



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GUILHERME MENDES PIO DE OLIVEIRA

**ESTRATÉGIAS PARA MELHORIA DA EFICIÊNCIA DE
HERBICIDAS EM PLANTAS DE CAPIM-AMARGOSO E
BUVA**

Londrina
2021

GUILHERME MENDES PIO DE OLIVEIRA

**ESTRATÉGIAS PARA MELHORIA DA EFICIÊNCIA DE
HERBICIDAS EM PLANTAS DE CAPIM-AMARGOSO E
BUVA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientador: Prof. Marcelo Augusto de Aguiar e Silva

Co-orientador: Prof. Giliardi Dalazen

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

O48 Oliveira, Guilherme Mendes Pio de.
Estratégias para melhoria da eficiência de herbicidas em plantas de capim-amargoso e buva / Guilherme Mendes Pio de Oliveira. - Londrina, 2021.
180 f. : il.

Orientador: Marcelo Augusto de Aguiar e Silva.
Coorientador: Giliardi Dalazen.
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2021.
Inclui bibliografia.

1. Conyza spp. - Tese. 2. Digitaria insularis (L.) Fedde - Tese. 3. Controle químico - Tese. 4. Horário de aplicação - Tese. I. de Aguiar e Silva, Marcelo Augusto . II. Dalazen, Giliardi . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

GUILHERME MENDES PIO DE OLIVEIRA

**ESTRATÉGIAS PARA MELHORIA DA EFICIÊNCIA DE HERBICIDAS
EM PLANTAS DE CAPIM-AMARGOSO E BUVA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Co-orientador Prof. Dr. Giliardi Dalazen
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Alfredo Junior Paiola Albrecht
Universidade Federal do Paraná – UFPR

Dr. Fernando Storniolo Adegas
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
– Embrapa - Soja

Dr. Jethro Barros Osipe
Estação Dashen Consultoria e Pesquisa
Agrônômica

Londrina, 26 de fevereiro de 2021.

Dedico este trabalho aos meus pais Gilberto e Odete e à minha irmã Stella que sempre acreditaram no meu potencial e incentivaram a alcançar os meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, que me guiou, capacitou e abençoou durante toda a minha jornada acadêmica e pessoal.

Aos meus pais Gilberto Mendes de Oliveira e Odete Mendes Pio de Oliveira pelo amor incondicional e por sempre investir em minha educação. Sou o que sou em grande parte por eles... essa conquista é nossa.

À minha irmã Stella Mendes Pio de Oliveira pela cumplicidade e incentivo em todos os momentos.

Ao orientador Prof. Dr. Marcelo Augusto de Aguiar e Silva pelo apoio, atenção, suporte, e sobretudo, pela amizade.

Ao co-orientador Prof. Dr. Giliardi Dalazen que tive o privilégio de conhecer, agradeço pela orientação, dedicação, profissionalismo, amizade e conhecimento transmitido durante esses anos de convivência.

Aos membros da banca pelas contribuições na revisão e avaliação do presente estudo.

Aos professores e funcionários da Universidade Estadual de Londrina que contribuíram na minha formação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade de realizar o doutorado.

A todos os que, de alguma forma, contribuíram para minha formação acadêmica e para a realização do doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001 pela concessão da bolsa de estudos.

Muito obrigado

“Por mais inteligente que alguém possa ser, se não for humilde o seu melhor se perde na arrogância. A humildade ainda é a parte mais bela da sabedoria”

Autor desconhecido.

OLIVEIRA, Guilherme Mendes Pio. **Estratégias para melhoria da eficiência de herbicidas em plantas de capim-amargoso e buva.** 2021. 180 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

Os relatos de resistência e o estágio em que se encontram as plantas de capim-amargoso e buva no momento da aplicação evidenciam a necessidade em procurar estratégias que potencializem a ação dos herbicidas. Objetivou-se identificar estratégias que auxiliem no controle de plantas de capim-amargoso e buva por meio do fracionamento de doses de herbicidas, misturas em tanque de herbicidas com diferentes mecanismos de ação e variação nos horários de aplicação dos herbicidas. Foram conduzidos experimentos em campo e casa de vegetação em Londrina – PR, com plantas de capim-amargoso (A, B e C) e buva (D). No experimento A foram aplicados herbicidas inibidores da ACCase sem e com fracionamento de doses, alternando a ordem de aplicação e os grupos químicos DIMs e FOPs, de forma isolada e/ou associada ao glyphosate, em capim-amargoso perenizado resistente aos inibidores da EPSPS. No experimento B, plantas de capim-amargoso foram submetidas à diferentes períodos de ausência de luz após a aplicação do diquat. No experimento C foram aplicados clethodim isolado e associado a inibidores do fotossistema em capim-amargoso em diferentes horários. No experimento D foram aplicados 2,4-D e inibidores do fotossistema de forma isolada ou em mistura sobre plantas de buva em diferentes horários. Os resultados indicam que a aplicação fracionada de clethodim + quizalofop-P-tefuril e clethodim e a adição de glyphosate aumentam o controle das plantas de capim-amargoso perenizado resistentes à EPSPS. O herbicida clethodim fracionado apresenta maior controle e gera menor rebrote e altura das plantas de capim-amargoso. A ordem de aplicação dos grupos químicos FOPs e DIMs influencia na eficiência do controle, com melhores resultados em aplicações de quizalofop-P-tefuril seguido de clethodim. O aumento do período de ausência de luz após a aplicação de diquat resulta em redução da atividade fotossintética, menor acúmulo de H₂O₂ e, conseqüentemente, maior controle de capim-amargoso, sendo necessário o período de 6 h de ausência de luz após a aplicação para obter controle total de capim-amargoso. A adição de diuron as misturas de clethodim + diquat e 2,4-D + diquat aplicadas em horários com menor intensidade luminosa incrementa o controle das plantas de capim-amargoso e buva, respectivamente, com 100% de controle nas aplicações realizadas às 16:00h.

Palavras-chave: *Conyza* spp; *Digitaria insularis* (L.) Fedde; controle químico; horário de aplicação; mistura em tanque.

OLIVEIRA, Guilherme Mendes Pio. **Strategies to improve the efficiency of herbicides in sourgrass and horseweed**. 2021. 180 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

The reports of resistance and the stage in which the sourgrass and hairy fleabane plants are found at the moment of application show the need to look for strategies that potentiate the action of herbicides. The aim was to identify strategies that help in the control of sourgrass and hairy fleabane plants by dividing herbicide doses, mixtures in herbicide tank with different mechanisms of action and variation in herbicide application times. Experiments were carried out in the field and in a greenhouse in Londrina – PR, with sourgrass plants (A, B and C) and hairy fleabane (D) were conducted. In experiment A, ACCase-inhibiting herbicides were applied without and with fractionation of doses, alternating the order of application and the chemical groups DIMs and FOPs, in an isolated and / or associated way with glyphosate, in perennialized sourgrass resistant to EPSPS inhibitors. In experiment B sourgrass plants were subjected to different periods of absence of light after the application of the diquat. In experiment C clethodim alone and associated with photosystem inhibitors were applied in sourgrass at different times. In experiment D 2,4-D and photosystem inhibitors were applied alone or in mixture on hairy fleabane plants at different times. The results indicate that the fractional application of clethodim + quizalofop-P-tefural and clethodim and the addition of glyphosate increase the control of EPSPS resistant perennial sourgrass plants. The fractionated clethodim herbicide has greater control and generates less regrowth and height of the sourgrass plants. The order of application of the chemical groups FOPs and DIMs influences the efficiency of the control, with better results in applications of quizalofop-P-tefural followed by clethodim. The increase in the period of absence of light after the application of diquat results in a reduction of photosynthetic activity, less accumulation of H₂O₂ and, consequently, greater control of sourgrass, requiring a period of 6 h of absence of light after application to obtain total control of sourgrass. The addition of diuron to the mixtures of clethodim + diquat and 2,4-D + diquat applied at times with lower light intensity increases the control of the sourgrass and hairy fleabane plants, respectively, with 100% control in the applications carried out at 04:00 p.m.

Keywords: *Conyza* spp; *Digitaria insularis* (L.) Fedde; chemical control; application time; tank mixture.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO A

- Figura 1** – Controle (%) de capim-amargoso perenizado aos 21 (A), 35 (B) e 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA) (C) em resposta a aplicação de inibidores da ACCase.....85
- Figura 2** – Número de perfilhos por planta (NPP) (A) e altura de plantas (AP) de capim-amargoso perenizado (B) aos 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA) em resposta a aplicação de inibidores da ACCase.....86
- Figura 3** – Controle de capim-amargoso perenizado aos 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA) em resposta ao fracionamento de graminicidas (A) e à adição de glyphosate (B).88
- Figura 4** – Altura de plantas (AP) de capim-amargoso perenizado em resposta ao fracionamento de graminicidas (A) e à adição de glyphosate (B).90

ARTIGO B

- Figura 1** – Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de capim-amargoso em função de períodos de ausência de luz após a aplicação do diquat em campo.110
- Figura 2** – Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de capim-amargoso em função de períodos de ausência de luz após a aplicação do diquat em casa de vegetação.....111
- Figura 3** – Plantas de capim-amargoso submetidas a diferentes períodos de ausência de luz (0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 h) após a aplicação do herbicida diquat.....112
- Figura 4** – Rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m) (A), rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Delta F/F_m'$) (B), taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II

(rETR) (C) e concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (D) de capim-amargoso em função da ausência de luz após a aplicação do diquat em casa de vegetação.....113

- Figura 5** – Coeficiente de correlação de Pearson (r) das variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m), rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Delta F/F_m'$), taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) e concentração foliar de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) de plantas de capim-amargoso submetidas a diferentes períodos de ausência de luz após a aplicação do diquat em casa de vegetação.....114

ARTIGO C

- Figura 1** – Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo.131
- Figura 2** – Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.133
- Figura 3** – Plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.....134
- Figura 4** – Taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron

	em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.....	135
Figura 5	– Concentração de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) nas folhas de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.....	136
Figura 6	– Coeficiente de correlação de Pearson (r) das variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) e concentração foliar de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.	137
 ARTIGO D		
Figura 1	– Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo.	155
Figura 2	– Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.	158
Figura 3	– Taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em	

diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.....	160
Figura 4 – Concentração de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) nas folhas de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.	161
Figura 5 – Clorofila <i>a</i> (Ca) (A) e clorofila <i>b</i> (Cb) (B) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.	162
Figura 6 – Coeficiente de correlação de Pearson (r) das variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR), concentração foliar de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂), clorofila <i>a</i> (Ca) e clorofila <i>b</i> (Cb) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.	163

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sequência de adição de agroquímicos em tanque de pulverização na realização de misturas	52
---	----

ARTIGO A

Tabela 1 – Tratamentos avaliados para o controle de capim-amargoso perenizado.....	80
Tabela 2 – Tratamentos avaliados para controle de capim-amargoso perenizado.....	81
Tabela 3 – Controle de capim-amargoso perenizado aos 21 e 35 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA) em resposta ao fracionamento de graminicidas e à adição de glyphosate	87
Tabela 4 – Número de perfilhos por planta (NPP) de capim-amargoso perenizado em resposta ao fracionamento de graminicidas e à adição de glyphosate	89

ARTIGO B

Tabela 1 – Condições meteorológicas no momento das aplicações das caldas em condições de campo e casa de vegetação	106
---	-----

ARTIGO C

Tabela 1 – Condições meteorológicas no momento das aplicações de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo e casa de vegetação.....	128
--	-----

ARTIGO D

Tabela 1 – Condições meteorológicas no momento das aplicações de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo e casa de vegetação.....	151
Tabela 2 – Controle (%) aos 15 dias após o tratamento (DAT) de plantas de buva observados (Obs) e interação esperada (Esp) pelo método	

de Colby (1967) em resposta à aplicação de 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo156

Tabela 3 – Controle (%) aos 15 dias após o tratamento (DAT) de plantas de buva observados (Obs) e interação esperada (Esp) pelo método de Colby (1967) em resposta à aplicação de 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação159

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔF	Fluorescência variável da clorofila na presença de luz
$\Delta F/F_m'$	Rendimento quântico efetivo do fotossistema II
2,4-D	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético
ABP1	Auxin binding protein1
ACCASE	Acetil-CoA carboxilase
Adi	Aditiva
AGCL	Ácidos graxos de cadeia longa
AIA	Ácido indol-3-acético
ALS	Acetolactato sintase
AMPA	Ácido aminometilfosfônico
Ant	Antagônica
AP	Altura de plantas
ATP	Adenosina trifosfato
C	Clethodim
C3	Carbono terciário
C4	Carbono quaternário
Ca	Clorofila <i>a</i>
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
Cb	Clorofila <i>b</i>
CCA1	Circadian clock associated 1
Cfa	Temperado subtropical úmido
CO ₂	Dióxido de carbono
DAA	Dias após a aplicação A dos tratamentos
DAT	Dias após o tratamento
DENs	Fenilpirazolinás
DIMs	Ciclohexanodionas
DNA	Ácido desoxirribonucleico
e.a.	Equivalente ácido
EC	Concentrados para emulsão
EPSPS	5-enol-piruvil-shiquimato-3-fosfato-sintase
EROs	Espécies reativas de oxigênio

Esp	Esperado
Etilenoxi	Nonil fenoxi poli etanol
EW	Emulsões óleos em água
F _m	Fluorescência máxima
F _m '	Fluorescência máxima da clorofila
FOPs	Ariloxifenoxipropanoatos
FSI	Fotossistema I
FSII	Fotossistema II
F _v	Fluorescência variável
F _v /F _m	Rendimento quântico máximo do fotossistema II
GS	Glutamina sintetase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
i.a.	Ingrediente ativo
log K _{ow}	Coeficiente de partição octanol/água
MF	Massa fresca
MFPA	Massa fresca da parte aérea
MSPA	Massa seca da parte aérea
NADP ⁺	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
NPP	Número de perfilhos por planta
Ns	Não significativo
O ₂	Oxigênio
O ₂ ^{-•}	Ânion superóxido
Obs	Observado
OH [•]	Radical hidroxila
OS1p	Opti-Sciences
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa
PEP	Fosfoenolpiruvato
pKa	Constante de dissociação eletrolítica
PROTOX	Protoporfirinogênio oxidase
Q	Quizalofop-P-tefuril
Qa	Quinona A
Qb	Quinona B

R	Coeficiente de correlação de Pearson
R ²	Coeficiente de determinação ajustado
Res	Resposta
rETR	Taxa relativa de transporte linear de elétrons
RR	Roundup ready
S3P	Shiquimato-3-fosfato
SC	Suspensões concentradas
SE	Suspensão emulsão
Sin	Sinérgica
SKP2	S-phase <i>kinase associated protein 2</i>
SL	Soluções concentradas
SOD	Superóxido dismutase
T.	Testemunha
TIR1	Transport inhibitor response 1
Teste F	Teste Fisher
UR	Umidade relativa do ar
WG	Grânulos dispersíveis em água
WP	Pós molháveis
WSB	Sacos hidrossolúveis
XX	Vinte

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	IMPORTÂNCIA DAS PLANTAS DANINHAS	22
2.2	CAPIM-AMARGOSO	25
2.3	BUVA	29
2.4	CONTROLE QUÍMICO	33
2.4.1	Inibidores da Enzima EPSPS	34
2.4.2	Mimetizadores de Auxina	37
2.4.3	Inibidores da ACCase.....	40
2.4.4	Inibidores do Fotossistema II.....	43
2.4.5	Inibidores do Fotossistema I.....	46
2.5	MISTURA EM TANQUE	48
2.6	HORÁRIO DE APLICAÇÃO	52
3	REFERÊNCIAS	56
	ARTIGO A	75
1	INTRODUÇÃO	77
2	MATERIAL E MÉTODOS	79
2.1	Caracterização da Área Experimental	79
2.2	Delineamento Experimental e Tratamentos.....	79
2.2.1	Experimento I - Fracionamento e alternância de inibidores da ACCase no controle de capim-amargoso	79
2.2.2	Experimento II - Efeito da adição de glyphosate a inibidores da ACCase no controle de capim-amargoso perenizado resistente aos inibidores da EPSPS.....	80
2.3	Aplicação dos Tratamentos	81
2.4	Avaliações	81
2.5	Análises Estatísticas.....	82
3	RESULTADOS.....	83

3.1	Experimento I - Fracionamento e Alternância de Inibidores da ACCase no Controle de Capim-amargoso	83
3.2	Experimento II - Efeito da Adição de Glyphosate a Inibidores da ACCase no Controle de Capim-amargoso Perenizado Resistente aos Inibidores da EPSPS.....	86
4	DISCUSSÃO	91
5	CONCLUSÃO	95
	REFERÊNCIAS.....	96
	ARTIGO B	99
1	INTRODUÇÃO	101
2	MATERIAL E MÉTODOS	104
2.1	Caracterização da Área, Origem e Produção do Material Vegetal	104
2.1.1	Experimento I – Campo.....	104
2.1.2	Experimento II – Casa de vegetação.....	104
2.2	Delineamento Experimental e Tratamentos.....	105
2.3	Aplicação dos Tratamentos	105
2.4	Avaliações	106
2.5	Análises Estatísticas.....	107
3	RESULTADOS.....	109
3.1	Experimento I – Campo.....	109
3.2	Experimento II – Casa de Vegetação	110
4	DISCUSSÃO	115
5	CONCLUSÃO	118
	REFERÊNCIAS.....	119
	ARTIGO C	122
1	INTRODUÇÃO	124
2	MATERIAL E MÉTODOS	126
2.1	Origem e Produção do Material Vegetal.....	126
2.1.1	Experimento I – Campo.....	126
2.1.2	Experimento II – Casa de Vegetação	126
2.2	Delineamento Experimental e Tratamentos.....	127
2.3	Aplicação dos Tratamentos	127

2.4	Avaliações	128
2.5	Análises Estatísticas.....	129
3	RESULTADOS.....	130
3.1	Experimento I – Campo.....	130
3.2	Experimento II – Casa de Vegetação	131
4	DISCUSSÃO	138
5	CONCLUSÃO	141
	REFERÊNCIAS.....	142
	ARTIGO D	145
1	INTRODUÇÃO	147
2	MATERIAL E MÉTODOS	149
2.1	Origem e Produção do Material Vegetal.....	149
2.1.1	Experimento I – Campo.....	149
2.1.2	Experimento II – Casa de Vegetação	149
2.2	Delineamento Experimental e Tratamentos.....	150
2.3	Aplicação dos Tratamentos	150
2.4	Avaliações	151
2.5	Análises Estatísticas.....	152
3	RESULTADOS.....	154
3.1	Experimento I – Campo.....	154
3.2	Experimento II – Casa de Vegetação	156
4	DISCUSSÃO	164
5	CONCLUSÃO	167
	REFERÊNCIAS.....	168
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	171
	APÊNDICES	172
	APÊNDICE A - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 21, 35 e 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA), número de perfilhos por planta (NPP) e altura de	

plantas (AP) de capim-amargoso perenizado em resposta a aplicação de inibidores da ACCase.....	173
APÊNDICE B - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 21, 35 e 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA), número de perfilhos por planta (NPP) e altura de plantas (AP) de capim-amargoso perenizado em resposta ao fracionamento de graminicidas e à adição de glyphosate.	174
APÊNDICE C - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo.....	175
APÊNDICE D - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.	176
APÊNDICE E - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) e concentração de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) nas folhas de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em	

	diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação	177
APÊNDICE F -	Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo	178
APÊNDICE G -	Resumo da análise de variância para as variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.....	179
APÊNDICE H -	Resumo da análise de variância para as variáveis taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR), concentração de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) nas folhas, clorofila <i>a</i> (Ca) e clorofila <i>b</i> (Cb) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação	180

1 INTRODUÇÃO

O capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Fedde) e o complexo formado pelas espécies de *Conyza* (*Conyza canadensis* (L.) Cronquist, *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker e *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist) estão entre as principais plantas daninhas presentes em áreas agrícolas do Brasil, principalmente em lavouras de cereais e oleaginosas. Essas espécies interferem direta e indiretamente nas culturas de interesse econômico, reduzindo a produtividade e qualidade do produto, além de aumentarem os custos de produção.

Suas características invasivas estão associadas a biologia da reprodução vegetal, em função da capacidade de produção de sementes, que são leves e pilosas, facilitando a dispersão para áreas adjacentes. Também possuem capacidade de germinar e se adaptar em diferentes condições ambientais. A partir da adoção do plantio direto e a introdução de culturas resistentes ao glyphosate houve a utilização contínua desse herbicida, que associado ao não uso das práticas de manejo integrado de plantas daninhas, selecionaram biótipos de capim-amargoso e buva resistentes, contribuindo ainda mais para a sua dispersão.

Como estratégias de manejo dessas plantas daninhas, recomendam-se práticas integradas de manejo. Entre essas práticas, destacam-se a rotação e mistura de herbicidas com diferentes mecanismos de ação, visando minimizar a pressão de seleção, evitar o surgimento de resistência e, conseqüentemente, prolongar a longevidade da eficácia dos herbicidas. Além disso, as misturas dos herbicidas podem ampliar o espectro de controle, além de reduzir o número de aplicações na área cultivada.

O controle de capim-amargoso e de buva normalmente é realizado com inibidores da enzima acetil-CoA carboxilase (ACCase) e com auxinas sintéticas (2,4-D), respectivamente, isolados ou associados ao glyphosate, mesmo em populações resistentes ao inibidor da enzima 5-enol-piruvil-shiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPS). Contudo, em situações de plantas adultas, a aplicação desses herbicidas nem sempre é suficiente. Equivocadamente, muitas vezes alguns produtores optam pelo aumento da dose dos herbicidas sistêmicos, superando a capacidade absorptiva pelas plantas, não resultando em eficiência satisfatória. Dessa forma, o controle de plantas adultas demanda a realização de aplicações sequenciais. Portanto, aplica-se primeiramente os herbicidas sistêmicos, e após uma a duas

semanas, normalmente se realiza a aplicação do inibidor do fotossistema I (FSI). Outra forma de melhorar o controle pode ser a partir da aplicação fracionada de doses de herbicidas.

No entanto, a prática de duas ou mais aplicações em sequência tem como desvantagem o rendimento operacional e a viabilidade econômica. A mistura de diquat aos herbicidas sistêmicos não é recomendada, pois geralmente resulta em antagonismo em função da rápida ação do diquat nas plantas, que conseqüentemente, dificulta a translocação do herbicida associado. O diquat necessita da ocorrência de luz para levar ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs); contudo, quando as plantas são tratadas sob alta intensidade luminosa a ação do herbicida pode ser limitada.

A adição do diuron (inibidor do fotossistema II - FSII) ao diquat pode evitar o dano imediato nas plantas, preservando os vasos condutores (floema) e o mesófilo nos pontos de contato da gota pulverizada e assim, permitir a mistura em tanque com um herbicida sistêmico. Outra forma de desacelerar o dano oxidativo causado pelo diquat é por meio da manipulação do horário de aplicação. Aplicações em horários com menor intensidade luminosa pode favorecer a ação dos herbicidas dependentes de luz em plantas adultas e evitar o antagonismo em misturas, evitando a rebrota das plantas. Por isso, a definição do período mínimo de ausência de luz após a aplicação do diquat pode contribuir na melhoria da eficiência de controle das plantas.

Diante do exposto, objetivou-se com este estudo identificar estratégias que auxiliem no controle de plantas de capim-amargoso e buva por meio do fracionamento de doses de herbicidas, misturas em tanque de herbicidas com diferentes mecanismos de ação e variação nos horários de aplicação dos herbicidas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 IMPORTÂNCIA DAS PLANTAS DANINHAS

O termo planta daninha é designado a plantas que ocorrem em locais indesejáveis. Também são popularmente conhecidas como erva daninha, inço, mato, mato-espécie, malerba, invasora, infestante e adventícia (PITELLI, 2015). Essas plantas surgiram e evoluíram a partir de fenômenos naturais e com o início da agricultura. Sua evolução é considerada um processo dinâmico, com as espécies se adaptando às diferentes condições ambientais e práticas culturais (CHRISTOFFOLETI; VICTORIA FILHO; SILVA, 1994).

Apesar de plantas cultivadas também serem caracterizadas como plantas daninhas em algumas situações, dependendo do local e período de ocorrência, globalmente 250 espécies são consideradas como plantas daninhas relevantes. Entre essas, 16 e 25% pertencem às famílias Asteraceae e Poaceae, respectivamente (HOLM et al., 1997; HEAP; DUKE, 2018). Em virtude da grande diversidade genética, as plantas daninhas podem crescer, desenvolver e adaptar-se a diferentes locais e situações de modo mais eficiente que as plantas cultivadas. Geralmente, as culturas agrícolas são selecionadas principalmente para o rendimento, em detrimento da capacidade competitiva por recursos essenciais (COBB; READE, 2010).

A magnitude de interferência entre as culturas e as plantas daninhas é dependente de fatores relacionados à cultura e à comunidade infestante (densidade, espécie ou cultivar, espaçamento e disposição na área), além do ambiente (solo, condições meteorológicas e tratos culturais) e período de convivência (época e duração) (VITORINO et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2019; ROSSET; GULDEN, 2019). A água, espaço físico, nutrientes e luz são recursos limitados no ecossistema comum pelo qual as plantas daninhas competem entre si (competição intraespecífica) e com as plantas cultivadas (competição interespecífica) (PITELLI, 2015). A competição pode resultar em maiores prejuízos quantitativos e qualitativos quando as espécies presentes na área são morfologicamente e fisiologicamente próximas e possuem exigências semelhantes para a sobrevivência, como o arroz-vermelho (*Oryza sativa* L.) em lavouras de arroz (*Oryza sativa* L.) (ZISKA et al., 2015).

Inúmeros são os problemas relatados em sistemas de cultivo em

virtude da ocorrência de plantas daninhas, como redução no rendimento das culturas e prejuízos na qualidade do produto final (NALINI et al., 2015; GONÇALVES et al., 2018), inibição da germinação e crescimento de plantas em função dos efeitos alelopáticos (SILVA et al., 2016) e aumento no custo de controle em até 222% no cultivo de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) na presença de biótipos resistentes de buva e capim-amargoso (ADEGAS et al., 2017). Além dos problemas citados, também pode ocorrer interferência indireta, dificultando as operações dos tratos culturais e colheita mecânica (PAGNONCELLI et al., 2017), além de servir como hospedeiras de pragas (DALAZEN et al., 2017), doenças e nematóides (GIRALDELI et al., 2017).

Apesar dos diversos aspectos indesejáveis das plantas daninhas, há atributos positivos a serem considerados, como a redução da erosão, retenção da umidade do solo (SCAVO; MAUROMICALE, 2020), fitorremediação, oferta de alimentos para pássaros, insetos e homem (*Amaranthus retroflexus* L. e *Sonchus oleraceus* L.) (BRIGHENTI; OLIVEIRA, 2011), além de servir como hospedeiras de inimigos naturais (EKWEALOR et al., 2019).

A habilidade competitiva das plantas daninhas está associada às características de germinação e dispersão das sementes. Espécies como picão-preto (*Bidens pilosa* L.) e fedegoso (*Cassia occidentalis* L.) germinam até 0,1 m abaixo da superfície do solo (YAMASHITA et al., 2005). Já a aveia-brava (*Avena fatua* L.) tem capacidade de germinar em profundidades de até 0,25 m (COBB; READE, 2010). Existem plantas capazes de originar de 600.000 a 1.000.000 de sementes (DAVIS et al., 2009; KASPARY et al., 2017), que são dispersas por animais, humanos, esterco, água, máquinas e implementos agrícolas (LOPEZ OVEJERO et al., 2017; LUCIO et al., 2019). A dispersão também ocorre por processos naturais, principalmente pelo vento em espécies adaptadas como buva e capim-amargoso (sementes leves e pilosas), lixiviação do solo e a deiscência explosiva de espécies como o leiteiro (*Euphorbia heterophylla* L.) e a mamona (*Ricinus communis* L.) (BRIGHENTI; OLIVEIRA, 2011).

Outras características invasivas e consideradas estratégias de sobrevivência que as sementes das plantas daninhas apresentam são longevidade e dormência, mesmo em condições desfavoráveis. Sementes das espécies ançarinha-branca (*Chenopodium album* L.) e botão-de-ouro (*Ranunculus repens* L.) se mantiveram viáveis após 20 anos enterradas no solo a 0,39 m de profundidade (LEWIS, 1973). As formas de propagação vegetativa de determinadas espécies por

meio de estolões (*Cynodon dactylon* (L.) Pers), rizomas (*D. insularis*), tubérculos (*Cyperus rotundus* L.) e bulbos (*Allium vineale* L.) aumentam a disseminação nas áreas cultivadas e dificultam o controle (COBB; READE, 2010).

O metabolismo fotossintético também interfere na agressividade das plantas daninhas. Plantas que apresentam via fotossintética C3 têm seu desenvolvimento ótimo em temperaturas até 25 °C, entretanto, o ponto de compensação de CO₂ é maior. Já as plantas C4, além de terem seu desenvolvimento ótimo em temperaturas mais altas (até 45 °C) e ponto de compensação de CO₂ menor, apresentam respiração reduzida e maiores índices de fixação de CO₂. Portanto, as características fisiológicas das C4, permitem maior competitividade com as plantas cultivadas (ELMORE; PAUL, 1983).

Além dos mecanismos de sobrevivência, as plantas daninhas também apresentam mecanismos de resistência ao controle químico. A resistência pode ocorrer devido à alteração da enzima alvo, por meio de mutações nos genes que as codificam ou pela maior produção da enzima alvo em decorrência da amplificação no número de cópias do gene ou da sua expressão. A resistência também pode não ser relacionada ao local de ação em função do incremento da metabolização, redução da absorção e/ou translocação, sequestro no vacúolo e necrose rápida das plantas (HEAP; DUKE, 2018; QUEIROZ et al., 2020).

O número de casos de plantas daninhas resistentes aumentou exponencialmente em todo o mundo, apresentando 502 casos (espécie x local de ação). Entre esses relatos, enquadram-se 263 espécies (111 monocotiledôneas e 152 dicotiledôneas) que apresentam resistência a 164 herbicidas. No Brasil, os primeiros registros foram em picão-preto (*B. pilosa*) e leiteiro (*E. heterophylla*) resistentes aos inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) em 1993. Desde então, totalizam 53 casos de resistência no país, com os maiores números de casos de biótipos resistentes encontrados no mecanismo de ação dos inibidores da ALS, EPSPS e ACCase (HEAP, 2021).

Os métodos utilizados para o controle de plantas daninhas incluem os preventivos, culturais, mecânicos, físicos, biológicos e químicos. A forma mais adequada para controlar as plantas daninhas é associar esses métodos de controle, caracterizado como manejo integrado, que visa garantir a sustentabilidade no sistema de cultivo (COBB; READE, 2010). Dificilmente algum produtor terá sucesso duradouro no controle de plantas daninhas se apenas um ou poucos métodos de controle forem

utilizados. Por outro lado, não há necessidade de erradicar totalmente as plantas daninhas do agroecossistema, mas controlá-las em níveis considerados aceitáveis do ponto de vista agrônomo, econômico e ambiental (SCAVO; MAUROMICALE, 2020). No entanto, essa afirmação pode ser reconsiderada em casos de infestações iniciais, principalmente quando se tratar de biótipos resistentes.

2.2 CAPIM-AMARGOSO

O capim-amargoso é uma planta daninha nativa das regiões tropicais e subtropicais do continente americano (GOMES et al., 2017). Ao longo de todo ano infestam áreas não agrícolas, culturas perenes, além de cereais e oleaginosas, como milho (*Zea mays* L.) e soja, principalmente no Brasil, Bolívia, Paraguai e Argentina (LOPEZ OVEJERO et al., 2017; PETERSON et al., 2018; SILVEIRA et al., 2018). Trata-se de uma espécie diplóide ($2n = 36$), perene, com metabolismo de fixação de carbono C4 e pertencente à família Poaceae (TAKANO et al., 2018). Morfologicamente, as plantas são identificadas pela presença de lígula subtriangular membranácea (KISSMANN; GROTH, 1997).

Sua reprodução pode ocorrer tanto por estruturas vegetativas subterrâneas (rizomas), quanto por sementes, com uma única planta podendo originar 40.000 sementes no ano (MACHADO et al., 2008; GEMELLI et al., 2012; TAKANO et al., 2020a). As sementes são leves e cobertas por pelos, o que facilita a dispersão pelo vento por longas distâncias. Também ocorre a dispersão por máquinas agrícolas, seres humanos, animais e água (GOMES et al., 2017; LOPEZ OVEJERO et al., 2017).

Uma vez dispersas, as sementes apresentam índices de germinação superiores a 80 e 90% quando expostas a temperaturas entre 15 e 30 °C (MARTINS; BARROSO; ALVES, 2017) e 15 e 35 °C, respectivamente (MONDO et al., 2010). Mendonça et al. (2014) observaram que a temperatura de 45 °C é letal às sementes e que 35 °C associado à luminosidade é considerada a condição ideal para a germinação das sementes de capim-amargoso. Na ausência de luz, as sementes também germinam, no entanto, o índice de germinação é inferior a 70% (MARTINS; BARROSO; ALVES, 2017). Outro aspecto favorável a germinação é a exposição das sementes a ciclos de hidratação-desidratação que aumenta em 44% seu índice em comparação a hidratação contínua, sugerindo essa condição para efeito de quebra de

dormência (OREJA; DE LA FUENTE; FERNANDEZ-DUVIVIER, 2017).

Após a emergência, a taxa de crescimento é considerada lenta até os 45 dias, quando ocorre a formação dos primeiros rizomas, a partir desse período seguido do incremento exponencial de matéria seca de raízes + rizomas, colmo e área foliar até os 105 dias (MACHADO et al., 2006). Os rizomas são estruturas que acumulam amido, auxiliam na dispersão das plantas, dificultam a translocação de herbicidas, além de permitirem a rebrota da parte aérea após sua aplicação (MACHADO et al., 2008).

Plantas oriundas de rizomas apresentam maior espessura da epiderme da superfície adaxial e abaxial e maior espessura da lâmina foliar em relação às oriundas de sementes, o que dificulta a penetração dos herbicidas. (MACHADO et al., 2008). Além disso, plantas perenizadas apresentam mais perfilhos e maior lignificação dos tecidos vegetais interferindo na captação, absorção e translocação dos herbicidas (GILO et al., 2016; ZOBIOLE et al., 2016; FADIN et al., 2018). Dessa forma, recomenda-se o controle do capim-amargoso antes da formação dos rizomas (MACHADO et al., 2006; GAZOLA et al., 2019a).

O comportamento invasivo dessa espécie interfere diretamente no rendimento das culturas, com destaque para a competição pelos macronutrientes nitrogênio e potássio, considerados os nutrientes mais exigidos pelas plantas (CARVALHO; BIANCO; BIANCO, 2013). A ocorrência de duas e seis plantas de capim-amargoso por m² reduz até 375 e 1300 kg ha⁻¹ de soja, respectivamente. No entanto, quando há competição de touceiras pode resultar em redução de 2000 kg ha⁻¹ no rendimento de grãos de soja (cerca de 80%) na presença de 10 touceiras m⁻² (GAZZIERO et al., 2019). Gemelli et al. (2013) verificou perdas de 1692 kg ha⁻¹ no rendimento de grãos do milho segunda safra (36%) com a infestação de 10 plantas de capim-amargoso m⁻² remanescentes do cultivo da soja.

A pressão de seleção exercida pelo uso contínuo de glyphosate nas lavouras após a adoção de cultivares geneticamente modificadas Roundup Ready® (RR) resultou em aumento de plantas daninhas resistentes, incluindo o capim-amargoso (HEAP; DUKE, 2018; SILVEIRA et al., 2018), elevando os custos de produção de soja em até 165% na presença de biótipos resistentes (ADEGAS et al., 2017). As práticas agronômicas adotadas nas propriedades agrícolas, como a ausência de rotação de culturas e a regulação e calibração inadequada dos pulverizadores também contribuem para a resistência (COSTA et al., 2018).

O primeiro registro de resistência dessa espécie ao glyphosate foi relatado em 2005 no Paraguai. Desde então, foram relatados biótipos resistentes em outros países, como o Brasil e Argentina, em 2008 e 2014, respectivamente (HEAP, 2021). O transporte de máquinas e implementos agrícolas, a dispersão pelo vento (LOPEZ OVEJERO et al., 2017), além das seleções independentes e o fluxo de genes auxiliam a disseminação da resistência nos países sul-americanos (TAKANO et al., 2018).

Diversos estudos comprovaram a resistência de capim-amargoso ao glyphosate no Brasil (CARVALHO et al., 2012; BARROSO et al., 2015; LOPEZ OVEJERO et al., 2017; COSTA et al., 2018; TAKANO et al., 2018; GAZOLA et al., 2019b). Os mecanismos envolvidos na resistência dos biótipos brasileiros estão relacionados à redução da absorção e translocação do glyphosate, metabolização do herbicida em ácido aminometilfosfônico (AMPA), glioxilato e sarcosina e mutação com a substituição dos aminoácidos prolina por treonina e tirosina por cisteína, localizados nas posições 182 e 310 na enzima EPSPS, respectivamente (CARVALHO et al., 2012).

Para o controle químico dessas plantas resistentes frequentemente são aplicados os herbicidas inibidores da ACCase de forma isolada, associada ou em aplicações sequenciais (TAKANO et al., 2020b). No entanto, biótipos resistentes aos herbicidas haloxyfop-P-methyl e fenoxaprop-P-ethyl foram relatados na região Centro-Oeste do Brasil em 2016, infestando lavouras de soja (HEAP, 2021).

Além dessa resistência isolada, em uma população de capim-amargoso do Brasil, foi confirmada a resistência cruzada aos grupos químicos ariloxifenoxipropanoatos (FOPs) e fenilpirazolinás (DENs). Esse mecanismo de resistência está relacionado à mutação na sequência do DNA na posição 2027 do gene ACCase, com substituição do aminoácido triptofano por cisteína afetando a interação entre os herbicidas haloxyfop-P-methyl e pinoxaden e a enzima ACCase. Contudo, mesmo com essa substituição, as plantas permanecem sensíveis aos herbicidas ciclohexanodionás (DIMs), tais como clethodim, tepraloxymim e sethoxydim. Além disso, nessas populações com resistência aos FOPs e DENs, as plantas são sensíveis ao glyphosate (TAKANO et al., 2020a).

No entanto, as aplicações sucessivas de glyphosate e dos herbicidas inibidores da ACCase, haloxyfop-P-methyl e fenoxaprop-P-ethyl, resultaram na evolução da resistência múltipla para esses mecanismos de ação (HEAP, 2021).

Portanto, diversificar o controle de capim-amargoso faz-se necessário, a fim de evitar a seleção de biótipos resistentes e prolongar a vida útil dos graminicidas nas lavouras (LOPEZ OVEJERO et al., 2017).

Outros mecanismos de ação, dependendo da modalidade de aplicação (pré ou pós-emergente), podem apresentar eficácia no controle dessas plantas. Dentre os pré-emergentes, destacam-se os inibidores do FSII, da ALS, da síntese de carotenoides, da divisão celular (polimerização de tubulina e ácidos graxos de cadeia longa (AGCL)) e da enzima protoporfirinogênio oxidase (PROTOX) (GAZOLA et al., 2016; ADEGAS et al., 2017). Em pós-emergência, os principais herbicidas alternativos aos inibidores da ACCase e glyphosate são os inibidores do FSI (ANDREOTTI et al., 2019) e os inibidores da glutamina sintetase (GS) (SILVA et al., 2017).

Quando as plantas de capim-amargoso estão em estágio de desenvolvimento avançado são necessárias aplicações sequenciais, seja com outro graminicida ou um herbicida de contato, como os FSI, e/ou realizar associações de herbicidas para aumentar o controle (CORREIA; DURIGAN, 2009; GILO et al., 2016; ANDREOTTI et al., 2019). Nas plantas perenizadas em pleno florescimento, a aplicação única de graminicidas, como haloxyfop-P-methyl, quizalofop-P-tefuryl, fluazifop-P-butyl e clethodim, mesmo em mistura com glyphosate, não resultou em controle satisfatório, com valores inferiores a 80%. Já nas aplicações sequenciais de clethodim + glyphosate (240 + 1520 g i.a. ha⁻¹) houve controle satisfatório (> 80%) (ZOBIOLE et al., 2016). Esses autores observaram que não há necessidade de aplicar altas doses em aplicações sequenciais, pois o aumento da dose de haloxyfop-P-methyl (186 g i.a. ha⁻¹) e clethodim (360 g i.a. ha⁻¹) na primeira aplicação não potencializou o controle, em comparação aos tratamentos com 100 e 192 g i.a. ha⁻¹, respectivamente.

