02'26.12"O	Terra Roxa	02/09/2011
3	Lote 03	Resistente	24°11'21.75"S	54°04'29.72"O	Terra Roxa	27/08/2011
C	Chapelão	Resistente	23°23'40.60"S	52°00'41.92"O	Maringá	22/10/2011
N	Aeroporto Novo	Resistente	23°28'20.05"S	51°59'57.64"O	Maringá	17/10/2011
V	Aeroporto Velho	Resistente	23°26'06.22"S	51°53'54.43"O	Maringá	19/10/2011
M	Mandioca	Resistente	23°20'09.79"S	52°07'24.27"O	Mandaguaçu	22/10/2011
6	Lote 06	Resistente	24°11'32.68"S	54°01'36.53"O	Terra Roxa	27/08/2011

### ***Influência da temperatura do ar ao longo do ano sobre a emergência de D. insularis.***

Com o objetivo de observar o efeito da temperatura sobre a emergência do capim-amargoso ao longo do ano no município de Maringá, foi realizado um ensaio no qual mensalmente foi preparada uma bandeja de isopor (200 células) preenchida com substrato para mudas. Nesta bandeja eram semeadas 200 sementes de capim-amargoso (biótipo N), e as bandejas eram mantidas posteriormente em casa-de-vegetação pertencente à Universidade Estadual de Maringá, onde recebiam irrigação diariamente.

Quatorze dias após a semeadura era realizada uma contagem de plântulas emergidas, obtendo-se deste modo uma estimativa da emergência mensal de *D. insularis*. Neste ensaio as condições de umidades eram controladas, assim como a profundidade em que se encontrava a semente, de modo que somente a temperatura do ar e o fotoperíodo interferiam na emergência, apesar de este não ter sido controlado ou monitorado.

Concomitantemente, com a mesma amostra de sementes eram realizados testes de germinação em câmara BOD com temperatura variando de 35 a 20 °C, condição considerada ótima para a germinação de capim-amargoso (Mondo et al., 2010). O período mantido na temperatura de 35 °C foi de 8 horas e coincidiu com o período em que a luz da câmara estava ligada. Em quatro placas de petri com duas folhas de papel germitest eram colocadas para germinar 25 sementes em cada uma (biótipo N). Ao final foram comparadas as emergências do capim-amargoso nas bandejas com a emergência teoricamente máxima, aferida na BOD, a fim de identificar diferenças ao longo do ano e verificar se esta diferença podia ser correlacionada com as temperaturas máximas e mínimas médias ocorridas nesse período. As informações de temperatura foram obtidas junto à estação climatológica pertencente à Universidade Estadual de Maringá.

## Resultados e Discussão I.

### *Metodologia alternativa para teste de resistência de D. insularis ao glyphosate*

Com o primeiro ensaio (Tabela 4) foi possível verificar que a concentração de 400 mg e.a. L<sup>-1</sup> de glyphosate foi capaz de inibir o desenvolvimento de praticamente todas as plântulas do biótipo tido como susceptível (S) e somente parte das plântulas dos demais biótipos (N e V). O biótipo N apresentou quantidade de plântulas normais significativamente maior do que a testemunha, quando comparado pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade (Tabela 4).

**Tabela 4.** Porcentagem de plântulas normais de *Digitaria insularis* submetidas ao teste de germinação com solução de glyphosate, segundo teste de Tukey.

Dose de glyphosate (mg e.a. L <sup>-1</sup> )	Biótipo		
	S <sup>2/</sup>	N <sup>2/</sup>	V <sup>2/</sup>
0	83,33 a A <sup>1/</sup>	95,40 a A	89,60 a A
200	93,90 a A	58,23 a A	82,40 a A
400	2,90 b B	83,80 a A	56,93 ab A
C.V.(%)	42,70		
DMS	62,93		

<sup>1/</sup>Dados seguidos de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. <sup>2/</sup>Referência aos locais de coleta das sementes: Lote Baldio em Terra Roxa-PR, biótipo susceptível (S); Área comercial ao lado do aeroporto novo em Maringá-PR, biótipo resistente (N); Área comercial ao lado do aeroporto velho em Maringá-PR, biótipo resistente (V).

Foi observada boa porcentagem média de germinação, 68 e 78% para a primeira e segunda etapa respectivamente. Valores elevados para o coeficiente de variação (CV) desse ensaio, assim como, para a diferença mínima significativa (DMS) ocorreram provavelmente devido ao pequeno número de repetições e de sementes por unidade experimental. Apesar disso, foi possível identificar a presença de indivíduos resistentes ao glyphosate.

Os resultados indicam que a metodologia analisada apresenta potencial como ferramenta para um teste rápido de resistência ao glyphosate. Neste caso, a metodologia deve ser encarada como uma alternativa a métodos de laboratório mais caros e trabalhosos tais como avaliação do acúmulo de chiquimato em discos foliares expostas a soluções contendo glyphosate utilizada por Melo (2011). Como limitação, pode-se dizer que se trata de um teste qualitativo e não quantitativo.

A validação dos resultados desta metodologia aplicando-se o glyphosate em plantas no campo apresenta alguns aspectos que devem ser levados em conta. Primeiramente, as plantas que sobreviveram ao teste de germinação não sobrevivem ao transplante para o solo, pois sua radícula é muito frágil e grande parte da pequena reserva energética de semente foi gasta durante

o processo de germinação. Logo, as plantas que serão avaliadas a campo devem vir da amostra de sementes inicial.

Outro aspecto é o estágio em que estas plantas receberão a aplicação de glyphosate e em que condições climáticas estas plantas se desenvolveram. Estes por sua vez influenciam no fator de resistência das plantas de capim-amargoso. Por isso devem ser cuidadosamente controlados e avaliados. Mais informações sobre a influência das condições climáticas no desenvolvimento de *D. insularis* e este sobre o fator de resistência ao glyphosate serão apresentadas no item 4.2.1.

Na segunda etapa foram comparados sete biótipos coletados de diferentes áreas agrícolas com histórico de uso intenso de glyphosate. Todos os locais diferiram do biótipo susceptível em relação à porcentagem de plântulas normais segundo o teste de Dunnett a 5 % de probabilidade (Tabela 5). Outra informação importante é que foi possível identificar as diferentes estimativas das porcentagens de indivíduos resistentes em cada população, mostrando que o grau de seleção varia em função da área, assim como a gravidade do problema (Tabela 5).

**Tabela 5.** Identificação dos biótipos de capim-amargoso resistentes ao glyphosate mediante germinação das sementes em placa de petri contendo solução com 400 mg e.a. L<sup>-1</sup> de glyphosate (Roundup Ready).

Biótipo <sup>1/</sup>	% Plântulas Normais	Tukey <sup>2/</sup>	Dunnett <sup>3/</sup>
S	0,00	D	
7	34,70	C	*
3	56,15	BC	*
C	71,90	AB	*
N	77,57	AB	*
V	82,27	AB	*
M	90,60	A	*
6	92,65	A	*
CV (%)		17,82	17,82
DMS		26,38	22,42

<sup>1/</sup>Referência aos locais descritos na Tabela 3. <sup>2/</sup>Dados seguidos de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. <sup>3/</sup>Dados seguidos de \* superam a testemunha S pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

O aumento do número de repetições, neste segundo ensaio proporcionou a redução do CV e da DMS. É possível que esses parâmetros possam ser melhorados aumentando-se ainda mais o número de repetições e o número de sementes avaliadas.

Outra informação relevante para o aperfeiçoamento desta metodologia é a coleta de sementes para realização do teste de germinação. A coleta precoce de sementes de *Digitaria insularis* em alguns locais inviabilizou a metodologia, devido à ausência de germinação de sementes (dados não mostrados). As sementes só devem ser coletadas quando estas estão plena maturidade, ou seja, quando se desprendem facilmente da panícula.

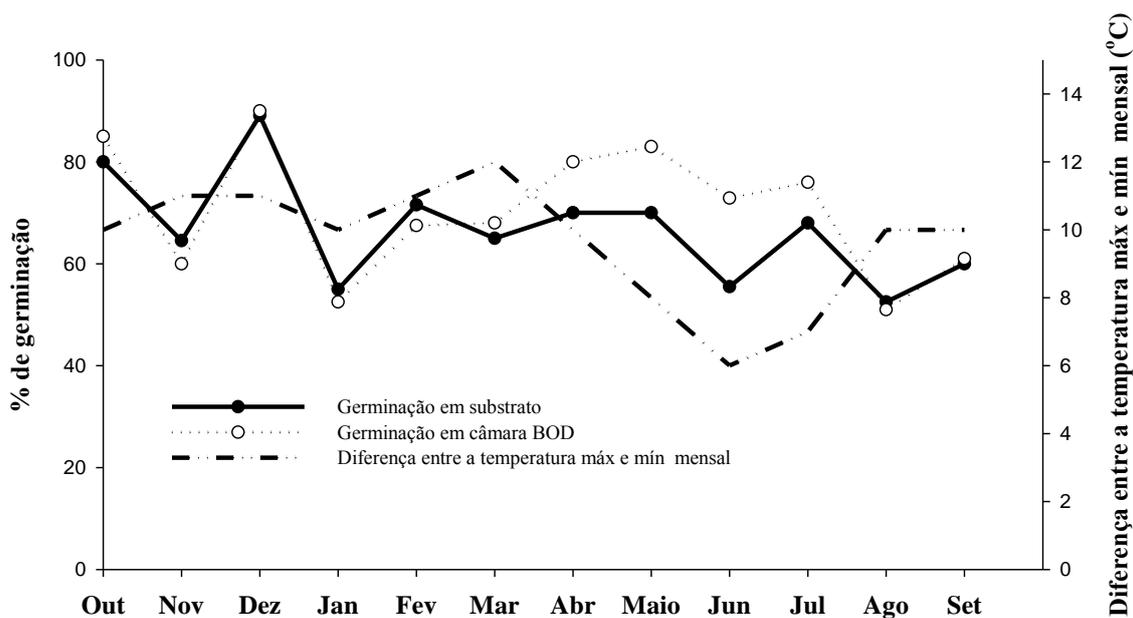
A metodologia para a identificação de biótipos resistentes de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) via teste de germinação contendo solução com glyphosate foi eficiente, porém, depende da correta coleta de sementes e de maior número de repetições. Existe também o problema dos indivíduos com resistência intermediária e que são de difícil caracterização por esta metodologia. Outra limitação é a quantidade de plantas amostradas (das quais foram coletadas as sementes), por exemplo, se as sementes são todas de uma única planta, os resultados se referem somente àquela planta.

Todos os biótipos de áreas agrícolas apresentaram certa porcentagem de plântulas normais, portanto, provável porcentagem de indivíduos resistentes, diferindo significativamente da testemunha (biótipo susceptível). Os biótipos 3, C, N e V apresentaram número expressivo de plântulas normais (>50%), enquanto que os biótipos M e 6 foram os que apresentam a maior porcentagem de plântulas (>90%).

No entanto, na área onde foram coletadas as sementes do biótipo N, a aplicação de 1440 g e.a. ha<sup>-1</sup> de glyphosate não acarretou em morte de nenhuma planta de *D. insularis* em qualquer estágio de desenvolvimento (dados não mostrados). Esta constatação difere do que foi mostrado no teste de germinação, onde se estimou 77% de possíveis indivíduos resistentes. Esta diferença pode ser atribuída aos indivíduos com resistência intermediária e que não puderam ser diferenciados no teste germinação. Novamente, esta metodologia da forma com que foi conduzida é mais um teste qualitativo do que quantitativo.

### ***Influência da temperatura do ar ao longo do ano sobre a emergência de D. insularis.***

Os resultados de germinação ao longo do ano no município de Maringá-PR (Figura 2) mostram que apesar de haver a tendência de menores porcentagens de germinação nos meses de Abril a Julho, nos quais ocorreu menor alternância de temperatura, a menor porcentagem verificada foi de aproximadamente 50%, o que podemos considerar como valor alto. Porém, este patamar está de acordo com os resultados dos autores anteriormente citados, os quais estudaram a germinação de capim-amargoso em condições estritamente controladas.



**Figura 2.** Influência da temperatura do ar sobre a germinação de capim-amargoso resistente ao longo do ano no município de Maringá-PR.

De acordo com os resultados de Pyon et al. (1977), Pyon (1975), Mondo et al. (2010), o capim-amargoso sofre influência positiva no seu índice de germinação com o aumento da temperatura ou a alternância de mais de 15 °C entre a temperatura máxima e mínima. Lacerda (2003) estudando a emergência de *D. insularis* no campo durante dois anos encontrou os maiores fluxos de emergência desta planta daninha ao longo do ano nos meses com maior alternância de temperatura do ar, o que está de acordo com os demais autores citados.

Neste sentido ressalta-se que, no estudo aqui apresentado e nos estudos de Pyon et al. (1977), Pyon (1975) e Mondo et al. (2010), a umidade do meio em que a semente se encontrava foi mantida alta, enquanto que no estudo de Lacerda (2003) quem controlava a umidade era o próprio clima. Portanto, infere-se que o fator umidade de solo deve ser levado em conta quando se espera entender e prever quando ocorrerão os fluxos de *D. insularis* no campo durante o ano. Apesar de Pyon (1975) relatar que capim-amargoso germina em condições de menor potencial hídrico do solo em comparação com capim-colonião, períodos em que a umidade do solo se mantém alta pode ser o principal responsável pelas variações na ocorrência de germinação de *D. insularis* durante o ano.

## **Conclusões I.**

A metodologia para identificação da existência de indivíduos resistentes ao glyphosate via teste de germinação com solução contendo glyphosate foi eficaz como teste qualitativo.

A diminuição da alternância da temperatura do ar diminui a germinação de sementes de capim-amargoso, porém, as condições de temperatura que ocorrem ao longo do ano no município de Maringá-PR não constituem um fator que impeça a ocorrência de germinação do capim-amargoso durante todo ano, pois foram observados porcentagens de germinação sempre superiores a 50% ao longo do ano.

## II. ENSAIO CURVA DOSE-RESPOSTA DE CAPIM-AMARGOSO AO GLYPHOSATE

### Material e Métodos II

#### *Ensaio curva dose-resposta de capim-amargoso ao glyphosate.*

O experimento de curva dose-resposta ao glyphosate foi realizado em duas condições: a primeira em vasos de polietileno com capacidade de 8 dm<sup>3</sup> de solo (ensaio em vaso), a segunda em canteiros com 0,8 metros de largura por 0,3 metros de altura construídos nas dependências do Centro de Treinamento em Irrigação (CTI), pertencente à Universidade Estadual de Maringá (ensaio em canteiro).

O material de solo utilizado no ensaio em vasos foi seco e peneirado, antes de ser acondicionado nas unidades experimentais. A análise de solo revelou as seguintes características químicas e físicas: pH em água de 5,90; 3,68 cmol<sub>c</sub> de H<sup>+</sup> + Al<sup>+3</sup> dm<sup>-3</sup> de solo; 3,17 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca<sup>+2</sup>; 0,67 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Mg<sup>+2</sup>; 0,61 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K<sup>+</sup>; 47,60 mg dm<sup>-3</sup> de P; 11,89 g dm<sup>-3</sup> de C; 640 g kg<sup>-1</sup> de areia grossa; 50 g kg<sup>-1</sup> de areia fina; 20 g kg<sup>-1</sup> de silte; e 290 g kg<sup>-1</sup> de argila (textura franco-argilo-arenosa).

A análise de solo da área em que foram preparados os canteiros revelou as seguintes características químicas e físicas: pH em água de 6,10; 3,42 cmol<sub>c</sub> de H<sup>+</sup> + Al<sup>+3</sup> dm<sup>-3</sup> de solo; 4,11 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Ca<sup>+2</sup>; 1,23 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de Mg<sup>+2</sup>; 0,27 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de K<sup>+</sup>; 3,20 mg dm<sup>-3</sup> de P; 5,81 g dm<sup>-3</sup> de C; 110 g kg<sup>-1</sup> de areia grossa; 180 g kg<sup>-1</sup> de areia fina; 09 g kg<sup>-1</sup> de silte; e 620 g kg<sup>-1</sup> de argila (textura muito argilosa).

O objetivo de realizar o experimento curva dose-resposta foi aferir o fator de resistência (FR) do capim-amargoso ao glyphosate. Tradicionalmente esse tipo de ensaio é realizado com plantas cultivadas em vasos, devido à facilidade de manuseio, condução e custos do experimento. No entanto, considerando as características anatômicas dessa planta daninha, principalmente o grande porte quando adulta, a presença de rizomas e a formação de touceiras, também foi realizado o ensaio de curva-dose-resposta em canteiros, visando aferir as divergências quanto ao FR do capim-amargoso nas duas condições, pois se esperou que a condição obtida no canteiro se aproximasse da condição de uma lavoura.

No dia 10 de Junho de 2012 foi semeado o capim-amargoso nas unidades experimentais do ensaio em vaso e também em bandejas de isopor (200 células) com substrato para mudas, de uso comum na horticultura. Duas semanas após a semeadura, as plantas provenientes das bandejas foram transplantadas para os canteiros. Neste caso foram construídas

as unidades experimentais (parcelas) com 10 plântulas cada. Enquanto isso, no ensaio em vaso, foi realizado o desbaste das plantas, deixando apenas três plantas por vaso, quantidade máxima possível pela restrição ocasionada pelo vaso.

Nos dois ensaios o que se esperava é que essas plantas atingissem 40 cm de altura e apresentassem pelo menos 8 a 10 perfilhos para que fossem realizadas as aplicações. Contudo para ambas as situações isso não ocorreu. Provavelmente devido às condições de fotoperíodo menor e temperaturas mais baixas, pois as plantas se desenvolveram no período de inverno.

No dia 18 de Julho de 2012 as plantas se encontravam no estágio de pré-florescimento, o qual foi definido com a identificação da primeira panícula exposta no conjunto de plantas que representava cada experimento. Apesar disso, estas plantas apresentavam porte menor do que o esperado (30 cm), assim como pequeno número de perfilhos (no máximo cinco). No entanto, apesar de as plantas não estarem nas condições esperadas, foi realizada a aplicação do glyphosate.

Os experimentos foram desenvolvidos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x10 com quatro repetições. O primeiro fator foi constituído por duas populações: o biótipo N (resistente) e o biótipo S (susceptível) descritos no item 3.1.1. A segunda fonte de variação foi constituída por doses crescentes de glyphosate (Roundup transorb): 0, 90, 180, 360, 720, 1440, 2880, 5760, 11520 e 23040 g e.a. ha<sup>-1</sup> as quais representam respectivamente 0, 1/16, 1/8, 1/4, 1/2, 1, 2, 4, 8 e 16 vezes a dose máxima segundo a bula do glyphosate (Roundup transorb) para o controle de capim-amargoso (1440 g e.a. ha<sup>-1</sup>).

Para as aplicações foi utilizado um pulverizador costal de pressão constante à base de CO<sub>2</sub>, equipado com barra com quatro pontas tipo leque XR-110.02, sob pressão de 2,0 kgf cm<sup>-2</sup>. Estas condições de aplicação proporcionaram o equivalente a 200 L ha<sup>-1</sup> de calda. As aplicações dos ensaios ocorreram sob condições de temperatura que variaram entre 16 e 18 °C, com umidade relativa próxima a 80%. Para ambos os ensaios o solo foi irrigado seis horas antes das aplicações.

Posteriormente foram realizadas avaliações de controle de capim-amargoso em relação à testemunha sem a aplicação de glyphosate. Cada biótipo teve sua própria testemunha e isto foi um fator importante, pois observou-se diferença no desenvolvimento inicial entre o biótipo resistente e susceptível, tal como descrito por Melo (2012).

As avaliações ocorreram aos 15, 30, 45 e 60 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA) e seguiram o critério da escala visual, no qual 0% significa ausência de sintomas e 100% necrose de todos os tecidos da parte aérea. No entanto, por se tratar de uma planta perene, essa

escala classificou apenas os sintomas da parte aérea na data de avaliação, visto que não era possível saber se iria haver rebrota posteriormente. Neste sentido é importante esclarecer que quando a nota de controle foi de 50%, metade da área foliar (incluindo colmo) havia sofrido necrose e não que metade das plantas presentes na parcela havia morrido. Os resultados da avaliação de 60 DAA foram considerados como definitivos, pois se diferenciaram muito pouco da avaliação anterior (45 DAA), assim todas as análises se basearam nas informações desta avaliação.

Aos 60 DAA toda a parte aérea (folhas secas e verdes) de capim-amargoso das parcelas do experimento em vaso foi coletada, acondicionada em sacos de papel e mantida em uma estufa de secagem com ventilação de ar forçada, à 65°C até peso constante. Posteriormente, foi realizada a aferição da massa seca residual de cada parcela com o auxílio de uma balança de precisão (0,01g). Para o cálculo da massa seca de cada tratamento, a média observada para o tratamento sem a aplicação de glyphosate (testemunha) foi tomada como 100% e os demais tratamentos foram expressos em porcentagem em relação à testemunha.

Os dados foram inicialmente submetidos à aplicação do teste F da análise de variância. Posteriormente os dados dos experimentos de curvas de dose-resposta foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo logístico. As variáveis controle e massa seca residual foram ajustadas ao modelo proposto por Streibig et al. (1988):

$$y = \frac{a}{\left[1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c\right]}$$

Neste modelo,  $y$ = porcentagem de controle;  $x$ = dose do herbicida;  $a$ ,  $b$  e  $c$ = parâmetros da curva, de modo que  $a$  é a diferença entre o ponto máximo e mínimo da curva,  $b$  é a dose estimada que proporciona 50% de resposta da variável e  $c$  é a declividade da curva ao redor de  $b$ .

O modelo logístico apresenta vantagens, uma vez que um dos termos integrantes da equação é uma estimativa do valor de  $C_{50}$  (Christoffoleti, 2002). O  $C_{50}$  é a dose do herbicida que proporcionam 50% de controle ou de redução de massa da planta daninha (Christoffoleti, 2002).

Embora um dos parâmetros do modelo logístico seja uma estimativa do valor de  $C_{50}$ , optou-se por realizar seu cálculo matemático por meio da equação inversa, conforme proposta de Carvalho et al. (2005). Com os valores de  $C_{50}$  obteve-se o fator de resistência (FR) para cada combinação das populações com suspeita de resistência e a população suscetível de cada espécie. O fator de resistência ( $FR = R/S$ ) expressa o número de vezes em que a dose necessária

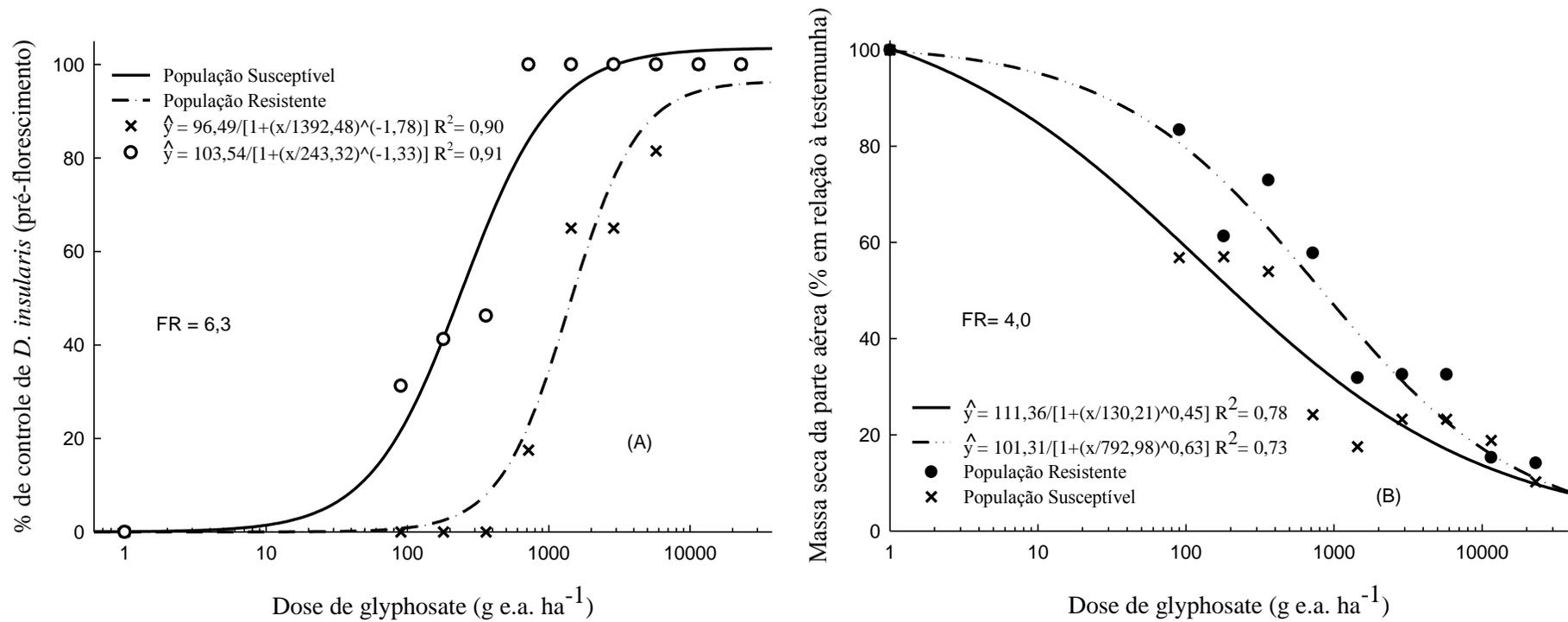
para controlar 50% da população resistente é superior à dose que controla 50% da população suscetível (Christoffoleti, 2002). Por meio da equação inversa de Streibig (1988) foram calculadas as doses estimadas para a obtenção de 80 e 95% de controle ( $C_{80}$  e  $C_{95}$ ).

## **Resultados e discussão II:**

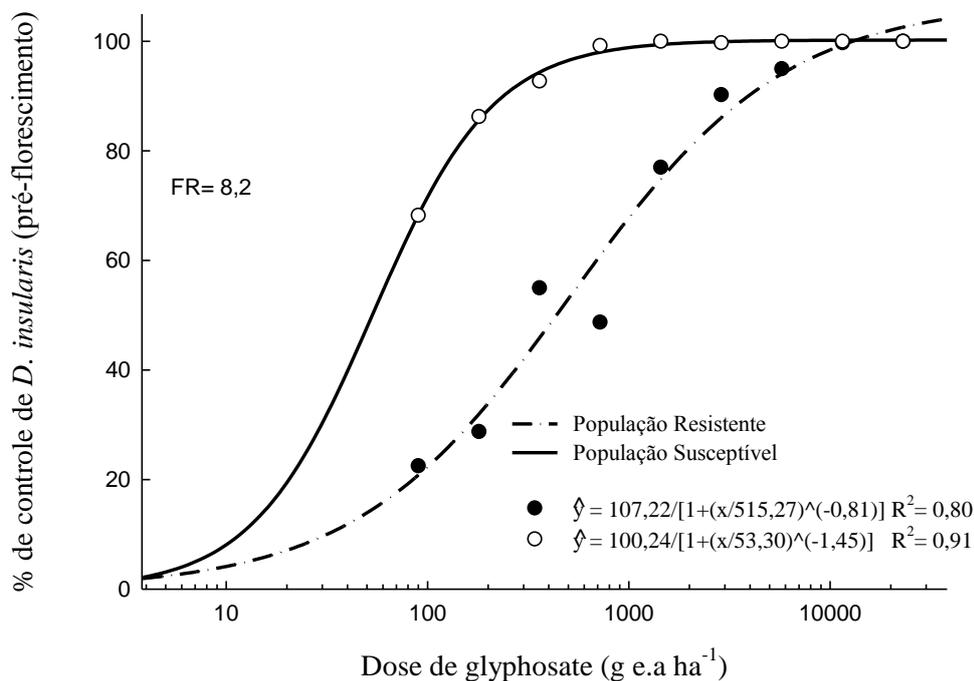
### ***Ensaio curva dose-resposta de capim-amargoso ao glyphosate.***

Os primeiros relatos científicos da ocorrência de biótipos de capim-amargoso resistente ao glyphosate foram feitos em 2005 (Heap, 2012), porém, esse fato só veio a ser estudado com detalhes por Carvalho (2011), Carvalho et al. (2011) e Melo (2011) alguns anos depois. Desta maneira, o amplo estudo realizado por estes autores servirá de base para discussão sobre o comportamento da população de *D. insularis* estudada nesta pesquisa.