Outras estratégias podem ser adotadas para manejar o capim-amargoso, como o uso de plantas de cobertura associadas à rotação e mistura de herbicidas com diferentes mecanismos de ação. Em programas de rotação com cinco mecanismos de ação de herbicidas associado ao cultivo de braquiária solteira ou consorciada com milho no inverno houve incremento de 21 e 27%, respectivamente, no controle de plantas de capim-amargoso, em comparação ao cultivo de milho solteiro (MAROCHI et al., 2018). Em áreas com capim-amargoso, o controle mecânico por meio da roçada pode substituir uma aplicação de herbicida durante o cultivo da

soja (RAIMONDI et al., 2020). No entanto, após a roçada, os resultados de controle são maiores quando realizada em rebrotes menores (< 15 cm), pois se o rebrote for maior que 15 cm faz-se necessário associar até duas aplicações sequenciais de glyphosate + clethodim (108 + 1080 g i.a. ha⁻¹) para proporcionar controle satisfatório (80%) e evitar rebrota das plantas (RAIMONDI et al., 2019).

2.3 BUVA

A buva é uma planta daninha do gênero *Conyza*, cujas espécies que mais se destacam são *C. canadensis*, *C. sumatrensis* e *C. bonariensis* (AMARO-BLANCO et al., 2018; ANAGNOSTOPOULOS et al., 2020). A *C. canadensis* é nativa da América do Norte (KUMAR; JHA; JHALA, 2017), enquanto *C. sumatrensis* e *C. bonariensis* são da América do Sul (THEBAUD; ABBOTT, 1995; DALAZEN et al., 2020).

Ao longo do ano infestam áreas não agrícolas e os sistemas de cultivo de culturas perenes e anuais ao redor do mundo (TOZZI et al., 2014; HUANG et al., 2015). No Brasil ocorre em todas as regiões, principalmente no Sul, Sudeste e Centro-Oeste do país, com estimativa de infestação de 49% das áreas cultivadas com soja, o que corresponde a aproximadamente 16.207.463 ha (LUCIO et al., 2019).

A *C. bonariensis* é caracterizada por ser alohexaplóide ($2n = 6x = 54$) (PAULA; PINTO-MAGLIO, 2015), perene ou anual (DALAZEN et al., 2020), com metabolismo de fixação de carbono C₃ e pertencente à família Asteraceae (PARTELLI et al., 2010; LOURA et al., 2020).

Geralmente, as margens das folhas são utilizadas para diferenciar as espécies do gênero *Conyza*. Dessa forma, as plantas de *C. bonariensis* são identificadas pela presença da margem foliar não serrilhada (LORENZI, 2014). No entanto, diferenças morfológicas foram observadas entre plantas dessa espécie, com destaque para as folhas de um dos biótipos que não se enquadraram nessa classificação, apresentando folhas serrilhadas (PAULA; PINTO-MAGLIO; PINTO, 2017). Esses autores indicaram a possibilidade dos fenótipos apresentarem padrões de diferenciação independentes, o que pode permitir maior sobrevivência, adaptação e, conseqüentemente, dificultar a identificação da espécie.

Sua reprodução ocorre por sementes, que apresentam 95% das flores

autopolinizadas (BAJWA et al., 2016), com uma única planta podendo originar 600.000 sementes (KASPARY et al., 2017). O agrupamento das sementes (aquênios) providos de papus formam os capítulos (SAVAGE; BORGER; RENTON, 2014; BRAZ et al., 2017; OTTAVINI et al., 2019). A dispersão dos aquênios ocorre por meio do transporte de máquinas agrícolas, seres humanos, animais, água e principalmente pelo vento (WANG et al., 2018; LUCIO et al., 2019). Dependendo das condições meteorológicas, como umidade relativa do ar (UR), orientação e velocidade do vento, a dispersão pode ocorrer a distâncias superiores a 180 km da planta mãe, com no mínimo uma deposição por ha (SAVAGE; BORGER; RENTON, 2014; LIU; QI; WANG, 2018).

Uma vez dispersas, as sementes apresentam índices de germinação superiores a 99% quando expostas a períodos intercalados de luz/escuro (12 h fotoperíodo) e temperaturas entre 15 e 25 °C (LOURA et al., 2020), e 95% entre 20 e 30 °C (VALENCIA-GREDILLA et al., 2020). Em temperatura constante de 35 °C as sementes não germinam, e a 20 °C associado a períodos de luz/escuro é considerada a condição ideal para a germinação das sementes de *C. bonariensis* (LOURA et al., 2020; VALENCIA-GREDILLA et al., 2020). Na ausência de luz, as sementes também germinam, no entanto, o índice é inferior a 65% (20-30 °C) (LOURA et al., 2020). Esses autores observaram que na profundidade de semeadura superior a 0,01 m não ocorreu germinação.

Outro fator determinante para germinação de buva é a presença de umidade na superfície do solo, resultando em estímulo na emergência quando permanecer por quatro dias acima do ponto de murcha permanente, por permitir a embebição das sementes (WERTH et al., 2017). No entanto, essa espécie é tolerante aos estresses hídricos e salinos, germinando em condições de potenciais osmóticos de -0,6 MPa e concentrações de 2×10^5 μmol de cloreto de sódio (LOURA et al., 2020).

Em estudo sobre a semeadura de *C. bonariensis* realizada em setembro na região Sul e Sudeste do Brasil, observou-se taxa de crescimento lenta até os 40 dias após a emergência, apresentando a formação dos primeiros brotos laterais a partir desse período. O florescimento ocorre aos 90-100 dias com incremento exponencial de matéria seca total de plantas até os 110 dias (SOARES et al., 2017). Embora em determinados períodos do ano não seja possível verificar diferenças no comprimento e diâmetro de linhagens de buva acima do solo, a idade e

o sistema radicular, que por sua vez atingem profundidades superiores a 0,35 m, podem diferir dentro do mesmo estágio de desenvolvimento (WU et al., 2007).

O conhecimento da biologia e desenvolvimento das plantas é fundamental sob o ponto de vista de controle. Plantas em estágio de crescimento avançado apresentam maior espessura da cutícula e lignificação dos tecidos vegetais interferindo na absorção, translocação e capacidade de metabolização dos herbicidas (KOGER, REDDY, 2005). Dessa forma, recomenda-se o controle de buva antes da formação de roseta ou até o estágio de oito folhas (DENNIS et al., 2016). No entanto, também deve-se atentar à idade (30 a 60 dias) (WALKER et al., 2012) e altura ($\leq 0,10$ m) das plantas antes da aplicação, pois influenciam na resposta dos herbicidas (MORETTI et al., 2015; MCCAULEY; YOUNG, 2019).

O comportamento invasivo dessa espécie interfere diretamente no rendimento das culturas. A ocorrência de 1 e 13 plantas de buva por m^2 reduz em até 397 e 1000 $kg\ ha^{-1}$ no rendimento de grãos de soja, respectivamente (TREZZI et al., 2013; AGOSTINETTO; SILVA; VARGAS, 2017). Ford et al. (2014) verificaram perdas de 7440 $kg\ ha^{-1}$ no rendimento de grãos de milho (92%) com a infestação de 262 plantas de buva por m^2 .

O uso contínuo do herbicida glyphosate causou pressão de seleção e favoreceu a ocorrência de plantas daninhas de buva resistentes (HEAP; DUKE, 2018), elevando os custos de controle em até 42% (ADEGAS et al., 2017). O primeiro registro de resistência de *C. bonariensis* a herbicidas foi relatado em 1987 na Espanha, para simazine. Já para glyphosate, foi documentada a resistência pela primeira vez em 2003 na África do Sul. Desde então, foram confirmados biótipos resistentes ao glyphosate em outros países, como o Brasil e Colômbia, em 2005 e 2006, respectivamente. Há relatos de resistência isolada dessa espécie ao redor do mundo para glyphosate, paraquat, simazine e chlorsulfuron; resistência cruzada para diquat e paraquat, além de atrazine e simazine e resistência múltipla a glyphosate e paraquat (HEAP, 2021).

No Brasil há diversos estudos que comprovam a resistência de *C. bonariensis* somente ao glyphosate (MOREIRA et al., 2007; VARGAS et al., 2007; LAMEGO; VIDAL, 2008; TREZZI et al., 2011). Os mecanismos envolvidos na resistência de biótipos brasileiros a esse herbicida estão relacionados à redução da translocação nas plantas (FERREIRA et al., 2008) e sequestro do herbicida no vacúolo celular (SCHNEIDER, 2018).

Nas espécies de *C. canadensis* e *C. sumatrensis*, também foram identificadas resistências isoladas, cruzadas e múltiplas (ZHENG et al., 2011; KUMAR; JHA; JHALA, 2017; PALMA-BAUTISTA et al., 2018; PINHO et al., 2019; ZOBIOLE et al., 2019; ALBRECHT et al., 2020; HEAP, 2020; QUEIROZ et al., 2020). No Paraná, recentemente foi registrado o primeiro caso de *C. sumatrensis* resistente a cinco herbicidas com diferentes mecanismos de ação (2,4-D, paraquat, glyphosate, saflufenacil e diuron) (PINHO et al., 2019).

O transporte de máquinas e implementos agrícolas, lotes de sementes contaminados com sementes de plantas daninhas, a dispersão pelo vento, além da hibridação entre as espécies de *Coryza* auxiliam a disseminação da resistência para diferentes regiões geográficas (MICHAEL; OWEN; POWLES et al., 2010; SOARES et al., 2015; LUCIO et al., 2019). Portanto, medidas que evitem essas formas de dispersão devem ser constantemente adotadas pelos produtores.

A diversificação dos mecanismos de ação no controle de buva faz-se necessária a fim de retardar a evolução da resistência. Diferentes mecanismos de ação pré ou pós-emergentes são recomendados, tais como inibidores do FSI e FSII, mimetizadores de auxina, ALS, PROTOX, inibidores da síntese de carotenoides e da GS (MAHONEY et al., 2017; MONTGOMERY et al., 2017; CESCO et al., 2019).

Quando as plantas de buva estão em estágio de desenvolvimento avançado (20 folhas), são necessárias aplicações sequenciais, seja com herbicida sistêmico ou de contato (CESCO et al., 2019), e/ou realizar associações de herbicidas para potencializar o controle e minimizar a incidência de rebrote (DALAZEN et al., 2015). Nas plantas acima de 0,15 m e com 15 a 20 folhas, a aplicação única do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), chlorimuron-ethyl e cloransulam-methyl, mesmo em mistura com glyphosate, não resultou em controle satisfatório, com valores inferiores a 80% e rebrota acima de 90% das plantas tratadas. Já nas aplicações sequenciais de saflufenacil isolado ou associado ao glyphosate, e paraquat isolado ou associado ao diuron, houve controle satisfatório (> 80%) (CESCO et al., 2019).

Herbicidas de ação rápida, como diquat e glufosinato de amônio, também podem apresentar controle satisfatório de buva. No entanto, a aplicação deve ser preferencialmente realizada em plantas pequenas (TAHMASEBI et al., 2018a). Associar herbicidas inibidores do FSI e FSII pode potencializar a ação em plantas maiores, dependendo das condições meteorológicas no momento da aplicação (NORSWORTHY; SMITH; GRIFFITH, 2011).

Outra alternativa para manejar a buva é realizar a semeadura de culturas de cobertura (LOURA et al., 2020) associada à rotação e mistura de herbicidas com diferentes mecanismos de ação (ZAMBRANO-NAVEA; BASTIDA; GONZALEZ-ANDUJAR, 2016; MAROCHI et al., 2018).

2.4 CONTROLE QUÍMICO

Herbicidas são compostos químicos utilizados para controlar as plantas daninhas. De acordo com a concentração empregada, podem inibir os processos fisiológicos e bioquímicos essenciais para o desenvolvimento das plantas. Os primeiros relatos da prática do controle químico ocorreram no início do século XX, a partir de aplicações de sulfato de cobre e ácido sulfúrico em plantas daninhas, como a mostarda-dos-campos (*Sinapis arvensis* L.), em lavouras de cereais (COBB; READE, 2010). No entanto, foi durante a década de 1940 que introduziram no mercado os primeiros herbicidas sintéticos seletivos, primeiramente o 2,4-D (KIRBY, 1980).

O Brasil está entre os maiores consumidores de agroquímicos (herbicidas, inseticidas, fungicidas, reguladores de crescimento, desfolhantes, fumigantes e raticidas) do mundo, utilizando anualmente 540 mil toneladas, o qual representa 10,522 bilhões de dólares, aproximadamente 21% da comercialização global. Isso ocorre em razão da grande área cultivada no Brasil, que além de ser um dos países mais populosos do mundo, é um dos maiores exportadores de alimentos, fibras e celulose (CONAB, 2020; IBGE, 2020). Os herbicidas representam a maior parcela entre as classes de agroquímicos no país, cerca de 33% (IBAMA, 2018; SINDIVEG, 2018). Em média utiliza-se 7,4 e 17,7 L de agroquímicos por ha em sistemas de cultivo de milho e soja no território nacional, respectivamente (PIGNATI et al., 2017).

Os herbicidas podem ser classificados quanto ao local e época de aplicação (pré-plantio incorporado, pré e pós-emergentes); seletividade para as culturas (seletivos e não seletivos); mobilidade nas plantas (sistêmicos ou de contato); propriedades físico-químicas; grupos químicos e mecanismos de ação (OLIVEIRA JR, 2011a).

Segundo o autor, mecanismo de ação é a primeira reação bioquímica

ou biofísica promovida pelo herbicida no metabolismo das plantas. Atualmente, são registrados 27 locais de ação diferentes em que os herbicidas podem atuar (HEAP, 2021), com destaque para 11 mecanismos considerados os mais utilizados (EPSPS, mimetizadores de auxina, ACCase, FSI, FSII, ALS, PROTOX, GS, polimerização de tubulina, biossíntese de carotenoides e síntese de AGCL).

2.4.1 Inibidores da Enzima EPSPS

Os herbicidas inibidores da EPSPS pertencem ao grupo G e são representados pelo glyphosate (N- fosfometil glicina). O primeiro registro de uma formulação comercial (Roundup™) ocorreu em 1974, sendo industrializado pela empresa norte americana Monsanto (DUKE; POWLES, 2008). A enzima EPSPS está presente na rota metabólica do ácido shiquímico atuando como catalisadora da reação do shiquimato-3-fosfato- (S3P) e fosfoenolpiruvato (PEP), a qual resulta em síntese dos aminoácidos aromáticos triptofano, fenilalanina e tirosina (SHANER; BRIDGES, 2003). Na presença de glyphosate, a reação é interrompida em função da molécula se ligar à enzima EPSPS, cujo local deveria ser ocupado pelo PEP. Em função da interrupção da reação também ocorre o acúmulo do shiquimato, que pode desencadear efeitos secundários, como a inibição da síntese de clorofilas e prejuízos na formação de lignina, alcaloides e antocianinas (KRUSE; TREZZI; VIDAL, 2000). O glyphosate também pode tornar indisponível macro e micronutrientes (formação de complexos insolúveis) para as culturas (ZOBIOLE et al., 2010). Os sintomas normalmente são evidentes após 10 ou mais dias da aplicação, ocorrendo clorose dos tecidos vegetais, seguido de necrose, caracterizando a mortalidade das plantas tratadas.

O glyphosate é um herbicida pertencente ao grupo das glicinas, classificado como não seletivo e aplicado em pós-emergência das plantas daninhas mono e eudicotiledôneas (anuais e perenes) (DUKE; POWLES, 2008). É caracterizado como ácido fraco e absorvido pelos tecidos verdes das plantas, principalmente pelas folhas. No entanto, de acordo com suas propriedades físico-químicas, como o coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow} = -2,76$) e constante de dissociação eletrolítica ($pK_a = 5,6$), a absorção foliar ocorre de forma lenta devido a menor afinidade com a cutícula apolar das folhas de plantas daninhas (BROMILOW;

CHAMBERLAIN; EVANS, 1990; SHANER, 2014; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Sua eficiência é potencializada quando aplicado com pontas que produzem espectro de gotas médias/grossas em taxas de aplicação de 70 e 94 L ha⁻¹ (CREECH et al., 2015). Menores taxas de aplicação (< 100 L ha⁻¹), desde que na mesma dose, concentram mais o ingrediente ativo nas gotas e reduzem o pH da calda de pulverização, facilitando a penetração cuticular desse herbicida, uma vez que sua polaridade é reduzida em pH ácido, o que é recomendado nas aplicações de glyphosate (CARVALHO et al., 2009). O glyphosate possui ação sistêmica, com translocação para os meristemas preferencialmente via floema. Não tem atividade residual no solo em função de seus compostos serem adsorvidos aos colóides, cuja imobilização é influenciada por minerais, argila e matéria orgânica (BAI; OGBOURNE, 2016; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Por não ser seletivo, o glyphosate fora utilizado no início apenas para a dessecação pré-semeadura das culturas (CUHRA; BØNH; CUHRA, 2016). Após a aprovação dos organismos geneticamente modificados com resistência ao glyphosate nos Estados Unidos e Brasil, em 1996 e 1998, respectivamente, possibilitou o uso em pós-emergência nas culturas que apresentam o gene insensível ao herbicida (DUKE, 2015). Dessa forma, aumentou seu uso no mundo, que em 1995 era de 670 mil toneladas e em 2014 passou de 8260 mil toneladas (BENBROOK, 2016).

Atualmente, mais de 90% das lavouras de soja no território sul-americano utilizam cultivares resistentes ao glyphosate, o que favorece o uso contínuo dessa molécula (PETERSON et al., 2018). No entanto, o uso excessivo e de forma inadequada resultou em pressão de seleção das plantas daninhas, selecionando biótipos resistentes (HEAP; DUKE, 2018). O primeiro registro de resistência ao glyphosate foi relatado na Austrália (1996) em azevém (*Lolium rigidum* Gaud.) (HEAP, 2021).

No Brasil existem 11 espécies resistentes a esse herbicida, com azevém (*Lolium multiflorum* L.) sendo a primeira planta daninha documentada em 2003, seguida de duas espécies de buva (*C. canadensis* e *C. bonariensis*, ambas em 2005, capim-amargoso (*D. insularis*) (2008), buva (*C. sumatrensis*) (2010), capim-branco (*Chloris elata* Desv.) (2014), caruru (*Amaranthus palmeri* (S.) Wats) (2015), capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica* (L.) Gaertn) (2016), caruru-roxo (*Amaranthus hybridus* L.) (2018), leiteiro (*E. heterophylla*) (2020) e capim-arroz (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv) (2020) (HEAP, 2021).

Já as espécies corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia* (Dammer) O'Donnell; *Ipomoea indivisa* (Vell.) Hallier f. e *Ipomoea purpurea* (L.) Roth), trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.), poaia-branca (*Richardia brasiliensis* Gomes), erva-queente (*Spermacoce latifolia* Aubl.) e vassourinha-de-botão (*Spermacoce verticillata* L.) são naturalmente tolerantes ao glyphosate (DIAS; CARVALHO; CHRISTOFFOLETI, 2013; PAZUCH et al., 2017; KALSING et al., 2020).

São comercializadas diferentes formulações de glyphosate, que variam quanto a concentração de equivalente ácido, adjuvantes e tipos de sais. Atualmente há aproximadamente 750 produtos comerciais à base desse ingrediente ativo (CUHRA; BØNH; CUHRA, 2016). O sal não tem propriedade herbicida, no entanto, é adicionado a fim de aumentar a solubilidade da molécula de glyphosate (SHANER; BRIDGES, 2003). Os principais sais utilizados são isopropilamina, potássio, monoamônio, diamônio, sesquisódio e trimetilsulfônio (TRAVLOS; CHEIMONA; BILALIS, 2017).

Essas variações nas formulações podem interferir nos processos de absorção e translocação (MESCHÉDE et al., 2015), e culminarem em alterações no controle de acordo com o estágio de desenvolvimento e espécie de planta daninha. Barroso et al. (2014), avaliando o controle de plantas de capim-amargoso em dois estádios de desenvolvimento (3-4 folhas e 4 perfilhos) expostas às diferentes formulações de glyphosate, observaram que no menor estágio de aplicação a formulação com sal de isopropilamina resultou em 99% de controle, sendo superior em 30,5 e 28% ao sal de amônio e sal de potássio, respectivamente. Contudo, os resultados foram inferiores no estágio mais desenvolvido, com o sal de amônio apresentando o menor controle (35%), seguido do sal de isopropilamina (48%) e sal de potássio (69%).

Geralmente, nos ingredientes inertes das formulações de glyphosate contêm surfactantes na sua composição, que embora não compõem o ingrediente ativo, podem aumentar o período de evaporação, espalhamento e retenção das gotas na superfície dos alvos (HILZ; VERMEER, 2013; CUNHA et al., 2017). A adição de adjuvante ao glyphosate pode alterar as propriedades físico-químicas da calda herbicida, como a redução da tensão superficial e pH (CUNHA et al., 2017; CASTRO et al., 2018). No entanto, adicionar mais adjuvante nessas formulações nem sempre potencializa a ação do glyphosate. Em estudo avaliando o efeito da adição de adjuvantes ao glyphosate sal de isopropilamina (720 g e.a. ha⁻¹) aplicados com

diferentes pontas de pulverização em buva, não houve incremento no controle quando foram associados, resultando em índices inferiores a 60% (ESPÍRITO SANTO et al., 2017). Em plantas de capim-amargoso também não foi observada melhoria na eficiência de controle quando adicionados adjuvantes em diferentes formulações de glyphosate (sal de isopropilamina, sal de potássio e sal de amônia) aplicadas na dose de 1080 g e.a. ha⁻¹ (DAN et al., 2010).

2.4.2 Mimetizadores de Auxina

Os herbicidas mimetizadores de auxinas pertencem ao grupo O e são representados pelos grupos químicos dos seguintes ácidos: benzóico (dicamba); fenóxicarboxílico (2,4-D); piridinacarboxílico (fluroxipir-metil; picloran e triclopir); quinolinocarboxílico (quincloraque e quinmerac); pirimidinacarboxílico (aminociclopiracloro) e arilpicolinato (halauxifen-metil) (CHRISTOFFOLETI et al., 2015; EPP et al., 2016). O 2,4-D revolucionou o controle químico das plantas daninhas, por ser a primeira substância orgânica sintetizada pela indústria e comercializada a partir da década de 1940, como herbicida seletivo (DO-THANH et al., 2016).

Os herbicidas mimetizadores de auxinas imitam os efeitos das auxinas naturais. Possuem estruturas semelhantes ao ácido indol-3-acético (AIA), um hormônio natural das plantas, caracterizado por ser um regulador endógeno que atua na divisão, expansão e diferenciação celular. A auxina tem influência nos processos vitais das plantas, como dominância apical, floração, frutificação, abscisão das folhas e senescência. Suas concentrações nos tecidos vegetais são reguladas por meio da biossíntese e degradação desse fitohormônio. No entanto, quando aplicados os herbicidas, como o 2,4-D, as concentrações de auxinas no interior das plantas são elevadas ao ponto de desregular o balanço hormonal e desencadearem uma cascata de eventos fisiológicos (COBB; READE, 2010).

Após a aplicação, as auxinas sintéticas se ligam aos receptores, como as proteínas *auxin binding protein 1* (ABP1), *transport inhibitor response 1* (TIR1) e *s-phase kinase associated protein 2* (SKP2), antes de desencadearem os distúrbios fisiológicos nas plantas. Esses receptores possuem diferentes localizações subcelulares e atuam de forma específica, diferindo entre os herbicidas mimetizadores

de auxina, quanto à afinidade de ligação com a proteína receptora (GRONES; FRIML, 2015).

O 2,4-D tem maior afinidade de se acoplar na proteína TIR1, que por sua vez estimula a síntese do ácido abscísico e a produção de etileno, resultando em interferências na divisão e alongação celular, assim como em formação de EROs. A formação de EROs danifica as membranas celulares, levando à morte das células (GROSSMANN, 2010). Também ocorrem interferências nos hormônios das plantas tratadas, como giberelina e citocinina (COBB; READE, 2010). Os sintomas normalmente são evidentes após três ou mais dias da aplicação, ocorrendo entumescimento dos tecidos, epinastia dos pecíolos, clorose e necrose das folhas e caules, podendo desencadear a mortalidade (GROSSMANN, 2010; OLIVEIRA et al., 2019).

O 2,4-D é um herbicida classificado como seletivo e aplicado em pós-emergência das plantas daninhas eudicotiledôneas (anuais e perenes) (DO-THANH et al., 2016). A seletividade em monocotiledôneas se dá devido a organização dos feixes vasculares. Nas plantas eudicotiledôneas, os tecidos vasculares são formados em anéis e apresentam câmbio, enquanto os tecidos vasculares das monocotiledôneas estão distribuídos em feixes, sem câmbio, limitando a translocação dos herbicidas. Além disso, é comum em culturas tolerantes a ocorrência de metabolização rápida das auxinas exógenas (SONG, 2014).

É caracterizado como ácido fraco e absorvido pelas raízes e tecidos verdes das plantas, principalmente pelas folhas. No entanto, de acordo com suas propriedades físico-químicas, como o $\log K_{ow} = -0,48$ e $pKa = 2,80$, a absorção foliar ocorre de forma lenta devido a menor afinidade com a cutícula apolar das folhas de plantas daninhas (BROMILOW; CHAMBERLAIN; EVANS, 1990; SHANER, 2014; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

A eficiência do 2,4-D é potencializada quando aplicado em taxas de aplicação de 94 L ha^{-1} (CREECH et al., 2015) e em caldas de pulverização levemente ácidas, facilitando a penetração cuticular devido a não dissociação das moléculas (COBB; READE, 2010). Devkota e Johnson (2019) observaram que o herbicida 2,4-D sal de colina ($0,456 \text{ kg e.a. L}^{-1}$) em pH 4,0 aumentou 10,5% o controle de *C. canadensis* em comparação com o pH 6,5.

Esse herbicida possui ação sistêmica, com translocação para os meristemas via floema quando absorvidos pelas folhas, sendo também translocado

para a parte aérea das plantas via xilema quando absorvidos pelas raízes (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Apresenta atividade residual no solo limitada, com variações no período de meia-vida, podendo persistir de uma a quatro semanas (OSIPE; OSIPE, 2015), de acordo com as condições meteorológicas e características do solo, como textura, minerais, argila e matéria orgânica (BAUMGARTNER et al., 2017).

O 2,4-D é considerado o segundo herbicida mais utilizado no Brasil, com cerca de 57,4 mil toneladas ano⁻¹ (IBAMA, 2016). Após a descoberta no final da década de 1980 de genes de bactérias encontradas no solo que realizavam a detoxificação de 2,4-D via metabolização, determinando a seletividade desse herbicida em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) (LYON et al., 1989), houve o melhor entendimento da forma de degradação do 2,4-D, o que possibilitou o desenvolvimento de outras espécies tolerantes (QUEIROZ; VIDAL, 2014). Dessa forma, organismos geneticamente modificados para a tolerância a 2,4-D, como soja e algodão (*Gossypium hirsutum* L.), foram aprovados em determinados países, como Estados Unidos e Brasil (ALVES et al., 2017).

A adoção dessas cultivares permitirá a aplicação de 2,4-D em pós-emergência das culturas, o que pode aumentar seu uso (PETERSON et al., 2015), resultar em pressão de seleção de plantas daninhas e selecionar biótipos resistentes, quando utilizados de forma inadequada (MCCOULEY; YOUNG, 2019). Além desses fatores, esse herbicida deixará de ser alternativa no controle de plantas voluntárias (soja e algodão) que apresentarem o gene insensível a molécula (ZOBIOLE; AUGUSTO, 2017).

Os primeiros registros de resistência ao 2,4-D foram relatados nos Estados Unidos em uma espécie de trapoeraba (*Commelina diffusa* Burm. f.) e no Canadá em cenoura selvagem (*Daucus carota* L.), ambos em 1957. No Brasil existe somente uma espécie (*C. sumatrensis*) resistente ao herbicida, sendo documentada em 2017, com resistência a mais quatro mecanismos de ação, tais como inibidores da EPSPS (glyphosate), inibidores da PROTOX (saflufenacil) e inibidores do FSI (paraquat) e FSII (diuron) (HEAP, 2021). As espécies das famílias Solanaceae, Lamiaceae e Polygonaceae são naturalmente mais tolerantes ao 2,4-D, enquanto Asteraceae e Convolvulaceae tem mais sensibilidade (PETERSON et al., 2015).

São comercializadas diferentes formulações de 2,4-D, que variam quanto a concentração de equivalente ácido, adjuvantes e tipos de sais. Atualmente

há aproximadamente 600 produtos comerciais à base desse ingrediente ativo (SONG, 2014). O sal não tem propriedade herbicida, no entanto, é adicionado a fim de aumentar a solubilidade da molécula de 2,4-D e reduzir a sua volatilidade. Os principais sais utilizados atualmente são de dimetilamina, isopropilamina e colina. Contudo, além das formulações de sais, o 2,4-D pode se apresentar na forma de ésteres feitos a partir de álcoois. As variações nas formulações podem interferir no comportamento das gotas de pulverização e nos processos de absorção e translocação dos herbicidas (PETERSON et al., 2015). Segundo esses autores, a formulação de éster tem a absorção mais rápida em função da maior facilidade em penetrar a cutícula foliar em comparação as formulações de sais. No entanto, não necessariamente resultará em maior controle das plantas (PETERSON et al., 2015). Kruger et al. (2010), avaliando o controle de plantas de *C. canadensis* em diferentes estádios de aplicação (0,07-0,15 e 0,15-0,30 m) expostas as diferentes formulações de 2,4-D aplicadas com 560 g e.a. ha⁻¹, observaram que em ambos estádios as formulações éster e sal de amina não diferiram, resultando em controle $\geq 90\%$.

Um ponto importante a ser observado é a variação na ocorrência de deriva em função da formulação de 2,4-D, sendo o sal de colina o que causa menor injúria por deriva (CONTIERO et al., 2016). Em estudo avaliando o potencial risco de injúria em plantas de algodão a partir da volatilidade das formulações de 2,4-D observou-se injúria de 76, 14 e 5% em função das formulações éster, amina e colina, respectivamente, 48 h após as aplicações (SOSNOSKIE et al., 2015). Kalsing et al. (2018) observaram menores magnitudes de injúria em plantas de tomate utilizando 2,4-D sal de colina comparado ao 2,4-D sal de amina. Diante desse potencial risco de injúria que o 2,4-D pode proporcionar em áreas adjacentes com culturas sem a introdução dos genes tolerantes a esse herbicida, devem-se utilizar práticas adequadas durante suas pulverizações.

2.4.3 Inibidores da ACCase

Os herbicidas inibidores da ACCase pertencem ao grupo A e são representados por três grupos químicos: FOPs, DIMs e DENs. Os FOPs apresentam o maior número de opções de graminicidas, com dez ingredientes ativos, seguido dos DIMs e DENs, com oito e um, respectivamente (KAUNDUN, 2014). A introdução dos

FOPs ocorreu em 1978, com o surgimento do diclofop-methyl, e os DIMs durante a década de 80 (KAUNDUN, 2014; MEYER et al., 2015; TAKANO et al., 2020b). Já o grupo DENs surgiu em 2006, a partir do lançamento do herbicida pinoxaden (HOFER et al., 2006).

A enzima ACCase catalisa a carboxilação de moléculas de acetil-CoA em malonil-coenzima A, a partir da adenosina trifosfato (ATP) e bicarbonato como fontes de energia e carbono, respectivamente (DAYAN et al., 2015). Essa reação é a primeira da biossíntese de ácidos graxos e, portanto, da síntese de lipídeos, os quais são componentes básicos das membranas celulares, organelas e camadas da cutícula (BOZAQUEL-MORAIS et al., 2017; ANDRADE et al., 2018). Na presença dos herbicidas, a reação é interrompida, não produzindo as membranas fosfolipídicas e, conseqüentemente, afetando o crescimento das plantas (COBB; READE, 2010). Os sintomas nas plantas tratadas iniciam com o arroxamento dos tecidos foliares, semelhante à deficiência de fósforo, clorose, seguidos de necrose e morte dos pontos de crescimento (BALL; FROST; BENNETT, 2007).

Os inibidores da ACCase são herbicidas classificados como seletivos e aplicados em pós-emergência das plantas daninhas poáceas (anuais e perenes) (COBB; READE, 2010). A seletividade em eudicotiledôneas se dá devido à inibição específica da forma da ACCase (DAYAN et al., 2015). As plantas eudicotiledôneas apresentam enzima procariótica no cloroplasto e eucariótica no citoplasma, enquanto as poáceas apresentam apenas a enzima eucariótica, localizada tanto no citoplasma quanto no cloroplasto. Assim, quando se aplica esses herbicidas somente as poáceas sofrem danos, pois a enzima procariótica das eudicotiledôneas é suficiente para produzir malonil-coenzima A (SASKI; NAGANO, 2004).

O herbicida clethodim é considerado o mais utilizado no território brasileiro entre os inibidores da ACCase (TAKANO et al., 2020b). No entanto, outros herbicidas desse mecanismo de ação são frequentemente adotados, como o quizalofop. Esses herbicidas possuem ação sistêmica e são absorvidos pelos tecidos verdes das plantas, principalmente pelas folhas. De acordo com suas propriedades físico-químicas, como o $\log K_{ow}$ e pK_a , apresentam diferenças quanto à absorção e translocação nas plantas. Dessa forma, o quizalofop ($\log K_{ow} = 4,66$ e $pK_a = 1,25$) tende a ser absorvido de forma mais rápida que o clethodim ($\log K_{ow} = 1,60$ e $pK_a = 4,10$) devido a maior afinidade com a cutícula apolar das folhas de plantas daninhas. Contudo, a sua mobilidade é limitada, sendo translocado apenas via xilema. Já o

clethodim, embora necessite de mais tempo para ser absorvido, pode ser translocado tanto pelo xilema quanto pelo floema (BROMILOW; CHAMBERLAIN; EVANS, 1990; SHANER, 2014; RODRIGUES, ALMEIDA, 2018).

O clethodim apresenta atividade residual no solo limitada, com variações no período de meia-vida, podendo persistir três dias (VARGAS; ROMAN, 2006) ou até meses. Esse período de residual depende das condições meteorológicas e características do solo, como textura, minerais, argila e matéria orgânica. Em experimento avaliando a atividade residual de clethodim e quizalofop aplicados sete e dois dias antes da semeadura do milho não houve interferência no crescimento das plantas (SPADER et al., 2012).

O desenvolvimento de genótipos de milho geneticamente modificados para a tolerância aos herbicidas FOPs está em fase de aprovação para comercialização no Brasil, evento que já estão comercialmente disponíveis nos Estados Unidos e Canadá (WRIGHT et al., 2010; CTNBio, 2015). Esse evento de transgenia é determinado pela modificação do genoma de um organismo a partir da introdução de genes exógenos. Dessa forma, a produção ocorreu por meio da inserção do gene *aad-1*, proveniente da bactéria *Sphingobium herbicidovorans*, no genoma do milho, gene este que metaboliza o 2,4-D e degrada os herbicidas FOPs (WRIGHT et al., 2010). A adoção dessas cultivares permitirá a aplicação de haloxyfop em pós-emergência da cultura (CTNBio, 2015), o que pode aumentar seu uso, resultar em pressão de seleção de plantas daninhas e selecionar biótipos resistentes, quando utilizados de forma inadequada. Além desses fatores, os herbicidas FOPs deixarão de ser alternativa no controle de plantas voluntárias de milho que apresentarem o gene insensível a molécula.

O uso contínuo de inibidores da ACCase, principalmente como alternativa de controle de poáceas resistentes ao glyphosate, tal como o capim-amargoso, favoreceu o aumento da resistência (GAZOLA et al., 2016). O primeiro registro de resistência aos inibidores da ACCase (clethodim e quizalofop) foi relatado no Reino Unido (1982) em grama-preta (*Alopecurus myosuroides* Huds.). No Brasil existem nove relatos de resistência aos FOPs e/ou DIMs, com capim-marmelada (*Urochloa plantaginea* (Link) R.D. Webster) sendo a primeira planta daninha documentada em 1997, seguida de capim-colchão (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koeler) (2002), capim pé-de-galinha (*E. indica*) (2003), azevém (*L. multiflorum*) (2010), capim-arroz (*E. crus-galli*) (2015), capim-amargoso (*D. insularis*) (2016), azevém (*L.*

multiflorum) (2016), capim pé-de-galinha (*E. indica*) (2017) e capim-amargoso (*D. insularis*) (2020) (HEAP, 2021).

Embora FOPs e DIMs apresentem o mesmo mecanismo de ação, estes possuem diferentes estruturas químicas que não se ligam da mesma forma no sítio de ação, apresentando diferenças na sensibilidade de acordo com a espécie e a população tratada, além de resultarem em padrões distintos de metabolização nas plantas (BURTON et al., 1991; BEFFA; MENNE; KOCHER, 2019). Esses fatores podem contribuir na eficiência do controle das plantas daninhas em função do grupo químico.

Carvalho et al. (2019) verificaram maior eficiência de controle de plantas de milho voluntário em estágio V7/V8 tratadas com haloxyfop (36 g i.a. ha⁻¹) em relação ao clethodim (65 g i.a. ha⁻¹), com níveis de 66 e 74%, respectivamente. Gomes; Sambatti; Dalazen (2020) verificaram maior eficiência de controle do capim-amargoso utilizando quizalofop em relação ao clethodim. Barroso et al. (2014) não observaram diferenças no controle dessa espécie entre esses herbicidas. Takano et al. (2018) observaram maior eficiência de controle de plantas de capim-pé-de-galinha resistente ao glyphosate tratadas com clethodim (192 g i.a. ha⁻¹) em relação ao quizalofop-P-tefuril (120 g i.a. ha⁻¹), com níveis de 97,5 e 84,0%, respectivamente.

São comercializadas diferentes formulações de graminicidas, que variam quanto a concentração de equivalente ácido e presença ou ausência de adjuvantes, além de misturas entre os grupos químicos na mesma formulação. Essas misturas são estratégias para prevenir resistência aos inibidores da ACCase (BECKIE; TARDIF, 2012; POWLES; YU, 2010). Nas formulações sem adjuvantes, recomenda-se adicioná-los às caldas de pulverização, a fim de melhorar a absorção e translocação dos graminicidas e, conseqüentemente potencializar o controle das plantas daninhas. Em plantas de capim-amargoso em estágio de florescimento ocorreu melhoria na eficiência de controle quando adicionados os adjuvantes nonil fenoxi poli (etilenoxi) etanol, lecitina e ácido propiônico e óleo mineral em formulações de clethodim (RODRIGUES NETO et al., 2019).

2.4.4 Inibidores do Fotossistema II

Os herbicidas inibidores do FSII pertencem ao grupo C e são

representados por três subgrupos, segundo o sítio específico de ligação à proteína D1, a qual se localiza nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos. O primeiro subgrupo corresponde aos herbicidas dos grupos químicos triazinas, triazolinonas, triazinonas, fenilcarbamatos, uracilas e piridazinonas; o segundo, pelos grupos uréias e amidas; e o terceiro pelos grupos fenilpiridazinonas, benzotiadiazinonas e nitrilas. Os herbicidas inibidores do FSII tiveram a descoberta do efeito seletivo durante a década de 50. Contudo, foi no início da década de 60, a partir da comercialização do herbicida atrazina que aumentou seu uso, principalmente nos sistemas de cultivo de milho (OLIVEIRA JR, 2011b).

No FSII, a energia proveniente da luz solar é capturada por pigmentos de clorofilas e carotenoides, e transferida para um centro de reação (P680), fornecendo a energia para a transferência de elétrons desse centro para a feofitina, que por sua vez são transferidos para a quinona A (Qa), localizada na proteína D2. A Qa é uma substância orgânica que, depois de reduzida, cede elétrons para uma quinona B (Qb), a qual se liga a proteína D1. A partir desse processo, os elétrons são transportados para o FSI, gerando ATP e NADPH. Na presença dos herbicidas inibidores do FSII, ocorre a interrupção da cadeia transportadora de elétrons entre a Qa e Qb, gerando o acúmulo de elétrons que, como consequência formam EROs. Essas EROs provocam a ruptura das membranas celulares e vazamento de eletrólitos, resultando em estresse oxidativo, que pode levar à morte dos tecidos vegetais. Os sintomas nas plantas tratadas iniciam lentamente na forma de clorose, em função da destruição da clorofila causada pela fotooxidação, seguida de necrose, devido à ruptura das membranas celulares (HESS, 2000).