As curvas dose-resposta ajustadas podem ser visualizadas nas Figuras 3 para o ensaio em vaso e na Figura 4 para o ensaio conduzido em canteiro. Os parâmetros do modelo logístico ajustado aos dados destes experimentos, assim como as doses estimadas para a obtenção de 50, 80 e 95% de controle ou de redução do crescimento no caso da variável de massa seca residual ( $C_{50}$ ,  $C_{80}$  e  $C_{95}$ ) e os fatores de resistência (FR) para cada variável estão na Tabela 6.



**Figura 3.** Curva dose-resposta de *D. insularis* ao glyphosate com plantas cultivadas em vasos e mantidas em casa-de-vegetação baseada nos dados de controle (A) e nos resultados de massa seca (B) em relação à testemunha sem aplicação do herbicida.



**Figura 4.** Curva dose resposta de *D. insularis* ao glyphosate com plantas cultivadas em canteiros baseada nos dados de controle em relação à testemunha sem aplicação do herbicida.

**Tabela 6.** Parâmetros do modelo logístico ajustado, doses estimadas para a obtenção de 50, 80 e 95% de controle ou de redução do acúmulo massa seca ( $C_{50}$ ,  $C_{80}$  e  $C_{95}$  respectivamente) e fator de resistência (FR) obtidos para as populações de *D. insularis* quando submetidas a diferentes doses do herbicida glyphosate.

Variável-Ensaio-População	$C_{50}$	$C_{80}$	$C_{95}$	$a$	$b$	$c$	FR
% controle-Vaso-Resistente	1450,71	3387,17	14434,46	96,49	1392,48	-1,78	6,3
% controle-Vaso-Susceptível	231,13	609,03	1481,90	103,54	243,32	-1,33	
Massa Seca-Vaso-Resistente	826,34	7435,97	89026,61	101,30	792,98	0,63	4,0
Massa Seca-Vaso-Susceptível	204,74	3740,55	112120,79	111,36	130,21	0,45	
% controle-Canteiro-Resistente	436,72	1933,22	6374,92	107,22	515,23	-0,81	8,2
% controle-Canteiro-Susceptível	53,12	137,22	391,38	100,24	53,30	-1,45	

$a$  = é a diferença entre o ponto máximo e mínimo da curva,  $b$  = estimativa da dose que proporciona 50% de resposta da variável e  $c$  é a declividade da curva em torno de  $b$ .

Em relação ao ensaio em vasos, os valores do fator de resistência foram de 6,28 e de 4,04 para as variáveis porcentagem de controle e massa seca respectivamente. Estes valores foram um pouco superiores aos encontrados por Melo (2011), que foram 3,53 e 3,67 respectivamente para as mesmas variáveis e para plantas no estágio de florescimento. A dose de glyphosate requerida para a redução do crescimento em 50% foi de 1450 g e.a. ha<sup>-1</sup> (Tabela 6), semelhante aos 1579 e.a. ha<sup>-1</sup> observados pelo mesmo autor.

Com este ensaio pôde-se concluir que a população estudada nesta pesquisa apresenta valores de fator de resistência do capim-amargoso ao glyphosate semelhantes a outros descritos na literatura. As pequenas divergências entre os FR dos estudos com *D. insularis* resistente ao glyphosate podem ser atribuídas à dependência dos resultados em relação ao estágio de desenvolvimento do capim-amargoso (Melo, 2011). Além disso, mesmo as plantas dos diferentes estudos sendo descritas como no mesmo estágio, pode haver outras diferenças relativas às condições climáticas em que essas plantas se desenvolveram, tal como o acúmulo de massa seca (Marques et al., 2012a).

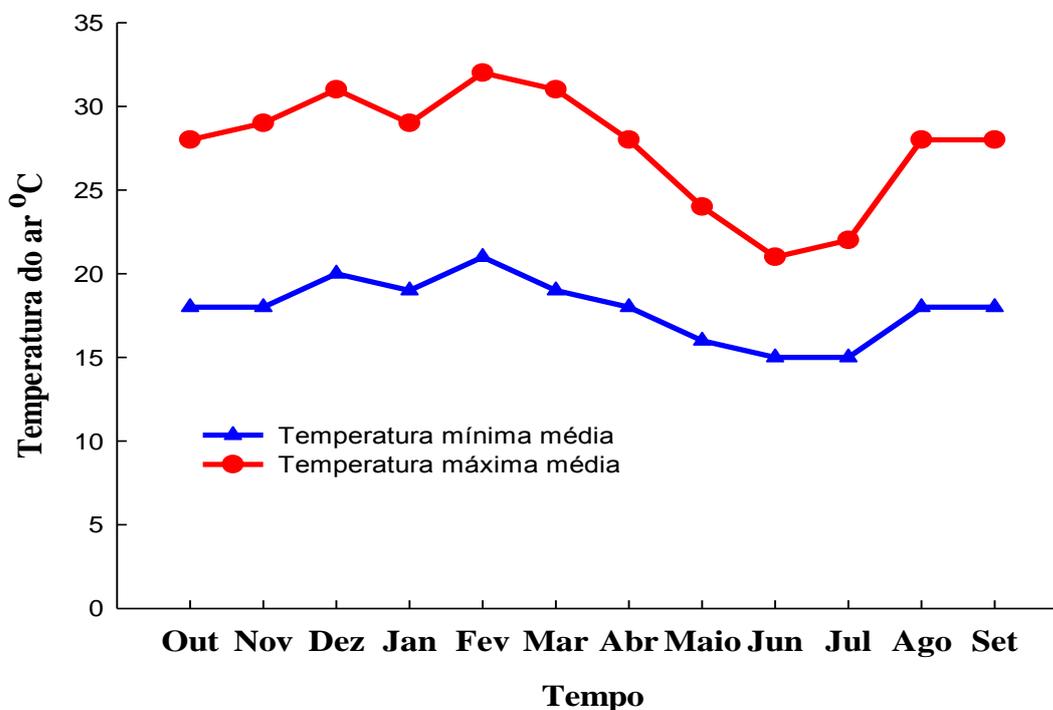
Já o ensaio em canteiro mostrou resultados que não eram esperados à priori. O objetivo de realizar o ensaio de curva dose-resposta ao glyphosate em canteiros era a suspeita de que os experimentos conduzidos com capim-amargoso em vaso pudessem subestimar os valores do fator de resistência, pois se acreditava que o impedimento físico ao crescimento radicular desta espécie em vaso poderia contribuir para a menor resistência de *D. insularis* ao glyphosate quando cultivado em condições de casa-de-vegetação.

Apesar do FR em canteiro (8,2) ser maior do que o FR em vaso (6,3), o C<sub>80</sub> e o C<sub>95</sub> do canteiro foram menores do que os em vaso (Tabela 6). Mostrando que na verdade, que o ensaio em vaso com condições umidade do solo controlada superestimou a resistência da população de capim-amargoso em relação ao ensaio em canteiros no presente estudo. Isso quando se observa os valores do C<sub>80</sub> e do C<sub>95</sub> e não dos valores de FR.

Esses resultados divergentes podem ser atribuídos primeiro às condições ambientais, já que na casa-de-vegetação as unidades experimentais recebiam irrigação diariamente durante todo o período de realização do experimento, enquanto que no canteiro as plantas somente receberam irrigação até a aplicação dos tratamentos. Neste caso, é possível que na casa-de-vegetação as plantas tenham tido melhores condições hídricas para seu desenvolvimento recuperação da injúria do glyphosate.

Outra hipótese levantada sobre esse comportamento é a de que o capim-amargoso possa ter mais um mecanismo de resistência ao glyphosate. Um dos mecanismos descritos para a resistência ao glyphosate é o sequestro do herbicida para o vacúolo via transportador localizado no tonoplasto, o qual foi caracterizado por Ge et al. (2011) em biótipos de *Conyza canadensis* como sendo dependente da temperatura. Estes autores mostraram que a resistência de *C. canadensis* ao glyphosate diminuía se as plantas fossem cultivadas em condições de baixa temperatura e que o herbicida permanecia por um período muito maior no citosol das plantas mantidas em condições de temperatura baixa. Ao que parece, a possível diminuição da taxa metabólica da planta sob condições de temperatura baixa deve ser estudada futuramente.

Zhou et al. (2007) verificaram também que baixas temperaturas (5 a 12°C) mantidas por 48 após a aplicação de glyphosate acarretaram em maior controle de *Abutilon theophrasti*, independentemente das condições climáticas antes da aplicação. De forma semelhante, Willingham et al. (2008) relatam que quanto menor o regime de temperatura do ar, maior é o controle de *Alternanthera philoxeroides* por penoxulan, fato também atribuído à diferenças na translocação do herbicida. Assim, esta abordagem pode ser levada em conta, pois, durante o período após a aplicação do glyphosate nos ensaios de canteiro e vaso a temperatura do ar foi baixa (Figura 5).



**Figura 5.** Temperatura do ar mínima e máxima média mensal durante o período de outubro de 2011 a setembro de 2012.

Outra questão que deve ser levada em conta neste assunto é a de que, assim como descrito por Marques et al. (2012a), as plantas cresceram em condições de fotoperíodo decrescente e desta maneira acumularam menor quantidade de matéria seca. Isto é verdade, pois, apesar de as plantas estarem no estágio de pré-florescimento no momento das aplicações, estas apresentavam porte pequeno, assim como baixo número de perfilhos, principalmente no ensaio em canteiros. Com menor área foliar, as plantas podem não ter acumulado grande quantidade de reservas, além disso, pode-se dizer que na ocasião da aplicação dos tratamentos os rizomas das plantas eram incipientes.

Assim, a população de *D. insularis* estudada pode ser considerada como resistente ao glyphosate porque apresentou fator de resistência maior que 1,0 e semelhante aos descritos para a espécie na literatura científica. Ainda apresentou  $C_{80}$  para ambas as variáveis estudadas e para as duas condições maior do que o  $C_{80}$  do biótipo susceptível e pelo menos 30% superior à máxima dosagem de registro do glyphosate para esta planta daninha. Os três critérios combinados foram também adotados por Francischini (2012) para determinar a resistência de espécies de *Amaranthus* a herbicidas usados em algodão. Além disso, do ponto de vista prático, as doses para se obter controle de 95% do biótipo resistente para as duas condições apresentam valores extremamente altos, ou seja, dosagens impraticáveis em nível de campo.

Os mecanismos que conferem a resistência do capim-amargoso ao glyphosate já descritas por Carvalho (2011) indicam que estes podem não ser totalmente específicos ao glyphosate, pois a maioria dos valores do fator de resistência desta espécie é menor que 10 (Melo, 2011). Diferentemente de quando a resistência é causada pela insensibilidade da enzima ao herbicida, comum em resistência aos inibidores da ALS, quando o mecanismo de resistência é muito específico e são constatados altos valores do fator de resistência (Ferguson et al., 2001).

Santos (2012) constatou que os fatores de resistência de *Conyza sumatrensis* ao glyphosate variam com o desenvolvimento desta planta daninha, sendo que quanto mais jovem é a planta, maior é o efeito do glyphosate. No entanto, até para o mais avançado estágio de desenvolvimento os FR encontrados são menores que 10. O biótipo de *C. sumatrensis* estudado por Santos (2012) também apresentou maior tolerância ao glyphosate à medida que a planta se desenvolvia, indicando um aumento natural da tolerância ao glyphosate com o seu envelhecimento, o que foi semelhante também ao mostrado por Melo (2011) em biótipos de *D. insularis*.

Fatores de resistência ao glyphosate menores que dez também podem ser encontrados em *Lolium rigidum* (Wakelin et al., 2004), *Lolium multiflorum* (Nandula et al., 2008; Perez-

Jones et al., 2007; Diez De Ulzurrun & Leaden (2012), *Conyza* sp. (Trezzi et al., 2011), *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* (Lamego & Vidal 2008).

## **Conclusões II**

O biótipo N de *D. insularis* estudado pode ser considerado como resistente ao glyphosate porque apresentou fator de resistência maior que 1,0 e semelhante aos descritos para a espécie na literatura científica. O  $C_{80}$  para ambas as variáveis estudadas e para as duas condições foi maior que o  $C_{80}$  do biótipo susceptível e pelo menos 30% superior à máxima dosagem de registro do glyphosate para esta planta daninha.

As condições ambientais como, temperatura máxima e mínima, fotoperíodo e teor de água no solo, interferem muito no desenvolvimento das plantas de capim-amargoso. Conseqüentemente os ensaios realizados com essa planta daninha sofrem forte influência sobre seus resultados em decorrência desse efeito. Portanto, infere-se que durante os ensaios com *D. insularis* as condições ambientais devem ser bem controladas ou monitoradas, para que se possa entender melhor os resultados.

### III. EFICÁCIA DE CONTROLE DE MISTURAS DE HERBICIDAS APLICADAS AO LONGO DO CICLO DE DESENVOLVIMENTO DE *Digitaria insularis*

#### Material e Métodos III:

#### *Eficácia de controle de misturas de herbicidas aplicadas ao longo do ciclo de desenvolvimento de Digitaria insularis*

Na terceira etapa deste trabalho foi montado, em casa-de-vegetação, um experimento com associações de herbicidas visando ao controle do capim-amargoso em diferentes estádios de desenvolvimento. Foram escolhidos alguns herbicidas que apresentavam efeito sobre *D. insularis* baseado nas informações de Lorenzi (2000), em uma pesquisa junto à assessoria agrônômica das cooperativas do município de Maringá-PR e em trabalhos preliminares. Foram escolhidos dois herbicidas pertencentes ao grupo dos inibidores da ACCase, dois inibidores da ALS e três formulações de glyphosate (Tabela 7).