Esses herbicidas são classificados como seletivos e aplicados preferencialmente em pré-emergência das plantas daninhas eudicotiledôneas (anuais e perenes) (CAMPOS; VITORINO; MARTINS, 2012) e algumas monocotiledôneas em estágio inicial de crescimento (TROPALDI et al., 2017). Também podem ser aplicados em pós-emergência inicial das plantas daninhas, as quais devem apresentar de 4 a 6 folhas (CAMPOS; VITORINO; MARTINS, 2012), porém têm limitações nessa modalidade de aplicação, necessitando maior cobertura das gotas pulverizadas nas folhas. A seletividade do grupo das uréias, no qual se enquadra o diuron, se dá devido a capacidade da planta em degradar o herbicida por metabolização, dependendo da concentração utilizada, quando aplicados em pré-emergência da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e da soja (OLIVEIRA JR, 2011b).

O diuron (3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea) é uma molécula não ionizável, com absorção pelas raízes, quando aplicado em pré-emergência, e pelos tecidos verdes das plantas, principalmente pelas folhas, quando aplicado em pós-emergência. De acordo com suas propriedades físico-químicas ($\log K_{ow} = 2,87$ e $pK_a = \text{zero}$ (não ionizável)), a absorção do herbicida tem pouca ou nenhuma influência em função do pH do meio (cutícula ou solução), pois não tem pontos de hidroxila para trocar hidrogênio com o meio (SHANER, 2014). Este herbicida necessita de 2 a 3 h para ser absorvido pela cutícula. Já a mobilidade nas plantas ocorre somente via xilema, tanto em aplicações no solo, quanto nas folhas (BROMILOW; CHAMBERLAIN; EVANS, 1990; SHANER, 2014; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

O diuron apresenta atividade residual no solo, com variações no período de meia-vida, podendo persistir de 40 a 91 dias (ROCHA et al., 2013) ou até 267 dias, de acordo com as condições meteorológicas e características do solo, como textura, minerais, argila e matéria orgânica (STORK; BENNETT; BELL, 2008).

O uso contínuo de inibidores do FSII, principalmente em sistemas de cultivo de cereais, oleaginosas e cana-de-açúcar, favoreceu o aumento da resistência de plantas daninhas a esse mecanismo de ação. O primeiro registro de resistência foi relatado nos Estados Unidos (1970) em tasneirinha (*Senecio vulgaris* L.) para o herbicida simazine. O primeiro caso de resistência ao diuron ocorreu nos Estados Unidos (1987) em capim-roxo (*Chloris barbata* (L.) Sw.). No Brasil existem seis relatos de resistência aos inibidores do FSII, com a buva (*C. sumatrensis*) sendo a única planta daninha resistente ao diuron, documentada em 2017 (HEAP, 2021).

São comercializadas diferentes formulações de diuron, que variam quanto a concentração de equivalente ácido. O diuron também está presente em misturas com herbicidas de outros mecanismos de ação na mesma formulação, como diuron + paraquat, diuron + sulfentrazone e diuron + hexazinona (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Essas misturas são estratégias para prevenir resistência e ampliar o espectro de controle das plantas daninhas (BECKIE; TARDIF, 2012; POWLES; YU, 2010). Na mistura dos herbicidas diuron + paraquat presentes na mesma formulação, o diuron potencializa a ação do paraquat, principalmente por evitar o estresse oxidativo imediato provocado pelo paraquat. A preservação da integridade das membranas e dos vasos condutores das plantas, possibilita uma maior distribuição do paraquat (HAYWARD; COLBY; PARHAM, 1988; NORSWORTHY; SMITH; GRIFFITH, 2011).

2.4.5 Inibidores do Fotossistema I

Os herbicidas inibidores do FSI pertencem ao grupo D e são representados pelo grupo químico bipiridilos, compostos pelos ingredientes ativos paraquat e diquat. Sua introdução ocorreu em 1955, com o surgimento do primeiro herbicida não seletivo e inativado no solo (paraquat) (HAWKES, 2014). Os elétrons provenientes do FSII são transportados para o FSI (P700), considerado um complexo multiproteico com mais de 10 proteínas, que catalisa a reação de oxidação da plastocianina e a redução da ferredoxina, gerando ATP e NADPH durante a fase fotoquímica da fotossíntese (HESS, 2000).

Na presença dos herbicidas inibidores do FSI, ocorre a competição com o NADP⁺ por elétrons, e como consequência a ferredoxina doa elétrons para a molécula de oxigênio, que ao entrar em contato com a luz, formam espécies mais reativas que o oxigênio molecular, consideradas danosas para as membranas fosfolipídicas, em função de alterar sua integridade e interferir na atividade proteica (HAWKES, 2014). Os sintomas nas plantas tratadas iniciam com sinais de manchas verde-escuras nas folhas (manchas encharcadas) logo após a aplicação, que se desenvolvem em necrose dos tecidos verdes dentro de um ou dois dias (HESS, 2000).

Esses herbicidas são classificados como não seletivos e aplicados em pós-emergência das plantas daninhas mono e eudicotiledôneas (anuais e perenes) (COBB; READE, 2010). O paraquat é o herbicida mais utilizado entre os bipiridilos, no entanto, será proibida sua comercialização no Brasil a partir de setembro de 2020 em função de sua toxicidade e riscos à saúde (ANVISA, 2017). Dessa forma, o diquat se torna a única alternativa entre os inibidores de FSI e deverá ter sua utilização ampliada.

O diquat [6,7-dihydrodipyrido (1,2-a:2',1'-c) pyrazinediium dibromide] é uma molécula não ionizável que é absorvida pelos tecidos verdes das plantas, principalmente pelas folhas. De acordo com suas propriedades físico-químicas ($\log K_{ow} = -4,26$ e $pKa = \text{zero}$ (não ionizável)), a absorção do herbicida tem pouca ou nenhuma influência em função do pH do meio (cutícula ou solução), pois não tem pontos de hidroxila para trocar hidrogênio com o meio (SHANER, 2014). Este herbicida, necessita de 0,5 a 1 h para ser absorvido pela cutícula. Já a mobilidade nas

plantas ocorre preferencialmente via xilema; no entanto, também permitem o transporte pelo floema, desde que aplicadas em condições de menor intensidade luminosa e, em seguida, expostos a luz solar (BROMILOW; CHAMBERLAIN; EVANS, 1990; SHANER, 2014; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

Sua eficiência é potencializada quando a aplicação promove a máxima uniformidade de cobertura foliar das gotas pulverizadas nos alvos biológicos. Adicionar adjuvantes a solução com diquat é uma estratégia para aumentar a retenção das gotículas e a difusão sobre as superfícies foliares de gramíneas (GITSOPOULOS; DAMALAS; GEORGOULAS, 2014). Esses autores observaram maior controle de azevém (*L. multiflorum*) quando adicionado surfactante não iônico ao diquat em comparação a aplicação sem adjuvante.

Apesar do diquat ser biologicamente inativado no solo, seu período de meia-vida pode persistir até 1000 dias (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Por não ser seletivo, os herbicidas inibidores do FSI são indicados em ambiente aquático (PITELLI et al., 2011), áreas não cultivadas, em operações de dessecação pré-secagem das culturas (COBB; READE, 2010), pré-colheita (AZEVEDO et al., 2015) e em aplicações sequenciais aos herbicidas sistêmicos, principalmente em plantas em estágio de desenvolvimento avançado (ANDREOTTI et al., 2019). Contudo, a eficiência de herbicidas desse mecanismo de ação é limitada as aplicações em plantas em estádios iniciais de desenvolvimento (TAHMASEBI et al., 2018b). Walker et al (2012) observaram redução do controle das plantas de buva (*C. bonariensis*) com diquat em decorrência do aumento do estágio vegetativo da planta daninha.

O uso contínuo de inibidores do FSI favoreceu o aumento da resistência de plantas daninhas a esse mecanismo de ação. Os primeiros registros de resistência foram relatados em 1980, no Japão, em buva da Filadélfia (*Erigeron philadelphicus* L.) e buva (*C. canadensis*), ambas resistentes ao paraquat. O primeiro caso de resistência ao diquat ocorreu na Austrália (1984) em (*Hordeum murinum* ssp. *glaucum*). No Brasil não há casos de plantas daninhas resistentes ao diquat, no entanto, existem três relatos de resistência ao paraquat, com a buva (*C. sumatrensis*) sendo a única planta daninha resistente ao herbicida, documentada em 2016 sua resistência isolada (ZOBIOLE et al., 2019; HEAP, 2021). No ano seguinte foram registrados dois casos de resistência múltipla com a presença do paraquat (PINHO et al., 2019; ALBRECHT et al., 2020; HEAP, 2021).

São comercializadas diferentes formulações de paraquat, mas sem

variar a concentração de equivalente ácido. Já o diquat tem menos similares disponíveis no mercado e não está presente em misturas com herbicidas de outros mecanismos de ação na mesma formulação, diferentemente do paraquat (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018).

2.5 MISTURA EM TANQUE

A associação de agroquímicos em tanque do equipamento de aplicação antes de iniciar a pulverização é definida como mistura em tanque (GAZZIERO, 2015). Essa prática é comumente adotada pelos agricultores nos sistemas de cultivo do Brasil e de outros países do mundo, como Estados Unidos, Canadá e Austrália. Contudo, no Brasil essa atividade foi normatizada somente em 2018, por meio da instrução normativa nº 40, de 11 de outubro de 2018, na qual transfere a responsabilidade para o engenheiro agrônomo e exige maior detalhamento das recomendações na elaboração dos receituários agronômicos (BRASIL, 2018).

Gazziero et al. (2015) constatou que 97% dos produtores/profissionais utilizam as misturas de agroquímicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil, e que 95% das misturas são realizadas utilizando de dois a cinco produtos comerciais, com relatos de produtores que aplicam caldas de pulverização compostas por mais de sete produtos. As plantas daninhas, pragas e doenças são fatores bióticos presentes simultaneamente na mesma área, que por sua vez necessitam de diferentes agroquímicos para serem controlados (RAKES et al., 2017). Dessa forma, essas misturas ocorrem com o intuito de ampliar o espectro de controle e reduzir o custo de aplicação, pois diminui o número de aplicações de agroquímicos na lavoura (PETTER et al., 2012).

As interações entre as misturas podem resultar em sinergismo, aditividade ou antagonismo em comparação ao efeito isolado de cada agroquímico aplicado (GAZZIERO, 2015). Esses efeitos geralmente são confirmados a partir de modelos gráficos de superfície (isobole) (BEREMBAUM, 1989) ou por modelos matemáticos, como o método de Colby (COLBY, 1967). Quando a associação de dois ou mais produtos em tanque resultar em aumento no controle do alvo biológico, comparado ao efeito isolado de cada produto, essa mistura é sinérgica. Se a eficiência da mistura for semelhante à aplicação dos produtos isolados, é considerada aditiva.

Já quando a mistura promover o menor controle em relação aos produtos isolados, esse efeito é antagônico (COLBY, 1967).

O saflufenacil, cuja ação inicia no citosol, inibe a enzima PROTOX, e ao entrar em contato com a luz, formam EROs, que danificam as membranas fosfolipídicas. O glyphosate inibe a enzima EPSPS causando o acúmulo do shiquimato e energia nos cloroplastos; dessa forma, também formam EROs e peroxidação lipídica (COBB; READE, 2010). A associação desses herbicidas promove rápido acúmulo de EROs nas plantas de buva (*C. bonariensis*) e em níveis elevados por maior período (192 h), assim como a peroxidação lipídica (PIASECKI et al., 2020). Portanto, associar glyphosate e saflufenacil potencializa o controle de buva (DALAZEN et al., 2015; PIASECKI et al., 2020).

A associação de glyphosate aos herbicidas inibidores da ACCase geralmente aumenta o controle de poáceas, mesmo em espécies resistentes ao glyphosate, como observado em plantas de capim-amargoso (*D. insularis*) (BARROSO et al., 2014) e capim-pé-de-galinha (*E. indica*) (TAKANO et al., 2018). Na formulação do glyphosate contêm surfactantes que auxiliam a absorção e a translocação dos gramínicos associados, além de uma quantidade de glyphosate ser translocada até o local de ação (EPSPS) (COBB; READE, 2010).

A adição de diuron aos bipiridilos (diquat e paraquat) também potencializa o controle das plantas daninhas, o que pode ser explicado pelo diuron inibir a fotossíntese antes dos bipiridilos destruírem as membranas fosfolipídicas e os vasos condutores (floema) das plantas, permitindo uma maior distribuição do diquat/paraquat (HAYWARD; COLBY; PARHAM, 1988; NORSWORTHY; SMITH; GRIFFITH, 2011). Além desses herbicidas (diuron e diquat/paraquat) atuarem em diferentes fotossistemas, o que pode formar EROs distintas, dificultando a desintoxicação dessas moléculas (HESS, 2000).

A mistura atrazina + mesotrione é frequentemente utilizada no controle de plantas daninhas, principalmente na cultura do milho (MATTE et al., 2018). A atrazina inibe o FSII, gerando o acúmulo de elétrons nos fotossistemas, e como consequência formam EROs. O mesotrione é um herbicida que inibe a síntese dos carotenóides, que são pigmentos protetores, responsáveis por dissiparem o excesso de energia nos fotossistemas e protegerem as clorofilas da fotooxidação (HESS, 2000). Quando esses herbicidas são aplicados simultaneamente pode ocorrer sinergismo em virtude da atrazina promover o estresse oxidativo e o mesotrione

inviabilizar a proteção das plantas a esse estresse (KRUSE et al., 2001).

A associação dos graminicidas DIMs aos FOPs tem sido realizada em tanque e comercializada na mesma formulação pela indústria, como clethodim + quizalofop e clethodim + haloxyfop. Essas formulações são estratégias para prevenir e auxiliar no manejo da resistência. Em caso de mutação que substitua a ligação dos DIMs ao local de ação (ACCase), a resistência não ocorrerá aos FOPs e vice-versa. No entanto, para os aminoácidos asparagina 2078 e cisteína 2088 pode ocorrer resistência, uma vez que são compartilhados pelos dois grupos químicos e permitem a ligação de ambos na enzima (LIU et al., 2007; POWLES; YU, 2010).

Nas lavouras ocorrem concomitantemente plantas daninhas mono e eudicotiledôneas, tornando-se necessárias aplicações de herbicidas com especificidade para cada classe. Contudo, a ocorrência de antagonismo pode limitar a realização de algumas misturas. As misturas de graminicidas com mimetizadores de auxinas foram relatadas como antagônicas em estudos com poáceas (PEREIRA; ZOBIOLE; ROSSI, 2018; LANCASTER et al., 2019; GOMES; SAMBATTI; DALAZEN, 2020). O 2,4-D pode diminuir a absorção e a translocação dos graminicidas (TODD; STOBBE, 1980) e induzir o aumento da atividade de enzimas P₄₅₀, resultando em metabolização dos herbicidas inibidores da ACCase (HAN et al., 2013).

Para que não ocorra antagonismo no controle de capim-amargoso, são necessários intervalos de nove e doze dias entre a aplicação de 2,4-D e os herbicidas clethodim e quizalofop, respectivamente (GOMES; SAMBATTI; DALAZEN, 2020). Em estudo com buva e capim-amargoso na mesma área, o controle da buva não foi influenciado pelo intervalo entre as aplicações de 2,4-D e haloxyfop, contudo, para controlar o capim-amargoso, o herbicida haloxyfop deve ser aplicado ≥ 6 dias antes do 2,4-D (LEAL et al., 2019). Além do intervalo de aplicação, o aumento da dose de graminicida poderia ser uma alternativa. No entanto, Gomes, Sambatti; Dalazen (2020) observaram que tanto o aumento da dose de clethodim quanto de quizalofop não melhoram o controle de capim-amargoso quando aplicados em mistura com 2,4-D.

Associar herbicidas sistêmicos, como o glyphosate e 2,4-D, aos considerados de contato, como o paraquat/diquat, geralmente resulta em antagonismo. Esse efeito pode ocorrer em função da saturação dos caminhos de absorção foliar e pela ação rápida dos bipyridilos que alteram a integridade das membranas celulares e danificam os vasos condutores, reduzindo ou inibindo a

translocação dos outros herbicidas presentes na mistura (COBB; READE, 2010; SHANER, 2014). O antagonismo causado entre glyphosate e diquat em quebra-pedra (*Phyllanthus tenellus* Roxb.) pode ser minimizado com o aumento de 60% da concentração do glyphosate (WEHTJE; ALTLAND; GILLIAM, 2008). No entanto, faz-se necessário avaliar se economicamente a aplicação de maiores doses de glyphosate associado ao diquat para controlar as plantas daninhas é viável ao produtor.

Um dos problemas que também podem ocorrer durante a mistura dos agroquímicos em tanque é a incompatibilidade física, caracterizada por separação de fases, presença de floculação, separação de óleo, sedimentação, formação de grumos, cristais e espuma (RAKES et al., 2017). Essas propriedades das caldas podem entupir os filtros e obstruir as pontas de pulverização, o que interfere na qualidade da aplicação e na eficiência do controle do alvo biológico (GAZZIERO et al., 2015). Em determinadas ocasiões, a pulverização é interrompida, principalmente em condições meteorológicas adversas (chuva). Com isso, os agroquímicos ficam armazenados no tanque do pulverizador até serem novamente utilizados (MORAES et al., 2019). Mesmo após a agitação das caldas no interior do tanque pode ocorrer incompatibilidade entre os agroquímicos (AZEVEDO, 2015).

Para realizar a mistura em tanque, os agroquímicos devem ser adicionados em uma sequência pré-estabelecida de acordo com a dose, formulação e solubilidade (Tabela 1) em condições de turbilhonamento da calda de pulverização por meio de sistema de agitação (AZEVEDO et al., 2015). No preparo da calda, recomenda-se a pré-mistura antes de adicionar os agroquímicos no tanque do pulverizador a fim de detectar uma possível incompatibilidade. Contudo, apenas 31% dos produtores realizam tal procedimento, e o restante adicionam os agroquímicos diretamente no tanque (GAZZIERO et al., 2015).

Tabela 1 - Sequência de adição de agroquímicos em tanque de pulverização na realização de misturas.

Agroquímicos específicos	1 – doses menores que 100 g de grânulos dispersíveis em água (WG) 2 – sacos hidrossolúveis (WSB)
Sólidos	3 – outros grânulos dispersíveis em água (WG) 4 – pós molháveis (WP)
Líquidos	5 – adjuvantes de compatibilidade 6 – suspensões concentradas (SC) 7 – suspensão emulsão (SE) 8 – emulsões óleos em água (EW) 9 – concentrados para emulsão (EC) 10 – soluções concentradas (SL) 11 - outros adjuvantes (óleos, molhantes...)

Fonte: Syngenta Portugal

A qualidade da água utilizada como veículo de aplicação pode interferir na eficiência das misturas no alvo biológico. Dessa forma, algumas propriedades, como o pH e a dureza (concentração de íons alcalino-terrosos) presentes na água devem ser observadas. A adição de adjuvantes específicos pode minimizar possíveis incompatibilidades causadas pela qualidade da água e as misturas em tanque (FARIAS et al., 2014), além de maximizar o desempenho da gota de pulverização depositada no alvo biológico (CAÇÃO et al., 2019).

A falta de informações e a complexidade envolvida na mistura em tanque devido aos problemas de incompatibilidade química e física que variam quanto ao agroquímico empregado e o alvo pulverizado demonstram as dificuldades em adotar essa prática. Portanto, além de mais estudos nessa área é necessário que as informações técnicas sejam encaminhadas aos agricultores.

2.6 HORÁRIO DE APLICAÇÃO

A eficiência dos herbicidas é influenciada pelo horário de aplicação

em função das condições ambientais presentes no momento e após a aplicação (GODINHO JR et al., 2015). De forma geral, os herbicidas devem ser pulverizados quando a temperatura do ar for inferior a 30 °C, UR% acima de 55% e velocidade do vento entre 3 e 12 km h⁻¹ (CUNHA et al., 2016). Pulverizações fora dessas recomendações estão sujeitas a maior evaporação e carregamento das gotas para locais não-alvo, além de menor absorção foliar. Como consequência pode ocorrer menor controle das plantas daninhas e fitotoxicidade em áreas adjacentes.

Outro elemento meteorológico relevante na ação dos herbicidas e associado ao horário de aplicação é a luminosidade. A luz associada aos demais elementos citados anteriormente interferem nos processos de interceptação, absorção e translocação das gotas pulverizadas (CIESLIK; VIDAL; TREZZI, 2013). A quantidade de luz captada pela planta está relacionada com a angulação das folhas, devido as mudanças rítmicas na turgidez das células localizadas na base do pecíolo, principalmente em plantas da família Fabaceae (DALAZEN; MEROTTO JR, 2016) e Asteraceae.

Em horários com maior incidência de luz, geralmente as folhas estão posicionadas mais na vertical, portanto, há uma redução na interceptação das gotas pulverizadas por unidade de planta. As poáceas expostas a essas condições desenvolvem mecanismos de defesa que auxiliam na redução da perda de água, como o enrolamento das folhas (ALVAREZ; ROCHA; MACHADO, 2005). Altas intensidades luminosas nem sempre são indicadas para aplicações de herbicidas, dependendo do mecanismo de ação por estarem associadas a maiores temperaturas do ar e menores porcentagens de UR (CIESLIK et al., 2017).

O excesso de luz pode promover o fechamento dos estômatos causado pelo incremento no fluxo transpiratório. Esse aumento interfere na carboxilação, pois ocorre um desbalanço em relação à demanda para a assimilação de CO₂, gerando estresse oxidativo. A alta intensidade luminosa também altera a posição dos cloroplastos, que se direcionam às bordas das folhas, reduzindo assim a absorção de luz (TAIZ et al., 2017). No entanto, horários de aplicação que proporcionam maior taxa fotossintética tendem a apresentar maior eficiência de controle para herbicidas sistêmicos (MONTGOMERY et al., 2017), porém pode ocorrer especificidade em função da espécie de planta daninha e o herbicida aplicado (STOPPS; NURSE; SIKKEMA, 2013).

Montgomery et al. (2017) observaram maior mortalidade de plantas

de buva (*C. canadensis*) aos 28 dias após a aplicação de 2,4-D em horários com maior intensidade luminosa (12:00 h) durante a primavera nas cidades norte-americanas Crossville (Alabama) e Jackson (Tennessee) em comparação as aplicações realizadas 19:00 h. Em estudo com herbicidas inibidores da ACCase (fluazifop-butil) houve maior translocação (25%) em poáceas expostas a intensidade luminosa de 280 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em relação as plantas em condições de 53 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz (KELLS; MEGGITT; PENNER, 1984). O herbicida glyphosate aplicado às 12:00 h em Ontário – Canadá gerou maior controle de espécies de caruru (*Amaranthus* spp) e ambrosia comum (*Ambrosia artemisiifolia* L.) em relação as aplicações das 18:00 e 21:00 h (STOPPS; NURSE; SIKKEMA, 2013).

Na presença de luz, o metabolismo da planta está mais ativo, em função da maior taxa fotossintética e do aumento do fluxo transpiratório no xilema. Dessa forma, tem-se uma maior síntese de fotoassimilados em seu interior. Esse aumento no fluxo de fotoassimilados proporciona maior translocação dos herbicidas até os pontos de crescimento das plantas (CIESLIK; VIDAL; TREZZI, 2013).

Quando aplicado diuron, cuja translocação se dá pelo xilema, há necessidade de maior cobertura foliar, uma vez que a mobilidade nas plantas é limitada. Para o diquat, que apresenta ação rápida na presença de luz, recomenda-se aplicações em menor intensidade luminosa, assim como para o diuron (OLIVEIRA JR, 2011b). Esses herbicidas atuam no fotossistema e dependem da luz para formarem EROs (HESS, 2000). Contudo, aplicações na presença de alta intensidade luminosa aceleram a degradação das membranas fosfolipídicas e dificultam a translocação dos herbicidas, conseqüentemente, os danos nos tecidos vegetais são limitados aos pontos de contato da calda (BRUNHARO; HANSON, 2017). A redução do acúmulo de EROs pode ser obtida em aplicações com baixa intensidade luminosa (MONTGOMERY et al., 2017). Plantas mantidas no escuro após a aplicação permitem a translocação por toda a planta, e potencializam o estresse oxidativo quando expostas a luz, o que resulta em maior controle das plantas (MORETTI; HANSON, 2016).

Montgomery et al. (2017) e Moretti; Hanson (2016), aplicando herbicidas bipiridilos em horários com baixa intensidade luminosa (06:00 e 19:30 h) durante a primavera nas cidades norte-americanas Crossville (Alabama) e Jackson (Tennessee) ou mantendo as plantas a períodos de escuro (cerca de 16 h) logo após a aplicação, observaram aumento no controle das plantas, evitando a rebrota. Pitelli

et al. (2011) observaram maior mortalidade de plantas de aguapé (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) após a aplicação de diquat em horários com menor intensidade luminosa (21:00 h) em comparação as aplicações realizadas 13:00 h.

3 REFERÊNCIAS

- ADEGAS, F. S.; VARGAS, L.; GAZZIERO, D. L. P.; KARAM, D. **Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. 2017. (Circular Técnica, v. 132)
- AGOSTINETTO, D.; SILVA, D. R. O.; VARGAS, L. Soybean yield and economic thresholds due to glyphosate resistant hairy fleabane interference. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, p. 1-8, 2017.
- ALVES, G. S.; KRUGER, G. R.; CUNHA, J. P. A. R.; VIEIRA, B. C.; HENRY, R. S.; OBRADOVIC, A.; GRUJIC, M. Spray drift from dicamba and glyphosate applications in a wind tunnel. **Weed Technology**, v. 31, n. 3, p. 387-395, 2017.
- ALBRECHT, A. J. P.; PEREIRA, V. G. C.; SOUZA, C. N. Z.; ZOBIOLE, L. H. S.; ALBRECHT, L. P.; ADEGAS, F. S. Multiple resistance of *Conyza sumatrensis* to three mechanisms of action of herbicides. **Acta Scientiarum**, v. 42, n. 1, 2020.
- ALVAREZ J. M.; ROCHA J. F.; MACHADO, S. R. Estrutura foliar de *Loudetiopsis chrysothrix* (Nees) Conert e *Tristachya leiostachya* Nees (Poaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, n. 1, p. 23-37, 2005.
- AMARO-BLANCO, I.; FERNÁNDEZ-MORENO, P. T.; OSUNA-RUIZ, M. D.; BASTIDA, F.; DE PRADO, R. Mechanisms of glyphosate resistance and response to alternative herbicide-based management in populations of the three *Conyza* species introduced in Southern Spain. **Pest Management Science**, v. 74, n. 8, p. 1925-1937, 2018.
- ANAGNOSTOPOULOS, C.; STASINOPOULOU, P.; KANATAS, P.; TRAVLOS, I. Differences in metabolism of three *Conyza* species to herbicides glyphosate and triclopyr revealed by LC-MS/MS. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 80, n. 1, p. 100-107, 2020.
- ANDRADE, A.; TULMANN-NETO, A.; TCACENCO, F. A.; MARSCHALEK, R.; PEREIRA, A.; OLIVEIRA NETO, A. M.; SCHEUERMANN, K. K.; WICKERT, E.; NOLDIN, J. A. Development of rice (*Oryza sativa*) lines resistant to aryloxyphenoxypropionate herbicides through induced mutation with gamma rays. **Plant Breeding**, v. 137, n. 3, p. 364-369, 2018.
- ANDREOTTI, E. G. G.; OLIVEIRA, G. M. P.; FERREIRA, L. A. I.; OLIVEIRA, S. M. P.; FORNAROLLI, B. C.; FORNAROLLI, D. A. Alternativas de manejo químico de capim-amargoso na cultura da soja. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 18, n. 3, 2019.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de diretoria colegiada – RDC nº 190, de 30 novembro de 2017**. 2017.
- AZEVEDO, L. A. S. **Mistura de tanque de produtos fitossanitários: Teoria e prática**. Rio de Janeiro, 2015. 230 p.
- AZEVEDO, M.; PAGNOCELLI, C. A.; COLTRO-RONCATO, S.; SILVA-MATTE, S. C.; GONÇALVES, E. D. V.; DILDEY, O. D. F.; HELING, A. L. Aplicação de diferentes herbicidas para dessecação em pré-colheita de soja. **Agrarian**, v. 8, n. 29, p. 246-252,

2015.

BAI, S. H.; OGBOURNE, S. M. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 19, p. 18988-19001, 2016.

BAJWA, A. A.; SADIA, S.; ALI, H. H.; JABRAN, K.; PEERZADA, A. M.; CHAUHAN, B. S. Biology and management of two important *Conyza* weeds: a global review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 24, p. 24694-24710, 2016.

BALL, D. A.; FROST, S. M.; BENNETT, L. H. Accase-inhibitor herbicide resistance in downy brome (*Bromus tectorum*) in Oregon. **Weed Science**, v. 55, p. 91–94, 2007.

BARROSO, A. A. M.; ALBRECHT, A. J. P.; REIS, F. C.; FILHO, R. V. Interação entre herbicidas inibidores da ACCase e diferentes formulações de glyphosate no controle de capim-amargoso. **Planta Daninha**, v. 32, n. 3, p. 619-627, 2014.

BARROSO, A. A. M.; GALEANO, E.; ALBRECHT, A.; REIS, F.; VICTORIA FILHO, R. Does sourgrass leaf anatomy influence glyphosate resistance? **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 4, p. 445-53, 2015.

BAUMGARTNER, D.; SOUZA, E. G.; COELHO, S. R. M.; MAGGI, M. F. Correlation between 2,4-D herbicide residues and soil attributes in southern of Brazil. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 48, n. 3, p. 428-437, 2017.

BECKIE, H. J.; TARDIF, F. J. Herbicide cross resistance in weeds. **Crop Protection**, v. 35, p. 15–28, 2012.

BEFFA, R.; MENNE, H.; KOCHER, H. **Herbicide resistance action committee (HRAC): herbicide classification, resistance evolution, survey, and resistance mitigation activities**. Modern Crop Protection Compounds. 3. ed. Wiley Online Library, v. 1, p. 5-32, 2019.

BENBROOK, C. M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. **Environmental Sciences Europe**, v. 28, n. 3, p. 1-15, 2016.

BERENBAUM, M. C. What is synergy? **Pharmacological Reviews**, v. 41, n. 2, p. 93-141, 1989.

BOZAQUEL-MORAIS, B. L. B.; MADEIRA, J. B.; VENÂNCIO, T. M.; ROSA, T. P.; MASUDA, C. A.; LOMELI, M. M. A chemogenomic screen reveals novel snf1p/ampk independent regulators of acetyl-CoA carboxylase. **Plos one**, v. 12, n. 1, 2017.

BRASIL. MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 40, de 11 de outubro de 2018. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, seção1, n. 198, p.3, 2018.

BRAZ, G. B. P.; OLIVEIRA JR, R. S.; ZOBIOLE, L. H. S.; RUBIN, R. S.; VOGLEWEDE, C.; CONSTANTIN, J.; TAKANO, H. K. Sumatran fleabane (*Conyza sumatrensis*) control in no-tillage soybean with diclosulam plus halauxifen-methyl. **Weed Technology**, v. 31, n. 2, p. 184-192, 2017.

BRIGHENTI, A. M.; OLIVEIRA, M. F. **Biologia de plantas daninhas**. Biologia e Manejo de Plantas Daninhas. 1. ed. Curitiba, cap. 1, p. 1-36, 2011.

BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K.; EVANS, A. A. Physicochemical aspects of phloem translocation of herbicides. **Weed Science**, v. 38, n. 3, p. 305-314, 1990.

BRUNHARO, C. A. C. G.; HANSON, B. D. Vacuolar sequestration of paraquat is involved in the resistance mechanism in *Lolium perenne* L. spp. *multiflorum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1485, 2017.

BURTON, J. D.; GRONWALD, J. W.; KEITH, R. A.; SOMERS, D. A.; GENGENBACH, B. G.; WYSE, D. L. Kinetics of inhibition of acetyl-coenzyme A carboxylase by sethoxydim and haloxyfop. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 39, n. 2, p. 100-109, 1991.

CAÇÃO, J. E. C. R.; MOREIRA, B. R. A.; RAETANO, C. G.; CARVALHO, F. K.; PRADO, E. P. Spray retention on coffee leaves associated with type and concentration of adjuvants. **Engenharia Agrícola**, v. 39, n. 5, p. 623-629, 2019.

CAMPOS, C. F.; VITORINO, H. S.; MARTINS, D. Controle de plantas daninhas com diuron em diferentes condições de luz. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, n. 3, p. 258-268, 2012.

CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A.; GONZÁLES-TORRALVA, F.; CRUZ-HIPOLITO, H. E.; ROJANO-DELGADO, A. M.; PRADO, R.; GIL-HUMANES, J.; BARRO, F.; CASTRO, M. D. L. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 615-622, 2012.

CARVALHO, L. B.; BIANCO, M. S.; BIANCO, S. Accumulation of dry mass and macronutrients by sourgrass plants. **Planta Daninha**, v. 31, n. 4, p. 785-792, 2013.

CARVALHO, S. J. P.; DAMIN, V.; DIAS, A. C. R.; YAMASAKI, G. M.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Eficácia e pH de caldas de glifosato após a adição de fertilizantes nitrogenados e utilização de pulverizador pressurizado por CO₂. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 6, p. 569-575, 2009.

CARVALHO, S. J. P.; UZUELE, E. L.; SOARES, D. J.; LÓPES-OVEJERO, R. F.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Control of glyphosate-resistant volunteer maize using ACCase inhibiting herbicides. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 3, p. 575-580, 2019.

CASTRO, E. B.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D.; GOMES, G. L. G. C.; BELAPART, D. Influence of adjuvants on the surface tension, deposition and effectiveness of herbicides on fleabane plants. **Planta Daninha**, v. 36, 2018.

CESCO, V. J. S.; NARDI, R.; KRENCHINSKI, F. H.; ALBRECHT, A. J. P.; RODRIGUES, D. M.; ALBRECHT, L. P. Management of resistant *Conyza* spp. during soybean pre-sowing. **Planta Daninha**, v. 37, 2019.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; FIGUEIREDO, M. R. A.; PERES, L. E. P.; NISSEN, S.; GAINES, T. Auxinic herbicides, mechanisms of action, and weed resistance: a look into recent plant science advances. **Scientia Agrícola**, v. 72, n. 4, p. 356-362, 2015.

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

CIESLIK, L. F.; VIDAL, R. A.; MACHADO, A. B.; TREZZI, M. M. Fluazifop-P-butyl efficacy as a function of application time and herbicide dose. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

CIESLIK, L. F.; VIDAL, R. A.; TREZZI, M. M. Fatores ambientais que afetam a eficácia de herbicidas inibidores da ACCase: revisão. **Planta Daninha**, v. 31, n. 2, p. 483-489, 2013.

COBB, A. H.; READE, J. P. H. **Herbicides and plant physiology**. 7.ed. Hoboken, 2010.

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

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira – grãos**: Décimo primeiro levantamento, agosto 2020 – safra 2019/2020. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2020. Disponível em <conab.gov.br/info-agro/safras/grãos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 24 ago. 2020.

CONTIERO, R. L.; BIFFE, D. F.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; BRAZ, G. B. P.; LUCIO, F. R.; SCHLEIER, J. J. Effects of nozzle types and 2,4-D formulations on spray deposition. **Journal of Environmental Science and Health Part B**, v. 51, n. 12, p. 888–893, 2016.

CORREIA, N. M.; DURIGAN, J. C. Manejo químico de plantas adultas de *Digitaria insularis* com glyphosate isolado e em mistura com chlorimuron-ethyl ou quizalofop-p-tefuril em área de plantio direto. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 689-697, 2009.

COSTA, N. V.; MORATELLI, G.; FERREIRA, S. D.; SALVALAGGIO, A. C.; RODRIGUES-COSTA, A. C. P. Resistance to glyphosate in populations of *Digitaria insularis*. **Planta Daninha**, v. 36, 2018.

CREECH, C. F.; HENRY, R. S.; WERLE, R.; SANDELL, L. D.; HEWITT, A. J.; KRUGER, G. R. Performance of postemergence herbicides applied at different carrier volumes rates. **Weed Technology**, v. 29, n. 3, p. 611-624, 2015.

CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biosegurança. **Parecer Técnico Nº 4763/2015** - Relatório de biossegurança do milho DAS-40278-9 x NK603. Outubro 2015. 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/gmfp/docs/Parecer%20Final%204763Dow.pdf>. Acesso em: 15 jun. 2020.

CUHRA, M.; BØNH, T.; CUHRA, P. Glyphosate: too much of a good thing? **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, n. 28, p. 1-14, 2016.

CUNHA, J. P. A. R.; ALVES, G. S.; MARQUES, R. S. Tensão superficial, potencial hidrogeniônico e condutividade elétrica de caldas de produtos fitossanitários e adjuvantes. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 2, p. 261-270, 2017.

CUNHA, J. P. A. R.; PEREIRA, J. N. P.; BARBOSA, L. A.; SILVA, C. R. Pesticide application windows in the region of Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 2, p. 403-411, 2016.

DALAZEN, G.; BIGOLIN, M.; VALMORBIDA, I.; STACKE, R. F.; CAGLIARI, D. Faunistic analysis of pest insects and their natural enemies associated with hairy fleabane in soybean crop. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 3, p. 336-344, 2017.

DALAZEN, G.; KRUSE, N. D.; MACHADO, S. L. O.; BALBINOT, A. Sinergismo na combinação de glifosato e saflufenacil para o controle de buva. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 2, p. 249-256, 2015.

DALAZEN, G.; MEROTTO JR, A. Physiological and genetic bases of the circadian clock in plants and their relationship with herbicides efficacy. **Planta Daninha**, v.34, n.1, 2016.

DALAZEN, G.; PISONI, A.; MENEGAZ, C.; MEROTTO JR, A. Hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) response to saflufenacil in association with different formulations of glyphosate subjected to simulated rainfall. **Agronomy Research**, v. 18, 2020.

DAN, H. A.; BARROSO, A. L. L.; DAN, L. G. M.; FINOTTE, T. R.; FELDKIRCHER, C. A. Adjuvantes multifuncionais associados ao herbicida glyphosate no controle de *Digitaria insularis*. **Global Science and Technology**, v. 3, n. 2, p. 30-38, 2010.

DAVIS, V. M.; KRUGER, G. R.; STACHLER, J. M.; LOUX, M. M.; JOHNSON, W. G. Growth and seed production of horseweed (*Conyza canadensis*) populations resistant to glyphosate, ALS-inhibiting, and multiple (glyphosate + ALS-inhibiting) herbicides. **Weed Science**, v. 57, n. 5, p. 494-504, 2009.

DAYAN, F. E.; OWENS, D. K.; CORNIANI, N.; SILVA, F. M. L.; WATSON, S. B.; HOWELL, J.; SHANER, D. L. Biochemical markers and enzyme assays for herbicide mode of action and resistance studies. **Weed Science**, v. 63, n. sp1, p. 23-63, 2015.

DENNIS, M.; HEMBREE, K. J.; BUSHOVEN, J. T.; SHRESTHA, A. Growth stage, temperature, and time of year affects the control of glyphosate-resistant and glyphosate-paraquat resistant *Conyza bonariensis* with saflufenacil. **Crop Protection**, v. 81, p. 129-137, 2016.

DEVKOTA, P.; JOHNSON, W. G. Influence of carrier water pH, foliar fertilizer, and ammonium sulfate on 2,4-D and 2,4-D plus glyphosate efficacy. **Weed Technology**, v. 33, n. 4, p. 562-568, 2019.

DIAS, A. C. R.; CARVALHO, S. J. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Fenologia da trapoeraba como indicador para tolerância ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 31, n. 1, p. 185-191, 2013.

DO-THANH, C. L.; VARGAS, J. J.; THOMAS, J. W.; ARMEL, G. R.; BEST, M. D. Design, synthesis and evaluation of novel auxin mimic herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 18, p. 3533-3537, 2016.

DUKE, S. O. Perspectives on transgenic, herbicide-resistant crops in the United States

almost 20 years after introduction. **Pest Management Science**, v. 71, n. 5, p. 652-657, 2015.

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

EKWEALOR, K. U.; ECHEREME, C. B.; OFOBEZE, T. N.; OKEREKE, C. N. Economic importance of weeds: a review. **Asian Plant Research Journal**, v. 3, n. 2, p. 1-11, 2019.