Para as escolhas das marcas comerciais de cada herbicida foi levado em conta principalmente a disponibilidade e a frequência de uso destes herbicidas na região de Maringá, município no qual os ensaios foram realizados e que apresenta grande número de lavouras com elevadas infestações de capim-amargoso resistente ao glyphosate.

**Tabela 7.** Tabela com a descrição dos herbicidas e doses aplicados em quatro estádios de desenvolvimento de *D. insularis* e respectivas cores atribuídas para facilitar o entendimento dos resultados.

Herbicida	Cor de referência	Princípio ativo	Dose p.c. ha <sup>-1</sup>	Dose g i.a. ou e.a. ha <sup>-1</sup>
Roundup WG		glyphosate (G1)	2,0 kg	1440
Roundup Ready		glyphosate (G2)	3,0 L	1440
Roundup transorb		glyphosate (G3)	3,0 L	1440
Select		clethodim	0,45 L	108
Panther		quizalofop-p-tefuryl	1,0 L	250
Kifix		[imazapic+imazapyr]	150 g	[18,8+78,8]
Vezir		imazethapyr	1,0 L	100

Em todos os tratamentos, formados pelos herbicidas isolados ou em mistura, foi adicionado óleo mineral a 1% v/v.

Cada marca comercial de herbicida possui sua própria composição de adjuvantes junto com o princípio ativo, logo, nas misturas é possível que estes componentes exerçam influência sobre o efeito geral das associações de herbicidas. Assim, ao longo deste texto, cada herbicida é descrito por seu nome comum, mas sua marca comercial deverá ser levada em consideração,

pois, ao extrapolar os resultados para outras marcas comerciais do mesmo princípio, pode-se cometer erros.

Foram escolhidas três formulações de glyphosate: o Roundup WG<sup>®</sup> (sal de amônio) recomendado geralmente para uso em dessecação de manejo, o Roundup Ready<sup>®</sup> (sal de isopropilamina) registrado para uso em pós-emergência das plantas daninhas e de soja RR e o Roundup transorb<sup>®</sup> (sal de isopropilamina) comumente utilizado na dessecação pré-colheita de soja convencional. Estes herbicidas serão referidos nesta dissertação como G1, G2 e G3 respectivamente. Os herbicidas inibidores da ACCase de mais fácil acesso na região foram o Select<sup>®</sup> (clethodim) e o Panther<sup>®</sup> (quizalofop-p-tefuryl). Os inibidores da ALS escolhidos foram o Vezir<sup>®</sup> (imazethapyr) e o Kifix<sup>®</sup> [imazapyr + imazapic]. As doses utilizadas estão descritas na Tabela 7.

Os tratamentos foram compostos por todas as variações possíveis de combinação entre um herbicida inibidor da EPSPS, um inibidor da ACCase e um da ALS. Nestas combinações também foram incluídas associações onde um ou dois dos grupos não estavam presentes. A concepção dos tratamentos teve esta formatação para que pudesse ser observado o efeito de cada um dos herbicidas individualmente, combinados dois a dois e três a três (Tabela 8).

**Tabela 8.** Tabela com a descrição das associações de herbicidas aplicados em quatro estádios de desenvolvimento de *D. insularis*.

	Produto comercial	Princípio Ativo	Produto comercial	Princípio Ativo	Produto comercial	Princípio Ativo
1	Roundup WG	(glyphosate)	-	-	-	-
2	Roundup WG	(glyphosate)	Select	(clethodim)	-	-
3	Roundup WG	(glyphosate)	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	-	-
4	Roundup WG	(glyphosate)	-	-	Kifix	([imazapic+imazapyr])
5	Roundup WG	(glyphosate)	-	-	Vezir	(imazethapyr)
6	Roundup WG	(glyphosate)	Select	(clethodim)	Kifix	([imazapic+imazapyr])
7	Roundup WG	(glyphosate)	Select	(clethodim)	Vezir	(imazethapyr)
8	Roundup WG	(glyphosate)	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	Kifix	([imazapic+imazapyr])
9	Roundup WG	(glyphosate)	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	Vezir	(imazethapyr)
10	Roundup Ready	(glyphosate)	-	-	-	-
11	Roundup Ready	(glyphosate)	Select	(clethodim)	-	-
12	Roundup Ready	(glyphosate)	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	-	-
13	Roundup Ready	(glyphosate)	-	-	Kifix	([imazapic+imazapyr])
14	Roundup Ready	(glyphosate)	-	-	Vezir	(imazethapyr)
15	Roundup Ready	(glyphosate)	Select	(clethodim)	Kifix	([imazapic+imazapyr])
16	Roundup Ready	(glyphosate)	Select	(clethodim)	Vezir	(imazethapyr)
17	Roundup Ready	(glyphosate)	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	Kifix	([imazapic+imazapyr])
18	Roundup Ready	(glyphosate)	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	Vezir	(imazethapyr)
19	Roundup transorb	(glyphosate)	-	-	-	-
20	Roundup transorb	(glyphosate)	Select	(clethodim)	-	-
21	Roundup transorb	(glyphosate)	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	-	-
22	Roundup transorb	(glyphosate)	-	-	Kifix	([imazapic+imazapyr])
23	Roundup transorb	(glyphosate)	-	-	Vezir	(imazethapyr)
24	Roundup transorb	(glyphosate)	Select	(clethodim)	Kifix	([imazapic+imazapyr])
25	Roundup transorb	(glyphosate)	Select	(clethodim)	Vezir	(imazethapyr)
26	Roundup transorb	(glyphosate)	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	Kifix	([imazapic+imazapyr])
27	Roundup transorb	(glyphosate)	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	Vezir	(imazethapyr)
28	-	-	Select	(clethodim)	-	-
29	-	-	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	-	-
30	-	-	-	-	Kifix	([imazapic+imazapyr])
31	-	-	-	-	Vezir	(imazethapyr)
32	-	-	Select	(clethodim)	Kifix	([imazapic+imazapyr])
33	-	-	Select	(clethodim)	Vezir	(imazethapyr)
34	-	-	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	Kifix	([imazapic+imazapyr])
35	-	-	Panther	(quizalofop-p-tefuryl)	Vezir	(imazethapyr)
36	-	-	-	-	-	-

Em todas as aplicações, foi utilizado um pulverizador costal de pressão constante à base de CO<sub>2</sub>, equipado com barra com pontas de jato leque XR-110.02, espaçadas de 50 cm entre si, sob pressão de 2,0 kgf cm<sup>-2</sup>. Estas condições de aplicação proporcionaram o equivalente a 200 L ha<sup>-1</sup> de calda. A aplicação foi realizada mantendo-se a barra a 50 cm distância do topo das folhas das plantas de capim-amargoso. As condições climáticas no momento das aplicações estão apresentadas na Tabela 9.

**Tabela 9.** Condições climáticas no momento das aplicações dos tratamentos.

Condições climáticas	Estádios de desenvolvimento de <i>D. insularis</i>			
	E1	E2	E3	E4
Data de aplicação	03/02/12	03/02/12	29/02/12	20/03/12
Umidade relativa (%)	82	82	65	65
Temperatura (°C)	21	21	25	25
Velocidade do vento (km h <sup>-1</sup> )	0,5	2	3	3
Solo	Úmido	Úmido	Úmido	Úmido

E1 representa plantas com até dois perfilhos (15 cm de altura); E2 caracteriza plantas com cinco a seis perfilhos (30 cm de altura); E3 define plantas em estágio de pré-florescimento (mais de 70 cm de altura); E4 indica plantas no estágio de florescimento pleno.

Os vasos que constituíram as unidades experimentais foram previamente preenchidos com solo (o mesmo utilizado no ensaio em vaso no experimento II) e no dia 27/01/2011 foi realizada a semeadura do capim-amargoso nos mesmos. A emergência das plantas daninhas ocorreu sete dias após a semeadura. Os estádios de desenvolvimento foram definidos conforme o desenvolvimento dessa espécie nos vasos, dentro da casa-de-vegetação, desta forma cada estágio de desenvolvimento consistiu em um ensaio isolado, sendo que a irrigação das unidades experimentais foi realizada diariamente.

O primeiro estágio (E1) se caracterizou por plantas de até dois perfilhos, ou seja, plantas pequenas com no máximo 15 cm de altura. No ensaio com as plantas no estágio E1 foram mantidas cinco plantas por unidade experimental, por causa de seu pequeno porte.

O segundo estágio (E2) foi caracterizado por apresentar plantas com cinco a seis perfilhos, com altura de aproximadamente 30 cm. A partir deste estágio foram mantidas três plantas em cada vaso somente, porque já era possível verificar que o vaso restringe o desenvolvimento da espécie.

A restrição imposta pelas unidades experimentais foi, provavelmente, a causa de não ter sido possível realizar um ensaio em plantas com maior número de perfilhos antes do florescimento. Nesta situação o estágio três (E3) foi definido como o pré-florescimento (ocorrência do início da exposição da primeira panícula dentro do grupo de plantas que

compunham o ensaio), nesta ocasião as plantas apresentavam porte maior que 70 cm e com 6 a 9 perfilhos.

O último estágio avaliado (E4) foi o de florescimento pleno (já descrito no item anterior). O ensaio em E4 foi o mais prejudicado pela restrição imposta pelo vaso, uma vez que as plantas de capim-amargoso ao atingirem esta fase estavam com um porte grande e já apresentavam senescência natural de parte das folhas. Além disso, os vasos tiveram que ser manuseados com muito cuidado, pois, as plantas não se sustentavam eficientemente e qualquer descuido fazia com que ficassem como plantas decumbentes.

Em cada estágio as plantas foram conduzidas até 60 dias após a aplicação (DAA), com avaliações de eficácia de controle (porcentagem de controle em relação à testemunha sem a aplicação de herbicida) a cada 15 dias. Ao final desse período, todas as unidades experimentais tiveram a parte aérea das plantas cortadas a três centímetros do nível do solo. Quinze dias após o corte da parte aérea das plantas, foi realizada uma avaliação para verificar em quais tratamentos havia ocorrido emissão de novos perfilhos. Durante esse período as unidades experimentais continuaram a ser irrigadas diariamente.

Com o intuito de aproveitar melhor as informações obtidas com os ensaios, os dados foram analisados de duas maneiras diferentes. A primeira e mais simples foi realizada considerando cada tratamento herbicida (marca comercial) como um tratamento independente, assim, como suas associações e possíveis interações. Isso significa dizer que nesta abordagem cada combinação dos herbicidas escolhidos constituiu um tratamento diferente. Portanto, os tratamentos foram analisados como um experimento em delineamento inteiramente casualizado, com 36 tratamentos, quatro repetições. Esse ensaio foi conduzido em quatro diferentes estágios de desenvolvimento do capim-amargoso, sendo cada estágio considerado como um ensaio distinto. Nesta análise os dados foram submetidos à análise de variância e o teste de Scott-Knott para a comparação das médias, a 5% de significância.

Na segunda forma de análise, o ensaio foi avaliado como um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, com tratamentos arranjados em esquema fatorial (4x3x3). O primeiro fator se constituiu das formulações de glyphosate, o segundo das opções de herbicidas inibidores da ACCase e o terceiro das opções de herbicidas inibidores da ALS. Nesta avaliação também os quatro estágios de desenvolvimento de *D. insularis* foram considerados como ensaios distintos. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knott para a comparação das médias, a 5% de significância.

Com esta análise dos dados, esperava-se identificar qual foi a contribuição do glyphosate para o controle do capim-amargoso de maneira geral e se alguma formulação apresentava melhor compatibilidade com os demais herbicidas, da mesma forma que as demais fontes de variação avaliadas.

Adicionalmente, na primeira abordagem, foi empregada a fórmula de Colby (Colby, 1967) para a avaliação das associações quanto ao sinergismo ou antagonismo das mesmas. A fórmula de Colby está descrita a seguir para dois e três herbicidas respectivamente:

$$E = (X + Y) - \frac{(XY)}{100}$$
$$E = (X + Y + Z) - \frac{(XY + XZ + YZ)}{100} + \frac{XYZ}{100^{n-1}}$$

Nestas equações, X, Y e Z se referem ao controle obtido com os herbicidas X, Y e Z utilizados isoladamente respectivamente. Assim na fórmula, X+Y+Z se refere à soma das médias de controle dos herbicidas X, Y e Z, tal como XYZ se refere ao produto das médias de controle. As demais operações matemáticas das fórmulas seguem o mesmo padrão. Isto implica em dizer, por exemplo, que XY não é o resultado de controle da associação do herbicida X com o herbicida Y, mas sim a multiplicação da média de controle do herbicida X pela média do herbicida Y. Adicionalmente, 'n' refere-se ao número de herbicidas combinados.

Além disso, ao longo do texto quando for referida uma determinada associação 'X+Y+Z', esta deve ser entendida somente como a associação dos herbicidas, sem qualquer operação matemática envolvida.

Com a fórmula obtém-se o valor de E, o qual é o valor da variável-resposta a partir do qual o resultado da mistura pode ser considerado sinérgica. Caso o resultado da associação seja igual ao E, esta é considerada aditiva, ao passo que sendo menor será considerada como antagonística (Colby, 1967).

No entanto, existem pontos no emprego deste cálculo que geram muita divergência. Um deles é que não existe tolerância quanto ao E estimado. Por exemplo, caso o resultado de controle da associação de herbicidas X+Y+Z seja 89% e o E calculado para esta mistura seja 90%, segundo o conceito de Colby (1967) considera-se esta mistura como antagonística, já que o resultado é numericamente menor que o E calculado. Para ser considerada aditiva esta mistura deve apresentar resultado exatamente igual a 90. Porém, quando se trata de plantas daninhas, a diferença de 1% no controle (escala de 0 a 100%) normalmente não é tomada como relevante.

Para esta pesquisa foi estabelecido que se a média de uma determinada associação (X+Y+Z) fosse maior que o E calculado mais o desvio-padrão da respectiva associação, esta

seria considerada como sinérgica. Caso fosse numericamente menor que o E calculado menos o respectivo desvio padrão esta seria considerada antagonística. Agora, caso a média da respectiva mistura ficasse dentro do intervalo compreendido por E calculado mais ou menos o respectivo desvio padrão, a mistura seria considerada aditiva.

Para facilitar o entendimento, abaixo segue a exemplificação das comparações realizadas. Assim 'A' significa a média de controle de uma determinada associação, seja ela dupla ou tripla. 'E' é o E calculado através da fórmula de Colby (1967) e DV(A) é o desvio-padrão da associação em questão. Logo, se:

$$A > [E + DP(A)] = \text{Associação sinérgica}$$

$$A < [E - DP(A)] = \text{Associação antagonística}$$

$$(E - DP(A)) < A < (E + DP(A)) = \text{Associação aditiva}$$

### **Resultados e Discussão III**

#### ***Abordagem 1: associações de herbicidas como tratamentos independentes***

Os resultados encontrados na Tabela 10 indicam que o grande desafio enfrentado pelos produtores que precisam eliminar de suas lavouras o capim-amargoso resistente ao glyphosate, se constitui de plantas em avançado estágio de desenvolvimento. Isso porque, quando observamos as médias de controle desta planta daninha nos dois primeiros estágios (E1 e E2) verificamos que a maioria dos tratamentos foi altamente eficiente, principalmente no primeiro estágio (plantas com até 2 perfilhos), diferentemente do E4. Esse comportamento é mais facilmente observado ao se comparar as cores relacionadas aos patamares de controle entre os estágios de desenvolvimento.

No estágio E1 os únicos tratamentos que não causaram a morte de todas as plantas de capim-amargoso foram os constituídos por glyphosate isolado, o que já era esperado, e por imazethapyr isolado também. Contudo, para este estágio a associação entre imazethapyr e glyphosate foi muito eficiente. Com o avanço do desenvolvimento, ou seja, no estágio E2, essa mistura já dá indícios de que deixa de ser uma boa opção para o manejo desta espécie, porque além dos tratamentos de baixa eficácia descritos para o E1, G1 + imazethapyr resultou em controle deficiente, apesar de a mistura poder ser considerada aditiva (Tabelas 10 e 11).

**Tabela 10.** Resultados de controle e rebrota de capim-amargoso (*D. insularis*) 60 dias após a aplicação de associações de herbicidas inibidores da EPSPS, ACCase e ALS em quatro estádios de seu desenvolvimento.

	EPSPS	ACCase	ALS	Controle de <i>D. insularis</i> aos 60 DAA							
				E1*		E2*		E3*		E4*	
1	Glyphosate (G1)	-	-	0,0	e R	0,0	d R	0,0	d R	56,3	c R
2	Glyphosate (G1)	Clethodim	-	100,0	a	100,0	a	97,5	a	94,0	a
3	Glyphosate (G1)	Quizalofop	-	100,0	a	100,0	a	91,0	a	68,3	b R
4	Glyphosate (G1)	-	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	100,0	a	98,3	a	95,0	a
5	Glyphosate (G1)	-	Imazethapyr	94,5	a	74,5	c R	47,3	c R	42,5	c R
6	Glyphosate (G1)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	100,0	a	96,3	a	95,0	a
7	Glyphosate (G1)	Clethodim	Imazethapyr	100,0	a	98,3	a	96,8	a	53,0	c R
8	Glyphosate (G1)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	100,0	a	97,3	a	95,8	a
9	Glyphosate (G1)	Quizalofop	Imazethapyr	100,0	a	100,0	a	90,8	a	43,5	c R
10	Glyphosate (G2)	-	-	7,5	d R	61,3	d R	0,0	d R	58,0	c R
11	Glyphosate (G2)	Clethodim	-	100,0	a	100,0	a	96,0	a	96,5	a
12	Glyphosate (G2)	Quizalofop	-	100,0	a	100,0	a	97,5	a	55,0	c R
13	Glyphosate (G2)	-	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	99,0	a	97,3	a	82,0	b
14	Glyphosate (G2)	-	Imazethapyr	100,0	a	90,0	b	58,8	b R	47,5	c R
15	Glyphosate (G2)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	100,0	a	98,3	a	95,0	a
16	Glyphosate (G2)	Clethodim	Imazethapyr	100,0	a	100,0	a	82,5	b	50,5	c R
17	Glyphosate (G2)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	99,5	a	97,8	a	95,5	a
18	Glyphosate (G2)	Quizalofop	Imazethapyr	100,0	a	100,0	a	96,5	a	18,8	d R
19	Glyphosate (G3)	-	-	18,8	c R	50,0	e R	0,0	d R	28,8	d R
20	Glyphosate (G3)	Clethodim	-	100,0	a	100,0	a	96,5	a	94,0	a
21	Glyphosate (G3)	Quizalofop	-	100,0	a	100,0	a	97,8	a	95,5	a
22	Glyphosate (G3)	-	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	99,0	a	96,8	a	96,5	a
23	Glyphosate (G3)	-	Imazethapyr	100,0	a	98,5	a	28,8	c R	62,5	c R
24	Glyphosate (G3)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	100,0	a	96,5	a	96,0	a
25	Glyphosate (G3)	Clethodim	Imazethapyr	100,0	a	100,0	a	93,5	a	95,3	a
26	Glyphosate (G3)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	100,0	a	98,0	a	96,5	a
27	Glyphosate (G3)	Quizalofop	Imazethapyr	100,0	a	100,0	a	96,0	a	87,8	a R
28	-	Clethodim	-	100,0	a	98,0	a	87,5	a R	60,0	c R
29	-	Quizalofop	-	100,0	a	100,0	a	97,5	a	92,0	a
30	-	-	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	93,0	a	85,8	a	83,5	b R
31	-	-	Imazethapyr	30,0	b R	77,8	c R	16,3	d R	43,8	c R
32	-	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	100,0	a	82,0	b R	88,0	a R
33	-	Clethodim	Imazethapyr	100,0	a	95,0	a	73,3	b R	40,0	c R
34	-	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	99,5	a	98,8	a	88,3	a R
35	-	Quizalofop	Imazethapyr	100,0	a	100,0	a	70,0	b R	75,8	b R
36	-	-	-	0,0	e R	0,0	e R	0,0	d R	0,0	e R
<b>C.V. %</b>				4,05		6,90		17,92		16,63	

E1 representa plantas com até dois perfilhos (15 cm de altura); E2 caracteriza plantas com cinco a seis perfilhos (30 cm de altura); E3 define plantas em estágio de pré-florescimento (mais de 70 cm de altura); E4 indica plantas no estágio de florescimento pleno. \*Médias acompanhadas pela mesma letra na coluna não diferem segundo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade, a cor   significa controle entre 90 e 100%,   significa controle entre 80 e 89%, enquanto que   corresponde à controle entre 70 e 79% e   representa controle inferior a 70%; Médias seguidas pela letra R indicam que entre as repetições dos tratamentos existiam plantas que apresentavam rebrota vigorosa.

**Tabela 11.** Resultados de controle de capim-amargoso (*D. insularis*) 60 dias após a aplicação de associações de herbicidas inibidores da EPSPS, ACCase e ALS, além da caracterização das misturas segundo modificação da análise de Colby (1967) em três estádios de seu desenvolvimento.

	EPSPS	ACCase	ALS	Controle de <i>D. insularis</i> aos 60 DAA						
				E2		E3		E4		
1	Glyphosate (G1)	-	-	0,0	d	0,0	d	56,3	c	
2	Glyphosate (G1)	Clethodim	-	100,0	a	97,5	a ↑	94,0	a	↑
3	Glyphosate (G1)	Quizalofop	-	100,0	a	91,0	a +	68,3	b	+
4	Glyphosate (G1)	-	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	98,3	a ↑	95,0	a	↑
5	Glyphosate (G1)	-	Imazethapyr	74,5	c +	47,3	c +	42,5	c	↓
6	Glyphosate (G1)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	96,3	a ↓	95,0	a	↓
7	Glyphosate (G1)	Clethodim	Imazethapyr	98,3	a	96,8	a ↑	53,0	c	↓
8	Glyphosate (G1)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	97,3	a ↓	95,8	a	↓
9	Glyphosate (G1)	Quizalofop	Imazethapyr	100,0	a	90,8	a +	43,5	c	↓
10	Glyphosate (G2)	-	-	61,3	d	0,0	d	58,0	c	
11	Glyphosate (G2)	Clethodim	-	100,0	a	96,0	a ↑	96,5	a	↑
12	Glyphosate (G2)	Quizalofop	-	100,0	a	97,5	a +	55,0	c	↓
13	Glyphosate (G2)	-	[Imazapic+Imazapyr]	99,0	a	97,3	a ↑	82,0	b	+
14	Glyphosate (G2)	-	Imazethapyr	90,0	b	58,8	b ↑	47,5	c	↓
15	Glyphosate (G2)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	98,3	a +	95,0	a	+
16	Glyphosate (G2)	Clethodim	Imazethapyr	100,0	a	82,5	b +	50,5	c	↓
17	Glyphosate (G2)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	99,5	a	97,8	a ↓	95,5	a	↓
18	Glyphosate (G2)	Quizalofop	Imazethapyr	100,0	a	96,5	a +	18,8	d	↓
19	Glyphosate (G3)	-	-	50,0	e	0,0	d	28,8	d	
20	Glyphosate (G3)	Clethodim	-	100,0	a	96,5	a ↑	94,0	a	↑
21	Glyphosate (G3)	Quizalofop	-	100,0	a	97,8	a +	95,5	a	↑
22	Glyphosate (G3)	-	[Imazapic+Imazapyr]	99,0	a	96,8	a ↑	96,5	a	↑
23	Glyphosate (G3)	-	Imazethapyr	98,5	a	28,8	c +	62,5	c	+
24	Glyphosate (G3)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	96,5	a ↓	96,0	a	+
25	Glyphosate (G3)	Clethodim	Imazethapyr	100,0	a	93,5	a +	95,3	a	↑
26	Glyphosate (G3)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	98,0	a ↓	96,5	a	↓
27	Glyphosate (G3)	Quizalofop	Imazethapyr	100,0	a	96,0	a +	87,8	a	+
28	-	Clethodim	-	98,0	a	87,5	a	60,0	c	
29	-	Quizalofop	-	100,0	a	97,5	a	92,0	a	
30	-	-	[Imazapic+Imazapyr]	93,0	a	85,8	a	83,5	b	
31	-	-	Imazethapyr	77,8	c	16,3	d	43,8	c	
32	-	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	100,0	a	82,0	b ↓	88,0	a	+
33	-	Clethodim	Imazethapyr	95,0	a	73,3	b +	40,0	c	↓
34	-	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	99,5	a	98,8	a ↓	88,3	a	↓
35	-	Quizalofop	Imazethapyr	100,0	a	70,0	b +	75,8	b	↓
36	-	-	-	0,0	e	0,0	d	0,0	e	
<b>C.V. %</b>				6,90		17,92		16,63		

E1 representa plantas com até dois perfilhos (15 cm de altura); E2 caracteriza plantas com cinco a seis perfilhos (30 cm de altura); E3 define plantas em estágio de pré-florescimento (mais de 70 cm de altura); E4 indica plantas no estágio de florescimento pleno. \*Médias acompanhadas pela mesma letra na coluna não diferem segundo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade, a cor   significa controle entre 90 e 100%,   significa controle entre 80 e 89%, enquanto que   corresponde à controle entre 70 e 79% e   representa controle inferior a 70%; “+” significa aditividade; “↑” significa sinergismo e “↓” significa antagonismo.

Os resultados obtidos para aplicações realizadas no estágio E3 começam a mostrar a dificuldade de controle do capim-amargoso, visto o menor número de tratamentos que demonstraram eficiência satisfatória em relação às opções disponíveis no E2 (Tabela 12). No estágio E3 a presença de imazethapyr em misturas duplas com glyphosate e com inibidores da ACCase demonstram resultados insatisfatórios.

**Tabela 12.** Resumo dos melhores resultados dos tratamentos até o terceiro estágio de desenvolvimento de *D. insularis* (pré-florescimento), classificados pela ausência de rebrota e pelo nível de controle, além da caracterização das misturas segundo modificação da análise de Colby (1967).

	EPSPS	ACCase	ALS		E3	
2	Glyphosate (G1)	Clethodim	-	97,5	a	↑
3	Glyphosate (G1)	Quizalofop	-	91,0	a	+
4	Glyphosate (G1)	-	[Imazapic+Imazapyr]	98,3	a	↑
6	Glyphosate (G1)	Clethodim	Imazethapyr	96,3	a	↓
7	Glyphosate (G1)	Clethodim	Imazethapyr	96,8	a	↑
8	Glyphosate (G1)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	97,3	a	↓
9	Glyphosate (G1)	Quizalofop	Imazethapyr	90,8	a	+
11	Glyphosate (G2)	Clethodim	-	96,0	a	↑
12	Glyphosate (G2)	Quizalofop	-	97,5	a	+
13	Glyphosate (G2)	-	[Imazapic+Imazapyr]	97,3	a	↑
15	Glyphosate (G2)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	98,3	a	+
17	Glyphosate (G2)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	97,8	a	↓
18	Glyphosate (G2)	Quizalofop	Imazethapyr	96,5	a	+
20	Glyphosate (G3)	Clethodim	-	96,5	a	↑
21	Glyphosate (G3)	Quizalofop	-	97,8	a	+
22	Glyphosate (G3)	-	[Imazapic+Imazapyr]	96,8	a	↑
24	Glyphosate (G3)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	96,5	a	↓
25	Glyphosate (G3)	Clethodim	Imazethapyr	93,5	a	+
26	Glyphosate (G3)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	98,0	a	↓
27	Glyphosate (G3)	Quizalofop	Imazethapyr	96,0	a	+
29	-	Quizalofop	-	97,5	a	
34	-	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	98,8	a	↓
				C.V. %	17,92	

E3 define plantas em estágio de pré-florescimento (mais de 70 cm de altura); \*Médias acompanhadas pela mesma letra na coluna não diferem segundo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade, a cor  significa controle entre 90 e 100%, “+” significa aditividade; “↑” significa sinergismo.