ELMORE, C. D.; PAUL, R. N. Composite list of C4 weeds. **Weed Science**, v. 31, n. 5, p. 686-692, 1983.

EPP, J. B.; ALEXANDER, A. L.; BALKO, T. W.; BUYSSE, A. M.; BREWSTER, W. K.; BRYAN, K.; DAEUBLE, J. F.; FIELDS, S. C.; GAST, R. E.; GREEN, R. A.; IRVINE, N. M.; LO, W. C.; LOWE, C. T.; RENGHA, J. M.; RICHBURG, J. S.; RUIZ, J. M.; SATCHIVI, N. M.; SCHMITZER, P. R.; SIDDALL, T. L.; WEBSTER, J. D.; WEIMER, M. R.; WHITEKER, G. T.; YERKES, C. N. The discovery of Arylex™ active and Rinskor™ active: two novel auxin herbicides. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 3, p. 362-371, 2016.

ESPÍRITO SANTO, T. L.; MENDONÇA, C. G.; GRAICHEN, F. A. S.; RAETANO, C. G.; TEODORO, P. E. Control of *Conyza bonariensis* with glyphosate associated to adjuvants applied with different spray nozzles. **Bioscience Journal**, v.33, n. 2, p. 297-305, 2017.

FADIN, D. A.; TORNISIELO, V. L.; BARROSO, A. A. M.; RAMOS, S.; DOS REIS, F. C.; MONQUERO, P. A. Absorption and translocation of glyphosate in *Spermacoce verticillata* and alternative herbicide control. **Weed Research**, v. 58, n. 5, p. 389-396, 2018.

FARIAS, M. S.; SCHLOSSER, J. F.; CASALI, A. L.; FRANTZ, U. G.; RODRIGUES, F. A. Qualidade da água utilizada para aplicação de agrotóxicos na região central do Rio Grande do Sul. **Revista Agrarian**, v. 7, n. 24, p. 355-359, 2014.

FERREIRA, E. A.; GALON, L.; ASPIAZÚ, I.; SILVA, A. A.; CONCENÇO, G.; SILVA, A. F.; OLIVEIRA, J. A.; VARGAS, L. Glyphosate translocation in hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) biotypes. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 637-643, 2008.

FORD, L.; SOLTANI, N.; MCFADDEN, A.; NURSE, R. E.; ROBINSON, D. E.; SIKKEMA, P. H. Control of canada fleabane (*Conyza canadensis* with glyphosate DMA/2,4-D choline applications in corn (*Zea mays*). **Agricultural Sciences**, v. 5, n. 1, p. 77-83, 2014.

GAZOLA, T.; BELAPART, D.; CASTRO, E. B.; CIPOLA FILHO, M. L.; DIAS, M. F. Características biológicas de *Digitaria insularis* que conferem sua resistência à herbicidas e opções de manejo. **Científica**, v. 44, n. 4, p. 557-567, 2016.

GAZOLA, T.; DIAS, M. F.; BONATTO, V. M.; BELAPART, D.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Growth and development of sourgrass plants from vegetative parts of clumps. **Planta Daninha**, v. 37, 2019a.

GAZOLA, T.; DIAS, M. F.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Monitoring of resistance of sourgrass to glyphosate herbicide in urban areas of the state of São Paulo, Brazil. **Planta Daninha**, v. 37, 2019b.

GAZZIERO, D. L.P.; ADEGAS, F. S.; SILVA, A. F.; CONCENÇO, G. Estimating yield losses in soybean due to sourgrass interference. **Planta Daninha**, v. 37, 2019.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 83-92, 2015.

GEMELLI, A.; OLIVEIRA JR R. S.; CONSTANTIN J.; BRAZ G. B. P.; JUMES, T. M. C.; GHENO, E. A. A.; RIOS, F. A.; FRANCHINI, L. H. M. Estratégias para o controle de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glyphosate na cultura milho safrinha. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 2, p. 162-170, 2013.

GEMELLI, A.; OLIVEIRA JR R. S.; CONSTANTIN J.; BRAZ G. B. P.; JUMES, T. M. C.; OLIVEIRA NETO, A. M.; DAN, H. A.; BIFFE, D. F. 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.

GILO, E. G.; MENDONÇA, C. G.; SANTO, T. L. E.; TEODORO, P. E. Alternatives for chemical management of sourgrass. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 4, p. 881-889, 2016.

GIRALDELI, A. L.; SAN GREGORIO, J. P. R.; MONQUERO, P. A.; AGUILLERA, M. M.; RIBEIRO, N. M. Weeds hosts of nematodes in sugarcane culture. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

GITSOPOULOS, T. K.; DAMALAS, C. A.; GEORGOULAS, I. Improving diquat efficacy on grasses by adding adjuvants to the spray solution before use. **Planta Daninha**, v. 32, n. 2, p. 355-360, 2014.

GODINHO JR, J. D. D.; SOUSA JR, J. M.; GONTIJO, G. A.; RUAS, R. A. A. Pontas hidráulicas, adjuvante e horários de aplicação de fomesafen no controle de picão-preto. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 14, n. 4, p. 326, 2015.

GOMES, H. L. L.; SAMBATTI, V. C.; DALAZEN, G. Sourgrass control in response to the association of 2,4-D to Accase inhibitor herbicides. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 4, p. 1126-1136, 2020.

GOMES, L. J. P.; SANTOS, J. I.; GASPARINO, E. C.; CORREIA, N. M. Chemical control and morphoanatomical analysis of leaves of different populations of sourgrass. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

GONÇALVES, G. S.; CARVALHO, J. E. B.; GARCIA, M. V. B.; GAMA, L. A.; AZEVEDO, C. L. L. L.; SILVA, J. F. Periods of weed interference on orange tree crop. **Planta Daninha**, v. 36, 2018.

GRONES, P.; FRIML, J. Auxin transporters and binding proteins at a glance. **Journal of Cell Science**, v. 128, p. 1-7, 2015.

GROSSMANN, K. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action.

Pest Management Science, v. 66, n. 2, p. 113–120, 2010.

HAN, H.; YU, Q.; CAWTHRAY, G. R.; POWLES, S. B. Enhanced herbicide metabolism induced by 2,4-D in herbicide susceptible *Lolium rigidum* provides protection against diclofop-methyl. **Pest Management Science**, v. 69, n. 9, p. 996-1000, 2013.

HATTERMAN-VALENTI, H. M.; PITTY, A.; OWEN, M. D. K. Effect of environment on giant foxtail (*Setaria faberi*) leaf wax and fluazifop-P absorption. **Weed Science**, v. 54, n. 4, p. 607-614, 2006.

HAYWARD, D. M.; COLBY, S. R.; PARHAM, M. R. Enhancement of paraquat activity with photosynthetic inhibitors. **Abstract Weed Science Society of America**. v. 28, n. 5, 1988.

HAWKES, T. R. Mechanisms of resistance to paraquat in plants. **Pest Management Science**, v. 70, p. 1316-1323, 2014.

HEAP, I.; DUKE, S. O. Overview of glyphosate-resistant weeds worldwide. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1040-1049, 2018.

HEAP, I. **The international herbicide resistant weed database**. Disponível em: <www.weedscience.org>. Acesso em: 20 fev. 2021.

HESS, F. D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, v. 48, n. 2, p. 160-170, 2000.

HILZ, E.; VERMEER, A. W. P. Spray drift review: The extent to which a formulation can contribute to spray drift reduction. **Crop Protection**, v. 44, p. 75-83, 2013.

HOFER, U.; MUEHLEBACH, M.; HOLE, S.; ZOSCHKE, A. Pinoxaden: for broad spectrum grass weed management in cereal crops. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 20, n. 5, p. 989-995, 2006.

HOLM, L.; DOLL, J.; HOLM, E.; PANCHO, J.; HERBERGER, J. **The world's worst weeds: natural histories and distribution**. Wiley, New York, 1997.

HUANG, H.; YE, R.; QI, M.; LI, X.; MILLER, D. R.; STEWART, C. N.; DUBOIS, D. W.; WANG, J. Wind-mediated horseweed (*Conyza canadensis*) gene flow: pollen emission, dispersion, and deposition. **Ecology and Evolution**, v. 5, n. 13, p. 2646-2658, 2015.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto nº 4.074/2002. **Vendas de Ingredientes Ativos por UF. 2018**. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-deagrotoxicos>>. Acesso em: 22 mai. 2020.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. Disponível em: <<https://www.gov.br/ibama/pt-br>>. Acesso em 05 jun. 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatísticas**. Disponível em <ibge.gov.br/estatísticas>. Acesso em: 24 ago. 2020.

KALSING, A.; ROSSI, C. V. S.; LUCIO, F. R.; MINOZZI, G. B.; GONÇALVES, F. P.; VALERIANO, R. Efficacy of control of glyphosate-tolerant species of the Rubiaceae family through double-knockdown applications. **Planta Daninha**, v. 38, 2020.

KALSING, A.; ROSSI, C. V. S.; LUCIO, F. R.; ZOBIOLE, L. H. S.; CUNHA, L. C. V.; MINOZZI, G. B. Effect of formulations and spray nozzles on 2,4-D spray drift under field conditions. **Weed Technology**, v. 32, n. 4, p. p. 379-384, 2018.

KASPARY, T. E.; LAMEGO, F. P.; CUTTI, L.; AGUIAR, A. C. D. M.; RIGON, C. A. G.; BASSO, C. J. Growth, phenology, and seed viability between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible hairy fleabane. **Bragantia**, v. 76, n. 1, p. 92-101, 2017.

KAUNDUN, S. S. Resistance to acetyl-CoA carboxylaseinhibiting herbicides. **Pest Management Science**, v. 70, p. 1405-1417, 2014.

KELLS, J. J.; MEGGITT, W. F.; PENNER, D. Absorption, translocation, and activity of fluazifop-butyl as influenced by plant growth stage and environment. **Weed Science**, v. 32, n. 2, p. 143-149, 1984.

KIRBY, C. **The hormone weedkillers: a short history of their discovery and development**. London Road, Croydon: British Crop Protection Council, 1980. 55 p.

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

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

KRUGER, G. R.; DAVIS, V. M.; WELLER, S. C.; JOHNSON, W. G. Control of horseweed (*Conyza canadensis*) with growth regulator herbicides. **Weed Technology**, v. 24, n. 4, p. 425-429, 2010.

KRUSE, N. D.; TREZZI, M. M., VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores da EPSPS: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 1, n. 2, p. 139-146, 2000.

KRUSE, N. D.; VIDAL, R. A.; BAUMAN, T. T.; TREZZI, M. M. Sinergismo potencial entre herbicidas inibidores do fotossistema II e da síntese de carotenóides. **Ciência Rural**, v. 31, n. 4, p. 569-575, 2001.

KUMAR, V.; JHA, PRASHANT; JHALA, A. J. Confirmation of glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) in montana cereal production and response to post herbicides. **Weed Technology**, v. 31, n. 6, p. 799-810, 2017.

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, Z. D.; NORSWORTHY, J. K.; SCOTT, R. C.; GBUR, E. E.; NORMAN,

R. J. Evaluation of quizalofop tank-mixtures for quizalofop-resistant rice. **Crop Protection**, v. 116, n. 2, p. 7-14, 2019.

LEAL, J. F. L.; SOUZA, A. S.; RIBEIRO, S. R. S.; OLIVEIRA, G. F. P. B.; ARAUJO, A. L. S.; BORELLA, J.; LANGARO, A. C.; MACHADO, A. F. L.; PINHO, C. F. 2,4-Dichlorophenoxyacetic-n-methylmethanamine and haloxyfop-p-methyl interaction: sequential and interval applications to effectively control sourgrass and fleabane. **Agronomy Journal**, 2019.

LEWIS, J. Longevity of crop and weed seeds: survival after 20 years in soil. **Weed Research**, v. 13, p. 179-191, 1973.

LIU, J.; QI, M.; WANG, J. Long-distance and dynamic seed dispersal from horseweed (*Conyza canadensis*). **Ecoscience**, v. 25, n. 3, p. 271-285, 2018.

LIU, W.; HARRISON, D. K.; CHALUPSKA, D.; GORNICKI, P.; O'DONNELL, C. C.; ADKINS, S. W.; HASELKORN, R.; WILLIAMS, R. R. Single-site mutations in the carboxyltransferase domain of plastid acetyl-CoA carboxylase confer resistance to grass-specific herbicides. **Proceedings of the National Academy**, v. 104, n. 9, p. 3627-3632, 2007.

LOPEZ OVEJERO, R. F.; TAKANO, H. K.; NICOLAI, M.; FERREIRA, A.; MELO, M. S. C.; CAVENAGHI, A. L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OLIVEIRA, R. S. Frequency and dispersal of glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis*) populations across Brazilian agricultural production areas. **Weed Science**, v. 65, n. 2, p. 285-294, 2017.

LORENZI, H. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2014. 220 p.

LOURA, D.; SAHIL, S.; FLORENTINE, S.; CHAUHAN, B. S. Germination ecology of hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) and its implications for weed management. **Weed Science**, p. 1-26, 2020.

LUCIO, F. R.; KALSING, A.; ADEGAS, F. S.; ROSSI, C. V. S.; CORREIA, N. M.; GAZZIERO, D. L. P.; SILVA, A. F. Dispersal and frequency of glyphosate-resistant and glyphosate-tolerant weeds in soybean-producing edaphoclimatic microregions in Brazil. **Weed Technology**, v. 33, n. 1, p. 217-231, 2019.

LYON, B. R.; LIEWELLYN, D. J.; HUPPATZ, J. L.; DENNIS, E. S.; PEACOCK, W. J. Expression of a bacterial gene in transgenic tobacco plants confers resistance to the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Plant Molecular Biology**, v. 13, n. 5, p. 533-540, 1989.

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

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

MAHONEY, K. J.; SHROPSHIRE, C.; SIKKEMA, P. H. Post-emergence herbicides for

control of glyphosate-resistant Canada fleabane in corn. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 97, n. 2, p. 206-209, 2017.

MAROCHI, A.; FERREIRA, A.; TAKANO, H. K.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; OVEJERO, R. F. L. Managing glyphosate-resistant weeds with cover crop associated with herbicide rotation and mixture. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 4, p. 381-394, 2018.

MARTINS, J. F.; BARROSO, A. A. M.; ALVES, P. L. C. A. Effects of environmental factors on seed germination and emergence of glyphosate resistant and susceptible sourgrass. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

MATTE, W. D.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; MACHADO, F. G.; CONSTANTIN, J.; BIFFE, D. F.; GUTIERREZ, F. S. D.; SILVA, J. R. V. Eficácia de [atrazine + mesotrione] para o controle de plantas daninhas na cultura do milho. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 2, 2018.

MCCAULEY, C. L.; YOUNG, B. G. Differential response of horseweed (*Conyza canadensis*) to halauxifen-methyl, 2,4-D, and dicamba. **Weed Technology**, v. 33, n. 5, p. 673-679, 2019.

MENDONÇA, G. S.; MARTINS, C. C.; MARTINS, D.; COSTA, N. V. Ecophysiology of seed germination in *Digitaria insularis* ((L.) Fedde). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 45, n. 4, p. 823-832, 2014.

MESCHEDE, D. K.; SILVA, F. E.; FERNANDES, D.; OLIVEIRA, E. C.; GOMES, M. M.; ANUNCIATO, V. M. Absorption and translocation tolerance of glyphosate. **African Journal of Agricultural Research**, v.10, n. 52, p. 4738-4747, 2015.

MEYER, C. J.; NORSWORTHY, J. K.; IV, D. O. S.; BARARPOUR, M. T.; LANDRY, R. L.; WOOLAM, B. C. Control of johnsongrass in the absence of glyphosate in midsouth cotton production systems. **Weed Technology**, v. 29, n. 4, p. 730-739, 2015.

MICHAEL, P. J.; OWEN, M. J.; POWLES, S. B. Herbicide-resistant weed seeds contaminate grain sown in the western Australian grainbelt. **Weed Science**, v. 58, n. 4, p. 466-472, 2010.

MONDO, V. H. V.; DE CARVALHO, S. J. P.; DIAS, A. R.; MARCOS FILHO, J. Light and temperature effects on the seed germination of four *Digitaria* weed species. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 131-137, 2010.

MONTGOMERY, G. B.; TREADWAY, J. A.; REEVES, J. L.; STECKEL, L. E. Effect of time of day of application of 2,4-D, dicamba, glufosinate, paraquat, and saflufenacil on horseweed (*Conyza canadensis*) control. **Weed Technology**, v. 31, p. 550-556, 2017.

MORAES, H. M. F.; COSTA, J. O.; PEREIRA, G. A. M.; SOUZA, W. M.; SILVA, A. A.; PAIXÃO, G. P. Physical compatibility and stability of pesticide mixtures at different spray volumes. **Planta Daninha**, v. 37, 2019.

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

MORETTI, M. L.; HANSON, B. D. Reduced translocation is involved in resistance to glyphosate and paraquat in *Conyza bonariensis* and *Conyza canadensis* from California. **Weed Research**, v. 57, n. 1, p. 25-34, 2016.

MORETTI, M. L.; SHRESTHA, A.; HEMBREE, K. J.; HANSON, B. D. Postemergence Control of glyphosate/paraquat-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) in tree nut orchards in the central valley of California. **Weed Technology**, v. 29, p. 501-508, 2015.

NALINI, K.; MURHUKRISHNAN, P.; CHINNUSAMY, C.; VENNILA, C. Weeds of cotton – a review. **Agricultural Research Communication Centre**, v. 36, n. 2, p. 140-146, 2015.

NORSWORTHY, J. K.; SMITH, K. L.; GRIFFITH, G. Evaluation of combinations of paraquat plus photosystem II-inhibiting herbicides for controlling failed stands of maize (*Zea mays*). **Crop Protection**, v. 30, n. 3, p. 307-310, 2011.

OLIVEIRA, G. M. P.; GANDOLFO, M. A.; OLIVEIRA, R. B.; OLIVEIRA, S. M. P.; MARTINS, V. A. Potential drift and injury of herbicides sprayed in a wind tunnel. **Engenharia Agrícola**, v. 39, n. 1, p. 75-82, 2019.

OLIVEIRA JR, R. S. **Introdução ao controle químico**. Biologia e Manejo de Plantas Daninhas. 1. ed. Curitiba, cap. 6, p. 1-16, 2011a.

OLIVEIRA JR, R. S. **Mecanismos de ação de herbicidas**. Biologia e Manejo de Plantas Daninhas. 1. ed. Curitiba, cap. 7, p. 1-52, 2011b.

OLIVEIRA, S. C.; PERES, L. R. S.; HIJANO, N.; ALVES, P. L. C. A. Period of weed interference in bean with nitrogen fertilizer. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 5, 2019.

OREJA, F. H.; DE LA FUENTE, E. B.; FERNANDEZ-DUVIVIER, M. E. Response of *Digitaria insularis* seed germination to environmental factors. **Crop and Pasture Science**, v. 68, n. 1, p. 45-50, 2017.

OSIPE, R.; OSIPE, J. B. **Aspectos biológicos e econômicos do uso dos herbicidas à base de 2,4-D no Brasil**. 1. ed. Ribeirão Preto, 2015. 55 p.

OTTAVINI, D.; PANNACCI, E.; ONOFRI, A.; TEI, F.; JENSEN, P. K. Effects of light, temperature, and soil depth on the germination and emergence of *Conyza canadensis* (L.) Cronq. **Agronomy**, v. 9, n. 9, 2019.

PAGNONCELLI, F. B.; TREZZI, M. M.; BRUM, B.; VIDAL, R. A.; PORTES, A. F.; SCALCON, E. L.; MACHADO, A. Morning glory species interference on the development and yield of soybeans. **Bragantia**, v. 76, n. 4, p. 470-479, 2017.

PALMA-BAUTISTA, C.; TAHMASEBI, B. K.; FERNÁNDEZ-MORENO, P. T.; ROJANO-DELGADO, A. M.; ALCÁNTARA DE LA CRUZ, R.; DE PRADO, R. First case of *Conyza canadensis* from Hungary with multiple resistance to glyphosate and flazasulfuron. **Agronomy**, v. 8, n. 8, p. 157-168, 2018.

PARTELLI, F. L.; VIEIRA, H. D.; FREITAS, S. P.; ESPINDOLA, J. A. A. Aspectos

fitossociológicos e manejo de plantas espontâneas utilizando espécies de cobertura em cafeeiro Conilon orgânico. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 605-618, 2010.

PAULA, J. M.; PINTO-MAGLIO, C. A. F.; PINTO, L. R. Morphological analysis and DNA methylation in *Conyza bonariensis* L. Cronquist (Asteraceae) phenotypes. **Bragantia**, v. 76, n. 4, p. 480-491, 2017.

PAULA, J. M.; PINTO-MAGLIO, C. A. F. Technique to obtain mitotic chromosomes of *Conyza bonariensis* L. Cronquist (Asteraceae). **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 9, p. 1466-1474, 2015.

PAZUCH, D.; TREZZI, M. M.; GUIMARÃES, A. C. D.; BARANCELI, M. V. J.; PASINI, R.; VIDAL, R. A. Evolution of natural resistance to glyphosate in morning glory populations. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

PEREIRA, G. R.; ZOBIOLE, L. H. S.; ROSSI, C. V. S. Resposta no controle de capim-amargoso a mistura de tanque de glyphosate e haloxifope com auxinas sintéticas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 2, p. 1-7, 2018.

PETERSON, M. A.; COLLAVO, A.; OVEJERO, R.; SHIVRAIN, V.; WALSH, M. J. The challenge of herbicide resistance around the world: a current summary. **Pest Management Science**, v. 75, p. 112–121, 2018.

PETERSON, M. A.; MCMASTER, S. A.; RIECHERS, D. E.; SKELTON, J.; STAHLMAN, P. W. 2,4-D past, present, and future: a review. **Weed Technology**, v. 30, n. 2, p. 303-345, 2015.

PETTER, F. A.; SEGATE, D.; PACHECO, L. P.; ALMEIDA, F. A.; ALCÂNTARA NETO, F. Incompatibilidade física de misturas entre herbicidas e inseticidas. **Planta Daninha**, v. 30, n. 2, p. 449-457, 2012.

PIASECKI, C.; CARVALHO, I. R.; AVILA, L. A.; AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. Glyphosate and saflufenacil: elucidating their combined action on the control of glyphosate-resistant *Conyza bonariensis*. **Agriculture**, v. 10, n. 236, p. 1-16, 2020.

PIGNATI, W. A.; LIMA, F. A. N. S.; LARA, S. S.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.; LEÃO, L. H. C.; PIGNATTI, M. G. Spatial distribution of pesticide use in Brazil: a strategy for health surveillance. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 22, n. 10, p. 3281-3293, 2017.

PINHO, C. F.; LEAL, J. F. L.; SOUZA, A. S.; OLIVEIRA, G. F. P. B.; OLIVEIRA, C.; LANGARO, A. C.; MACHADO, A. F. L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; ZOBIOLE, L. H. S. First evidence of multiple resistance of Sumatran Fleabane (*Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker) to five- mode-of-action herbicides. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 10, p. 1688-1697, 2019.

PITELLI, R. A.; BISIGATTO, A. T.; KAWAGUCHI, I.; PITELLI, R. L. C. M. Doses e horário de aplicação do diquat no controle de *Eichhornia crassipes*. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 269-277, 2011.

PITELLI, R. A. O termo planta-daninha. **Planta Daninha**, v. 33, n. 3, 2015.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 317–347, 2010.

QUEIROZ, A. R. S.; DELATORRE, C. A.; LUCIO, F. R.; ROSSI, C. V. S.; ZOBIOLE, L. H. S.; MEROTTO JR, A. Rapid necrosis: a novel plant resistance mechanism to 2,4-D. **Weed Science**, v. 68, n. 1, p. 6-18, 2020.

QUEIROZ, A. R. S.; VIDAL, R. A. O desenvolvimento de culturas tolerantes ao herbicida diclorofenoxiacetato: revisão de literatura. **Planta Daninha**, v. 32, n. 3, p. 649-654, 2014.

RAIMONDI, R. T.; CONSTANTIN, J.; MENDES, R. R.; OLIVEIRA JR, R. S.; RIOS, F. A. Glyphosate –resistant sourgrass management programs associating mowing and herbicides. **Planta Daninha**, v. 38, 2020.

RAIMONDI, R. T.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR, R. S.; SANCHES, K. S.; MENDES, R. R. Altura de roçada afeta o controle de capim-amargoso perenizado. **Cultura Agrônômica**, v. 28, n. 3, p. 254-267, 2019.

RAKES, M.; GRÜTZMACHER, A. D.; PAZINI, J. B.; PASINI, R. A.; SCHAEGLER, C. E. Physicochemical compatibility of agrochemical mixtures in spray tanks for paddy field rice crops. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

ROCHA, P. R. R.; FARIA, A. T.; SILVA, G. S.; QUEIROZ, M. E. L. R.; GUIMARÃES, F. C. N.; TIRONI, S. P.; GALON, L.; SILVA, A. A. Meia-vida do diuron em solos com diferentes atributos físicos e químicos. **Ciência Rural**, v. 43, n. 11, p. 1961-1966, 2013.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 7.ed. Londrina, 2018. 764 p.

RODRIGUES NETO, A. D.; ALMEIDA, M. S.; PRADO, E. P.; TROPALDI, L.; FIRMINO, A. C.; BONINI, C. S. B.; VIANA, R. S.; LIMA, R. C. Otimização da atividade de herbicidas com diferentes adjuvantes na fitotoxicidade de *Digitaria insularis* no estágio de florescimento. **Colloquium Agrariae**, v. 15, n. 5, p. 120-126, 2019.

ROSSET, J. D.; GULDEN, R. H. Cultural weed management practices shorten the critical weed free period for soybean grown on the northern great plains. **Weed Science**, v. 68, n. 1, p. 1-39, 2019.

SASKI, Y.; NAGANO, Y. Plant acetyl-CoA carboxylase: structure, biosynthesis, regulation, and gene manipulation for plant breeding. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v. 68, n. 6, p. 1175–1184, 2004.

SAVAGE, D.; BORGER, C. P.; RENTON, M. Orientation and speed of wind gusts causing abscission of wind-dispersed seeds influences dispersal distance. **Functional Ecology**, v. 28, n. 4, p. 973-981, 2014.

SCAVO, A.; MAUROMICALE, G. Integrated weed management in herbaceous field crops. **Agronomy**, v. 10, n. 4, p. 466-491, 2020.

SCHNEIDER, T. **Resistência de *Conyza* spp. ao herbicida glifosato: distribuição geográfica, aspectos moleculares, genéticos e anatômicos**. 117 f. Tese de

Doutorado em Agronomia - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.

SHANER, D.; BRIDGES, D. Inhibitors of aromatic amino acid biosynthesis (glyphosate). In: SHANER, D.; BRIDGES, D. **Herbicide action course**. West Lafayette: Purdue University, 2003. p. 514-529.

SHANER, D. L. **Herbicide handbook**. 10.ed. Lawrence, 2014. 513 p.

SILVA, T. A.; DELIAS, D.; PEDÓ, T.; ABREU, E. S.; VILLELA, F. A.; AUMONDE, T. Z. Fitotoxicidade do extrato de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist no desempenho fisiológico de sementes e plântulas de alface. **Iheringia, Série Botânica**, v. 71, n. 3, p. 213-221, 2016.

SILVA, W. T.; KARAM, D.; VARGAS, L.; SILVA, A. F. Alternativas de controle químico para capim-amargoso (*Digitaria insularis*) na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 16, n. 3, p. 578-586, 2017.

SILVEIRA, H. M.; LANGARO, A. C.; ÁLCANTARA-DE LA CRUZ, R.; SEDIYAMA, T.; SILVA, A. A. Glyphosate efficacy on sourgrass biotypes with suspected resistance collected in GR-crop fields. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 40, 2018.

SINDIVEG—Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal. **Estatísticas do Setor. 2018**. Disponível em: <<https://sindiveg.org.br/estatisticas-do-setor/>>. Acesso em: 22 mai. 2020.

SOARES, A. A. F.; FREGONEZI, A. M. D. T.; BASSI, D.; MANGOLIN, C. A.; COLLET, S. A. O.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; MACHADO, M. F. P. S. Evidence of high gene flow between samples of horseweed (*Conyza canadensis*) and hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) as revealed by isozyme polymorphisms. **Weed Science**, v. 63, n. 3, p. 604-612, 2015.

SOARES, D. J.; OLIVEIRA, W. S.; UZUELE, E. L.; CARVALHO, S. J. P.; OVEJERO, R. F. L.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Growth and development of *Conyza bonariensis* based on days or thermal units. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 1, p. 45-53, 2017.

SONG, Y. Insight into the mode of action of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 56, n. 2, p. 106-113, 2014.

SOSNOSKIE, L. M.; CULPEPPER, A. S.; BRAXTON, L. B.; RICHBURG, J. S. Evaluating the volatility of three formulations of 2,4-D when applied in the field. **Weed Technology**, v. 29, n. 2, p. 177-184, 2015.

SPADER, V.; LOPES, E. C. P.; FABBRIN, E. G. S.; MENDONÇA, C. G.; PELISSARI, A. Residual activity of ACCase inhibitor herbicides applied at pre-sowing of corn crop. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, n. 1, p. 42-48, 2012.

STOPPS, G. J.; NURSE, R. E.; SIKKEMA, P. H. The effect of time of day on the activity of postemergence soybean herbicides. **Weed Technology**, v. 27, n. 4, p. 690-695, 2013.

STORK, P. R.; BENNETT, F. R.; BELL, M. J. The environmental fate of diuron under

a conventional production regime in a sugarcane farm during the plant cane phase. **Pest Management Science**, v. 64, n. 9, p. 954-963, 2008.

SYNGENTA PORTUGAL. **Ordem de Misturas de Produtos**. Disponível em: <<https://www.syngenta.pt/produtos/ordem-de-mistura-de-produtos?>>. Acesso em: 29 jun. 2020.

TAHMASEBI, B. K.; ALEBRAHIM, M. T.; ROLDÁN-GOMEZ, R. A.; DA SILVEIRA, H. M.; DE CARVALHO, L. B.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; DE PRADO, R. Effectiveness of alternative herbicides on three *Coryza* species from Europe with and without glyphosate resistance. **Crop Protection**, v. 112, p. 350-355, 2018a.

TAHMASEBI, B. K.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; ALCÁNTARA, E.; TORRA, J.; DOMÍNGUEZ-VALENZUELA, J. A.; CRUZ-HIPÓLITO, H. E.; ROJANO-DELGADO, A. M.; DE PRADO, R. Multiple resistance evolution in bipyridylium-resistant *Epilobium ciliatum* after recurrent selection. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 695, 2018b.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TAKANO, H. K.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; SILVA, V. F. V.; MENDES, R. R. Chemical control of glyphosate-resistant goosegrass. **Planta Daninha**, v. 36, 2018.

TAKANO, H. K.; MELO, M. S. C.; OVEJERO, R. F. L.; WESTRA, P. H.; GAINES, T. A.; DAYAN, F. E. Trp2027Cys mutation evolves in *Digitaria insularis* with cross-resistance to ACCase inhibitors. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 164, p. 1-6, 2020a.

TAKANO, H. K.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; MANGOLIM, C. A.; MACHADO, M. F. P. S.; BEVILAQUA, M. R. R. Spread of glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis*): Independent selections or merely propagule dissemination? **Weed Biology and Management**, v. 18, n. 1, p. 50-59, 2018.

TAKANO, H. K.; OVEJERO, R. F. L.; BELCHIOR, G. G.; MAYMONE, G. P. L.; DAYAN, F. E. ACCase-inhibiting herbicides: mechanism of action, resistance evolution and stewardship. **Scientia Agricola**, v. 78, n. 1, 2020b.

THEBAUD, C.; ABBOTT, R. J. Characterization of invasive *Coryza* species (Asteraceae) in Europe: quantitative trait and isozyme analysis. **American Journal of Botany**, v. 82, n. 2, p. 360-368, 1995.

TODD, B. G.; STOBBE, E. H. The basis of the antagonism effect of the 2,4-D on diclofop-methyl toxicity to wild oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v. 28, n. 4, p. 371-377, 1980.

TOZZI, E.; BECKIE, H.; WEISS, R.; GONZALES-ANDUJAR, J. L.; STORKEY, J.; CICI, S. Z. H.; VAN ACKER, R. C. Seed germination response to temperature for a range of international populations of *Coryza canadensis*. **Weed Research**, v. 54, n. 2, p. 178-185, 2014.

TRAVLOS, I.; CHEIMONA, N.; BILALIS, D. Glyphosate efficacy of different salt

formulations and adjuvant additives on various weeds. **Agronomy**, v. 7, n. 60, p. 1-9, 2017.

TREZZI, M. M.; BALBINOT JR, A. A.; BENIN, G.; DEBASTIANI, F.; PATEL, F.; MIOTTO JR, E. Competitive ability of soybean cultivars with horseweed (*Conyza bonariensis*). **Planta Daninha**, v. 31, n. 3, p. 543-550, 2013.

TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A.; XAVIER, E.; ROSIN, D.; BALBINOT JR, A. A.; PRATES, M. A. Resistência ao glyphosate em biótipos de buva (*Conyza* spp.) das regiões oeste e sudoeste do Paraná. **Planta Daninha**, v. 29, p. 1113-1120, 2011.

TROPALDI, L.; ARALDI, R.; BRITO, I. P. F. S.; SILVA, I. P. F.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D. Herbicidas inibidores do fotossistema II em pré-emergência no controle de espécies de capim-colchão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 16, n. 1, p. 30-37, 2017.

VALENCIA-GREDILLA, F.; SUPICICHE, M. L.; CHANTRE, G. R.; RECASENS, J.; ROYO-ESNAL, A. Germination behavior of *Conyza bonariensis* to constant and alternate temperatures across different populations. **Annals of Applied Biology**, v. 176, n. 1, p. 36-46, 2020.

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

VARGAS, L.; ROMAN, E.S. **Manejo e controle de plantas daninhas na cultura da soja**. Passo Fundo: EMBRAPA. 2006. (Documentos Online, v. 62)

VITORINO, H. S.; SILVA JUNIOR, A. C.; GONÇALVES, C. G.; MARTINS, D. Interference of a weed community in the soybean crop in functions of sowing spacing. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 48, n. 4, p. 605-613, 2017.

WALKER, S.; BOUCHER, L.; COOK, T.; DAVIDSON, B.; MCLEAN, A.; WIDDERICK, M.; Weed age affects chemical control of *Conyza bonariensis* in fallows. **Crop Protection**, v. 38, p. 15-20, 2012.

WANG, A.; WU, H.; ZHU, X.; LIN, J. Species identification of *Conyza bonariensis* assisted by chloroplast genome sequencing. **Frontiers in Genetics**, v. 9, n. 374, 2018.

WEHTJE, G.; ALTLAND, J. E.; GILLIAM, C. H. Interaction of glyphosate and diquat in ready-to-use weed control products. **Weed Technology**, v. 22, n. 3, p. 472-476, 2008.

WERTH, J.; KEENAN, M.; THORNBY, D.; BELL, K.; WALKER, S. Emergence of four weed species in response to rainfall and temperature. **Weed Biology and Management**, v. 17, n. 1, p. 29-35, 2017.

WRIGHT, T. R.; SHAN, G. M.; WALSH, T. A.; LIRA, J. M.; CUI, C.; SONG, P.; ZHUANG, M.; ARNOLD, N. L.; LIN, G.; YAU, K.; RUSSELL, S. M.; CICCHILLO, R. M.; PETERSON, M. A.; SIMPSON, D. M.; ZHOU, N.; PONSAMUEL, J.; ZHANG, Z.; HAMMOCK, B. D. Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 47, p. 20240–

20245, 2010.

WU, H.; WALKER, S.; ROLLIN, M. J.; TAN, D. K. Y.; ROBINSON, G.; WERTH, J. Germination, persistence, and emergence of flaxleaf fleabane (*Conyza bonariensis* [L.] Cronquist). **Weed Biology and Management**, v. 7, n. 3, p. 192-199, 2007.

YAMASHITA, O. M.; CAMPOS, O. R.; KOGA, P. S.; FREIRE, C. R. O.; MAIA, M. J.; OLIVEIRA, M. A. Efeito de profundidade de semeadura na emergência de picão-preto (*Bidens pilosa*) e fedegoso (*Cassia occidentalis*). **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v. 3, p. 84-91, 2005.

ZAMBRANO-NAVEA, C.; BASTIDA, F.; GONZALEZ-ANDUJAR, J. L. A cohort-based stochastic model of the population dynamic and long-term management of *Conyza bonariensis* in fruiting tree crops. **Crop Protection**, v. 80, p. 15-20, 2016.

ZHENG, D.; KRUGER, G. R.; SINGH, S.; DAVIS, V. M.; TRANEL, P. J.; WELLER, S. C.; JOHNSON, W. G. Cross-resistance of horseweed (*Conyza canadensis*) populations with three different ALS mutations. **Pest Management Science**, v. 67, n. 12, p. 1486-1492, 2011.

ZISKA, L. H.; GEALY, D. R.; BURGOS, N.; CAICEDO, A. L.; GRESSEL, J.; LAWTON-RAUH, A. L.; AVILA, L. A.; THEISEN, G.; NORSWORTHY, J.; FERRERO, A.; VIDOTTO, F.; JOHNSON, D. E.; FERREIRA, F. G.; MARCHESAN, E.; MENEZES, V.; COHN, M. A.; LINScombe, S.; CARMONA, L.; TANG, R.; MEROTTO JR, A. Weedy (red) rice: an emerging constraint to global rice production. **Advances in Agronomy**, v. 129, p. 181-228, 2015.

ZOBIOLE, L. H. S.; AUGUSTO, K. Eficácia de misturas formuladas contendo halauxifen-methyl no controle de soja voluntária DAS-44406-6 (Enlist E3™). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 16, n. 3, p. 192-197, 2017.

ZOBIOLE, L. H. S.; KRENCHINSKI, F. H.; ALBRECHT, A. J. P.; PEREIRA, G.; LUCIO, F. R.; RUBIN, R. S. Controle de capim-amargoso perenizado em pleno florescimento. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.15, n.2, p. 157-164, 2016.

ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; HUBER, D. M.; CONSTANTIN, J.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA JUNIOR, A. Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. **Plant Soil**, v. 328, n. 1-2, p. 57-69, 2010.

ZOBIOLE, L. H. S.; PEREIRA, V. G. C.; ALBRECHT, A. J. P.; RUBIN, R. S.; ADEGAS, F. S.; ALBRECHT, L. P. Paraquat resistance of sumatran fleabane (*Conyza sumatrensis*). **Planta Daninha**, v. 37, p. 1-8, 2019.

ARTIGO A - O FRACIONAMENTO DE INIBIDORES DA ACCASE E A ADIÇÃO DE GLYPHOSATE COMO ESTRATÉGIAS PARA A MELHORIA DO CONTROLE DE CAPIM-AMARGOSO PERENIZADO

RESUMO

A resistência ao glyphosate dificulta o controle do capim-amargoso, principalmente quando perenizado. É necessário, portanto, adotar estratégias que aumentem o controle das plantas e preservem a vida útil dos graminicidas. Objetivou-se responder as seguintes perguntas: i) o fracionamento de doses de inibidores da ACCase melhora o controle de capim-amargoso perenizado? ii) a alternância e a ordem de aplicação dos herbicidas clethodim e quizalofop-P-tefuril melhoram o controle de capim-amargoso perenizado? iii) a adição de glyphosate a inibidores da ACCase contribui no controle de capim-amargoso perenizado resistente aos inibidores da EPSPS? Foram conduzidos dois experimentos em campo (experimentos I e II), com repetição de ambos em 2018 e 2019. No experimento I, os tratamentos foram compostos pela aplicação única ou fracionada de clethodim + quizalofop-P-etílico (216 + 108 g i.a. ha⁻¹); clethodim (216 g i.a. ha⁻¹) e quizalofop-P-tefuril (108 g i.a. ha⁻¹), pela aplicação de clethodim seguida de quizalofop-P-tefuril e vice-versa, além de um tratamento controle. No experimento II, os tratamentos foram a aplicação única ou fracionada de clethodim + quizalofop-P-etílico (216 + 108 g i.a. ha⁻¹) e clethodim (108 g i.a. ha⁻¹), isolados ou associados ao glyphosate, além de um tratamento controle. Em ambos os experimentos o intervalo entre as aplicações fracionadas foi de sete dias. Foram realizadas avaliações de controle, número de perfilhos por planta (NPP) e altura de plantas (AP) de capim-amargoso. O fracionamento de clethodim + quizalofop-P-etílico e clethodim aumentou o controle em 20-24 e 25-30%, respectivamente, em relação as aplicações não fracionadas dos mesmos herbicidas. O herbicida clethodim fracionado apresentou maior controle e menor rebrote e altura das plantas de capim-amargoso. A ordem de aplicação dos herbicidas clethodim e quizalofop-P-tefuril influenciou na eficiência do controle, com melhores resultados em aplicações de quizalofop-P-tefuril seguido de clethodim. A adição de glyphosate potencializou a ação dos graminicidas mesmo sobre capim-amargoso resistente, principalmente quando fracionados, com acréscimo de 26% na eficiência, resultando em controle satisfatório (> 80%).