O imazethapyr não proporcionou melhora nos níveis de controle com a sua utilização (associações triplas) em relação às associações duplas entre uma formulação de glyphosate e um inibidor da ACCase. Ao contrário, na maioria das associações em que esse herbicida esteve presente ocorreu a rebrota intensa das plantas de *D. insularis* (Tabela 10). Todavia, o imazethapyr em misturas triplas aplicadas no E3 na maioria das associações não acarretou queda significativa do controle em relação às misturas duplas entre glyphosate e inibidores da ACCase (Tabela 10).

Confirmando o aumento da dificuldade de controle, podemos observar que o uso de clethodim isolado não se manteve no grupo dos melhores tratamentos e permitiu a rebrota das plantas, mesmo em mistura com [imazapic+imazapyr] (Tabela 10). Este, por sua vez, mesmo aplicado de forma isolada não permitiu a rebrota das plantas quando aplicado até o estágio E3.

Um fato importante que leva a aceitar que as associações dos herbicidas avaliadas neste trabalho podem e devem também ser avaliadas como se fossem tratamentos independentes, ou seja, cada combinação é única e diferente de todas as outras, consiste no fato de não ocorrerem grandes divergências entre os resultados para uma mesma associação entre os estádios de desenvolvimento.

Isto significa dizer que, o que foi insatisfatório nos primeiros estádios manteve esse comportamento até o último estágio. Aliás, o último e mais avançado estágio de desenvolvimento foi capaz de ressaltar os problemas de incompatibilidade entre certos herbicidas, principalmente porque a dificuldade de controle nesta condição é maior e por isso somente as associações que não apresentam problemas de interação foram capazes de manter um patamar de controle elevado (Tabela 13).

**Tabela 13.** Resumo dos melhores resultados dos tratamentos até o quarto estágio (E4) de desenvolvimento de *D. insularis* (florescimento pleno), classificados pela ausência de rebrota e pelo nível de controle, além da caracterização das misturas segundo modificação da análise de Colby (1967).

	EPSPS	ACCcase	ALS		E4	
2	Glyphosate (G1)	Clethodim	-	94,0	a	↑
4	Glyphosate (G1)	-	[Imazapic+Imazapyr]	95,0	a	↑
6	Glyphosate (G1)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	95,0	a	↓
8	Glyphosate (G1)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	95,8	a	↓
11	Glyphosate (G2)	Clethodim	-	96,5	a	↑
15	Glyphosate (G2)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	95,0	a	+
17	Glyphosate (G2)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	95,5	a	↓
20	Glyphosate (G3)	Clethodim	-	94,0	a	↑
21	Glyphosate (G3)	Quizalofop	-	95,5	a	↑
22	Glyphosate (G3)	-	[Imazapic+Imazapyr]	96,5	a	↑
24	Glyphosate (G3)	Clethodim	[Imazapic+Imazapyr]	96,0	a	+
25	Glyphosate (G3)	Clethodim	Imazethapyr	95,3	a	↑
26	Glyphosate (G3)	Quizalofop	[Imazapic+Imazapyr]	96,5	a	↓
29	-	Quizalofop	-	92,0	a	
				<b>C.V.%</b>	<b>16,63</b>	

E4 indica plantas no estágio de florescimento pleno. \*Médias acompanhadas pela mesma letra na coluna não diferem segundo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade, a cor  significa controle entre 90 e 100; “+” significa aditividade; “↑” significa sinergismo e “↓” significa antagonismo.

Na Tabela 13 constata-se que o único herbicida que demonstrou eficácia satisfatória em todos os estádios de desenvolvimento, quando aplicado de forma isolada, foi o quizalofop. Contudo, este herbicida não demonstrou compatibilidade de mistura com todos os demais herbicidas, pois perdeu eficiência no E4, nas misturas duplas com G1, G2, imazethapyr e [imazapic+imazapyr] e manteve sua eficiência somente com G3. Nas associações triplas, como já era esperado, a presença de imazethapyr prejudicou o desempenho da associação na maioria das vezes. Enquanto isso, associações com [imazapic+imazapyr] estão entre os melhores resultados (Tabela 13).

Para o E4 o herbicida clethodim não foi tão eficiente quanto o quizalofop quando aplicado de forma isolada (Tabela 11). Todavia, clethodim apresentou menos problemas de incompatibilidade do que quizalofop, visto que gerou resultados satisfatórios em associações duplas com qualquer uma das formulações de glyphosate testadas, em triplas com glyphosate e [imazapic+imazapyr] e ainda com G3 e imazethapyr (Tabela 12). A boa eficiência desta última mistura nos leva a concluir também que o G3 é a formulação de glyphosate com menos problemas de interação com os demais produtos, pois foi a única com a qual o quizalofop combinou bem (dupla), ajudou a superar os problemas de incompatibilidade com o imazethapyr e clethodim e foi a formulação de glyphosate mais presente entre os melhores tratamentos observados no E4 (Tabela 13).

Pode-se dizer também que a adição de [imazapic+imazapyr] aos herbicidas indicados para o manejo de *D. insularis* resistente ao glyphosate representa um fator positivo para o aumento dos níveis de controle. Principalmente pelo fato de este herbicida ser eficiente, quando aplicado isoladamente, até o estádio E2, quando combinado com qualquer formulação de glyphosate (mistura dupla), com glyphosate + quizalofop (exceto G3+quizalofop) ou glyphosate + clethodim em associações triplas para os estádios E3 e E4.

Isto ainda apresenta maior importância quando se leva em conta o trabalho de Diggle et al. (2003), o qual mostra que a associação de herbicidas com mecanismos de ação diferentes, neste caso inibidores da ACCase e ALS, é de grande valia quando se espera reduzir os riscos de ocorrência de novos casos de resistência. Atualmente a principal estratégia para o controle de capim-amargoso resistente ao glyphosate é o uso exclusivo ou associado de inibidores da ACCase, o que se constitui em uma forte pressão de seleção. Desta forma, [imazapic+imazapyr] pode ser considerado uma excelente opção de herbicida inibidor da ALS para ser usado no

manejo de *D. insularis* resistente ao glyphosate. Entretanto o mesmo não pode ser dito em relação ao imazethapyr aplicado em pós-emergência desta planta daninha.

Podemos inferir com as observações analisadas até agora que a melhor mistura para o controle de capim-amargoso resistente ao glyphosate em todos os estádios de desenvolvimento avaliados é a associação de uma formulação de glyphosate com clethodim ou com quizalofop + [imazapic+imazapyr], devido à estabilidade dos resultados ao longo do desenvolvimento do capim-amargoso. Mas existem outras opções, principalmente quando se pensa no controle de *D. insularis* antes do primeiro florescimento com aplicações pontuais.

Tais opções são as misturas duplas de qualquer formulação de glyphosate com clethodim, G3 com quizalofop e G1 ou G3 com [imazapic+imazapyr] que também podem ser utilizadas. Além disso, o quizalofop foi o herbicida que melhor resultado gerou quando aplicado sozinho. Porém, faz-se uma ressalva porque já se sabe que em condições de campo, principalmente em plantas que floresceram várias vezes (já perenizadas), a aplicação de um inibidor da ACCase sozinho ou combinado com glyphosate não é a solução definitiva para o problema do capim-amargoso resistente ao glyphosate, porque geralmente permite a rebrota das plantas com a reserva acumulada em seus rizomas.

Diante do discutido até agora, o que se espera com esta pesquisa é fornecer informações mais precisas sobre os resultados da associação de herbicidas no controle do capim-amargoso resistente ao glyphosate. Sabendo-se da agressividade desta planta daninha e do aumento da dificuldade de controle com o avanço do seu desenvolvimento, o que diminui as opções disponíveis para seu controle, é evidente que cada ação de manejo visando ao controle de *D. insularis* deve ser precisa e ter a maior eficácia possível.

Isto significa, por exemplo, que ao realizar o manejo do capim-amargoso em uma área altamente infestada e cujas plantas já passaram por vários ciclos (florescimentos), é óbvio que não será realizada uma ação pontual, mas sim, uma sequência de atitudes (aplicações) visando a esgotar todas as reservas das plantas entouceiradas e não permitir que novas plantas se desenvolvam. Além disso, aplicações sequenciais de glyphosate + clethodim/paraquat + diuron ou glyphosate + clethodim/glufosinato de amônio são geralmente mais eficientes do que somente de glyphosate + clethodim mesmo em plantas jovens, com até cinco perfilhos (Melo et al., 2012).

Assim, principalmente em situações como a descrita agora, para a primeira aplicação realizada, quanto mais eficiente, maiores serão as chances de sucesso e mais opções de

herbicidas com resultados satisfatórios estarão disponíveis para aplicações sequenciais. Neste sentido, as associações de herbicidas avaliadas no trabalho que apresentaram maior estabilidade de resultados ao longo do desenvolvimento do capim-amargoso podem ser tomadas como boas opções para iniciar o manejo do capim-amargoso resistente ao glyphosate. Além disso, poderá haver situações em que o agricultor não terá tempo ou mesmo a opção de fazer mais de uma aplicação, assim, quanto mais efetiva a ação de manejo, melhores serão as chances de bons resultados.

***Abordagem 2: os tratamentos estão considerados em esquema fatorial.***

A análise do experimento das associações de herbicidas como sendo feita em esquema fatorial, pode parecer confusa à priori, principalmente quando os resultados estão agrupados (Tabela 14 para o estágio E3 e Tabela 15 para o estágio E4), porém, quando os resultados são apresentados desta forma é mais fácil visualizar a tendência ou efeitos gerais dos tratamentos. Esta abordagem foi realizada apenas para E3 e E4 porque são os estágios com maior complexidade e menor número de opções para o controle do capim-amargoso.

**Tabela 14.** Controle proporcionado por três formulações de glyphosate, quizalofop, clethodim, [imazapic + imazapyr] e imazethapyr utilizados isolados, em associações duplas e triplas quando aplicados em pós-emergência de *D. insularis* resistente ao glyphosate no estágio de pré-florescimento (E3).

Glyphosate (G1)	[Imazapic + Imazapyr]	G	A	S	Imazethapyr	G	A	S	Sem ALS	G	A	S
Quizalofop	97	X	A	a	91	X	A	a	91	X	A	a
Clethodim	96	X	A	a	97	X	A	a	98	X	A	a
Sem ACCase	98	X	A	a	47	X	B	b	0	X	B	c

Glyphosate (G2)	[Imazapic + Imazapyr]	G	A	S	Imazethapyr	G	A	S	Sem ALS	G	A	S
Quizalofop	98	X	A	a	97	X	A	a	98	X	A	a
Clethodim	98	X	A	a	83	X	A	a	96	X	A	a
Sem ACCase	97	X	A	a	59	X	B	b	0	X	B	c

Glyphosate (G3)	[Imazapic + Imazapyr]	G	A	S	Imazethapyr	G	A	S	Sem ALS	G	A	S
Quizalofop	98	X	A	a	96	X	A	a	98	X	A	a
Clethodim	97	X	A	a	94	X	A	a	97	X	A	a
Sem ACCase	97	X	A	a	29	Y	B	b	0	X	B	c

Sem Glyphosate	[Imazapic + Imazapyr]	G	A	S	Imazethapyr	G	A	S	Sem ALS	G	A	S
Quizalofop	99	X	A	a	70	Y	A	b	98	X	A	c
Clethodim	82	X	A	a	73	X	A	a	88	X	A	a
Sem ACCase	86	X	A	a	16	Y	B	b	0	X	B	b

G= Comparação entre formulações de glyphosate; A= Comparação entre herbicidas inibidores da ACCases; S= Comparação entre herbicidas inibidores da ALS; XYZ (ordem decrescente de médias)= Compara a mistura ACCase+ALS entre os glyphosates (entre as tabelas de dupla entrada) segundo teste de Scott-knott à 5% de probabilidade; ABC (ordem decrescente de médias)= Compara ACCase dentro da mistura Glyphosate+ALS (comparação na coluna) segundo teste de Scott-knott à 5% de probabilidade;; abc (ordem decrescente de médias)= Compara ALS dentro da mistura Glyphosate+ACCCase (comparação na linha) segundo teste de Scott-knott à 5% de probabilidade;

**Tabela 15.** Controle proporcionado por três formulações de glyphosate, quizalofop, clethodim, [imazapic + imazapyr] e imazethapyr utilizados isolados, em associações duplas e triplas quando aplicados em pós-emergência de *D. insularis* resistente ao glyphosate no estágio de florescimento pleno (E4).

Glyphosate (G1)	[Imazapic + Imazapyr]	G	A	S	Imazethapyr	G	A	S	Sem ALS	G	A	S
Quizalofop	96	X	A	a	44	Y	A	c	68	Y	B	b
Clethodim	95	X	A	a	53	Y	A	b	94	X	A	a
Sem ACCase	95	X	A	a	43	Y	A	b	56	X	B	b

Glyphosate (G2)	[Imazapic + Imazapyr]	G	A	S	Imazethapyr	G	A	S	Sem ALS	G	A	S
Quizalofop	96	X	A	a	19	Z	B	c	55	Y	B	b
Clethodim	95	X	A	a	51	Y	A	b	97	X	A	a
Sem ACCase	82	X	A	a	48	Y	A	b	58	X	B	b

Glyphosate (G3)	[Imazapic + Imazapyr]	G	A	S	Imazethapyr	G	A	S	Sem ALS	G	A	S
Quizalofop	97	X	A	a	88	X	A	a	96	X	A	a
Clethodim	96	X	A	a	95	X	A	a	94	X	A	a
Sem ACCase	97	X	A	a	63	X	B	b	29	Y	B	c

Sem Glyphosate	[Imazapic + Imazapyr]	G	A	S	Imazethapyr	G	A	S	Sem ALS	G	A	S
Quizalofop	88	X	A	a	76	X	A	a	92	X	A	a
Clethodim	88	X	A	a	40	Y	B	c	60	Y	B	b
Sem ACCase	84	X	A	a	44	Y	B	b	0	Z	C	c

G= Comparação entre formulações de glyphosate; A= Comparação entre herbicidas inibidores da ACCases; S= Comparação entre herbicidas inibidores da ALS; XYZ (ordem decrescente de médias)= Compara a mistura ACCase+ALS entre os glyphosates (entre as tabelas de dupla entrada) segundo teste de Scott-knott à 5% de probabilidade; ABC (ordem decrescente de médias)= Compara ACCase dentro da mistura Glyphosate+ALS (comparação na coluna) segundo teste de Scott-knott à 5% de probabilidade;; abc (ordem decrescente de médias)= Compara ALS dentro da mistura Glyphosate+ACCCase (comparação na linha) segundo teste de Scott-knott à 5% de probabilidade;

Em ambas as tabelas os dados estão organizados como quatro minitabelas de dupla entrada. Cada minitabela corresponde ao desdobramento de uma interação dupla de ACCase x ALS dentro de uma formulação de glyphosate, sendo esta indicada na primeira célula à esquerda e na primeira linha de cada mini tabela.

Por exemplo, quando se quer estudar o comportamento da mistura de clethodim + imazethapyr em todas as formulações de glyphosate no estágio E4 (Tabela 15), deve-se observar o que está descrito na coluna G para a combinação dos herbicidas em cada minitabela. Como na coluna G as médias são codificadas pela escala decrescente XYZ de grandeza, ao observar que clethodim + imazethapyr para G1 é codificado por Y, isto significa que outro glyphosate quando associado a estes herbicidas apresentou melhor resultado e é codificado pela letra X, assim basta procurar nas demais minitabelas qual foi a que a associação clethodim + imazethapyr é codificada pela letra X na coluna G. Neste caso a associação de G3 + clethodim + imazethapyr foi a melhor, com média de 95% de controle.

Quando se espera avaliar o comportamento dos inibidores da ACCase dentro da combinação de um glyphosate com um inibidor da ALS, deve-se procurar a minitabela do glyphosate correspondente, procurar a coluna do inibidor da ALS que se deseja e por fim comparar os inibidores da ACCase na coluna por meio da codificação 'ABC' (ordem decrescente de médias) na coluna 'A'.

Por exemplo, para saber se a adição de um inibidor da ACCase à combinação entre G2 + imazethapyr melhora os resultados de controle no estágio E3 (Tabela 15), procura-se a minitabela do G2, localiza-se a coluna do imazethapyr e na coluna A compara-se os inibidores da ACCase. Neste caso, observa-se que tanto quizalofop quanto clethodim quando associados à G2 + imazethapyr geraram resultados melhores (97 e 83% respectivamente) e foram codificados pela letra 'A' na coluna A em comparação aos 59% de controle proporcionado por G2 + imazethapyr (codificada pela letra 'B' na coluna A).

Finalmente, ao analisar o efeito da adição de um inibidor da ALS à mistura de uma formulação de glyphosate com um inibidor da ACCase, busca-se novamente a minitabela correspondente ao glyphosate e observa-se a linha do inibidor da ACCase que se deseja. Na linha, a adição de um inibidor da ALS é qualificada pelas letras 'abc' na coluna 'S' (ordem decrescente de médias), assim, faz-se a comparação na linha.

Como exemplo, pode-se verificar se a adição de um inibidor da ALS à mistura G1 + quizalofop melhora os níveis de controle em relação a esta associação dupla para o estágio E4

(Tabela 15). Procura-se a minitabela do G1, identifique a linha do quizalofop e nas colunas S de cada uma das opções de inibidores da ALS observa-se a codificação segundo o teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Neste caso, é possível constatar que a mistura tripla G1 + quizalofop + [imazapic + imazapyr] foi a que apresentou melhor resultado, 96% de controle e foi codificado por ‘a’ na coluna S. Já a associação tripla G1 + quizalofop + imazethapyr gerou 44% de controle e foi codificada pela letra ‘c’, o que indica que imazethapyr prejudicou a associação G1 + quizalofop, pois esta mistura dupla acarretou 68% de controle e foi codificada por ‘b’ na coluna S desta mistura.

Com relação ao estádio de pré-florescimento (E3) (Tabela 14) todas as associações triplas de herbicidas mostraram-se semelhantes segundo o teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Apesar de haver a tendência de piores resultados nas associações com imazethapyr na abordagem 1, segundo análise em esquema fatorial esta tendência não foi significativa no estádio E3. Isto está de acordo com os resultados da Tabela 13, onde pode ser visto que, entre os melhores resultados, ainda estão presentes misturas triplas com imazethapyr.

Para o E3, com relação às misturas duplas não houve diferença significativa entre as associações entre glyphosate e ACCase em nenhuma combinação, inclusive a adição de glyphosate não se mostrou necessária pois tanto quizalofop quanto clethodim isolados foram semelhantes entre si e entre suas combinações com glyphosate também, acarretando resultados de controle iguais ou superiores à 88% (Tabela 14). Diferentemente da abordagem 1, pois nesta o quizalofop isolado ficou entre os melhores tratamentos, mas clethodim e G1 + quizalofop não. O mesmo não pode ser descrito quanto aos inibidores da ALS. Quando aplicado isolado, imazethapyr não apresentou controle significativo (<20%) quando comparado com a testemunha sem aplicação de herbicidas (Tabela 15).

Já [imazapic+imazapyr] mostrou-se eficiente de forma isolada, igualando-se aos efeitos dos inibidores da ACCase aplicados isoladamente também (Tabela 14). Este comportamento se manteve com a adição de glyphosate (misturas duplas com glyphosate). Esta constatação pode ser feita observando os resultados de [imazapic+imazapyr] nas colunas G, A e S para a minitabela ‘sem glyphosate’ e linha ‘sem ACCase’, onde a codificação X na coluna G significa que a adição de glyphosate não aumentou o patamar de controle significativamente, tal como a codificação A na coluna A, a qual significa que a sua combinação com os herbicidas inibidores da ACCase não alterou sua eficiência.

Imazethapyr associado a uma formulação de glyphosate e um inibidor da ACCase apresentou resultados semelhantes quando comparado à mistura tripla glyphosate + ACCase + [imazapic + imazapyr]. Contudo, na ausência dos inibidores da ACCase os resultados de glyphosate + imazethapyr foram ruins (<60% de controle), apesar de as formulações G1 e G2 combinadas com imazethapyr atingirem patamares de controle melhores do que quando associado à G3 (Tabela 14).

No estágio E4 (Tabela 15) segundo a análise fatorial, o herbicida quizalofop nas misturas duplas não apresentou resultados satisfatórios quando associado à G1 e G2, diferentemente de clethodim que mostrou bons resultados com todas as formulações de glyphosate. Estas combinações de clethodim se assemelharam a G3 associado com quizalofop apresentando os mesmos bons resultados. No entanto, quizalofop foi o único herbicida que quando aplicado de forma isolada resultou em nível satisfatório de controle, igualando-se às combinações de clethodim com glyphosate. Portanto, concluiu-se que no estágio E4 o clethodim precisa ser associado a alguma formulação de glyphosate para manter-se entre os melhores tratamentos e que há problemas de compatibilidade entre quizalofop e G1 e G2.

Em média, [imazapic+imazapyr], quando em misturas triplas, não resultou em queda do nível de controle em relação às associações de glyphosate com inibidores da ACCase. Fato que mostra que este herbicida pode ser considerado como uma ferramenta importante em futuros planos de manejo para o controle de *D. insularis* resistente ao glyphosate (Tabela 15). Diferentemente do apresentado na Tabela 14, imazethapyr não gerou prejuízos para a mistura de G3 com quizalofop ou com clethodim em relação às misturas duplas entre G3 e os inibidores da ACCase (Tabela 15).

Comparando-se às tendências observadas nas duas abordagens realizadas, é possível inferir que a melhor associação para o controle de capim-amargoso resistente ao glyphosate em todos os estádios de desenvolvimento avaliados mediante uma única aplicação de herbicidas, é a associação de uma formulação de glyphosate+clethodim ou quizalofop+[imazapic+imazapyr]. Esta associação foi a que apresentou maior estabilidade de controle em todas as avaliações durante a condução dos ensaios e em todos os estádios de desenvolvimento.

A avaliação do desempenho das misturas, quanto ao efeito sinérgico ou antagonístico, segundo a metodologia proposta neste trabalho baseada no trabalho de Colby (1967), não foi eficiente. Isso ocorreu, porque para associações que demonstraram resultados

de eficácia estável, com pequena variação nos níveis de controle, a metodologia foi muito rígida. Por exemplo, para estas associações, diferenças de 2% nas médias de controle foram maiores que o desvio-padrão e suficientes para designar a mistura como antagonística. Ao passo que, para tratamentos menos estáveis, geralmente com baixos níveis de controle, as variações nas notas de controle tenderam a ser maiores, o que elevou os valores do desvio-padrão. Assim, para este segundo caso, a metodologia empregou uma avaliação mais branda, pois o desvio-padrão normalmente superava 10%. Logo, estas associações geralmente foram consideradas aditivas.

### **Conclusões III**

Há várias opções de herbicidas e associações dos mesmos para o controle de plantas de *D. insularis* com até dois perfilhos (E1), porém, com o avanço do desenvolvimento do capim-amargoso as opções são mais restritas.

Associações de herbicidas contendo glyphosate são importantes mesmo quando se visa ao controle de *D. insularis* resistente a este herbicida, pois sua utilização ajuda na manutenção dos resultados de controle das misturas, principalmente em associações triplas com inibidores da ACCase e da ALS.

A melhor formulação de glyphosate foi a G3, cujo produto comercial é o Roundup transorb. Isto pode ser concluído devido ao fato de que segundo a abordagem 1, G3 foi a formulação que esteve presente em maior número nas melhores associações de herbicidas até o E4. Além disso, segundo a abordagem 2 foi a formulação que foi superior em todas as misturas triplas em que esteve presente.

O melhor herbicida inibidor da ACCase aplicado isolado foi o quizalofop, porém, foi o que apresentou maiores problemas de compatibilidade em misturas duplas e triplas.

O clethodim, apesar de não apresentar resultados satisfatórios quando aplicado isolado no estágio mais avançado de desenvolvimento do capim-amargoso, foi o herbicida que mais contribuiu para a estabilidade de controle das associações em que esteve presente.

Imazethapyr não foi uma boa opção para o controle do capim-amargoso em pós-emergência tanto quando aplicado isolado quando em misturas, pois este aumentou os problemas de antagonismos nas associações em que esteve presente.

A adição de [imazapic+imazapyr] aos herbicidas indicados para o manejo de *D. insularis* resistente ao glyphosate representa um fator para o aumento dos níveis de controle. Principalmente pelo fato de este herbicida ser eficiente, quando aplicado isoladamente, até o

estádio E2, quando combinado em misturas triplas com glyphosate e os inibidores da ACCase nos E3 e E4.

A melhor associação para o controle de capim-amargoso resistente ao glyphosate em todos os estádios de desenvolvimento avaliados mediante uma única aplicação de herbicidas foi a associação tripla de uma formulação de glyphosate com [imazapic+imazapyr] e mais clethodim ou mais quizalofop devido à estabilidade de seus resultados.

A abordagem 1 e 2 dos resultados foram complementares, sendo que a segunda mostrou as tendências gerais dos tratamentos e através da primeira foi possível averiguar com mais clareza os resultados devido à possibilidade de levar em conta as avaliações de rebrota e de sinergismo das associações.

## CONCLUSÕES GERAIS

Os ensaios preliminares indicaram que a metodologia para identificação da existência de indivíduos resistentes ao glyphosate via teste de germinação com solução contendo glyphosate foi eficaz como teste qualitativo e que a temperatura ao longo do ano observada em Maringá-PR não se constitui em limitação importante para a germinação de *D. insularis*.

O biótipo N de *D. insularis* estudado foi considerado como resistente ao glyphosate, uma vez que apresentou fator de resistência entre 4,0 e 8,2, dependendo da variável-resposta e da condição analisada. Além disso, a dose necessária para obter-se 80% de controle ( $C_{80}$ ) para todas as situações foi maior que o  $C_{80}$  do biótipo susceptível e pelo menos 30% superior à maior dosagem de registro do glyphosate para esta planta daninha.

Há várias opções de herbicidas e associações dos mesmos que promovem controle adequado de plantas de *D. insularis* com até dois perfilhos, porém, o número de opções eficientes diminui com o desenvolvimento das plantas.

Mesmo considerando um biótipo resistente ao glyphosate, a utilização deste herbicida nas misturas de tanque ainda colabora na efetividade do controle. Isso indica que os mecanismos que conferem a resistência do biótipo estudado ao glyphosate podem não ser ligados diretamente à insensibilidade da enzima EPSPS a este herbicida, mas sim a outros processos metabólicos da planta que diminuem a ação do glyphosate.

Dentre as formulações de glyphosate avaliados, Roundup transorb foi a que apresentou maior frequência dentre os melhores resultados de controle, especialmente nas fases mais avançadas de desenvolvimento de *D. insularis*.

Dentre os inibidores da ACCase avaliados, aplicações isoladas de quizalofop apresentaram maior eficácia de controle do que clethodim, mas este apresentou melhores resultados do que aquele quando em misturas com outros herbicidas.

Com relação aos inibidores da ALS, a utilização de imazethapyr aumentou os problemas de antagonismo nas associações em que esteve presente. Por outro lado, a adição de [imazapic+imazapyr] aos tratamentos herbicidas representa um fator positivo para o aumento dos níveis de controle de *D. insularis* resistente ao glyphosate.

A melhor associação para o controle de capim-amargoso resistente ao glyphosate em todos os estádios de desenvolvimento avaliados mediante uma única aplicação de herbicidas foi a associação tripla de uma formulação de glyphosate com [imazapic+imazapyr] e mais clethodim ou mais quizalofop devido à estabilidade de seus resultados.