Palavras-chave: *Digitaria insularis* (L.) Fedde. Inibidores da ACCase. Aplicação sequencial. Clethodim. Quizalofop.

ABSTRACT

The resistance to glyphosate makes it difficult to control sourgrass, especially when perennial, and it is necessary to adopt strategies that increase the control of plants and preserve the useful life of graminicides. The aim was to answer the following questions: i) does fractionating doses of ACCase inhibitors improve the control of perennial sourgrass? ii) does the alternate and the order of application of the herbicides clethodim and quizalofop-P-tefuryl improve the control of perennial sourgrass? iii) does the addition of glyphosate to ACCase inhibitors contribute to the control of perennial sourgrass that are resistant to EPSPS inhibitors? Two field experiments (experiments I and II) were conducted, with repetition of both in 2018 and 2019. In experiment I, the treatments were composed by the single or fractionated application (A) of clethodim + quizalofop-P-ethyl (216 + 108 g a.i. ha⁻¹); clethodim (216 g a.i. ha⁻¹) and quizalofop-P-tefuryl (108 g a.i. ha⁻¹), by the application of clethodim followed by quizalofop-P-tefuryl and vice versa, in addition to a control treatment. In experiment II, the treatments were the single or fractional application of clethodim + quizalofop-P-ethyl (216 + 108 g a.i. ha⁻¹) and clethodim (108 g a.i. ha⁻¹), isolated or associated with glyphosate, in addition to a control treatment. In both experiments, the interval between fractional applications was seven days. Control evaluations, number of tillers per plant (NTP) and height of plants (HP) of sourgrass were performed. The fractionation of clethodim + quizalofop-P-ethyl and clethodim increased the control by 20-24 and 25-30%, respectively, in comparison with applications of the same unfractionated herbicides. The fractionated clethodim herbicide showed greater control and lesser regrowth and height of the sourgrass plants. The order of application of the herbicides clethodim and quizalofop-P-tefuryl influenced the efficiency of the control, with better results in applications of quizalofop-P-tefuryl followed by clethodim. The addition of glyphosate potentiated the action of graminicides even on resistant sourgrass, especially when fractionated, with a 26% increase in efficiency, resulting in satisfactory control (> 80%).

Keywords: *Digitaria insularis* (L.) Fedde. ACCase inhibitors. Sequential application. Clethodim. Quizalofop.

1 INTRODUÇÃO

O capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Fedde) é uma das principais espécies infestantes em sistemas de cultivo no Brasil, principalmente nas regiões em que o inverno não é rigoroso, como as regiões norte do Paraná, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (LOPES OVEJERO et al., 2017). Sua ocorrência se intensificou devido a pressão de seleção exercida pelo uso excessivo do glyphosate (HEAP; DUKE, 2018), principalmente após a adoção de cultivares geneticamente modificadas Roundup Ready® (RR), como a soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e o milho (*Zea mays* L.) (GAZOLA et al., 2016; SILVEIRA et al., 2018).

Além da resistência ao glyphosate, o comportamento invasivo dessa planta daninha está associado as suas sementes leves e pilosas que são facilmente dispersas pelo vento por longas distâncias (GOMES et al., 2017). As sementes apresentam alta viabilidade, germinando em diferentes temperaturas e intensidades luminosas (MENDONÇA et al., 2014), o que garante sua ocorrência durante todo o ano (SILVA et al., 2017). Em função de apresentar numerosos rizomas, a planta se torna vigorosa com formação de touceiras perenizadas (GOMES et al., 2017), aumentando a massa de matéria seca e o conteúdo de lignina dos tecidos vegetais (GILO et al., 2016), o que limita a ação dos herbicidas, devido a menor translocação para os meristemas radiculares. Dessa forma, recomenda-se o controle em estádios iniciais, pois seus tecidos são menos desenvolvidos e viabilizam a absorção e translocação dos herbicidas (FADIN et al., 2018).

Os inibidores da enzima acetil-CoA carboxilase (ACCase) são os principais herbicidas utilizados no controle de plantas daninhas poáceas (ANDRADE et al., 2018; MATZRAFI et al., 2017), tal como o capim-amargoso, principalmente em situações de resistência ao glyphosate. Essa enzima é responsável pela produção de malonil-CoA, o qual é precursor de lipídios (COBB; READE, 2010). Os ariloxifenoxipropanoatos (FOPs) e as ciclohexanodionas (DIMs) compreendem os principais grupos químicos de inibidores da ACCase. Por serem seletivos para culturas eudicotiledôneas, como soja, feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e algodão (*Gossypium hirsutum* L.), esses herbicidas apresentam versatilidade quanto ao período de aplicação, além de compatibilidade com outros ingredientes ativos (TEHRANCHIAN et al., 2017; LANCASTER et al., 2018). Dessa forma, as associações de glyphosate com inibidores da ACCase são indicadas no controle de capim-

amargoso perenizado, tanto em dessecações pré-semeadura quanto em pós-emergência de cultivares de soja RR (GILO et al., 2016).

Em plantas perenizadas, os fabricantes dos graminicidas recomendam a aplicação de doses maiores dos herbicidas. Contudo, sabe-se que a capacidade de absorção de herbicidas pelas plantas é limitada, e que, em algumas situações, doses altas dos herbicidas inibem a sua própria absorção e translocação (NANDULA et al., 2007). Outro aspecto importante é que, mesmo herbicidas sistêmicos, quando em altas doses reduzem a atividade fotossintética das plantas e geram estresse oxidativo, causando necrose de tecidos, danificando o sistema vascular e limitando a translocação (RADWAN; SOLTAN, 2012).

Dessa forma, uma estratégia proposta nesses casos é a aplicação fracionada dos herbicidas. Ou seja, dividir a dose total em duas aplicações. Essa estratégia mostrou-se positiva no controle de capim-marmelada (*Urochloa plantaginea* (Link) R.D. Webster), em que foi possível reduzir em 50% as doses de haloxyfop e sethoxydim quando as doses totais de cada herbicida foram divididas em duas aplicações (FLECK, 1994). Com o fracionamento dos inibidores da ACCase em duas aplicações, outra possibilidade se abre: a alternância dos grupos químicos FOPs e DIMs, uma vez que essa é uma forma importante de se reduzir as chances da ocorrência de resistência aos inibidores da ACCase, uma vez que para a maioria das mutações a resistência não é cruzada para os grupos químicos (POWLES; YU, 2010).

Dessa forma, objetivou-se com este trabalho responder as seguintes perguntas: i) o fracionamento de doses de inibidores da ACCase melhora o controle de capim-amargoso perenizado? ii) a alternância e a ordem de aplicação dos herbicidas clethodim e quizalofop-P-tefuril melhoram o controle de capim-amargoso perenizado? iii) a adição de glyphosate a inibidores da ACCase contribui no controle de capim-amargoso perenizado resistente aos inibidores da enzima 5-enol-piruvil-shiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPS)?

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização da Área Experimental

A pesquisa foi conduzida na área experimental da Universidade Estadual de Londrina, no estado do Paraná, Brasil, latitude 23° 20' 38", longitude 51° 12' 32" e altitude de 555 m. Foram realizados dois experimentos em campo durante o ano de 2018, com repetição de ambos em 2019. O clima da região, segundo a classificação de Köppen-Geiger, é caracterizado como Cfa, temperado subtropical úmido. O solo na área experimental é classificado como Latossolo Vermelho distrófico, constituído por 12% de areia, 36% de silte e 52% de argila; pH (CaCl₂) 4,8; 20,100 g dm⁻³ de matéria orgânica e 8,8 cmol_c dm⁻³ de capacidade de troca catiônica.

A área onde foram conduzidos os experimentos encontrava-se em pousio, com infestação natural de capim-amargoso (*D. insularis*) perenizado, com as plantas medindo aproximadamente 1,2 m de altura.

2.2 Delineamento Experimental e Tratamentos

Ambos os experimentos foram conduzidos em blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições. Cada unidade experimental foi dimensionada com 6,0 m de comprimento e 4,0 m de largura (24 m²), sendo considerada como área útil para as avaliações a área central de cada parcela, desprezando-se 1 m de bordadura em cada lado da parcela.

2.2.1 Experimento I - Fracionamento e alternância de inibidores da ACCase no controle de capim-amargoso

O experimento foi composto por nove tratamentos, apresentados na Tabela 1. Os tratamentos foram compostos pelos herbicidas inibidores da ACCase clethodim + quizalofop-P-etílico (Kroll[®] EC, 240 + 120 g i.a. L⁻¹, Arysta LifeScience), clethodim (Select[®] 240 EC, 240 g i.a. L⁻¹, Arysta LifeScience) e quizalofop-P-tefuril (Panther[®] 120 EC, 120 g i.a. L⁻¹, Arysta LifeScience), aplicados em dose cheia (X) em uma única aplicação (T1, T3 e T5), ou fracionados em duas aplicações (X/2 + X/2)

(T2, T4 e T6) (aplicação A), sendo a segunda aplicação (aplicação B) aos sete dias após a aplicação A. Ainda foi avaliado o efeito da ordem de aplicação, sendo o T7 a aplicação de 50% da dose de clethodim (aplicação A) seguida da aplicação de 50% da dose de quizalofop (aplicação B). No T8 foi invertida a ordem de aplicação dos herbicidas. Em todos os tratamentos contendo graminicidas foi adicionado 0,5% (v/v) do adjuvante alquil ester etoxilado do ácido fosfórico (Lanzar[®], Arysta LifeScience).

Tabela 1 - Tratamentos avaliados para o controle de capim-amargoso perenizado.

Trat.	Aplicação A (g i.a. ha⁻¹)	Aplicação B (g i.a. ha⁻¹)
T1	Clethodim + Quizalofop (216 + 108)	-
T2	Clethodim + Quizalofop (108 + 54)	Clethodim + Quizalofop (108 + 54)
T3	Clethodim (216)	-
T4	Clethodim (108)	Clethodim (108)
T5	Quizalofop (108)	-
T6	Quizalofop (54)	Quizalofop (54)
T7	Clethodim (108)	Quizalofop (54)
T8	Quizalofop (54)	Clethodim (108)
T9	Testemunha	Testemunha

i.a. = ingrediente ativo.

2.2.2 Experimento II - Efeito da adição de glyphosate a inibidores da ACCase no controle de capim-amargoso perenizado resistente aos inibidores da EPSPS

Os tratamentos do experimento II (Tabela 2) foram organizados em esquema fatorial 2 x 2 x 2, além da testemunha como tratamento adicional. O fator A foi composto pelos herbicidas inibidores da ACCase clethodim + quizalofop-P-etílico (Kroll[®] EC, 240 + 120 g i.a. L⁻¹) e clethodim (Select[®] 240 EC, 240 g i.a. L⁻¹). Esses herbicidas foram escolhidos em virtude dos melhores resultados obtidos no experimento I. O fator B correspondeu as formas de aplicação dos herbicidas: em uma única aplicação ou fracionados em duas aplicações, com intervalo de sete dias entre as aplicações. O fator C correspondeu a adição ou não de glyphosate (Crucial[®], 400,80 g L⁻¹ de sal de isopropilamina de glyphosate + 297,75 g L⁻¹ de sal de potássio de glyphosate, Sumitomo Chemical), na dose de 1080 g e.a. ha⁻¹, equivalente a 2,0 L ha⁻¹ do produto comercial. Foi acrescido as caldas 0,5% (v/v) do adjuvante alquil ester etoxilado do ácido fosfórico (Lanzar[®]).

Tabela 2 - Tratamentos avaliados para controle de capim-amargoso perenizado.

Trat.	Aplicação A (g i.a. ha⁻¹)	Aplicação B (g i.a. ha⁻¹)
T1	Clethodim + Quizalofop (216 + 108)	-
T2	Clethodim + Quizalofop (108 + 54)	Clethodim + Quizalofop (108 + 54)
T3	Clethodim + Quizalofop (216 + 108) + Glyphosate (1080)	-
T4	Clethodim + Quizalofop (108 + 54) + Glyphosate (1080)	Clethodim + Quizalofop (108 + 54)
T5	Clethodim (216)	-
T6	Clethodim (108)	Clethodim (108)
T7	Clethodim (216) + Glyphosate (1080)	-
T8	Clethodim (108) + Glyphosate (1080)	Clethodim (108)
T9	Testemunha	Testemunha

i.a. = ingrediente ativo.

2.3 Aplicação dos Tratamentos

Em ambos os experimentos as aplicações dos tratamentos foram realizadas com o auxílio de um pulverizador costal pressurizado à CO₂, equipado com barra de 3 m contendo pontas do tipo jato plano com pré-orifício, modelo ADI 11002, espaçadas 0,5 m entre si e posicionadas a 0,5 m da superfície dos alvos. A pressão de trabalho utilizada foi de 0,414 MPa, velocidade de deslocamento de 1,0 m s⁻¹, resultando em taxa de aplicação equivalente a 150 L de calda ha⁻¹. As pulverizações foram efetuadas sob condições meteorológicas adequadas, com temperatura do ar inferior a 30 °C e umidade relativa do ar acima de 55%.

2.4 Avaliações

Em ambos os experimentos foram realizadas as avaliações visuais de controle (escala de zero a 100, proposta por Frans; Crowley (1986)) aos 21, 35 e 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA). Além do controle, foram avaliados o número de perfilhos por planta (NPP) e altura de plantas (AP) aos 49 DAA. As avaliações de NPP e AP (mensurada do solo até o ápice da última folha, expressa em cm) foram realizadas em cinco plantas aleatoriamente escolhidas na área útil das parcelas. Nas avaliações de NPP, não foram considerados os perfilhos secos ou em estágio avançado de senescência.

2.5 Análises Estatísticas

Em ambos os experimentos os dados foram analisados pela estatística descritiva para obtenção das medidas de tendência central, dispersão e verificação de presença de dados discrepantes. Após a análise exploratória, foram verificadas a normalidade dos erros, a homocedasticidade das variâncias e a independência dos erros por meio dos testes de Shapiro-Wilk, Bartlett e Durbin Watson, respectivamente ($p < 0,05$). Após aceitas as pressuposições, foi realizada a análise de variância considerando a repetição dos experimentos separadamente. Dessa forma, com base na razão entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo, e este sendo menor que sete, foi estabelecido que é possível analisar conjuntamente as repetições dos experimentos (2018 e 2019), visto que não houve também efeito de interação com o fator ano. Após a análise conjunta, se constatado efeito significativo dos fatores estudados ou da interação, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na avaliação de controle, os dados da testemunha sem aplicação do herbicida foram desconsiderados das análises pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), a fim de atender aos pressupostos da análise de variância. Dessa forma, as médias dos tratamentos foram comparadas com a testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). No experimento II, as médias das avaliações foram comparadas com a testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R CORE TEAM, 2021).

3 RESULTADOS

3.1 Experimento I - Fracionamento e Alternância de Inibidores da ACCase no Controle de Capim-amargoso

De acordo com a análise de variância, não houve significância para a interação dos fatores ano agrícola x tratamentos para todas as variáveis avaliadas (APÊNDICE A). No entanto, houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo efetuada, portanto, a comparação entre as médias. Dessa forma, analisaram-se conjuntamente as médias das duas repetições dos experimentos.

Os resultados de controle indicam que o fracionamento da dose dos gramínicidas clethodim + quizalofop-P-etílico e clethodim resultou em maiores porcentagens de controle em relação aos mesmos herbicidas em aplicação única. Para o herbicida quizalofop-P-tefuril, o fracionamento de doses não resultou em incremento na eficiência em nenhuma das avaliações de controle realizadas (Figura 1).

Aos 21 DAA, o fracionamento das doses de clethodim + quizalofop-P-etílico e clethodim aumentou o controle em 16 e 17%, respectivamente, em comparação aos tratamentos não fracionados (Figura 1A). Os melhores controles foram obtidos pelos tratamentos com aplicação de clethodim + quizalofop-P-etílico e clethodim fracionados, com controles de 66 e 70%, respectivamente. Os demais tratamentos resultaram em controles próximos ou inferiores a 50%.

Na avaliação de controle aos 35 DAA, o incremento de controle com o fracionamento dos herbicidas clethodim + quizalofop-P-etílico e clethodim foi de 20 e 23%, respectivamente (Figura 1B). Contudo, o melhor controle foi obtido para a aplicação fracionada de clethodim, chegando a 80%, diferindo dos demais tratamentos. Em seguida, os tratamentos compostos pelo fracionamento de clethodim + quizalofop-P-etílico (controle de 62%) e pela aplicação de quizalofop-P-tefuril seguido de clethodim, ambos com doses fracionadas (controle de 66%). Os demais tratamentos obtiveram controles próximos ou inferiores a 50%.

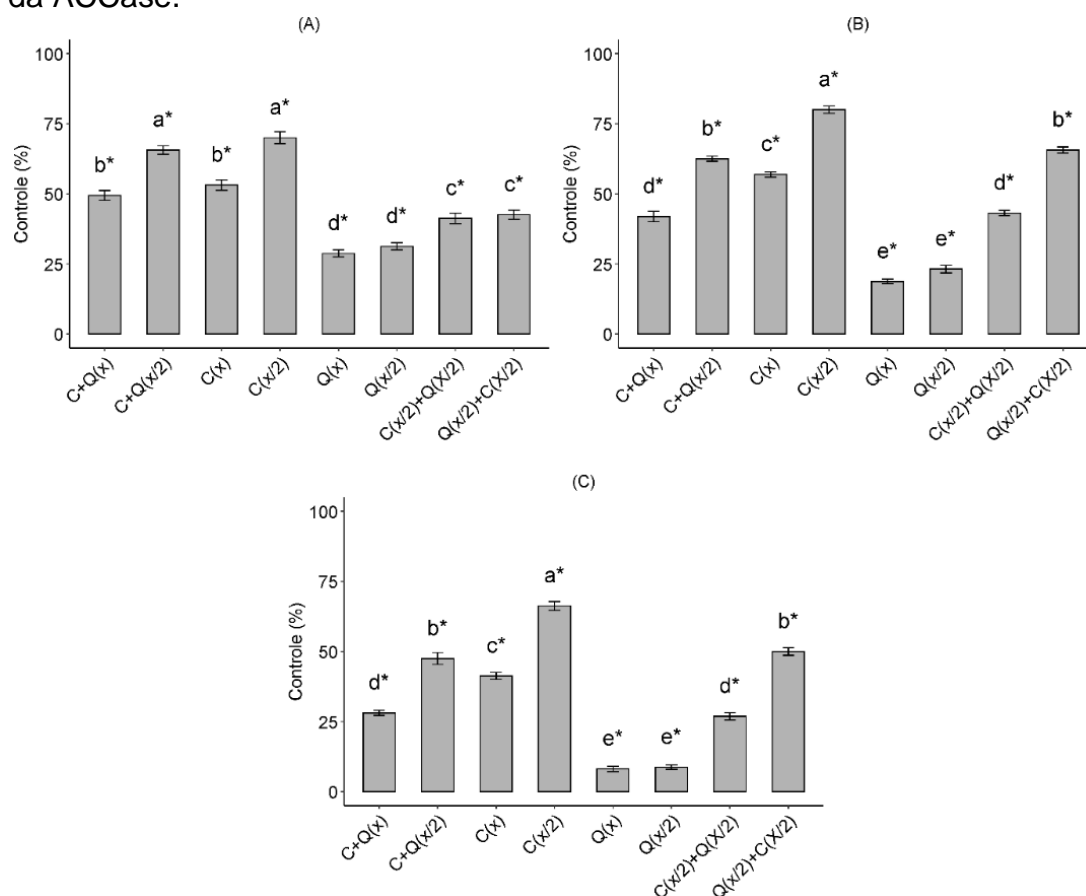
Na última avaliação, aos 49 DAA, o fracionamento de clethodim manteve os melhores níveis de eficiência sobre capim-amargoso, com aproximadamente 66% de controle, diferindo dos demais tratamentos (Figura 1C). Esse controle foi 25% maior em comparação a aplicação de clethodim em dose cheia.

Assim como aos 35 DAA, o fracionamento clethodim + quizalofop-P-etílico e a aplicação sequencial de quizalofop-P-tefuril e clethodim fracionados resultaram em controles na ordem de 50%. Os demais tratamentos apresentaram controles inferiores a 50%.

O controle das plantas em função da ordem de aplicação de clethodim e quizalofop-P-tefuril não resultou em diferenças no controle aos 21 DAA, com ambos os tratamentos proporcionando controle de aproximadamente 42% (Figura 1A). No entanto, aos 35 (Figura 1B) e 49 DAA (Figura 1C), a aplicação de quizalofop-P-tefuril seguida de clethodim apresentou controle 23% superior, em comparação ao clethodim seguido de quizalofop-P-tefuril, os quais foram de 43% aos 35 DAA e 27% aos 49 DAA.

Os tratamentos compostos apenas por quizalofop-P-tefuril apresentaram as menores porcentagens de controle, independentemente do fracionamento ou não e do período de avaliação. A eficiência desse herbicida foi inferior a 30%, embora tenha diferido do tratamento testemunha.

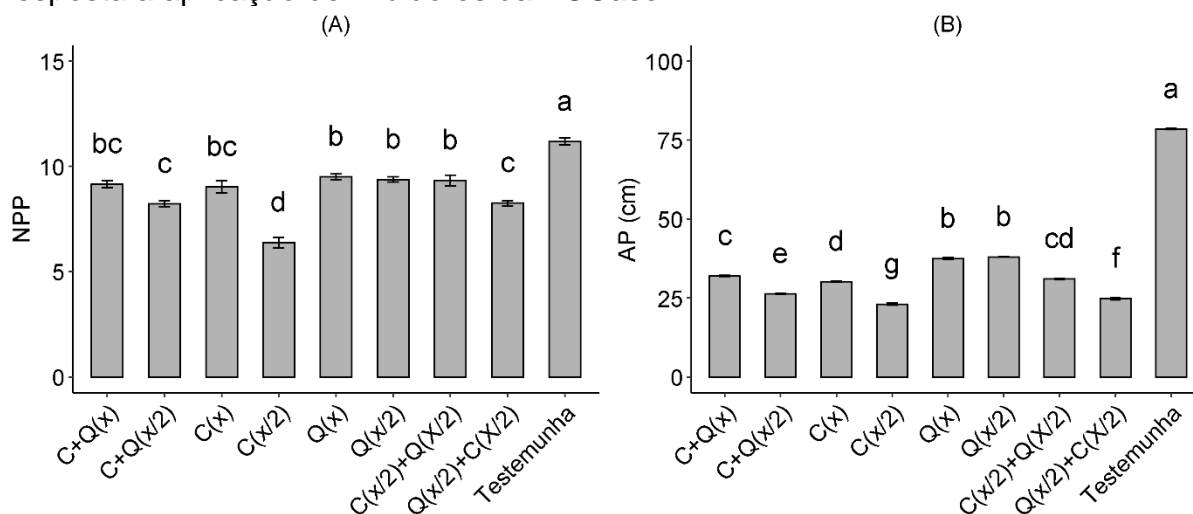
Figura 1 - Controle (%) de capim-amargoso perenizado aos 21 (A), 35 (B) e 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA) (C) em resposta a aplicação de inibidores da ACCase.



Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). C: clethodim; Q: quizalofop; x: 0,9 L ha⁻¹; x/2: 0,45 L ha⁻¹. As barras verticais indicam o desvio padrão.

Os resultados de NPP indicaram efeito significativo das aplicações das caldas compostas por herbicidas (Figura 2A). A testemunha apresentou maior NPP, com cerca de 11 perfilhos por planta. Em consequência do maior controle observado aos 49 DAA no tratamento com clethodim fracionado em duas aplicações, este tratamento apresentou a maior redução para essa variável, com 6,4 perfilhos por planta, diferindo de todos os demais tratamentos. Os demais tratamentos, embora tenham diferido da testemunha, apresentaram elevadas rebrotas, com 8 a 10 perfilhos por planta.

Figura 2 - Número de perfilhos por planta (NPP) (A) e altura de plantas (AP) de capim-amargoso perenizado (B) aos 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA) em resposta a aplicação de inibidores da ACCase.



Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C: clethodim; Q: quizalofop; x: $0,9 \text{ L ha}^{-1}$; x/2: $0,45 \text{ L ha}^{-1}$. As barras verticais indicam o desvio padrão.

Os resultados de AP de capim-amargoso indicam que as plantas tratadas com graminicidas foram afetadas de forma significativa (Figura 2B). Assim como para as demais variáveis, o tratamento clethodim fracionado apresentou os melhores resultados, com redução 71% no crescimento das plantas em comparação a testemunha, a qual apresentou AP de 78 cm (Figura 2B). Em seguida, os tratamentos com a aplicação de quizalofop-P-tefuril seguida de clethodim e o fracionamento de clethodim + quizalofop-P-etílico apresentaram maiores reduções na AP em relação a testemunha, na ordem de 68 e 66%, respectivamente. Os demais tratamentos, embora tenham diferido da testemunha, reduziram a AP em menos de 50%.

3.2 Experimento II - Efeito da Adição de Glyphosate a Inibidores da ACCase no Controle de Capim-amargoso Perenizado Resistente aos Inibidores da EPSPS

De acordo com a análise de variância, os resultados indicam a ocorrência de interação tripla entre os fatores avaliados para o controle aos 21 e 35 DAA, e para o NPP (APÊNDICE B). Também se observa a significância de todos os fatores principais para todas as variáveis avaliadas.

Os resultados de controle indicam que a adição de glyphosate

resultou em maiores porcentagens de controle em relação aos tratamentos que não receberam glyphosate na primeira aplicação, tanto aos 21 DAA, quanto aos 35 DAA (Tabela 3). O incremento no controle variou de 10 a 18%. Aos 21 DAA, no tratamento clethodim + quizalofop-P-etílico com glyphosate, o controle foi de aproximadamente 65% quando o herbicida não foi fracionado. Porém, a aplicação fracionada resultou em controle próximo a 79%. Para o herbicida clethodim associado ao glyphosate o efeito do fracionamento foi ainda melhor, com controle de 87%, comparado a 61% de controle quando o herbicida foi aplicado em uma única aplicação.

Aos 35 DAA, a adição de glyphosate a primeira aplicação de clethodim resultou em controle de 64 e 93% para a aplicação não fracionada e fracionada, respectivamente. Na ausência de glyphosate, esses valores reduziram para 54 e 77% de controle, respectivamente. Dessa forma, a adição de glyphosate e o fracionamento do clethodim resultaram em 39% de incremento no controle de capim-amargoso perenizado e resistente aos inibidores da EPSPS. Quando glyphosate foi adicionado ao herbicida clethodim + quizalofop-P-etílico houve redução na eficiência de controle em relação a avaliação anterior, exceto para aplicação fracionada, a qual resultou em 78% de controle.

Tabela 3 - Controle de capim-amargoso perenizado aos 21 e 35 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA) em resposta ao fracionamento de graminicidas e à adição de glyphosate.

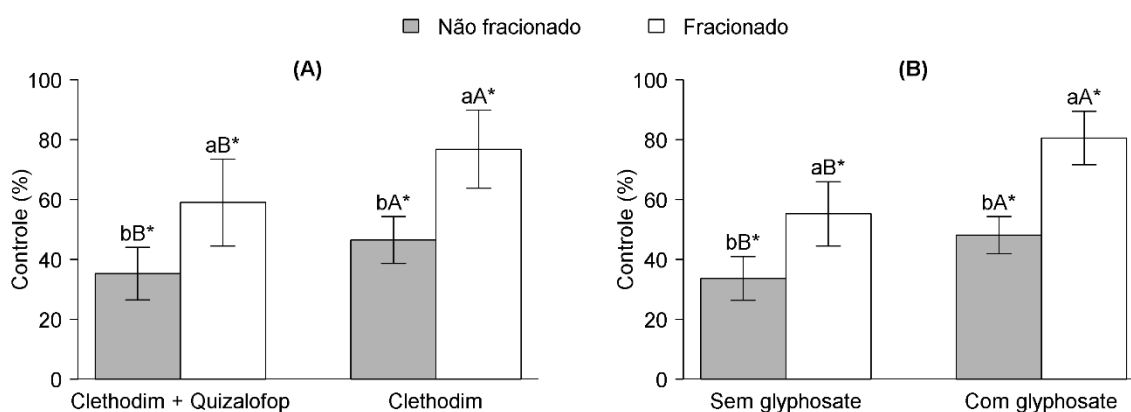
Herbicida graminicida	Forma de aplicação	Glyphosate	
		Sem	Com
21 DAA			
Clethodim + Quizalofop	Fracionado	63,75 aBb*	78,75 aAb*
	Não fracionado	48,13 bBa*	65,00 bAa*
Clethodim	Fracionado	68,75 aBa*	86,88 aAa*
	Não fracionado	51,25 bBa*	61,25 bAb*
35 DAA			
Clethodim + Quizalofop	Fracionado	60,63 aBb*	78,13 aAb*
	Não fracionado	40,63 bBb*	62,50 bAa*
Clethodim	Fracionado	76,88 aBa*	93,13 aAa*
	Não fracionado	53,75 bBa*	64,38 bAa*

Médias seguidas por diferentes letras minúsculas dentro do mesmo nível de herbicida graminicida e glyphosate indicam diferença significativa para o efeito do fracionamento dos graminicidas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na linha indicam diferença significativa para o efeito do glyphosate pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas por diferentes letras minúsculas em itálico dentro do mesmo nível de fracionamento do graminicida e glyphosate indicam diferença significativa para o fator herbicida graminicida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Não fracionado: clethodim (108 g i.a. ha⁻¹) e quizalofop (216 g i.a. ha⁻¹) em uma única aplicação; Fracionado: duas aplicações de clethodim (108 g i.a. ha⁻¹) e quizalofop (216 g i.a. ha⁻¹).

A interação graminicidas x glyphosate não foi significativa para o controle aos 49 DAA (APÊNDICE B). Portanto, na Figura 3B são apresentadas as médias de controle proporcionadas pelos graminicidas e o efeito da adição de glyphosate. Observa-se que, mesmo tratando-se de capim-amargoso resistente ao glyphosate, a sua inclusão a calda de aplicação resulta em incremento significativo no controle, principalmente com a aplicação fracionada dos graminicidas, com acréscimo de 26% no controle. Na ausência de glyphosate, o controle foi de 33 e 55% para a aplicação não fracionada e fracionada, respectivamente, resultando em 22% de aumento com o fracionamento. Contudo, com a adição de glyphosate, o controle foi aumentado para 48% para a aplicação não fracionada dos graminicidas, e para mais de 80% com a aplicação fracionada, resultando em incrementos de 32% no controle em resposta ao fracionamento.

Na avaliação de controle aos 49 DAA, o fracionamento de clethodim + quizalofop-P-etílico resultou em controle de capim-amargoso de 59%, controle 24% maior ao obtido pela aplicação do mesmo herbicida não fracionado, o que obteve apenas 35% de controle (Figura 3A). Assim como nas demais avaliações de controle, o clethodim apresentou melhores índices de controle, tanto fracionado quanto não fracionado. Contudo, o efeito do fracionamento foi ainda melhor, com acréscimo de 30% no controle com o fracionamento, chegando a aproximadamente 77% de controle.

Figura 3 - Controle de capim-amargoso perenizado aos 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA) em resposta ao fracionamento de graminicidas (A) e à adição de glyphosate (B).



Médias seguidas por diferentes letras minúsculas dentro do mesmo nível de herbicida graminicida ou glyphosate indicam diferença significativa para o efeito do fracionamento dos graminicidas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Diferentes letras maiúsculas dentro do mesmo nível de fracionamento do graminicida indicam diferença significativa para o fator herbicida graminicida ou para o efeito do

glyphosate pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Não fracionado: clethodim (108 g i.a. ha⁻¹) e quizalofop (216 g i.a. ha⁻¹) em uma única aplicação; Fracionado: duas aplicações de clethodim (108 g i.a. ha⁻¹) e quizalofop (216 g i.a. ha⁻¹). As barras verticais indicam o desvio padrão.

A adição de glyphosate resultou em melhores resultados para a variável NPP de capim-amargoso quando comparado aos tratamentos que não receberam glyphosate na primeira aplicação, exceto para aplicação fracionada de clethodim, a qual resultou em 6,45 e 5,95 perfilhos vivos por planta na ausência e na presença de glyphosate, respectivamente (Tabela 4). Para o clethodim + quizalofop-P-etílico, as reduções de NPP devido ao glyphosate foram de 1,42 e 1,23 perfilhos vivos por planta, na aplicação sem e com fracionamento, respectivamente. A adição de glyphosate nas aplicações fracionadas de clethodim reduziu aproximadamente 5% a rebrota das plantas em comparação ao clethodim + quizalofop-P-etílico. Contudo, não houve diferença entre os graminicidas associados ao glyphosate nas aplicações não fracionadas.

Tabela 4 - Número de perfilhos por planta (NPP) de capim-amargoso perenizado em resposta ao fracionamento de graminicidas e à adição de glyphosate.

Herbicida graminicida	Forma de aplicação	Glyphosate	
		Sem	Com
Clethodim + Quizalofop	Fracionado	7,48 bAa*	6,25 bBa*
	Não fracionado	9,10 aAa*	7,68 aBa*
Clethodim	Fracionado	6,45 bAb*	5,95 bAa*
	Não fracionado	8,92 aAa*	7,18 aBa*

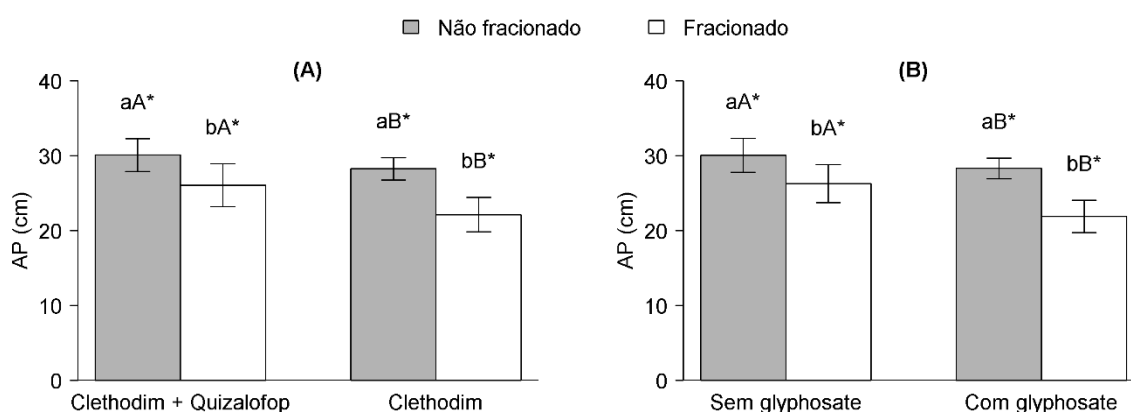
Médias seguidas por diferentes letras minúsculas dentro do mesmo nível de herbicida graminicida e glyphosate indicam diferença significativa para o efeito do fracionamento dos graminicidas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na linha indicam diferença significativa para o efeito do glyphosate pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Médias seguidas por diferentes letras minúsculas em itálico dentro do mesmo nível de fracionamento do graminicida e glyphosate indicam diferença significativa para o fator herbicida graminicida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Não fracionado: clethodim (108 g i.a. ha⁻¹) e quizalofop (216 g i.a. ha⁻¹) em uma única aplicação; Fracionado: duas aplicações de clethodim (108 g i.a. ha⁻¹) e quizalofop (216 g i.a. ha⁻¹).

A interação graminicidas x glyphosate não foi significativa para variável AP de capim-amargoso (APÊNDICE B). Portanto, na Figura 4B são apresentadas as médias de AP proporcionadas pelos graminicidas e o efeito da adição de glyphosate. A adição de glyphosate gerou redução na AP de capim-amargoso ao final das avaliações (Figura 4B). Na ausência de glyphosate, a AP foi de aproximadamente 30 e 26 cm para a aplicação não fracionada e fracionada dos graminicidas, respectivamente. Quando o glyphosate foi adicionado na primeira

aplicação, ocorreu a redução da AP para aproximadamente 28 e 22 cm, respectivamente. Todos os tratamentos diferiram do tratamento testemunha, o qual obteve AP de 81 cm.

O fracionamento dos herbicidas clethodim e clethodim + quizalofop-P-etílico resultou em menor crescimento da rebrota em comparação a aplicação única (Figura 4A). As plantas apresentaram aproximadamente 30 cm quando clethodim + quizalofop-P-etílico não foi fracionado, e altura de 26 cm (-13%) quando o herbicida foi fracionado. Já para o clethodim, a altura de planta foi menor em comparação ao clethodim + quizalofop-P-etílico, principalmente quando o herbicida foi aplicado de forma fracionada, em que verificou AP de 22 cm, cerca de 21% menor ao observado para a aplicação em dose única.

Figura 4 - Altura de plantas (AP) de capim-amargoso perenizado em resposta ao fracionamento de graminicidas (A) e à adição de glyphosate (B).



Médias seguidas por diferentes letras minúsculas dentro do mesmo nível de herbicida graminicida ou glyphosate indicam diferença significativa para o efeito do fracionamento dos graminicidas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Diferentes letras maiúsculas dentro do mesmo nível de fracionamento do graminicida indicam diferença significativa para o fator herbicida graminicida ou para o efeito do glyphosate pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Não fracionado: clethodim ($108 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) e quizalofop ($216 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) em uma única aplicação; Fracionado: duas aplicações de clethodim ($108 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) e quizalofop ($216 \text{ g i.a. ha}^{-1}$). As barras verticais indicam o desvio padrão.

4 DISCUSSÃO

Em ambos os experimentos o fracionamento de clethodim + quizalofop-P-etílico e clethodim resultou em maior controle em comparação aos mesmos herbicidas aplicados em aplicação única (Figuras 1 e 3A). A enzima ACCase catalisa a carboxilação de moléculas de acetil-CoA, produzindo malonil-CoA, o qual é substrato para a biossíntese de ácidos graxos, como os fosfolipídios que são considerados essenciais para os vegetais, em função de ser constituintes das membranas e de camadas da cutícula (ANDRADE et al., 2018; BOZAQUEL-MORAIS et al., 2017, YANG et al., 2018). Em virtude do clethodim + quizalofop-P-etílico e clethodim inibirem a síntese de lipídios, após a primeira aplicação da dose fracionada, ocorre a redução na deposição de cera epicuticular sobre o tecido foliar, e como consequência, favorece o aumento na absorção da segunda aplicação do herbicida (FLECK, 1994). Desse modo, como os herbicidas inibidores da ACCase apresentam dificuldade em ultrapassar a barreira da cutícula (BROMILOW et al., 1990), uma estratégia de aumentar o controle de plantas perenizadas pode ser o fracionamento da dose dos graminicidas.

A adição de glyphosate aos graminicidas clethodim + quizalofop-P-etílico resultou em aumento no controle de capim-amargoso, tanto nas aplicações únicas quanto nas fracionadas. Embora determinadas poáceas resistentes ao glyphosate, como o capim-amargoso e azevém (HEAP, 2021), possam apresentar restrição na translocação (POWLES e YU et al., 2010), uma porcentagem do glyphosate consegue chegar ao local de ação (EPSPS). Dessa forma, quando associado aos inibidores da ACCase, geralmente ocorre aumento do controle dos capins, mesmo em espécies resistentes ao glyphosate (TAKANO et al., 2018). Além disso, o glyphosate promove o controle de outras espécies de plantas daninhas na lavoura.