Dentre as combinações de uma formulação de glyphosate, com um inibidor da ACCase e um inibidor da ALS avaliadas, algumas mostraram bons resultados no controle de *D. insularis* resistente ao glyphosate. Porém, nos estádios mais avançados do desenvolvimento desta planta daninha, os problemas de antagonismo nas misturas se ressaltaram e somente poucas combinações demonstraram resultados satisfatórios e estáveis em todos os estádios avaliados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ADEGAS, F.S. et al. Alternativas de controle químico de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glyphosate. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., 2010, Ribeirão Preto. **Resumos...**Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2010.
- BARNES, J.W.; LAWRENCE R.O. Cloransulam antagonizes annual grass control with aryloxyphenoxypropionate graminicides but not cyclohexanediones. **Weed Technology**, v.18, n.3, p.763-772, 2004.
- BATISTA, L.A. et al. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Revista Ciência Agrônômica**, v.41, n.3, p.475-481, 2010.
- BLACKSHAW, R.E. et al. Broadleaf herbicide effects on clethodim and quizalofop-p efficacy on volunteer wheat (*Triticum aestivum*). **Weed Technology**, v.20, n.1, p.221-226, 2006.
- BRACCINI, A.L. Bancos de semente e mecanismos de dormência em sementes de plantas daninhas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. (Eds.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax Editora, 2011. p.37-66.
- BRIGHENTI, A.M; OLIVEIRA, M.F. Biologia de plantas daninhas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. (Eds.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax Editora, 2011. p.09.
- BURKE, I.C.; WILCUT, J.W. Physiological basis for antagonism of clethodim by CGA 362622. **Weed Science**, v.51, n.5, p.671-677, 2003.
- BURKE, I.C. et al. Annual grass control in peanut (*Arachis hypogaea*) with clethodim and imazapic. **Weed Technology**, v.18, n.1, p.88-92, 2004.
- CALADO, J.M.G.; BASCH, G.; CARVALHO, M. Weed emergence as influenced by soil moisture and air temperature. **Journal of Pest Science**, v.82, n.1, p.81-88, 2009.
- 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, 2001. p.143-150.
- CARVALHO, S.J.P. et al. Curvas de dose-resposta para avaliação do controle de fluxos de emergência de plantas daninhas pelo herbicida imazapic. **Planta Daninha**, v.23, n.3, p.535-542, 2005.
- CARVALHO, L.B. et al. Estudo comparativo do acúmulo de massa seca e macronutrientes por plantas de milho var. BR-106 e *Brachiaria plantaginea*. **Planta Daninha**, v.25, n.2, p.293-301, 2007.
- CARVALHO, L.B. et al. Detection of sourgrass (*Digitaria insularis*) biotypes resistant to glyphosate in Brazil. **Weed Science**, v.59, n.2, p.171-176, 2011.

- CARVALHO, L.B. **Interferência de *Digitaria insularis* em *Coffea arabica* e respostas destas espécies ao glyphosate.** 2011. 119f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
- CARVALHO L.B. et al. Pool of resistance mechanisms to glyphosate *Digitaria insularis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, n.2, p.615-622, 2012.
- CASTRO, P.R.C.; FERREIRA, S.O.; YAMADA, T. **Ecofisiologia da produção agrícola.** Piracicaba: POTAFOS, 1987. 249p.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. Curvas de dose-resposta de biótipos resistente e suscetível de *Bidens pilosa* L. aos herbicidas inibidores da ALS. **Scientia Agrícola**, v.59, n.3, p.513-519, 2002.
- CLAYTON, W.D. et al. (2006). GrassBase - **The Online World Grass Flora.** <http://www.kew.org/data/grasses-db.html>. Acesso 16/05/2011.
- COLBY, S.R. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations. **Weeds**, v.15, n.1, p.20-22, 1967.
- CORREIA, N.M.; DURIGAN, J.C. Manejo químico de plantas adultas de *Digitaria insularis* (L.) Fedde com glyphosate isolado e em mistura com chlorimuron ethyl ou quizalofop-p-tefural em área de plantio direto. **Bragantia**, v.68, n.3, p.689-697, 2009.
- CORREIA, N.M.; LEITE, G.J.; GARCIA, L.D. Resposta de diferentes populações de *Digitaria insularis* (L.) Fedde ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.28, n.4, p.769-776, 2010.
- COSTA, N.V. et al. Efeito do trinexapac-ethyl na anatomia foliar de quatro espécies de grama. **Planta Daninha**, v.28, n.3, p.551-560, 2010.
- COSTA, V.A. et al. Efeito do déficit hídrico na anatomia foliar de *Amaranthus retroflexus* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 28., 2012, Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2012.
- DIEZ DE ULZURRUN, P.; LEADEN, M.I. Análisis de la sensibilidad de biotipos de *Lolium multiflorum* a herbicidas inibidores de la enzima ALS, ACCasa y Glifosato. **Planta Daninha**, v.30, n.3, p.667-673, 2012.
- DIGGLE, A.J. et al. Herbicides used in combination can reduce the probability of herbicide resistance in finite weed populations. **Weed Research**, n.43, v.5, p.371-382, 2003.
- DORNELLES, S.H.B. et al. Controle de plantas daninhas do gênero *Digitaria* sp. com o herbicida mesotrione na cultura do milho (*Zea mays*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 24., 2004, São Pedro. **Resumos...** São Pedro: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2004. p.107.

- FERGUSON, G.M. ALS inhibitor resistance in populations of *Powell amaranth* and redroot pigweed. **Weed Science**, v.49, n.4, p.448-453, 2001.
- FORNAROLLI, D.A. et al. Manejo de biótipos de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glifosato. In: III SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GLYPHOSATE, Botucatu, SP, 2011. **Resumos...** Botucatu: UNESP, 2011.
- FRANCISCHINI, A. **Identificação de resistência aos herbicidas utilizados no algodoeiro em biótipos de *Amaranthus retroflexus* e *Amaranthus viridis* oriundos das regiões produtoras da Bahia, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul.** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2012. 134p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).
- GE, X. et al. Glyphosate-resistant horseweed made sensitive to glyphosate: low-temperature suppression of glyphosate vacuolar sequestration revealed by <sup>31</sup>P NMR. **Pest Management Science**, v.67, n.10, p.1215-1221, 2011.
- GEMELLI, A. et al. Aspectos da biologia de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate e implicações para o seu controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.11, n.2, p.231-240, 2012.
- HEAP, I.M. **International Survey of Herbicide Resistant Weeds.** On line <http://www.weedscience.com>. Acesso em: 14/06/2012.
- KIM, J.S. et al. Physiological basis for antagonism induced by mixtures of quizalofop-ethyl and bromoxynil in maize (*Zea mays*). **Weed Research**, v.46, n.3, p.236-242, 2006.
- KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas.** 2.ed. São Paulo: BASF, 1997. Tomo I. 825 p.
- LACERDA, A.L.S. **Fluxos de emergência e banco de sementes de plantas daninhas em sistema de semeadura direta e convencional e curvas dose-resposta ao glyphosate.** 2003. 153 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- LAMEGO, F.P.; VIDAL, R.A. Resistência ao glyphosate em biótipos de *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.467-471, 2008.
- LANCASTER, S.H. et al. Influence of graminicide formulation on compatibility with other pesticides. **Weed Technology**, v.22, n.4, p.580-583, 2008.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas.** 3.ed. Nova Odessa: Plantarum, p. 608, 2000.
- MACHADO, A.F.L. et al. Análise de crescimento de *Digitaria insularis* (L.) Fedde. **Planta Daninha**, v.24, n.4, p.641-647, 2006
- MACHADO, A.F.L. et al. Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de *Digitaria insularis* (L.) Fedde. **Planta Daninha**, v.26, n.1, p.1-8, 2008.

- MAPA. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível: [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 30/06/2012.
- MARQUES, B.S. et al. Crescimento do capim-amargoso (*Digitaria insularis*) no sul de Minas Gerais com base em unidades térmicas. In: 4ª JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DO INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SUL DE MINAS GERAIS (IFSULDEMINAS), 2012a, Muzambinho. **Resumos...** Muzambinho: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais.
- MARQUES, R.P.; RODELLA, R.A.; MARTINS, D. Características da anatomia foliar de espécies de braquiária e sua relação com a sensibilidade a herbicidas. **Planta Daninha**, v.30, n.4, p.809-816, 2012b.
- MARTINS J.F. et al. Efeito da profundidade de semeadura na emergência do capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Fedde). In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP (CIC), 21., São José do Rio Preto, SP, 2009. **Resumos...** São José do Rio Preto: UNESP, 2009.
- MCCULLOUGH, P.E. et al. Aminocyclopyrachlor enhances fenoxaprop efficacy for smooth crabgrass control. **Weed Technology**, v.25, n.3, p.506-510, 2011.
- MELO, M.S.C. et al. Alternativas de controle para capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glifosato. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., 2010, Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2010.
- MELO, M.S.C. **Alternativas de controle, acúmulo de chiquimato e curva de crescimento de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suscetível e resistente ao glyphosate.** 2011. 74f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- MELO, M.S.C. et al. Alternativas para o controle químico de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glyphosate. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.11, n.2, p.195-203, 2012.
- MONDO, V.H.V. et al. Efeitos da luz e temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de plantas daninhas do gênero *Digitaria*. **Revista Brasileira Sementes**, v. 32, n.1, p.131-137, 2010.
- MONQUERO, P.A. et al. Glyphosate em mistura com herbicidas alternativos para o manejo de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.19, n.3, p.375-380, 2001.
- MUELLER, T.C. Comparison of glyphosate salts (isopropylamine, diammonium, and potassium) and calcium and magnesium concentrations on the control of various weeds. **Weed Technology**, v.20, n.1, p.164-171, 2006.
- NANDULA, V.K. et al. Glyphosate tolerance mechanism in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) from Mississippi. **Weed Science**, v.56, n.3, p.344-49, 2008.

- NEVE, P.; POWLES, S. Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.110, n.6, p.1154-1166, 2005.
- NORRIS, J.L. et al. Weed control from herbicide combinations with three formulations of glyphosate. **Weed Technology**, v.15, n.3, p.552-558, 2001.
- PARREIRA, M.C. et al. Manejo químico de *Digitaria insularis* em área de plantio direto. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.5, n.1, p.13-17, 2010.
- PEREZ-JONES, A. et al. Investigating the mechanism of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. **Planta**, v.226, n.2, p.395-404, 2007.
- PRADO, R. et al. Resistance to acetyl CoA carboxylase-inhibiting herbicides in *Lolium multiflorum*. **Weed Science**, v.48, n.3, p.311-318, 2000.
- PROCÓPIO, S.O. et al. Efeitos de dessecantes no controle de plantas daninhas na cultura da soja. **Planta Daninha**, v.24, n.1, p.193-197, 2006.
- PYON, J.Y. **Studies on the biology of sourgrass (*Trichachne insularis* (L.) Nees and of its competition with buffelgrass (*Cenchrus ciliaris* L.) and guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.)**. 1975. 133p. Thesis (Doctor of Philosophy in Agronomy and Soil Science) - University of Hawaii.
- PYON, J.Y.; WHITNEY, A.S.; NISHIMOTO, R.K. Biology of sourgrass and its competition with buffelgrass and guineagrass. **Weed Science**, v.25, n.2, p.171-174, 1977.
- ROMAN, E.S. **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação**. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier, 2007. 158p.
- SANTOS, G. **Resistência múltipla ao glyphosate e ao chlorimuron-ethyl em biótipos de *Conyza sumatrensis***. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2012. 87p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).
- SCHUSTER, C.L. et al. Efficacy of sulfonylurea herbicides when tank mixed with mesotrione. **Weed Technology**, v.22, n.2, p.222-230, 2008.
- SCHUSTER, C.L. et al. Mechanism of antagonism of mesotrione on sulfonylurea herbicides. **Weed Science**, v.55, n.5, p.429-434, 2007.
- SEAB. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná - SEAB. Disponível em: <http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/>. Acesso em: 14/06/2012.
- SILVA, A.C.; FERREIRA, L.R.; SILVA, A.A.; FERREIRA, F.A. Análise de crescimento de *Brachiaria brizantha* submetida à doses reduzidas de fluazifop-p-butil. **Planta Daninha**, v.3, n.1, p.85-91, 2005.
- STEELE, G.L. et al. Diuron reduces absorption and translocation of glyphosate in sharppod morningglory (*Ipomoea cordatotriloba*). **Weed Technology**, v.22, n.3, p.414-419, 2008.

- STREIBIG, J.C. Herbicide bioassay. **Weed Research**, v.28, n.6, p.479-484, 1988.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.
- TIMOSSI, P.C. et al. Manejo de rebrotes de *Digitaria insularis* (L.) Fedde no plantio direto de milho. **Planta Daninha**, v.27, n.1, p.175-179, 2009.
- TREZZI, M.M. et al. Antagonismo das associações de clodinafop-propargyl com metsulfuron-methyl e 2,4-D no controle de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta Daninha**, v.25, n.4, p.839-847, 2007.
- TREZZI, M.M. Resistência ao glyphosate em biótipos de buva (*Conyza* spp.) das regiões oeste e sudoeste do Paraná. **Planta Daninha**, v.29, n.5, p.1113-1120, 2011.
- VIDAL, R.A. et al. Antagonismo na associação de glyphosate e triazinas. **Planta Daninha**, v.21, n.2, p.301-306, 2003.
- WAKELIN, A.M. et al. Glyphosate resistance in four different populations of *Lolium rigidum* is associated with reduced translocation of glyphosate to meristematic zones. **Weed Research**, v.44, n.6, p.453-459, 2004.
- WERLANG, R.C.; SILVA, A.A. Interação de glyphosate com carfentrazone-ethyl. **Planta Daninha**, v.20, n.1, p.93-102, 2002.
- WILLINGHAM, S.D. et al. Effect of temperature and propanil on penoxsulam efficacy, absorption, and translocation in alligatorweed (*Alternanthera philoxeroides*). **Weed Science**, v.56, n.6, p.780-784, 2008.
- ZHOU, J. et al. Glyphosate efficacy on velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) is affected by stress. **Weed Science**, v.55, n.3, p.240-244, 2007.