Considerando os resultados dos dois experimentos, é possível afirmar que o herbicida clethodim fracionado apresentou melhores resultados finais de controle que a associação de clethodim + quizalofop-P-etílico e a aplicação isolada de quizalofop-P-tefuril (Figuras 1C e 3A). As diferenças no controle de capim-amargoso perenizado entre as variações de quizalofop e clethodim podem ser explicadas, em parte, pelas características físicas e químicas desses herbicidas, que influenciam na absorção foliar e na translocação via xilema e/ou floema nas plantas. De acordo com

os valores de coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$) e constante de dissociação eletrolítica (pKa) dos herbicidas, o quizalofop ($\log K_{ow} = 4,66$ e $pKa = 1,25$) é absorvido mais rapidamente que o clethodim ($\log K_{ow} = 1,60$ e $pKa = 4,1$) em função da maior afinidade com as ceras e os demais componentes apolares da cutícula. No entanto, sua mobilidade é restrita, sendo translocado apenas pelo xilema. O clethodim apresenta translocação via xilema e floema, o que pode explicar o maior controle do capim-amargoso perenizado (BROMILOW et al., 1990; RODRIGUES, ALMEIDA, 2018; SHANER, 2014).

O efeito do fracionamento pode ser influenciado pela ordem de aplicação dos herbicidas clethodim e quizalofop-P-tefuril. No presente trabalho, a aplicação de quizalofop-P-tefuril seguida de clethodim proporcionou controle superior de capim-amargoso em comparação ao clethodim seguido de quizalofop-P-tefuril, tanto aos 35 (Figura 1B), quanto aos 49 DAA (Figura 1C). Os FOPs, em sua maioria, apresentam $\log K_{ow}$ elevados, o que favorece a sua absorção pelas cutículas apolares, embora a translocação seja menor (BROMILOW et al., 1990). Para o herbicida fluazifop-butyl, por exemplo, após 72 h de sua aplicação em *Setaria viridis* (L.) P. Beauv., 98,18% estava retido na folha em que foi aplicado e apenas 0,23% havia sido translocado para os meristemas radiculares (CARR et al., 1986). Portanto, ao ser aplicado primeiro, o quizalofop-P-tefuril pode proporcionar o maior afrouxamento das ceras e lesões foliares mais rápidas, principalmente por acumular a maior parte do herbicida na folha. Essas lesões provocam a mobilização das reservas energéticas em direção a recuperação das folhas lesionadas e o crescimento de novas folhas (COBB; READE, 2010).

Além das diferenças entre absorção e translocação, também há diferença no controle das plantas quando aplicado DIM ou FOP em função da sensibilidade da espécie ou da capacidade de metabolização diferenciada entre esses grupos (BURTON et al., 1991). No presente trabalho, para o controle de capim-amargoso, foram consideradas as mesmas doses comerciais de cada um dos graminicidas. Entretanto, a concentração de ingrediente ativo nessas formulações não é proporcional. As doses utilizadas do clethodim contêm maior concentração de ingrediente ativo em comparação ao quizalofop, em seus respectivos produtos comerciais, isolado ou em mistura com clethodim. Mesmo assim, o controle proporcionado pela mistura foi inferior à aplicação isolada de clethodim, o que indica maior eficiência do clethodim na população de capim-amargoso estudada. Contudo,

a sensibilidade da enzima aos graminicidas varia de acordo com a espécie e biótipos de planta daninha. Burton et al. (1989) observaram em plantas de milho 97% de inibição da enzima ACCase quando expostas ao quizalofop na concentração de 1 μ mol, enquanto clethodim na mesma concentração a inibição foi de apenas 60%. Em biótipos de capim-amargoso Gomes; Sambatti; Dalazen (2020) também verificaram maior eficiência de controle do quizalofop em relação ao clethodim. Além da afinidade dos herbicidas com o local de ação, outros processos podem explicar as diferenças de controle geradas por cada herbicida e em cada biótipo. Powles e Yu (2010) relataram 10 eventos de resistência a FOP devido a maior atividade do citocromo P₄₅₀ monoxigenase e somente um caso a DIM, o que indica maior facilidade das plantas em adquirir resistência aos herbicidas do grupo FOP.

Observa-se nos resultados que a aplicação de clethodim isolado apresentou melhor eficiência do que a mistura de clethodim + quizalofop-P-etílico (Figuras 1C e 3). Contudo, embora ocorram essas variações de eficiência, a rotação de grupos químicos FOPs e DIMs ou a mistura desses herbicidas é uma medida importante na prevenção e manejo da resistência aos inibidores da ACCase (BECKIE; TARDIF, 2012; POWLES; YU, 2010). Outro mecanismo de resistência aos grupos químicos pertencentes aos inibidores da ACCase pode ser causado por mutações individuais no sítio de ligação, tornando-se resistente especificamente a um dos grupos químicos (BECKIE; TARDIF, 2012; POWLES; YU, 2010). Há relatos de oito mutações no sítio de ligação da ACCase que impedem a ligação de FOPs, mas apenas três dessas impedem a inibição por DIMs. No entanto, os herbicidas FOPs e DIMs compartilham apenas dois aminoácidos que podem conferir resistência para ambos os grupos, sendo esses a asparagina e a cisteína nas posições 2078 e 2088, respectivamente (POWLES; YU, 2010).

Em capim-amargoso, foi identificada a resistência cruzada devido a mutação pontual em um dos domínios (carboxiltransferase), na posição 2027, com a substituição do aminoácido triptofano por cisteína, afetando a interação entre haloxyfop/pinoxaden e a enzima ACCase, e mantendo a suscetibilidade aos DIMs (TAKANO et al., 2020). No entanto, na aplicação de clethodim + quizalofop-P-etílico ocorre a competição entre os dois herbicidas pelo mesmo sítio de ação (substrato acetil CoA) (BURTON et al., 1991) e a ligação de um desses herbicidas na enzima impede a ligação do outro (RENDINA et al., 1990). Como o quizalofop apresenta absorção mais rápida que o clethodim, normalmente consegue se ligar primeiro no

sítio-alvo. Contudo, por apresentar caráter lipofílico (afinidade por gorduras) tem a translocação restrita apenas via xilema, o que justifica o aumento no controle do tratamento composto por clethodim isolado em comparação ao clethodim + quizalofop-P-etílico (BROMILOW et al., 1990; RODRIGUES, ALMEIDA, 2018; SHANER, 2014).

Embora todos os tratamentos tenham diferido da testemunha, em nenhum tratamento em ambos os experimentos foi observado controle total das plantas no final do período de avaliações, demonstrando a dificuldade de controle de capim-amargoso perenizado. Foi comum a rebrota das plantas, demonstrando a necessidade de intervenções adicionais para controlar os perfilhos emitidos. Portanto, fica clara a necessidade de adotar o manejo integrado e manejar as plantas de capim-amargoso em estádios iniciais de desenvolvimento. Caso contrário, o produtor terá dificuldade para controlar essa espécie, demandando maior aporte financeiro.

5 CONCLUSÃO

A aplicação fracionada dos graminicidas e a adição de glyphosate são estratégias que auxiliaram no controle das plantas de capim-amargoso perenizado resistentes a inibidores da EPSPS. O fracionamento de clethodim + quizalofop-P-etílico e clethodim aumentou o controle em 20-24 e 25-30%, respectivamente, em relação as aplicações não fracionadas dos mesmos herbicidas. O herbicida clethodim fracionado proporcionou maior controle e menor rebrote e altura das plantas de capim-amargoso. A ordem de aplicação dos herbicidas clethodim e quizalofop-P-tefuril influenciou na eficiência do controle, com melhores resultados em aplicações de quizalofop-P-tefuril seguido de clethodim. A adição de glyphosate potencializou a ação dos graminicidas, principalmente quando fracionados, com acréscimo de 26% na eficiência, resultando em controle satisfatório (> 80%).

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, A.; TULMANN-NETO, A.; TCACENCO, F. A.; MARSCHALEK, R.; PEREIRA, A.; OLIVEIRA NETO, A. M.; SCHEUERMANN, K. K.; WICKERT, E.; NOLDIN, J. A. Development of rice (*Oryza sativa*) lines resistant to aryloxyphenoxypropionate herbicides through induced mutation with gamma rays. **Plant Breeding**, v. 137, n. 3, p. 364-369, 2018.
- BECKIE, H. J.; TARDIF, F. J. Herbicide cross resistance in weeds. **Crop Protection**, v. 35, p. 15-28, 2012.
- BOZAQUEL-MORAIS, B. L.; MADEIRA, J. B.; VENANCIO, T. M.; PACHECO-ROSA, T.; MASUDA, C. A.; MONTERO-LOMELI, M. A chemogenomic screen reveals novel Snf1p/AMPK independent regulators of acetyl-CoA carboxylase. **PLoS one**, v. 12, n. 1, 2017.
- BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K.; EVANS, A. A. Physicochemical aspects of phloem translocation of herbicides. **Weed Science**, v. 38, n. 3, p. 305-314, 1990.
- BURTON, J. D.; GRONWALD, J. W.; KEITH, R. A.; SOMERS, D. A.; GENGENBACH, B. G.; WYSE, D. L. Kinetics of inhibition of acetyl-coenzyme A carboxylase by sethoxydim and haloxyfop. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 39, n. 2, p. 100-109, 1991.
- BURTON, J. D.; GRONWALD, J. W.; SOMERS, D. A.; GENGENBACH, B. G.; WYSE, D. L. Inhibition of corn acetyl-CoA carboxylase by cyclohexanedione and aryloxyphenoxypropionate herbicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 34, n. 1, p. 76-85, 1989.
- CARR, J. E.; DAVIES, L. G.; COBB, A. H.; PALLETT, K. E. Uptake, translocation and metabolism of fluazifop-butyl in *Setaria viridis*. **Annals of Applied Biology**, v. 108, n. 1, p. 115-123, 1986.
- COBB, A. H.; READE, J. P. H. Inhibitors of lipid biosynthesis. In: **Herbicides and plant physiology**. 7.ed. Hoboken, 2010. cap. 8, p. 157-175.
- FADIN, D. A.; TORNISIELO, V. L.; BARROSO, A. A. M.; RAMOS, S.; DOS REIS, F. C.; MONQUERO, P. A. Absorption and translocation of glyphosate in *Spermacoce verticillata* and alternative herbicide control. **Weed Research**, v. 58, n. 5, p. 389-396, 2018.
- FLECK, N. G. Doses reduzidas de herbicidas de pós-emergência para controle de papua em soja. **Planta Daninha**, v. 12, n. 1, p. 21-28, 1994.
- FRANS, R.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analysing plant responses to weed control practices. In: CAMPER, N. D. **Research methods in weed science**. 3. ed. Champaign: Southern Weed Science Society, 1986. p. 37.
- GAZOLA, T.; BELAPART, D.; CASTRO, E. B.; CIPOLA FILHO, M. L.; DIAS, M. F. Características biológicas de *Digitaria insularis* que conferem sua resistência à

herbicidas e opções de manejo. **Científica**, v. 44, n. 4, p. 557-567, 2016.

GILO, E. G.; MENDONÇA, C. G.; SANTO, T. L. E.; TEODORO, P. E. Alternatives for chemical management of sourgrass. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 4, p. 881-889, 2016.

GOMES, H. L. L.; SAMBATTI, V. C.; DALAZEN, G. Sourgrass control in response to the association of 2,4-D to Accase inhibitor herbicides. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 4, p. 1126-1136, 2020.

GOMES, L. J. P.; SANTOS, J. I.; GASPARINO, E. C.; CORREIA, N. M. Chemical control and morphoanatomical analysis of leaves of different populations of sourgrass. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

HEAP, I.; DUKE, S. O. Overview of glyphosate-resistant weeds worldwide. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1040-1049, 2018.

HEAP, I. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <www.weedscience.com>. Acesso em: 20 fev. 2021.

LANCASTER, Z. D.; NORSWORTHY, J. K.; SCOTT, R. C. Sensitivity of grass crops to low rates of quizalofop. **Weed Technology**, v. 32, n. 3, p. 304-308, 2018.

LOPES OVEJERO, R. F.; TAKANO, H. K.; NICOLAI, M.; FERREIRA, A.; MELO, M. S. C.; CAVENAGHI, A. L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OLIVEIRA, R. S. Frequency and dispersal of glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis*) populations across Brazilian agricultural production areas. **Weed Science**, v. 65, n. 2, p. 285-294, 2017.

MATZRAFI, M.; SHAAR-MOSHE, L.; RUBIN, B.; PELEG, Z. Unraveling the transcriptional basis of temperature-dependent pinoxaden resistance in *Brachypodium hybridum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1064, 2017.

MENDONÇA, G. S.; MARTINS, C. C.; MARTINS, D.; COSTA, N. V. Ecophysiology of seed germination in *Digitaria insularis* ((L.) Fedde). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 45, n. 4, p. 823-832, 2014.

NANDULA, V. K.; POSTON, D. H.; REDDY, K. N.; KOGER, C. H. Formulation and adjuvant effects on the absorption and translocation of ¹⁴C-clethodim in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Weed Biology and Management**, v. 7, p. 226-231, 2007.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 317-347, 2010.

PRADO, R.; GONZÁLEZ-GUTIÉRREZ, J.; MENÉNDEZ, J.; GASQUEZ, J.; GRONWALD, J. W.; GIMÉNEZ-ESPINOSA, R. Resistance to acetyl CoA carboxylase-inhibiting herbicides in *Lolium multiflorum*. **Weed Science**, v. 48, n. 3, p. 311-318, 2000.

RADWAN, D. E. M.; SOLTAN, D. M. The negative effects of clethodim in photosynthesis and gas-exchange status of maize plants are ameliorated by salicylic acid pretreatment. **Photosynthetica**, v. 50, n. 2, p. 171-179, 2012.

R CORE TEAM (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

RENDINA, A. R.; CRAIG-KENNARD, A. C.; BEAUDOIN, J. D.; BREEN, M. K. Inhibition of acetyl-coenzyme A carboxylase by two classes of grass-selective herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 1282-1287, 1990.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 7.ed. Londrina, 2018. 764 p.

SHANER, D. L. **Herbicide handbook**. 10.ed. Lawrence, 2014. 513 p.

SILVA, W. T.; KARAM, D.; VARGAS, L.; SILVA, A. F. Alternativas de controle químico para capim-amargoso (*Digitaria insularis*) na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 16, n. 3, p. 578-586, 2017.

SILVEIRA, H. M.; LANGARO, A. C.; ÁLCANTARA-DE LA CRUZ, R.; SEDIYAMA, T.; SILVA, A. A. Glyphosate efficacy on sourgrass biotypes with suspected resistance collected in GR-crop fields. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 40, 2018.

TAKANO, H. K.; MELO, M. S. C.; OVEJERO, R. F. L.; WESTRA, P. H.; GAINES, T. A.; DAYAN, F. E. Trp2027Cys mutation evolves in *Digitaria insularis* with cross-resistance to ACCase inhibitors. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 164, p. 1-6, 2020.

TAKANO, H. K.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; SILVA, V. F. V.; MENDES, R. R. Chemical control of glyphosate-resistant goosegrass. **Planta Daninha**, v. 36, 2018.

TEHRANCHIAN, P.; NANDULA, V.; JUGULAM, M.; PUTTA, K.; JASIENIUK, M. Multiple resistance to glyphosate, paraquat and ACCase-inhibiting herbicides in Italian ryegrass populations from California: confirmation and mechanisms of resistance. **Pesticide Management Science**, v. 74, n. 4, p. 868-877, 2017.

YANG, X.; GUSCHINA, I. A.; HURST, S.; WOOD, S.; LANGFORD, M.; HAWKES, T.; HARWOOD, J. L. The action of herbicides on fatty acid biosynthesis and elongation in barley and cucumber. **Pest Management Science**, v. 66, n. 7, p. 794-800, 2010.

ARTIGO B - CONTROLE DE CAPIM-AMARGOSO EM FUNÇÃO DO PERÍODO DE AUSÊNCIA DE LUZ APÓS A APLICAÇÃO DE DIQUAT

RESUMO

A ação de herbicidas inibidores de fotossistemas, como o diquat, necessita de ocorrência de luz após a aplicação para que o estresse oxidativo ocorra. No entanto, o dano oxidativo imediato prejudica a translocação, resultando em rebrota das plantas. Objetivou-se com o trabalho avaliar a eficácia do diquat em plantas de capim-amargoso submetidas a diferentes períodos de ausência de luz após a aplicação do herbicida, assim como avaliar a atividade fotossintética e a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). Foram conduzidos dois experimentos (em campo e casa de vegetação), aplicando-se o herbicida diquat (200 g i.a. ha⁻¹) em plantas de capim-amargoso em estágio de 3-4 perfilhos. As plantas tratadas foram submetidas a diferentes períodos de ausência de luz após a aplicação do diquat: zero, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 h, além da testemunha sem aplicação. Foram realizadas avaliações de controle e massa das plantas de capim-amargoso em ambos os experimentos, além da avaliação da atividade fotossintética e do acúmulo foliar de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) no experimento em casa de vegetação. Os resultados indicaram o aumento do controle de capim-amargoso com o aumento do período de restrição luminosa após a aplicação de diquat. Observou-se a necessidade de 6 h de ausência de luz após a aplicação de diquat para controlar totalmente (100%) as plantas de capim-amargoso, enquanto que plantas que permaneceram no sol desde a aplicação tiveram controle inferior a 50%. O aumento do período de ausência de luz após a aplicação de diquat resultou em redução da atividade fotossintética e, conseqüentemente, menor acúmulo de H₂O₂. Dessa forma, a manutenção de plantas de capim-amargoso no escuro, por pelo menos 6 h, possibilita o controle total das plantas, prevenindo a rebrota.

Palavras-chave: *Digitaria insularis* (L.) Fedde. Espécie reativa de oxigênio. Estresse oxidativo. Horário de aplicação. Inibidores do fotossistema I.

ABSTRACT

The action of photosystem-inhibiting herbicides, such as diquat, using the occurrence of light after an application for what occurs to oxidative stress. However, the immediate oxidative damage impairs translocation, resulting in regrowth of the plants. The aim of this work was to evaluate the effectiveness of diquat in sourgrass plants submitted to different periods of absence of light after application of the herbicide, as well as to evaluate the photosynthetic activity and the production of reactive oxygen species (ROS). Two experiments (field and greenhouse) were conducted by applying the herbicide diquat (200 g a.i. ha⁻¹) on sourgrass plants at the 3-4 tillers stage. The treated plants were subjected to different periods of absence of light after diquat application: 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 h, in addition to the control without application. Control and mass evaluations of the sourgrass plants were performed in both experiments, as well as evaluations of the photosynthetic activity and hydrogen peroxide (H₂O₂) accumulation in the leaves in the greenhouse experiment. The results showed an increase sourgrass control with an increase in the period of light restriction after diquat application. There was a need for 6 h of absence of light after diquat application to fully control (100%) the sourgrass plants, whereas plants that remained in the sun since application had less than 50% control. The increase in the period of absence of light after diquat application resulted in a reduction in photosynthetic activity and, consequently, lower accumulation of H₂O₂. Thus, the maintenance of sourgrass plants in the dark, for at least 6 h, enables total control of the plants, preventing regrowth.

Keywords: *Digitaria insularis* (L.) Fedde. Reactive oxygen species. Oxidative stress. Application time. Photosystem I inhibitors.

1 INTRODUÇÃO

O capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Fedde) é uma Poaceae, com capacidade de se propagar por rizomas e por sementes (MACHADO et al., 2008). A produção de sementes, que são leves e pilosas, facilita a dispersão pelo vento por longas distâncias, ou ainda por meio do transporte de máquinas agrícolas, tornando o capim-amargoso uma planta daninha presente nos sistemas de cultivos de grande parte do território brasileiro e de outros países da América do Sul (GOMES et al., 2017; LOPEZ OVEJERO et al., 2017). Somado a a facilidade de propagação e dispersão, o advento das cultivares Roundup Ready® (RR) levou ao uso indiscriminado de glyphosate, que resultou na seleção de biótipos resistentes (HEAP, 2021), exigindo a utilização de herbicidas de outros mecanismos de ação para o controle da espécie (GILO et al., 2016).

Uma das alternativas de controle dessa infestante é por meio de aplicações de gramínicidas, como os inibidores da enzima acetil-CoA carboxilase (ACCase) (ANDRADE et al., 2018; LOPEZ OVEJERO et al., 2017). No entanto, a rotação de mecanismo de ação faz-se necessária a fim de evitar a seleção de biótipos resistentes. Assim, a utilização de inibidores do fotossistema I (FSI), como o paraquat e o diquat, também é uma opção de controle do capim-amargoso, principalmente em operações de dessecação (COBB; READE, 2010) e em aplicações sequenciais a herbicidas sistêmicos (ANDREOTTI et al., 2019). Contudo, com a proibição da comercialização e uso do paraquat no Brasil (ANVISA, 2017), o herbicida diquat torna-se a única opção dentro desse mecanismo de ação.

O diquat [6,7-dihydrodipyrrodo (1,2-a:2',1'-c) pyrazinediium dibromide] é um herbicida pertencente ao grupo dos bipiridilos, o qual compreende herbicidas cátions divalentes que desviam o fluxo de elétrons no FSI (RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Esses elétrons, ao reagirem com o oxigênio na presença de luz, formam EROs, tais como $O_2^{\cdot-}$ (ânion superóxido), H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) e OH^{\cdot} (radical hidroxila). O acúmulo de EROs resulta em estresse oxidativo nas plantas devido a peroxidação lipídica e alteração da estabilidade das membranas, que pode desencadear a morte celular (HESS, 2000; HAWKES, 2014; CHANG et al., 2016).

Esse herbicida é conhecido por apresentar maior eficiência de controle em eudicotiledôneas (CALDERBANK; SLADE, 1976), por essas plantas normalmente apresentarem maior área foliar, o que possibilita melhor cobertura das

gotas pulverizadas. A limitação do diquat em gramíneas ocorre pela arquitetura foliar, presença de tricomas e principalmente pela presença de cera epicuticular cristalina, interferindo no molhamento foliar e no período de retenção das gotas, enquanto nas espécies eudicotiledôneas, predomina-se a cera epicuticular amorfa que permite maior absorção (DE RUITER et al., 1999; MACHADO et al., 2008). Além disso, em eudicotiledôneas os meristemas são expostos, enquanto em gramíneas, durante a fase vegetativa, o meristema apical geralmente está posicionado internamente na base dos colmos, próximo da superfície do solo o que dificulta o controle (COSTA et al., 2004). Outro fator limitante é que, em algumas poáceas, tal como o capim-amargoso, há presença de estruturas de reservas ricas em amido, que permitem a rebrota das plantas (MACHADO et al., 2008).

Em virtude da translocação limitada, a ação do diquat tende a ser mais eficiente com o uso de taxa de aplicação elevada (> 200 L de calda ha^{-1}) e de adjuvantes, o que permite o espalhamento das gotas de pulverização, resultando em aumento da cobertura foliar e, conseqüentemente, absorção do herbicida (COSTA et al., 2014; GITSOPOULOS; DAMALAS; GEORGOULAS, 2014). Devido a translocação ser autoinibida em aplicações sob plena luz solar, a eficiência do herbicida fica restrita as plantas em estágio inicial de crescimento ou em aplicações sequenciais, após a aplicação de herbicidas sistêmicos (TAHMASEBI et al., 2018).

Em função da rápida produção de EROs em aplicações realizadas na presença de luz, a aplicação noturna pode melhorar a eficiência desses herbicidas. Pitelli et al. (2011) observaram que aplicações noturnas (21:00 h) resultaram em maior controle de aguapé (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) em relação as plantas tratadas às 13:00 h. Sua aplicação na ausência de luz evita o dano imediato causado pelo acúmulo de EROs e, assim, permite a maior translocação do herbicida, potencializando o estresse oxidativo quando expostas a luz (MONTGOMERY et al., 2017). Entretanto, o herbicida necessita atingir as estruturas de reserva para que não ocorra a rebrota das plantas e o controle seja considerado satisfatório.

Embora se saiba que a aplicação noturna melhora a eficiência de bipiridilos, não há informações sobre o controle de capim-amargoso e período de ausência luminosa necessário para que ocorra a translocação do herbicida, antes da ocorrência de estresse oxidativo. Dessa forma, objetivou-se com este trabalho avaliar a eficácia do diquat em plantas de capim-amargoso submetidas a diferentes períodos de ausência de luz após a aplicação do herbicida, assim como avaliar a atividade

fotossintética e a produção de EROs.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida na área experimental da Universidade Estadual de Londrina, no estado do Paraná, Brasil, latitude 23° 20' 30", longitude 51° 12' 40" e altitude de 560 m. Foram realizados dois experimentos durante o ano de 2019, sendo um em campo e outro em casa de vegetação.

2.1 Caracterização da Área, Origem e Produção do Material Vegetal

2.1.1 Experimento I – Campo

O experimento foi conduzido em parcelas com dimensões de 6,0 m de comprimento e 4,0 m de largura (24 m²), sendo considerada como área útil para as avaliações um m² na área central de cada parcela. O solo na área experimental é classificado como Latossolo vermelho distrófico, constituído por 12% de areia, 36% de silte e 52% de argila; pH (CaCl₂) 4,80; 20,100 g dm⁻³ de matéria orgânica e 8,8 cmol_c dm⁻³ de capacidade de troca catiônica. A área onde foi conduzido o experimento encontrava-se em pousio, com infestação natural de capim-amargoso (*D. insularis*) resistente ao glyphosate. Durante a condução do experimento (outubro e novembro de 2019), a precipitação pluviométrica total foi de 55,0 mm, e a temperatura média do ar de 25,4 °C.

2.1.2 Experimento II – Casa de Vegetação

O experimento foi conduzido em vasos de poliestireno expandido com capacidade de 0,5 dm³, preenchidos com Latossolo vermelho distrófico peneirado, constituído por 30% de areia, 25% de silte e 45% de argila; pH (CaCl₂) 5,30; 20,10 g kg⁻¹ de matéria orgânica e 9,90 cmol_c dm⁻³ de capacidade de troca catiônica. Foram coletadas sementes de capim-amargoso na mesma área em que o experimento de campo foi conduzido, e semeadas em bandejas plásticas contendo uma camada de 10 cm de substrato orgânico. Após a germinação, foi transplantada uma plântula de capim-amargoso por vaso. As plantas foram irrigadas por aspersão diariamente desde o transplante até a véspera da aplicação dos tratamentos. Após isso, a irrigação foi

realizada diretamente no solo para evitar a interferência na absorção do herbicida.

2.2 Delineamento Experimental e Tratamentos

Em ambos os experimentos o delineamento adotado foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e quatro repetições. Utilizou-se o herbicida diquat (Reglone[®], 200 g i.a. L⁻¹, Syngenta) na dose de 200 g i.a. ha⁻¹, acrescido de 0,5% (v/v) do adjuvante hidrocarboneto alifático e aromático (Joint'Oil[®], Dow AgroSciences). Os tratamentos consistiram em diferentes períodos de ausência de luz solar após a aplicação da calda de pulverização, sendo zero, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 h, além da testemunha sem aplicação de herbicida. A restrição luminosa foi obtida a partir da cobertura total das plantas, com caixas constituídas por três camadas de papelão ondulado. No experimento I, conduzido em campo, essa cobertura foi realizada em um m² na área central das parcelas.

2.3 Aplicação dos Tratamentos

Em ambos os experimentos as aplicações das caldas foram realizadas quando as plantas de capim-amargoso se encontravam com aproximadamente 3-4 perfilhos e 0,15 m de altura. A pulverização foi realizada com o auxílio de um pulverizador costal pressurizado à CO₂, equipado com pontas do tipo jato plano com pré-orifício, modelo ADI 11002, espaçadas 0,5 m entre si e posicionadas a 0,5 m da superfície dos alvos. A pressão de trabalho utilizada foi de 0,414 MPa, com velocidade de deslocamento de 1,0 m s⁻¹, resultando em uma taxa de aplicação equivalente a 150 L de calda ha⁻¹. As aplicações das caldas foram efetuadas às 11:00 h, sob as condições apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições meteorológicas no momento das aplicações das caldas em condições de campo e casa de vegetação.

Experimento I – Campo		
PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)	UR (%)
154,5	25,2	67,0
1351,2	28,3	59,5
102,7	26,2	63,5
Experimento II – Casa de Vegetação		
PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)	UR (%)
145,7	24,6	63,1
1339,2	30,1	52,5
55,1	28,4	54,0

PAR: radiação fotossinteticamente ativa; T: temperatura; UR: umidade relativa.

2.4 Avaliações

Em ambos os experimentos foram realizadas as avaliações visuais de controle aos 7 e 15 dias após o tratamento (DAT). Em cada avaliação foram atribuídas notas em escala percentual, em que zero e cem representam ausência de injúria e morte das plantas, respectivamente (FRANS; CROWLEY, 1986). Aos 15 DAT, as plantas foram coletadas e pesadas para determinação da massa fresca da parte aérea (MFPA). Posteriormente, os materiais foram acondicionados em sacos de papel e secos em estufa com circulação forçada de ar a 60°C até atingirem massa constante, a fim de determinar a massa seca da parte aérea (MSPA). No experimento I, conduzido em campo, as avaliações para determinação de MFPA e MSPA foram realizadas em três plantas por unidade experimental, aleatoriamente escolhidas na área útil das parcelas.

No experimento de casa de vegetação também foram avaliadas a atividade do fotossistema II (FSII) e o acúmulo de H_2O_2 . A atividade do FSII foi avaliada por meio de fluorescência da clorofila *a* medida em folhas do terço médio de cada planta, no início da manhã (a partir das 07:00 h), 20 h após a aplicação do herbicida, utilizando-se um fluorômetro OS1p (Opti-Sciences, Hudson, NH, EUA). O rendimento quântico máximo do FSII foi determinado pela relação F_v/F_m em folhas adaptadas ao escuro durante 15 min, em que F_v é a fluorescência variável e F_m é a fluorescência máxima obtidas após a aplicação de um pulso de luz saturante (BAKER, 2008). O rendimento quântico efetivo do FSII foi obtido por meio da razão $\Delta F/F_m'$, em que ΔF e F_m' são as fluorescências variável e máxima da clorofila, respectivamente, medidas em folhas adaptadas a luz. A taxa relativa de transporte linear de elétrons

pelo FSII (rETR) foi calculada como $rETR = \Delta F/F_m' \times PAR \times 0,5 \times 0,84$, em que PAR é a radiação fotossinteticamente ativa; 0,5 é a partição da luz entre os fotossistemas; e 0,84 o coeficiente de absorção da folha (BAKER, 2008). Embora o diquat seja um inibidor de FSI, a ação das EROs produzidas em sua decorrência afeta diversos componentes dos cloroplastos (incluindo as membranas e os pigmentos fotossintetizantes), o que leva também à inibição da atividade do FSII (ASADA, 1999; SCHMITZ-EIBERGER; NOGA, 2001; BASI; NOGA; HUNSCHE, 2013).

A avaliação do acúmulo de EROs foi realizada por meio da determinação do conteúdo de H_2O_2 em uma folha do terço médio por unidade experimental, 7 h após a aplicação do diquat. No momento da coleta, as amostras foram alocadas individualmente em envelopes de papel alumínio, imediatamente imersos em nitrogênio líquido e transferidos para biofreezer a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ até o momento das análises. As folhas (0,1 g) foram maceradas em cadinho com nitrogênio líquido e extraídas com 1,2 mL de ácido tricloroacético (0,2%) diluído em metanol. Após centrifugação a $15.645 \times g$, a $4\text{ }^\circ\text{C}$ por 5 min, o sobrenadante foi utilizado para a dosagem de H_2O_2 , pela reação com iodeto de potássio 1 M em tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,5). A leitura da absorbância foi realizada em leitor de microplacas (Perkin Elmer, modelo Victor TM 3, Turku, Finlândia) a 390 nm e os níveis de H_2O_2 foram calculados por meio do uso de uma curva padrão feita com concentrações conhecidas de H_2O_2 , e expressos em nmol por grama de massa fresca de folha (nmol g^{-1} MF) (ALEXIEVA et al., 2001).

2.5 Análises Estatísticas

Em ambos os experimentos, os dados foram analisados pela estatística descritiva para estudar as medidas de tendência central, de dispersão e verificação de presença de dados discrepantes. As médias das avaliações foram explicadas por meio de modelos de regressão ($p < 0,05$). Foram definidos estimadores dos parâmetros do modelo a ser utilizado, e em seguida verificou-se sua adequação para descrever o fenômeno desejado. O modelo de regressão escolhido foi de acordo com o teste de hipótese, envelope simulado, coeficiente de determinação ajustado (R^2), coeficiente de correlação de Pearson (r), análise de resíduos e teste F parcial. Após a análise exploratória foram verificadas a normalidade dos erros, a

homocedasticidade das variâncias e a independência dos erros por meio dos testes de Shapiro-Wilk, Bartlett e Durbin Watson, respectivamente ($p < 0,05$). Após aceitas as pressuposições foi realizada a análise de variância. Os dados da testemunha sem aplicação do herbicida foram desconsiderados das análises estatísticas, a fim de atender aos pressupostos da análise de variância. Foram realizadas transformações dos dados de controle aos 7 $\left(\frac{x^{0,5}-1}{0,5}\right)$ e 15 DAT $\left(\frac{x^{0,5}-1}{0,5}\right)$ do experimento em campo, além dos dados de controle aos 7 DAT $\left(\frac{x^{1,5}-1}{1,5}\right)$ e MSPA $\left(\frac{x^{0,1}-1}{0,1}\right)$ do experimento em casa de vegetação. Foi avaliado o coeficiente de correlação de Pearson (r) ($p < 0,05$) entre as variáveis do experimento II. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software R (R CORE TEAM, 2021).

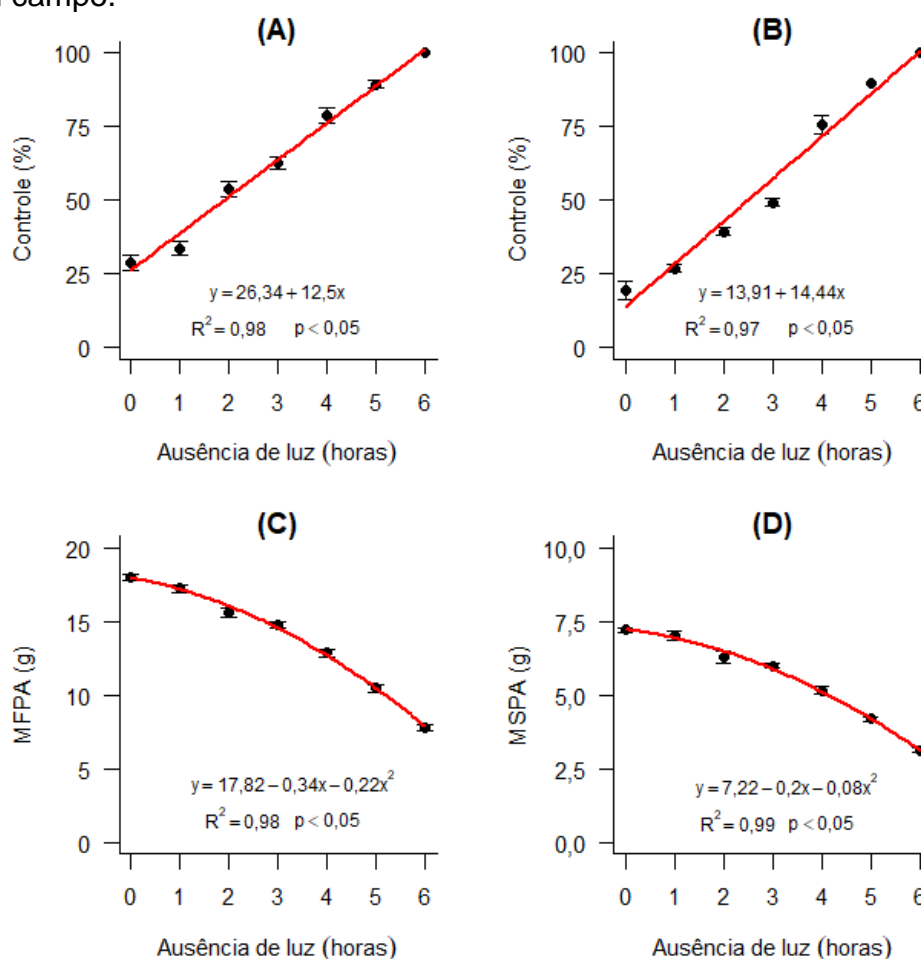
3 RESULTADOS

3.1 Experimento I – Campo

O modelo de regressão linear ajustado evidencia associação positiva entre o período de ausência luminosa após a aplicação do diquat e o controle de plantas de capim-amargoso (Figuras 1A e 1B). Assim, a medida que aumentou o período da ausência de luz após a aplicação do herbicida, os controles aumentaram a uma taxa de 12,5 e 14,4% a cada hora a mais de restrição luminosa aos 7 e 15 DAT, respectivamente. Foram necessárias 6 h de ausência luminosa após a aplicação do diquat para que o controle fosse total (100%), tanto aos 7 DAT (Figura 1A) quanto aos 15 DAT (Figura 1B). Em tratamentos com períodos de ausência luminosa inferiores a 4 h, as plantas se recuperaram aos 15 DAT, reduzindo o controle em comparação a avaliação aos 7 DAT. Em plantas mantidas na luz solar desde a aplicação, o controle na última avaliação foi de apenas 20%, demonstrando a ineficiência desse herbicida sobre capim-amargoso quando aplicado sob condições de plena luminosidade.

Em relação as avaliações de crescimento, houve uma associação negativa entre MFPA ou MSPA e o período de ausência luminosa após a aplicação do diquat (Figuras 1C e 1D). Corroborando os dados de controle, as maiores reduções de MFPA e MSPA ocorreram no tratamento com maior período de restrição luminosa após a aplicação do herbicida, com reduções de 57 e 56%, respectivamente, em relação ao tratamento sem restrição luminosa.

Figura 1 - Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de capim-amargoso em função de períodos de ausência de luz após a aplicação do diquat em campo.



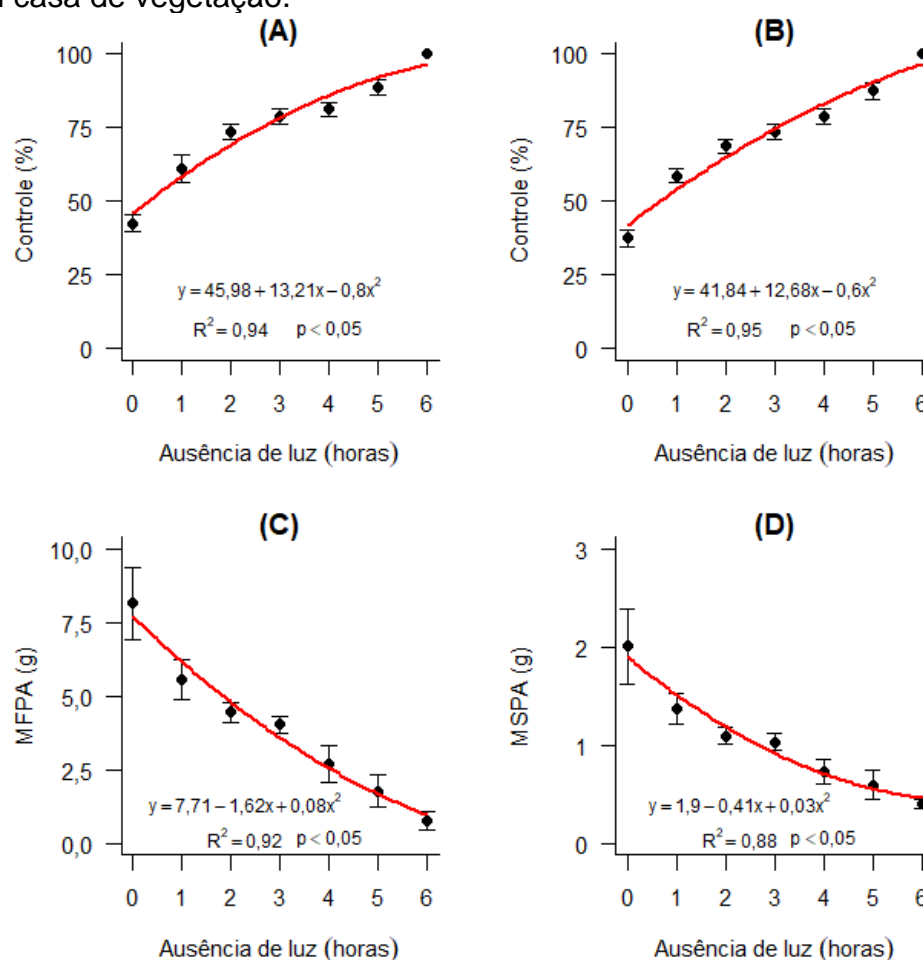
As médias utilizadas para a construção da regressão das variáveis controle aos 7 e 15 DAT (A e B) foram oriundas da transformação dos dados em $\frac{x^{0,5}-1}{0,5}$. Os pontos indicam as médias, e as barras verticais indicam o desvio padrão.

3.2 Experimento II – Casa de Vegetação

Assim como observado no experimento no campo, o controle de plantas de capim-amargoso com diquat em casa de vegetação apresentou associação positiva com o período de ausência de luz após a aplicação do herbicida. Quando as plantas foram mantidas por 6 h no escuro após a aplicação do diquat, o controle foi total, tanto na avaliação aos 7 DAT (Figura 2A) quanto aos 15 DAT (Figuras 2B e 3). Quando as plantas foram privadas de luz por 5 h, o controle foi de aproximadamente 90% nas duas avaliações, com plantas apresentando necrose em praticamente todo o tecido foliar, mas mantendo os colmos túrgidos e verdes, com possibilidade de

recuperação (Figura 3). Nos demais tratamentos, com menores períodos de restrição luminosa, o controle foi inferior a 80%, com recuperação das plantas na segunda avaliação, aos 15 DAT (Figura 2B), em comparação a avaliação aos 7 DAT (Figura 2A). No tratamento zero, em que as plantas foram mantidas na luz solar desde a aplicação do diquat, o controle foi de 42% aos 7 DAT, e reduziu-se a 37% na avaliação realizada aos 15 DAT, evidenciando a baixa eficiência e a recuperação das plantas quando a aplicação é realizada e as plantas são mantidas na luz (Figuras 2A, 2B e 3). A redução no controle observada nesses tratamentos é devido a ocorrência de rebrota das plantas, com a exposição de tecido verde das plantas de capim-amargoso (Figura 3). Nesses tratamentos, a injúria causada por diquat ocorreu apenas nos locais em que houve contato direto do herbicida.

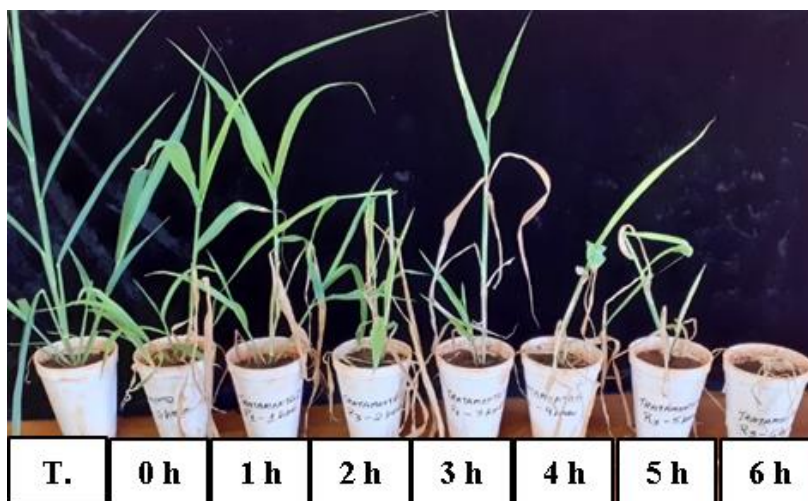
Figura 2 - Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de capim-amargoso em função de períodos de ausência de luz após a aplicação do diquat em casa de vegetação.



As médias utilizadas para a construção da regressão das variáveis controle aos 7 DAT (A) e massa seca da parte aérea (D) foram oriundas da transformação dos dados em $\frac{x^{1,5}-1}{1,5}$ e $\frac{x^{0,1}-1}{0,1}$, respectivamente.

Os pontos indicam as médias, e as barras verticais indicam o desvio padrão.

Figura 3 - Plantas de capim-amargoso submetidas a diferentes períodos de ausência de luz (0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 h) após a aplicação do herbicida diquat.



Os sintomas foram registrados aos 15 dias após a aplicação do diquat. T. se refere a testemunha sem aplicação do herbicida.

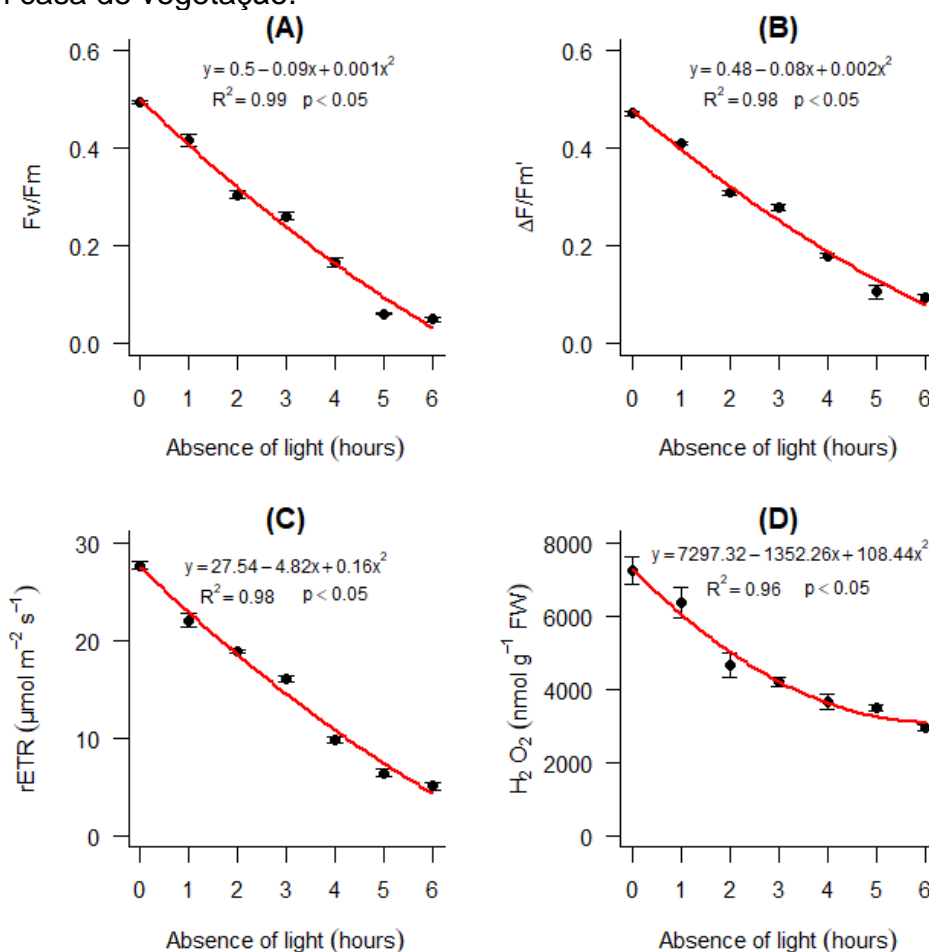
Em consequência da injúria provocada pelo diquat, houve interferência nos resultados de acúmulo de MFPA e MSPA. Houve uma associação negativa entre a MFPA ou MSPA das plantas de capim-amargoso e o período de ausência luminosa após a aplicação do diquat (Figuras 2C e 2D). No tratamento com 6 h de ausência de luz, essas variáveis foram reduzidas em 90 e 80%, respectivamente, em comparação as plantas expostas a luminosidade logo após a aplicação.

As avaliações dos parâmetros fotossintéticos indicam que a atividade fotossintética das plantas de capim-amargoso tratadas com diquat foi reduzida em resposta ao tempo de restrição luminosa, principalmente nos tratamentos a partir de 2 h (Figura 4). A razão F_v/F_m reduziu de 0,495 em plantas que ficaram expostas a luz desde a aplicação do herbicida para menos de 0,306 nos tratamentos com 2 h ou mais de restrição luminosa (Figura 4A). Nas plantas testemunhas, sem a aplicação de herbicida, a razão F_v/F_m foi de 0,770. Já os valores de $\Delta F/F_m'$ reduziram de 0,470 para 0,09, comparando-se as plantas tratadas que não foram privadas de luz com aquelas que foram mantidas por 6 h no escuro (Figura 4B). Na testemunha sem herbicida, o $\Delta F/F_m'$ foi de 0,540. Assim como os demais parâmetros fotossintéticos, a rETR também foi reduzida conforme aumentou o período de ausência luminosa após a aplicação de diquat (Figura 4C). Quando as plantas foram mantidas na luz desde a

aplicação do herbicida, a rETR foi de $27,68 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e de apenas $5,08 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ quando as plantas foram mantidas por 6 h no escuro após a aplicação. No tratamento testemunha, a rETR foi de $34,55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Os resultados de acúmulo de H_2O_2 coincidem com os parâmetros fotossintéticos avaliados, ou seja, houve redução no acúmulo dessa ERO com o aumento do período de restrição luminosa após a aplicação de diquat (Figura 4D). No tratamento sem exclusão de luz após a aplicação, o acúmulo de H_2O_2 foi de aproximadamente $7238,86 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF}$. Contudo, em plantas que foram mantidas no escuro por 6 h, o acúmulo de H_2O_2 foi de aproximadamente $2941,87 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF}$, sendo inclusive inferior ao valor da testemunha sem herbicida ($3723,96 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF}$), a qual permaneceu na luz.

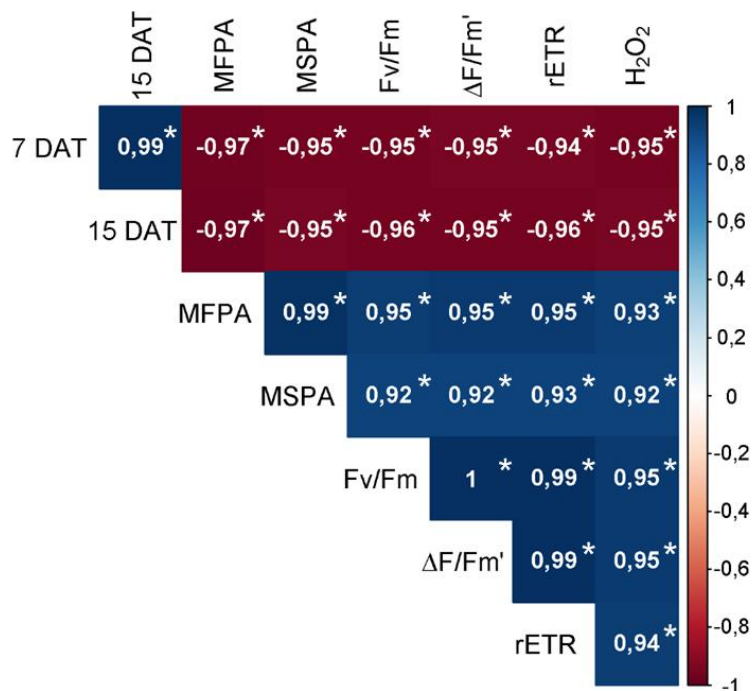
Figura 4 - Rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m) (A), rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Delta F/F_m'$) (B), taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) (C) e concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (D) de capim-amargoso em função da ausência de luz após a aplicação do diquat em casa de vegetação.



Os pontos indicam as médias, e as barras verticais indicam o desvio padrão.

Houve uma correlação positiva entre as porcentagens de controle avaliadas aos 7 e 15 DAT (Figura 5). Conforme esperado, os controles de ambas as avaliações se correlacionaram negativamente com as massas fresca e seca da parte aérea de plantas de capim-amargoso. Além disso, foram observadas correlações negativas entre as porcentagens de controle aos 7 ou 15 DAT e os parâmetros fisiológicos de plantas de capim-amargoso (F_v/F_m , $\Delta F/F_m'$, rETR e concentração foliar de H_2O_2). Todas as variáveis fisiológicas e de massa se correlacionaram positivamente entre si.

Figura 5 - Coeficiente de correlação de Pearson (r) das variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m), rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($\Delta F/F_m'$), taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) e concentração foliar de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) de plantas de capim-amargoso submetidas a diferentes períodos de ausência de luz após a aplicação do diquat em casa de vegetação.



* Significativo ($p < 0,05$).

4 DISCUSSÃO

Em ambos os experimentos as avaliações de controle das plantas de capim-amargoso, tanto aos 7 DAT (Figuras 1A e 2A), quanto aos 15 DAT (Figuras 1B e 2B), indicaram o aumento do controle com o aumento do período de restrição luminosa após a aplicação de diquat. Observou-se a necessidade de 6 h de ausência de luz após a aplicação de diquat para obter 100% de mortalidade das plantas. As plantas que permaneceram por 5 h de ausência de luz apresentaram controle satisfatório (> 80%), no entanto, em tratamentos inferiores a 4 h foi observada a recuperação das plantas aos 15 DAT, em comparação a avaliação aos 7 DAT.

O diquat é caracterizado como herbicida de ação rápida, entretanto, a ausência de luz após a aplicação permite a mobilidade no interior das plantas e a chegada até os pontos de crescimento (COBB; READE, 2010). Esse herbicida é caracterizado como hidrofílico (polar), com passagem pela membrana plasmática intermediada pela proteína putrescina, que atua como carregador de moléculas de herbicidas estruturalmente semelhantes a compostos naturais (HART et al., 1992; FUJITA; SHINOZAKI, 2014). Sua absorção foliar é rápida, pois a cutícula da planta não representa uma barreira para ser absorvido (BISHOP; POWLES; CORNIC, 1987).

Em função de seu baixo valor de $\log K_{ow}$ (-4,26), o diquat pode ser translocado tanto via xilema, quanto floema (BROMILOW; CHAMBERLAIN; EVANS, 1990; SHANER, 2014; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Entretanto, quando a aplicação é realizada sob alta intensidade luminosa sua ação imediata danifica a permeabilidade das membranas, restringindo os danos a área de contato com as gotas pulverizadas (BRUNHARO; HANSON, 2017). Quando as plantas são expostas a luz desde o momento da aplicação, os danos são imediatos, caracterizados por necrose nos locais em que houve o contato direto do herbicida, o que resulta em controle ineficiente (Figura 3).

O aumento do período de ausência de luz resultou em menores concentrações de H_2O_2 nas folhas, principalmente nos tratamentos com 5 e 6 h de restrição luminosa, com valores inferiores a testemunha (Figura 4D). O diquat, assim como o paraquat pertence ao grupo dos bipyridilos, que atuam nos cloroplastos como um acceptor de elétrons da ferredoxina no FSI (BRUNHARO; HANSON, 2017). Portanto, competem com o $NADP^+$ por elétrons, e como consequência, a ferredoxina doa elétrons para o O_2 , formando espécies mais reativas que o oxigênio molecular,

como o H_2O_2 , consideradas danosas para as membranas fosfolipídicas por alterar sua integridade e interferir na atividade proteica (HAWKES, 2014). A ausência de luz retarda a formação imediata de EROs e assim ocorre a preservação da estabilidade dos vasos condutores, permitindo a translocação do herbicida, o que potencializa o controle (MONTGOMERY et al., 2017).

As plantas que não foram submetidas a aplicação de diquat apresentaram maior concentração de H_2O_2 em comparação aos tratamentos com 5 e 6 h de ausência de luz (Figura 4D), por estarem expostas a luminosidade por um maior período, já que a avaliação do indicador de estresse oxidativo foi realizada ao final do dia. Além do estresse promovido pela ação do herbicida, as plantas também estão sujeitas ao estresse pelo excesso de luz, denominado fotoinibição, em que a energia produzida não consegue ser dissipada, o que resulta no acúmulo de EROs (LIMA-MELO et al., 2019). A sobrecarga de energia nos fotossistemas devido a alta intensidade luminosa reduz a fotossíntese (BLIND et al., 2018), entretanto, as avaliações da taxa fotossintética foram realizadas no dia posterior a aplicação (a partir das 07:00 h), possibilitando a recuperação da atividade fotossintética nas plantas sem aplicação de diquat, caracterizada como fotoinibição dinâmica (GUIDI; LO PICCOLO; LANDI, 2019). Já as plantas expostas ao herbicida sofreram danos permanentes em seus aparatos fotossintéticos, o que impossibilitou a recuperação da razão F_v/F_m (Figura 4A), $\Delta F/F_m'$ (Figura 4B) e $rETR$ (Figura 4C). A partir da fluorescência da clorofila *a* é possível estimar os danos no FSII, pois plantas expostas a estresses pela ação do diquat tem a cadeia transportadora de elétrons prejudicada, o que indiretamente influencia a atividade do FSII (HESS, 2000; BRUNHARO; HANSON, 2017).

A correlação negativa entre os dados das avaliações fisiológicas e os resultados de controle das plantas evidenciam que o aumento do período de ausência de luz após a aplicação de diquat contribui para a melhoria na eficiência de controle (Figura 5). Moretti; Hanson (2016) observaram que períodos de escuro (16 h), seguidos de períodos com luminosidade, aumentaram a translocação dos bipyridilos em plantas de *Conyza canadensis* (L.) Cronquist e *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist. De forma semelhante, Montgomery et al. (2017) observaram que a utilização de herbicidas bipyridilos em horários com baixa intensidade luminosa apresenta maior controle de *C. canadensis* em comparação a aplicação a plena luz solar. Quando aplicado às 06:00 e 19:30 h o controle foi de 66 e 96%, respectivamente, enquanto ao

meio-dia (12:00 h) resultou em apenas 25%.

Na prática, os resultados do presente estudo podem ser utilizados via aplicações noturnas de diquat, desde que ocorram 6 h de ausência luminosa após a aplicação. Nas primeiras horas da manhã, após o nascer do sol, a intensidade luminosa geralmente é menor, logo o acúmulo de EROs também é reduzido, permitindo maior mobilidade do herbicida no interior das plantas e, assim maior controle em relação as aplicações ao meio-dia. Portanto, a aplicação de diquat em horários com ausência luminosa após a aplicação torna-se uma estratégia para aumentar a eficiência de controle e, conseqüentemente evitar a rebrota de capim-amargoso.

5 CONCLUSÃO

O herbicida diquat controla totalmente plantas de capim-amargoso de 3-4 perfilhos quando mantidas no escuro por 6 h após a aplicação, prevenindo a ocorrência de rebrota. A permanência no escuro de plantas tratadas com diquat resulta em redução da atividade fotossintética e, conseqüentemente, menor acúmulo de EROs, o que deve permitir a translocação do herbicida para os meristemas, promovendo a morte da planta daninha.

REFERÊNCIAS

- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.
- ANDRADE, A.; TULMANN-NETO, A.; TCACENCO, F. A.; MARSCHALEK, R.; PEREIRA, A.; DE OLIVEIRA NETO, A. M.; SCHEUERMANN, K. K.; WICKERT, E.; NOLDIN, J. A. Development of rice (*Oryza sativa*) lines resistant to aryloxyphenoxypropionate herbicides through induced mutation with gamma rays. **Plant Breeding**, v. 137, n. 3, p. 364-369, 2018.
- ANDREOTTI, E. G. G.; OLIVEIRA, G. M. P.; FERREIRA, L. A. I.; OLIVEIRA, S. M. P.; FORNAROLLI, B. C.; FORNAROLLI, D. A. Alternativas de manejo químico de capim-amargoso na cultura da soja. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 18, n. 3, 2019.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de diretoria colegiada – RDC nº 190, de 30 novembro de 2017**. 2017.
- ASADA, K. The water-water cycle in chloroplasts scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, n. 1, p. 601-639, 1999.
- BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BASI, S.; NOGA, G.; HUNSCHE, M. Relevance of the deposit structure for the uptake and bio-efficacy of diquat, as monitored by the spatially resolved chlorophyll fluorescence. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 107, n. 2, p. 218-225, 2013.
- BISHOP, T.; POWLES, S. B.; CORNIC, G. Mechanism of paraquat resistance in *Hordeum glaucum*. II. Paraquat uptake and translocation. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 14, p. 539–547, 1987.
- BLIND, M. R.; COSTA, K. C. P.; SILVA, C. E. M.; SAMPAIO, P. T. B.; GONÇALVES, J. F. C. Fotossíntese de espécies de *Aniba* em resposta à exposição a ambientes contrastantes de luz. **Rodriguésia**, v. 69, n. 2, p. 397-407, 2018.
- BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K.; EVANS, A. A. Physicochemical aspects of phloem translocation of herbicides. **Weed Science**, v. 38, n. 3, p. 305-314, 1990.
- BRUNHARO, C. A. C. G.; HANSON, B. D. Vacuolar sequestration of paraquat is involved in the resistance mechanism in *Lolium perenne* L. spp. *multiflorum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1485, 2017.
- CALDERBANK, A.; SLADE, P. Diquat and Paraquat. In: KEARNY, P. C.; KAUFMAN, D. D. (Ed.). **Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action**. New York, 1976. p. 501-540.
- CHANG, Z.; LIU, Y.; DONG, H.; TENG, K.; HAN, L.; ZHANG, X. Effects of cytokinin

and nitrogen on drought tolerance of creeping bentgrass. **PLoS One**, v. 11, n.4, p. 1-19, 2016.

COBB, A. H.; READE, J. P. H. **Herbicides and plant physiology**. 7.ed. Hoboken, 2010.

COSTA, N. L.; MAGALHÃES, J. A.; TOWNSEND, C. R.; PAULINO, V. T. **Fisiologia e manejo de plantas forrageiras**. 2004. (Embrapa Rondônia - Documentos, v. 85)

COSTA, N. V.; SONTAG, D. A.; SCARIOT, C. A.; PEREIRA, G. R.; VASCONCELOS, E. S. Doses de paraquat e volumes de calda na dessecação de *Brachiaria ruziziensis* antes do cultivo do milho safrinha. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 13, n. 2, p. 143-155, 2014.

DE RUITER, H.; UFFING, A. J. M.; MEINEN, E.; PRINS, A. Influence of surfactants and plant species on leaf retention of spray solutions. **Weed Science**, v. 38, n. 6, p. 567-572, 1990.

FRANS, R.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analysing plant responses to weed control practices. In: CAMPER, N. D. **Research Methods in Weed Science**. 3. ed. Champaign: Southern Weed Science Society, 1986. p. 29-45.

FUJITA, M.; SHINOZAKI, K. Identification of polyamine transporters in plants: paraquat transport provides crucial clues. **Plant and Cell Physiology**, v. 55, n. 5, p. 855–861, 2014.

GILO, E. G.; DE MENDONÇA, C. G.; DO ESPÍRITO SANTO, T. L.; TEODORO, P. E. Alternatives for chemical management of sourgrass. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 4, p. 881-889, 2016.

GITSOPOULOS, T. K.; DAMALAS, C. A.; GEORGOULAS, I. Improving diquat efficacy on grasses by adding adjuvants to the spray solution before use. **Planta Daninha**, v. 32, n. 2, p. 355-360, 2014.

GOMES, L. J. P.; SANTOS, J. I.; GASPARINO, E. C.; CORREIA, N. M. Chemical control and morphoanatomical analysis of leaves of different populations of sourgrass. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

GUIDI, L.; LO PICCOLO, E.; LANDI, M. C. Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species? **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 174, 2019.

HART, J. J.; DITOMASO, J. M.; LINSKOTT, D. L.; KOCHIAN, L. V. Transport interactions between paraquat and polyamines in roots of intact maize seedlings. *Plant Physiology*. v. 99, p. 1400–1405, 1992.

HAWKES, T. R. Mechanisms of resistance to paraquat in plants. **Pest Management Science**, v. 70, p. 1316-1323, 2014.

HEAP, I. **The international herbicide resistant weed database**. Disponível em: <www.weedscience.org>. Acesso em: 20 fev. 2021.

HESS, F. D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, v. 48, n. 2, p. 160-170, 2000.

LIMA-MELO, Y., ALENCAR, V. T. C. B.; LOBO, A. K. M.; SOUSA, R. H. V.; TIKKANEN, M.; ARO, E. M.; SILVEIRA, J. A. G.; GOLLAN, P. J. Photoinhibition of photosystem I provides oxidative protection during imbalanced photosynthetic electron transport in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 916, 2019.

LOPES OVEJERO, R. F.; TAKANO, H. K.; NICOLAI, M.; FERREIRA, A.; MELO, M. S. C.; CAVENAGHI, A. L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OLIVEIRA, R. S. Frequency and dispersal of glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis*) populations across Brazilian agricultural production areas. **Weed Science**, v. 65, n. 2, p. 285-294, 2017.

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

MONTGOMERY, G. B.; TREADWAY, J. A.; REEVES, J. L.; STECKEL, L. E. Effect of time of day of application of 2,4-D, dicamba, glufosinate, paraquat, and saflufenacil on horseweed (*Conyza canadensis*) control. **Weed Technology**, v. 31, p. 550-556, 2017.

MORETTI, M. L.; HANSON, B. D. Reduced translocation is involved in resistance to glyphosate and paraquat in *Conyza bonariensis* and *Conyza canadensis* from California. **Weed Research**, v. 57, n. 1, p. 25-34, 2016.

PITELLI, R. A.; BISIGATTO, A. T.; KAWAGUCHI, I.; PITELLI, R. L. C. M. Doses e horário de aplicação do diquat no controle de *Eichhornia crassipes*. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 269-277, 2011.

R CORE TEAM (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 7.ed. Londrina, 2018. 764 p.

SCHMITZ-EIBERGER, M.; NOGA, G. Reduction of paraquat-induced oxidative stress in *Phaselous vulgaris* and *Malus domestica* leaves by α -tocopherol. **Scientia Horticulturae**, v. 91, n. 1-2, p. 153-167, 2001.

SHANER, D. L. **Herbicide handbook**. 10.ed. Lawrence, 2014. 513 p.

TAHMASEBI, B. K.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; ALCÁNTARA, E.; TORRA, J.; DOMÍNGUEZ-VALENZUELA, J. A.; CRUZ-HIPÓLITO, H. E.; ROJANO-DELGADO, A. M.; DE PRADO, R. Multiple resistance evolution in bipyridylium-resistant *Epilobium ciliatum* after recurrent selection. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 695, 2018.

ARTIGO C - HORÁRIO DE APLICAÇÃO DE CLETHODIM E INIBIDORES DO FOTOSISTEMA I E II NO CONTROLE DE CAPIM-AMARGOSO

RESUMO

O horário de aplicação e a associação de herbicidas são alternativas para aumentar a translocação dos herbicidas e, conseqüentemente, melhorar a eficiência de controle das plantas daninhas. Objetivou-se com o estudo avaliar o efeito do horário de aplicação e da adição de diuron ao clethodim e diquat sobre o controle de capim-amargoso. Foram realizados dois experimentos com plantas de capim-amargoso (em campo e casa de vegetação), aplicando-se as caldas de pulverização compostas pelo herbicida clethodim (216 g i.a. ha⁻¹), clethodim + diquat (216 + 400 g i.a. ha⁻¹) e clethodim + diquat + diuron (216 + 400 + 400 g i.a. ha⁻¹) em três horários (08:00 h, 12:00 h e 16:00 h), além de um tratamento testemunha adicional. Foram realizadas avaliações de controle e massa das plantas de capim-amargoso em ambos os experimentos, além da avaliação da taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo FSII (rETR) e do acúmulo foliar de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) no experimento em casa de vegetação. Os resultados indicaram incremento do controle de capim-amargoso com a adição de diuron a mistura, resultando em 100% de controle na aplicação realizada às 16:00 h. Observou-se a necessidade de aplicar as caldas contendo inibidores do fotossistema às 08:00 e 16:00 h para melhorar o controle das plantas. Essas misturas aplicadas em condições de menor intensidade luminosa apresentaram maior inibição da rETR e aumento nas concentrações de H₂O₂ com maior acúmulo dessa espécie reativa de oxigênio (EROs) (17894,17 nmol g⁻¹ MF) a partir da aplicação de clethodim + diquat + diuron às 16:00 h. Conclui-se que a aplicação de diquat em associação com clethodim em horários de menor intensidade luminosa resulta em melhor controle de capim-amargoso de 3 a 4 perfilhos em comparação a aplicação às 12:00 h. No entanto, para o controle total das plantas, a adição de diuron é necessária, resultando em maior inibição da atividade fotossintética e acúmulo de EROs.

Palavras-chave: *Digitaria insularis* (L.) Fedde. Estresse oxidativo. Graminícidas. Mistura em tanque. Bipyridílicos.

ABSTRACT

The time of application and the association of herbicides are alternatives to increase the translocation of the herbicides and, consequently, improve the efficiency of weed control. The aim of the study was to evaluate the effect of the application time and the addition of diuron to clethodim and diquat on the control of sourgrass. Two experiments were carried out with plants of sourgrass (in the field and greenhouse), applying spray solutions composed of the herbicide clethodim (216 g a.i. ha⁻¹), clethodim + diquat (216 + 400 g a.i. ha⁻¹) and clethodim + diquat + diuron (216 + 400 + 400 g a.i. ha⁻¹) at three times (8:00 a.m., 12:00 a.m. and 04:00 p.m.), besides an additional control treatment. Control and mass evaluations of sourgrass plants were performed in both experiments, as well as the evaluation of the relative rate of linear electron transport by PSII (rETR) and leaf accumulation of hydrogen peroxide (H₂O₂) in the greenhouse experiment. The results indicated an increase in the control of sourgrass with the addition of diuron to the mixture, resulting in 100% control in the application carried out at 04:00 p.m. There was a need to apply spray solutions containing photosystem inhibitors at 08:00 a.m. and 04:00 p.m. to improve plant control. These mixtures applied in conditions of lower light intensity showed greater inhibition of rETR and increased concentrations of H₂O₂ with greater accumulation of this reactive oxygen species (ROS) (17894.17 nmol g⁻¹ FW) from the application of clethodim + diquat + diuron at 04:00 p.m. It is concluded that the application of diquat in association with clethodim at times of lower light intensity results in better control of sourgrass from 3 to 4 tillers compared to the application at 12:00 a.m. However, for total control of the plants, the addition of diuron is necessary, resulting in greater inhibition of photosynthetic activity and accumulation of ROS.

Keywords: *Digitaria insularis* (L.) Fedde. Oxidative stress. Graminicides. Tank mixture. Bipyridyliums.

1 INTRODUÇÃO

O capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Fedde) é uma espécie nativa do continente americano que está presente nos sistemas de cultivo do território brasileiro, infestando principalmente os campos de cereais e oleaginosas (LOPES OVEJERO et al., 2017). O comportamento invasivo dessa espécie está associado as suas características biológicas, como a capacidade de propagação tanto por rizomas quanto por sementes (OREJA; DE LA FUENTE; FERNANDEZ-DUVIVIER, 2017), as quais são leves, pilosas e de fácil dispersão pelo vento (GOMES et al., 2017), com índice de germinação superior a 90% (MONDO et al., 2010). Outra característica que dificulta o controle do capim-amargoso é a resistência ao herbicida glyphosate (HEAP, 2021), a qual está presente em cerca de 12,7 milhões de hectares de lavouras brasileiras (LUCIO et al., 2019). Dessa forma, a utilização de outros herbicidas, com diferentes mecanismos de ação, faz-se necessária, seja na forma de aplicações isoladas, em misturas ou em aplicações sequenciais (ANDREOTTI et al., 2019).

Os inibidores da enzima acetil-CoA carboxilase (ACCase) são considerados os principais herbicidas utilizados no controle de capim-amargoso (ANDRADE et al., 2018; LOPEZ OVEJERO et al., 2017). O herbicida clethodim é uma ciclohexanodiona (DIM), com mobilidade pelo floema e pelo xilema, amplamente utilizado no controle de plantas daninhas poáceas, tal como o capim-amargoso (SHANER, 2014). Outra opção para o controle dessa espécie são os herbicidas inibidores da cadeia de transporte de elétrons no fotossistema I (inibidores do FSI), tais como o diquat. No entanto, estes herbicidas apresentam baixa mobilidade e sua eficiência está restrita as plantas em estágio inicial de desenvolvimento (TAHMASEBI et al., 2018), ou em aplicações sequencialmente a herbicidas sistêmicos (ANDREOTTI et al., 2019).

A aplicação em pós-emergência de herbicidas de contato em mistura com herbicidas sistêmicos normalmente resulta em antagonismo (BESANÇON; PENNER; EVERMAN, 2018). Isso decorre da rápida ação necrótica causada pelo acúmulo de EROs após a inibição da cadeia transportadora de elétrons causada pelos inibidores de fotossíntese (COBB; READE, 2010). Dessa forma, o herbicida sistêmico não é translocado e sua eficiência é reduzida. Contudo, o acúmulo de EROs é dependente da presença de luz, e aplicações em horários com baixa intensidade luminosa poderiam reduzir ou retardar o estresse oxidativo e permitir a translocação

dos herbicidas, aumentando o controle de plantas daninhas (NORSWORTHY; SMITH; GRIFFITH, 2011; MONTGOMERY et al., 2017). Outra forma de reduzir a rápida produção de EROs pelo diquat, é associá-lo a herbicidas inibidores do fotossistema II (FSII), como o diuron. O diuron inibe o processo fotossintético antes que o diquat cause a destruição celular e iniba a sua própria translocação e a translocação de outros herbicidas presentes na calda (HAYWARD; COLBY; PARHAM, 1988).

Embora se saiba que a aplicação sequencial de herbicidas sistêmicos (ex.: clethodim) seguida da aplicação de bipyridilos configure uma das medidas mais eficientes de controle de capim-amargoso (MELO et al., 2012), a intensificação dos sistemas de cultivo nem sempre permite que essa modalidade de aplicação seja realizada. Além disso, aplicações sequenciais demandam maior capacidade operacional, aumentando custos com mão de obra, combustíveis e maquinário. Baseado no exposto, as hipóteses deste trabalho são de que a aplicação de clethodim associado ao diquat controla capim-amargoso, desde que realizada em horário adequado e/ou associada ao herbicida diuron. Diante disso, objetivou-se com o estudo avaliar o efeito do horário de aplicação e da adição de diuron ao clethodim e diquat sobre o controle de capim-amargoso.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida na área experimental da Universidade Estadual de Londrina, no estado do Paraná, Brasil, latitude 23° 20' 30", longitude 51° 12' 40" e altitude de 560 m. Foram realizados dois experimentos durante o ano de 2019, sendo um em campo e outro em casa de vegetação.

2.1 Origem e Produção do Material Vegetal

2.1.1 Experimento I – Campo

O experimento foi conduzido em parcelas com dimensões de 6,0 m de comprimento e 4,0 m de largura (24 m²), sendo considerada como área útil para as avaliações a área central de cada parcela, desprezando-se 1 m de bordadura em cada lado da parcela. O solo na área experimental é Latossolo vermelho distrófico, constituído por 12% de areia, 36% de silte e 52% de argila; pH (CaCl₂) 4,80; 20,10 g dm⁻³ de matéria orgânica e 8,8 cmol_c dm⁻³ de capacidade de troca catiônica. A área onde foi conduzido o experimento encontrava-se em pousio, com infestação natural de capim-amargoso (*D. insularis*). Durante a condução do experimento (outubro e novembro), a precipitação pluviométrica total foi de 150,30 mm e a temperatura média do ar de 27,34 °C.

2.1.2 Experimento II – Casa de Vegetação

O experimento foi conduzido em vasos plásticos com capacidade de 0,5 dm³, preenchidos com Latossolo vermelho distrófico peneirado, constituído por 30% de areia, 25% de silte e 45% de argila; pH (CaCl₂) 5,30; 20,10 g kg⁻¹ de matéria orgânica e 9,90 cmol_c dm⁻³ de capacidade de troca catiônica. Foram coletadas sementes de capim-amargoso na mesma área em que o experimento de campo foi conduzido, e semeadas em bandejas plásticas contendo uma camada de 10 cm de substrato orgânico. Após a germinação, foram transplantadas três plântulas de capim-amargoso por unidade experimental. As plantas foram irrigadas periodicamente, mantendo-se a umidade próxima da capacidade de campo.

2.2 Delineamento Experimental e Tratamentos

Em ambos os experimentos o delineamento adotado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, com os tratamentos organizados em esquema fatorial 3 x 3, além da testemunha sem aplicação de herbicida como tratamento adicional. O fator A foi composto pelos herbicidas clethodim; clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron. O fator B correspondeu aos horários de aplicação das caldas herbicidas, sendo 08:00 h; 12:00 h e 16:00 h. Utilizaram-se os herbicidas clethodim (Select[®] 240 EC, 240 g i.a. L⁻¹, Arysta LifeScience), diquat (Reglone[®], 200 g i.a. L⁻¹, Syngenta) e diuron (Herburon 500 BR[®], 500 g i.a. L⁻¹, Adama), nas doses de 216; 400 e 400 g i.a. ha⁻¹, respectivamente, acrescido de 0,5% (v/v) do adjuvante alquil ester etoxilado do ácido fosfórico (Lanzar[®], Arysta LifeScience).

2.3 Aplicação dos Tratamentos

As aplicações dos herbicidas foram realizadas com o auxílio de um pulverizador costal pressurizado à CO₂, equipado com pontas do tipo jato plano com pré-orifício, modelo ADI 11002, espaçadas 0,5 m entre si e posicionadas a 0,5 m da superfície dos alvos. A pressão de trabalho utilizada foi de 0,414 MPa, velocidade de deslocamento de 1,0 m s⁻¹, resultando em taxa de aplicação equivalente a 150 L de calda ha⁻¹. No momento da aplicação, em ambos os experimentos as plantas de capim-amargoso encontravam-se com 0,15 m de altura e 3 a 4 perfilhos. As aplicações dos tratamentos foram efetuadas sob as condições apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições meteorológicas no momento das aplicações de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo e casa de vegetação.

Experimento I – Campo			
Horário de aplicação	PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)	UR (%)
08:00	149,1	24,7	74,5
12:00	1351,2	31,3	59,1
16:00	57,9	26,8	65,2
Experimento II – Casa de Vegetação			
Horário de aplicação	PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)	UR (%)
08:00	178,2	23,5	71,2
12:00	1320,0	29,0	50,3
16:00	73,4	27,2	53,2

PAR: radiação fotossinteticamente ativa; T: temperatura; UR: umidade relativa.

2.4 Avaliações

Foram realizadas as avaliações visuais de controle aos 7 e 15 dias após o tratamento (DAT). Em cada avaliação, foram atribuídas notas em escala percentual, em que zero e cem representam ausência de injúria e morte das plantas, respectivamente (FRANS; CROWLEY, 1986). Aos 15 DAT, as plantas foram coletadas e pesadas para determinação da massa fresca da parte aérea (MFPA). Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa com circulação forçada de ar a 60°C até atingirem massa constante, a fim de determinar a massa seca da parte aérea (MSPA). No experimento de campo, as avaliações para determinação de MFPA e MSPA foram realizadas em três plantas por unidade experimental, aleatoriamente escolhidas na área útil das parcelas.

No experimento em casa de vegetação, além das avaliações de controle e de massa, foram avaliadas a atividade do FSII e o acúmulo de H_2O_2 . A atividade do FSII foi avaliada por meio de fluorescência da clorofila *a* medida em folhas do terço médio de cada planta, utilizando-se um fluorômetro OS1p (Opti-Sciences, Hudson, NH, EUA). As avaliações foram realizadas 24 h após a aplicação dos herbicidas em cada horário de aplicação, assim como na testemunha. A taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo FSII foi calculada como $r\text{ETR} = \Delta F/F_m' \times \text{PAR} \times 0,5 \times 0,84$, em que PAR é a radiação fotossinteticamente ativa; 0,5 é a partição da luz entre os FS; e 0,84 é o coeficiente de absorção da folha (BAKER, 2008).

A avaliação do acúmulo de EROs foi realizada por meio da determinação do conteúdo de H_2O_2 nas folhas. Após 24 h da aplicação dos tratamentos, uma folha do terço médio por unidade experimental foi coletada. No

momento da coleta, as amostras foram alocadas individualmente em envelopes de papel alumínio, imediatamente imersos em nitrogênio líquido e transferidos para biofreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises. As folhas (0,1 g) foram maceradas em cadinho com nitrogênio líquido e extraídas com 1,4 mL de ácido tricloroacético (0,2%) diluído em metanol. Após centrifugação a $15.645 \times g$, a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 min, o sobrenadante foi utilizado para a dosagem de H_2O_2 , pela reação com iodeto de potássio 1 M em tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,5). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 390 nm e os níveis de H_2O_2 foram calculados por meio do uso de uma curva padrão feita com concentrações conhecidas de H_2O_2 , e expressos em nmol por grama de massa fresca de folha (nmol g^{-1} MF) (ALEXIEVA et al., 2001).

2.5 Análises Estatísticas

Em ambos os experimentos os dados foram analisados pela estatística descritiva para obtenção das medidas de tendência central, dispersão e verificação de presença de dados discrepantes. Após a análise exploratória foram verificadas a normalidade dos erros, a homocedasticidade das variâncias e a independência dos erros por meio dos testes de Shapiro-Wilk, Bartlett e Durbin Watson, respectivamente ($p < 0,05$). Após aceitas as pressuposições foi realizada a análise de variância. Quando constatado efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Na avaliação visual de controle, os dados da testemunha sem aplicação do herbicida foram desconsiderados das análises estatísticas, a fim de atender aos pressupostos da análise de variância. Os dados das avaliações de controle aos 7 e 15 DAT, MFPA, MSPA e acúmulo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foram comparados com a testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Foi avaliado o coeficiente de correlação de Pearson (r) ($p < 0,05$) entre as variáveis avaliadas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R CORE TEAM, 2021).

3 RESULTADOS

3.1 Experimento I – Campo

No experimento em campo houve interação entre os herbicidas e os horários de aplicação para todas as variáveis avaliadas (APÊNDICE C). Aos 7 DAT, os melhores resultados foram obtidos com a aplicação de clethodim + diquat + diuron realizada às 16:00 h, com 95,63% de controle (Figura 1A). Essa mesma combinação de herbicidas apresentou controles inferiores em 5 e 18,13% quando aplicados às 08:00 e 12:00 h, respectivamente. Aos 15 DAT (Figura 1B), a aplicação de clethodim + diquat + diuron às 12:00 h resultou em 85% de controle, sendo inferior aos demais horários. Já a aplicação às 08:00 h gerou controle de 95%, o qual não diferiu estatisticamente da aplicação às 16:00 h, embora apenas às 16:00 h houve mortalidade das plantas (100%), o que descarta a possibilidade de ocorrência de rebrota.

De maneira geral, para todos os horários a adição de diuron a mistura incrementou significativamente o controle de capim-amargoso. As aplicações de clethodim associado ao diquat realizadas às 08:00 e 16:00 h não diferiram estatisticamente entre si, com controle de 82,50 e 84,38% aos 7 DAT e de 85,63 e 90% aos 15 DAT, respectivamente. No entanto, foram superiores em 11,25 e 13,13% no controle das plantas aos 7 DAT e 8,75 e 13,12% aos 15 DAT, respectivamente, quando comparada a aplicação às 12:00 h.

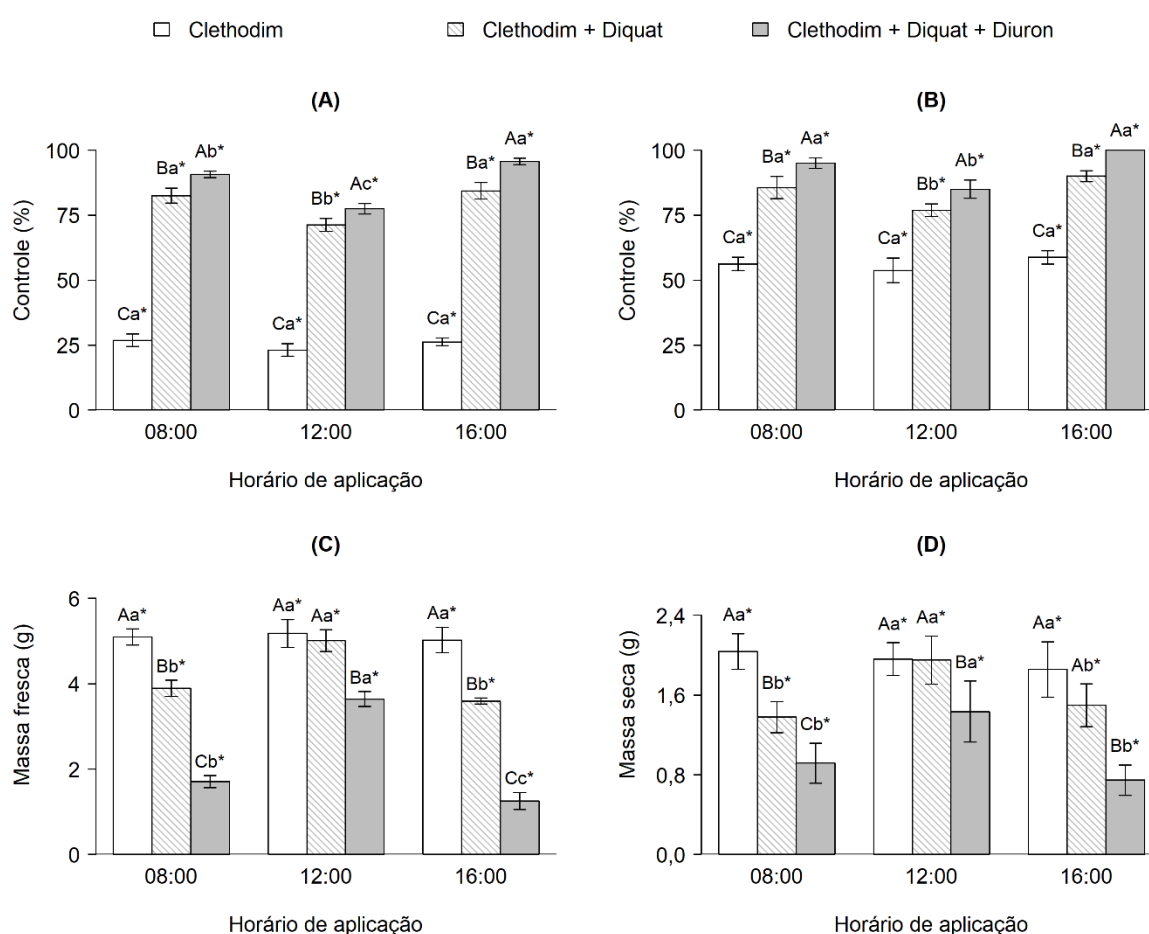
A eficiência de clethodim isolado não foi influenciada em virtude do horário de aplicação, tanto na avaliação aos 7 DAT quanto aos 15 DAT. Esse tratamento apresentou os menores índices de controle em comparação as demais caldas pulverizadas, independente do horário de aplicação, com média de controle de 25,40% aos 7 DAT e 56,25% aos 15 DAT.

Os resultados de MFPA (Figura 1C) e MSPA (Figura 1D) corroboram os observados nas avaliações de controle. Ou seja, no tratamento com clethodim + diquat + diuron observou-se o menor acúmulo de MFPA, principalmente quando a aplicação foi realizada às 16:00 h, com 1,25 g. Para a MSPA, a aplicação de clethodim + diquat + diuron também resultou em menores valores, no entanto, não houve diferença entre as aplicações às 08:00 e 16:00 h.

Para a aplicação de clethodim + diquat, tanto a MFPA quanto a MSPA

foram menores quando os herbicidas foram aplicados às 08:00 e 16:00 h. Para a aplicação isolada de clethodim, o horário de aplicação não resultou em efeito significativo sobre o acúmulo de massa. Todos os tratamentos diferiram da testemunha nas avaliações de MFPA (20,65 g) e MSPA (6,25 g).

Figura 1 - Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo.



As letras maiúsculas iguais entre as caldas dentro de cada horário de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais entre os horários de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio padrão.

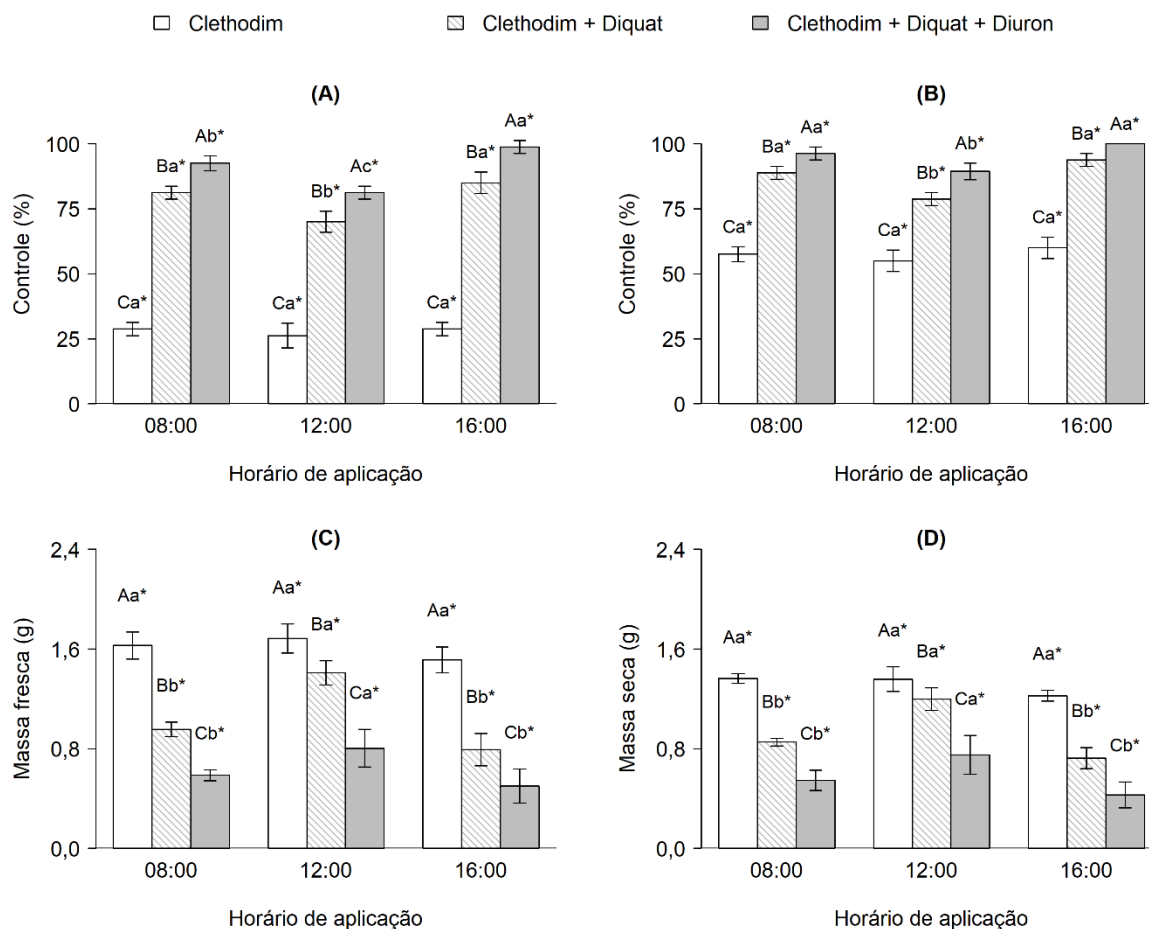
3.2 Experimento II – Casa de Vegetação

De forma semelhante ao observado no campo, houve interação significativa entre os fatores avaliados para todas as variáveis analisadas

(APÊNDICES D e E). O controle aos 7 DAT (Figura 2A) e 15 DAT (Figuras 2B e 3) de plantas de capim-amargoso em casa de vegetação apresentou respostas estatisticamente iguais as do experimento em campo. Dessa forma, a combinação de clethodim + diquat + diuron aplicada às 16:00 h resultou em melhores índices de controle, com 98,75 e 100% aos 7 e 15 DAT, respectivamente. Esse tratamento levou a morte das plantas, sem ocorrência de rebrota, como pode ser observado na figura 3I. A aplicação de clethodim + diquat apresentou melhores índices de controle quando realizada às 08:00 e 16:00 h, tanto aos 7 DAT quanto aos 15 DAT. No entanto, aos 15 DAT o controle foi de 93,75%, com permanência de tecidos verdes, possibilitando a rebrota das plantas, mesmo na aplicação realizada às 16:00 h (Figura 3F).

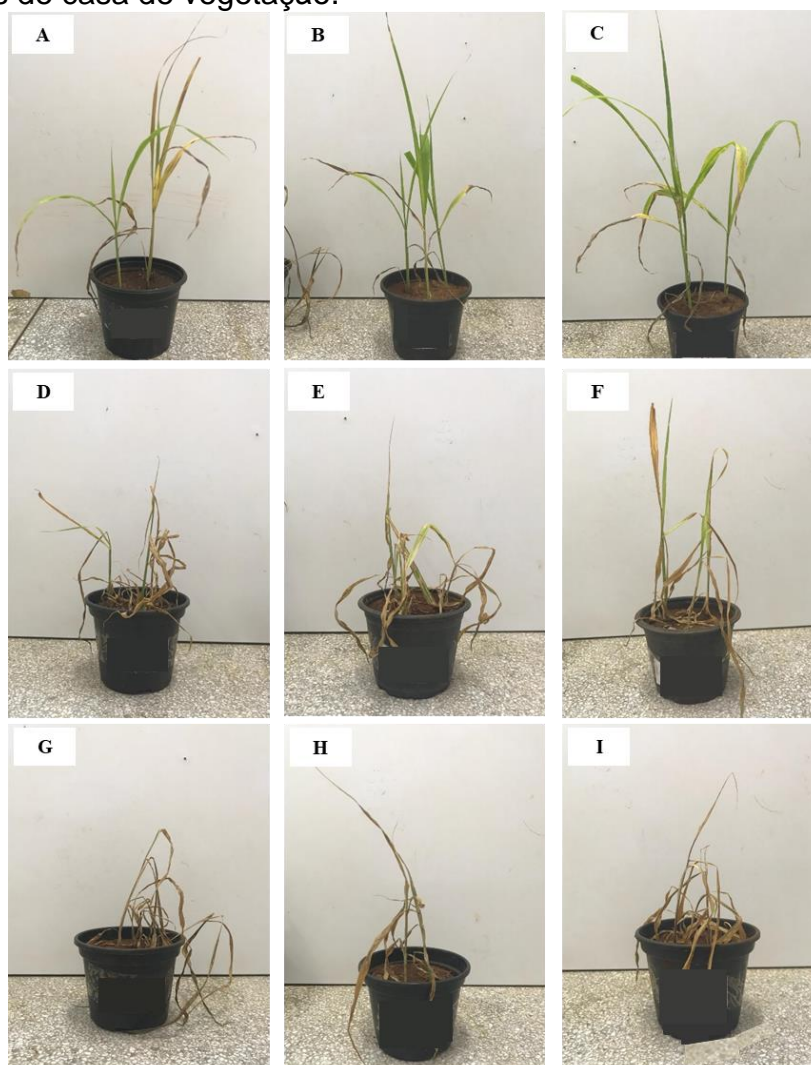
Nas avaliações de MFPA (Figura 2C) e MSPA (Figura 2D), o tratamento clethodim + diquat + diuron apresentou os melhores resultados, com os menores índices de massa nas aplicações realizadas às 08:00 e 16:00 h, com redução de 26,25 e 37,50% na MFPA, e 26,66 e 42,66% na MSPA, respectivamente, em comparação à aplicação realizada às 12:00 h. O tratamento com clethodim associado ao diquat reduziu tanto a MFPA quanto a MSPA, em comparação ao clethodim isolado nos três horários avaliados. As variáveis de massas avaliadas dos tratamentos herbicidas diferiram da testemunha, a qual apresentou MFPA de 10,00 g vaso⁻¹ e MSPA de 3,34 g vaso⁻¹.

Figura 2 - Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.



As letras maiúsculas iguais entre as caldas dentro de cada horário de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais entre os horários de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio padrão.

Figura 3 - Plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.

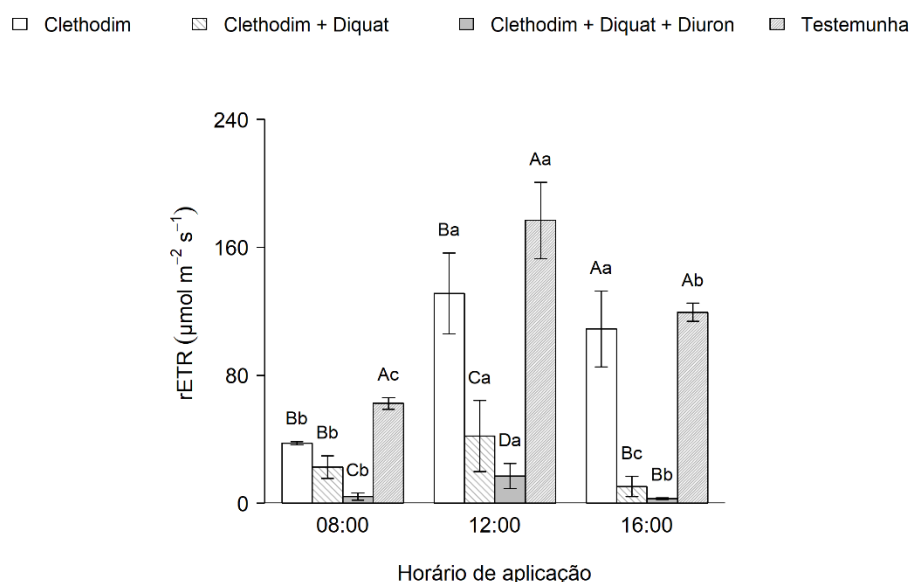


Os sintomas foram registrados aos 15 dias após o tratamento (DAT). A: clethodim (08:00 h), B: clethodim (12:00 h), C: clethodim (16:00 h), D: clethodim + diquat (08:00 h), E: clethodim + diquat (12:00 h), F: clethodim + diquat (16:00 h), G: clethodim + diquat + diuron (08:00 h), H: clethodim + diquat + diuron (12:00 h) e I: clethodim + diquat + diuron (16:00 h).

As avaliações da rETR indicaram que a atividade fotossintética das plantas de capim-amargoso tratadas com as combinações de herbicidas foi reduzida em comparação a testemunha, independente do horário de aplicação (Figura 4). Como esperado, as maiores inibições foram observadas nos tratamentos contendo inibidores de FS. A combinação de clethodim + diquat + diuron aplicada às 08:00 e 16:00 h reduziu a rETR em 76,18 e 83,19%, respectivamente, em comparação a aplicação realizada às 12:00 h (Figura 4). Para o tratamento clethodim + diquat houve maior inibição da rETR na aplicação às 16:00 h, sendo 53,48 e 74,87% menor em comparação as aplicações efetuadas às 08:00 e 12:00 h, respectivamente.

Diferentemente das avaliações de controle e massa das plantas de capim-amargoso, no tratamento clethodim isolado houve diferença em função do horário de aplicação. Esse herbicida aplicado às 08:00 h resultou na maior inibição da rETR em comparação aos demais horários. No entanto, não houve diferença significativa entre as aplicações realizadas às 12:00 e 16:00 h. Para a testemunha sem herbicida houve influência dos horários avaliados, com menor rETR às 08:00 h e maior às 12:00 h.

Figura 4 - Taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.

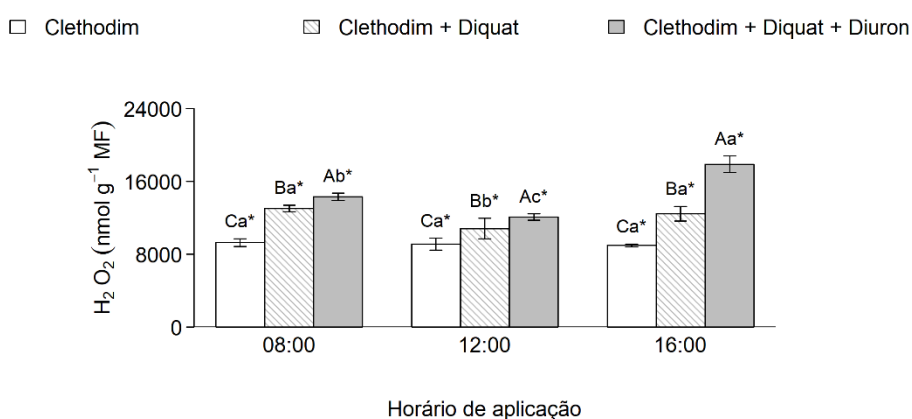


As letras maiúsculas iguais entre as caldas dentro de cada horário de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais entre os horários de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). As médias utilizadas para a construção do teste de Tukey foram oriundas da transformação dos dados pela raiz quadrada (\sqrt{y}). As barras verticais indicam o desvio padrão.

As avaliações de acúmulo de H_2O_2 indicaram que para todos os horários a adição de diuron a mistura potencializou o estresse oxidativo nas plantas de capim-amargoso. A maior concentração de H_2O_2 foi obtida com a aplicação de clethodim + diquat + diuron realizada às 16:00 h (Figura 5). Essa mesma combinação de herbicidas apresentou concentrações inferiores em 19,92 e 32,34% quando aplicados às 08:00 e 12:00 h, respectivamente. Para o tratamento clethodim + diquat os maiores acúmulos de H_2O_2 foram observados nas aplicações realizadas às 08:00 e 16:00 h, sendo 17 e 13% superiores a aplicação realizada às 12:00 h. O estresse

oxidativo nas plantas expostas ao herbicida clethodim isolado não foi influenciado pelo horário de aplicação. Esse tratamento apresentou as menores concentrações de H_2O_2 em comparação as caldas contendo inibidores do FS, independente do horário de aplicação. Todos os tratamentos herbicidas diferiram da testemunha, a qual apresentou a menor concentração de H_2O_2 , com cerca de $6416,95 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF}$.

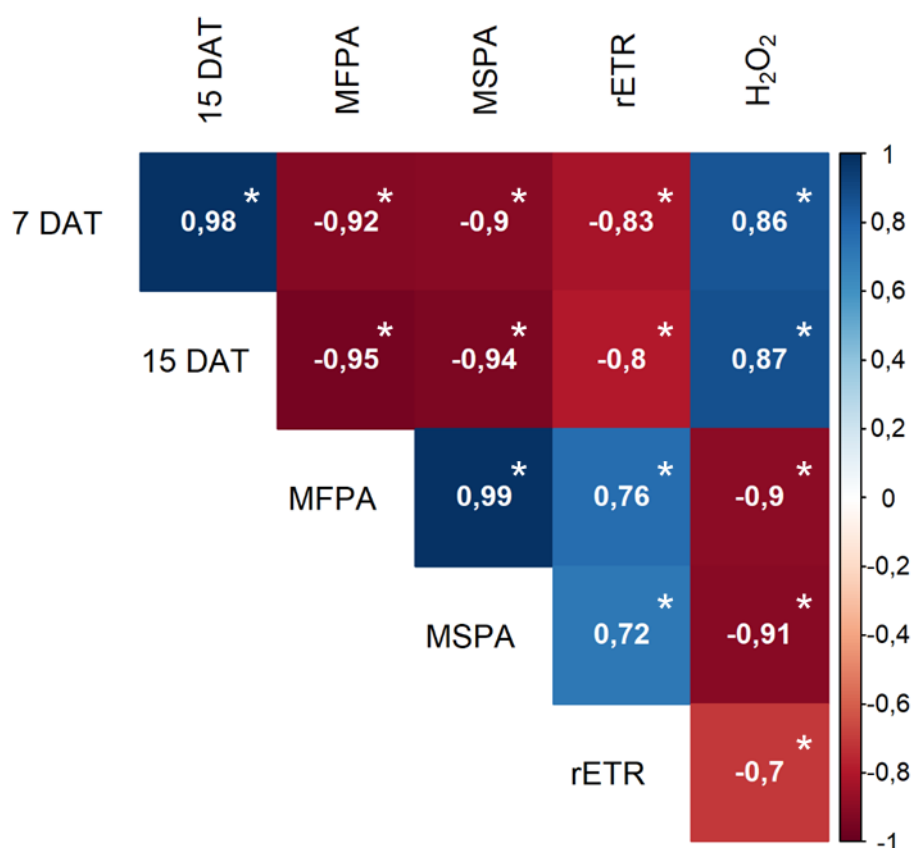
Figura 5 - Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas folhas de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.



As letras maiúsculas iguais entre as caldas dentro de cada horário de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais entre os horários de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio padrão.

Conforme esperado, as avaliações de controle se correlacionaram negativamente com as massas fresca e seca da parte aérea de plantas de capim-amargoso, medidas ao final do experimento (Figura 6). Além disso, foram observadas correlações negativas entre as porcentagens de controle aos 7 ou 15 DAT e a rETR. No entanto, houve correlação positiva entre as avaliações de controle e a concentração foliar de H_2O_2 . A variável fisiológica rETR e as avaliações de massa se correlacionaram positivamente entre si.

Figura 6 - Coeficiente de correlação de Pearson (r) das variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) e concentração foliar de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.



* Significativo ($p < 0,05$).

4 DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que a aplicação de caldas contendo diquat foi mais eficiente quando realizada em horários de menor intensidade luminosa (08:00 e 16:00 h). Dessa forma, tanto aos 7 DAT (Figuras 1A e 2A) quanto aos 15 DAT (Figuras 1B e 2B), as plantas de capim-amargoso expostas a aplicação das misturas contendo diquat às 12:00 h resultaram em menores controles em comparação aos demais horários, em ambos os experimentos.

O diquat é um biperidilo que atua como acceptor de elétrons no FSI, desviando os elétrons da ferredoxina para receptores alternativos, como o oxigênio, favorecendo a formação de EROs (HESS, 2000), as quais danificam as membranas fosfolipídicas, podendo culminar em morte celular (LIMA-MELO et al., 2019). Suas características físico-químicas ($\log K_{ow}$ -4,26) lhe permitem ser translocado pelo floema e principalmente pelo xilema (BROMILOW; CHAMBERLAIN; EVANS, 1990; SHANER, 2014, RODRIGUES; ALMEIRA, 2018). Contudo, quando aplicado sob alta intensidade luminosa (12:00 h), causam lesões nos tecidos, que limitam sua translocação, e assim, o acúmulo de EROs fica limitado aos pontos de contato do herbicida com a planta (BRUNHARO; HANSON, 2017). Já em aplicações sob menor intensidade luminosa (08:00 e 16:00 h) ocorre maior translocação dos herbicidas e o estresse oxidativo é mais abrangente, como observado na avaliação 24 h após a aplicação (Figura 5). Dessa forma, a menor concentração de H_2O_2 observada na aplicação da calda clethodim + diquat às 12:00 h (Figura 5) corrobora os resultados obtidos de menor controle das plantas de capim-amargoso, em comparação aos demais horários (Figuras 1A, 1B, 2A e 2B).

A aplicação de clethodim + diquat às 08:00 e 16:00 h proporcionou menor atividade fotossintética (Figura 4) em comparação às 12:00 h. Os resultados da testemunha às 12:00 h também comprovam que há maior rETR sob maior intensidade de luz, independente da aplicação das caldas de herbicidas. Entretanto, em horários com menor intensidade luminosa, o fluxo de elétrons é mais lento, o que possibilita a translocação da calda até os pontos de crescimento (rizomas e meristemas) das plantas por meio dos vasos condutores (floema), já que estes não são imediatamente danificados (PITELLI et al., 2011). Em seguida, ao serem expostas a maior intensidade luminosa, aumenta o fluxo de elétrons no FSI, dando início ao processo oxidativo (SEJIMA et al., 2014), como observado nas avaliações de EROs,

em que às 16:00 h houve a maior concentração de H_2O_2 nas plantas expostas aos tratamentos com diquat (Figura 5). A associação de herbicidas sistêmicos ao diquat causa lesões foliares mais rapidamente. Essa associação inicialmente se mostra eficiente, entretanto, em longo prazo pode ocorrer rebrota das plantas (WEHTJE; ALTLAND; GILLIAM, 2008).

Além da manipulação do horário de aplicação, a adição de diuron também resultou em incremento do controle, prevenindo a rebrota das plantas (Figura 3I). A calda associada ao diuron proporcionou maior controle das plantas, tanto na avaliação aos 7 DAT (Figuras 1A e 2A) quanto aos 15 DAT (Figuras 1B e 2B), em comparação ao clethodim + diquat, independente do horário de aplicação. O diuron atua no centro de reação do FSII, impedindo o transporte de elétrons para a plastoquinona, que resulta na inibição da fotossíntese. Esse acúmulo de elétrons no FSII desencadeia a formação de EROs (COBB; READE, 2010). Essa rápida inibição da fotossíntese impede a ação imediata do diquat e o dano nas membranas celulares, favorecendo a translocação para os locais em que não houve o contato das gotas pulverizadas (HAYWARD; COLBY; PARHAM, 1988). Dessa forma, nas aplicações com diuron houve maior inibição da rETR às 08:00 e 12:00 h (Figura 4). Portanto, as correlações entre as porcentagens de controle aos 7 ou 15 DAT e a rETR foram negativas, ou seja, quanto maiores os índices de controle, menor a atividade fotossintética das plantas (Figura 6).

Quando comparados os horários de aplicação da combinação clethodim + diquat + diuron, as aplicações às 08:00 e 16:00 h resultaram em maior controle das plantas em comparação às 12:00 h (Figuras 1B e 2B). Em horários com menor intensidade luminosa há uma menor atividade das enzimas antioxidantes, como a catalase, o que torna a planta mais suscetível a aplicação de herbicidas inibidores do fotossistema (DALAZEN; MEROTTO JR, 2016). Lai et al. (2012) observaram que em *Arabidopsis thaliana* (L.), as sínteses de catalase e H_2O_2 são reguladas pelo relógio circadiano (gene *CCA1*). A transcrição do gene *CCA1* é menor durante os horários com baixa intensidade de luz (LU et al., 2009), o que favorece o maior controle das plantas quando os herbicidas são aplicados nessas condições.

O tratamento clethodim isolado apresentou o menor controle das plantas de capim-amargoso, tanto na avaliação aos 7 DAT (Figuras 1A e 2A), quanto aos 15 DAT (Figuras 1B e 2B), independente do horário de aplicação. O clethodim inibe a enzima ACCase, interrompendo a síntese de ácidos graxos e,

consequentemente reduz a produção de lipídios nas membranas celulares. No entanto, por ser caracterizado como um herbicida sistêmico, necessita de maior período para causar mortalidade das plantas (COBB; READE, 2010).

De maneira geral, os resultados desse estudo demonstram que a adição de diuron possibilita a associação de clethodim e de diquat, sem reduzir a eficiência de controle do capim-amargoso com 3 a 4 perfilhos. Essa combinação de herbicidas pode resultar em 100% de controle e evitar a rebrota das plantas, principalmente se aplicada às 16:00 h (Figuras 1B, 2B e 3I). Na prática, a possibilidade de aplicar clethodim + diquat em mistura com diuron pode otimizar o rendimento operacional nos sistemas de cultivo, por reduzir o número de aplicações para controlar o capim-amargoso, e assim evitar utilizar clethodim na primeira aplicação seguido de uma aplicação sequencial com diquat. Contudo, faz-se necessário mais estudos em estádios de desenvolvimento mais avançados das plantas de capim-amargoso.

5 CONCLUSÃO

A aplicação de diquat em associação com clethodim em horários de menor intensidade luminosa resulta em melhor controle de capim-amargoso de 3 a 4 perfilhos em comparação a aplicação às 12:00 h. No entanto, para o controle total das plantas e que a rebrota seja evitada, a adição de diuron é necessária, resultando em maior inibição da atividade fotossintética e acúmulo de EROs.

REFERÊNCIAS

- ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.
- ANDRADE, A.; TULMANN-NETO, A.; TCACENCO, F. A.; MARSCHALEK, R.; PEREIRA, A.; DE OLIVEIRA NETO, A. M.; SCHEUERMANN, K. K.; WICKERT, E.; NOLDIN, J. A. Development of rice (*Oryza sativa*) lines resistant to aryloxyphenoxypropionate herbicides through induced mutation with gamma rays. **Plant Breeding**, v. 137, n. 3, p. 364-369, 2018.
- ANDREOTTI, E. G. G.; OLIVEIRA, G. M. P.; FERREIRA, L. A. I.; OLIVEIRA, S. M. P.; FORNAROLLI, B. C.; FORNAROLLI, D. A. Alternativas de manejo químico de capim-amargoso na cultura da soja. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 18, n. 3, 2019.
- BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BESANÇON, T. E.; PENNER, D.; EVERMAN, W. J. Reduced translocation is associated with antagonism of glyphosate by glufosinate in giant foxtail (*Setaria faberi*) and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). **Weed Science**, v. 66, n. 2, p. 159-167, 2018.
- BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K.; EVANS, A. A. Physicochemical aspects of phloem translocation of herbicides. **Weed Science**, v. 38, n. 3, p. 305-314, 1990.
- BRUNHARO, C. A. C. G.; HANSON, B. D. Vacuolar sequestration of paraquat is involved in the resistance mechanism in *Lolium perenne* L. spp. *multiflorum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1485, 2017.
- COBB, A. H.; READE, J. P. H. **Herbicides and Plant Physiology**. 7.ed. Hoboken, 2010.
- DALAZEN, G.; MEROTTO JR, A. Physiological and genetic bases of the circadian clock in plants and their relationship with herbicides efficacy. **Planta Daninha**, v. 34, n. 1, p. 191-198, 2016.
- FRANS, R.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analysing plant responses to weed control practices. In: CAMPER, N. D. **Research Methods in Weed Science**. 3. ed. Champaign: Southern Weed Science Society, 1986. p. 29-45.
- GOMES, L. J. P.; SANTOS, J. I.; GASPARINO, E. C.; CORREIA, N. M. Chemical control and morphoanatomical analysis of leaves of different populations of sourgrass. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.
- HAYWARD, D. M.; COLBY, S. R.; PARHAM, M. R. Enhancement of paraquat activity with photosynthetic inhibitors. In: **Abstracts Weed Science Society of America**, v. 28, n. 5, 1988.
- HEAP, I. **The international herbicide resistant weed database**. Disponível em:

<weedscience.org>. Acesso em: 20 fev. 2021.

HESS, F. D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, v. 48, n. 2, p. 160-170, 2000.

LAI, A. G.; DOHERTY, C. J.; MUELLER-ROEBER, B.; KAY, S. A.; SCHIPPERS, J. H. M.; DIJKWEL, P. P. Circadian clock-associated 1 regulates ROS homeostasis and oxidative stress responses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 42, p. 17129-17134, 2012.

LIMA-MELO, Y., ALENCAR, V. T. C. B.; LOBO, A. K. M.; SOUSA, R. H. V.; TIKKANEN, M.; ARO, E. M.; SILVEIRA, J. A. G.; GOLLAN, P. J. Photoinhibition of photosystem I provides oxidative protection during imbalanced photosynthetic electron transport in *Arabidopsis thaliana*. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 916, 2019.

LOPES OVEJERO, R. F.; TAKANO, H. K.; NICOLAI, M.; FERREIRA, A.; MELO, M. S. C.; CAVENAGHI, A. L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OLIVEIRA, R. S. Frequency and dispersal of glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis*) populations across Brazilian agricultural production areas. **Weed Science**, v. 65, n. 2, p. 285-294, 2017.

LUCIO, F. R.; KALSING, A.; ADEGAS, F. S.; ROSSI, C. V. S.; CORREIA, N. M.; GAZZIERO, D. L. P.; DA SILVA, A. F. Dispersal and frequency of glyphosate resistant and glyphosate-tolerant weeds in soybean-producing edaphoclimatic microregions in Brazil. **Weed Technology**, v. 33, n. 1, p. 217-231, 2019.

LU, S. X.; KNOWLES, S. M.; ANDRONIS, C.; ONG, M. S.; TOBIN, E. M. Circadian clock associated1 and late elongated hypocotyl function synergistically in the circadian clock of *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 150, n. 2, p. 834-843, 2009.

MELO, M. S. C.; ROSA, L. E.; BRUNHARO, C. A. C. G.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI. 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.; DE CARVALHO, S. J. P.; DIAS, A. R.; MARCOS FILHO, J. Light and temperature effects on the seed germination of four *Digitaria* weed species. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 131-137, 2010.

MONTGOMERY, G. B.; TREADWAY, J. A.; REEVES, J. L.; STECKEL, L. E. Effect of time of day of application of 2,4-D, dicamba, glufosinate, paraquat, and saflufenacil on horseweed (*Conyza canadensis*) control. **Weed Technology**, v. 31, n. 4, p. 550-556, 2017.

NORSWORTHY, J. K.; SMITH, K. L.; GRIFFITH, G. Evaluation of combinations of paraquat plus photosystem II-inhibiting herbicides for controlling failed stands of maize (*Zea mays*). **Crop Protection**, v. 30, n. 3, p. 307-310, 2011.

OREJA, F. H.; DE LA FUENTE, E. B.; FERNANDEZ-DUVIVIER, M. E. Response of *Digitaria insularis* seed germination to environmental factors. **Crop and Pasture Science**, v. 68, n. 1, p. 45-50, 2017.

PITELLI, R. A.; BISIGATTO, A. T.; KAWAGUCHI, I.; PITELLI, R. L. C. M. Doses e

horário de aplicação do diquat no controle de *Eichhornia crassipes*. **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 269-277, 2011.

R CORE TEAM (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 7.ed. Londrina, 2018. 764 p.

SEJIMA, T.; TAKAGI, D.; FUKAYAMA, H.; MAKINO, A.; MIYAKE, C. Repetitive short-pulse light mainly inactivates photosystem I in sunflower leaves. **Plant and Cell Physiology**, v. 55, n. 6, p. 1184-1193, 2014.

SHANER, D. L. **Herbicide Handbook**. 10.ed. Lawrence, 2014. 513 p.

TAHMASEBI, B. K.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; ALCÁNTARA, E.; TORRA, J.; DOMÍNGUEZ-VALENZUELA, J. A.; CRUZ-HIPÓLITO, H. E.; ROJANO-DELGADO, A. M.; DE PRADO, R. Multiple resistance evolution in bipyridylium-resistant *Epilobium ciliatum* after recurrent selection. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 695, 2018.

WEHTJE, G.; ALTLAND, J. E.; GILLIAM, C. H. Interaction of glyphosate and diquat in ready-to-use weed control products. **Weed Technology**, v. 22, n. 3, p. 472-476, 2008.

ARTIGO D – O HORÁRIO DE APLICAÇÃO E A ADIÇÃO DE DIURON COMO ESTRATÉGIAS PARA A MELHORIA DA EFICIÊNCIA DE CONTROLE DE BUVA

RESUMO

A rotação e aplicação de herbicidas com diferentes mecanismos de ação são fundamentais na prevenção e manejo da resistência. No entanto, nem sempre se pode misturar os herbicidas em tanque em função da ocorrência de antagonismo. Objetivou-se com o estudo avaliar o efeito do horário de aplicação e da adição de diuron ao 2,4-D e diquat sobre o controle de buva. Foram realizados dois experimentos com plantas de buva (em campo e casa de vegetação), aplicando-se as caldas de pulverização compostas pelo herbicida 2,4-D ($1209 \text{ g i.a. ha}^{-1}$), diquat ($400 \text{ g i.a. ha}^{-1}$), diuron ($400 \text{ g i.a. ha}^{-1}$), 2,4-D + diquat ($1209 + 400 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) e 2,4-D + diquat + diuron ($1209 + 400 + 400 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) em três horários (08:00 h, 12:00 h e 16:00 h), além de um tratamento testemunha adicional. Foram realizadas avaliações de controle e massa das plantas de buva em ambos os experimentos, além da avaliação de parâmetros fotossintéticos e do acúmulo foliar de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no experimento em casa de vegetação. Os resultados indicaram incremento do controle de buva com a adição de diuron à mistura 2,4-D + diquat, resultando em 100% de controle na aplicação realizada às 16:00 h. Observou-se a necessidade de aplicar as caldas contendo diquat às 08:00 e 16:00 h para melhorar o controle das plantas. A combinação de 2,4-D + diquat + diuron, independente do horário, resultou em maior degradação das clorofilas *a* e *b*. Quando aplicadas em condições de menor intensidade luminosa apresentaram aumento nas concentrações de H_2O_2 , com maior acúmulo dessa espécie reativa de oxigênio (EROs) a partir da aplicação às 16:00 h. Conclui-se que a adição de diuron à mistura 2,4-D + diquat evita a ocorrência de antagonismo, com incremento no controle das plantas de buva de 0,15 m de altura nas aplicações realizadas com menor intensidade luminosa (08:00 e 16:00 h). No entanto, para o controle total é necessário realizar a aplicação às 16:00 h, resultando em degradação das clorofilas, redução da atividade fotossintética das plantas e, conseqüentemente, maior acúmulo de EROs.

Palavras-chave: *Conyza* spp. Bipiridilos. Diuron. Estresse oxidativo. 2,4-D.

ABSTRACT

The rotation and application of herbicides with different mechanisms of action are essential in the prevention and management of resistance. However, it is not always possible to mix herbicides in tanks due to the occurrence of antagonism. The aim of the study was to evaluate the effect of the application time and the addition of diuron to 2,4-D and diquat on the control of the hairy fleabane. of photosystem and 2,4-D inhibitors applied alone or in mixture on hairy fleabane control. Two experiments were carried out with hairy fleabane plants (in the field and in a greenhouse), applying spray solutions composed by the herbicide 2,4-D (1209 g a.i. ha⁻¹), diquat (400 g a.i. ha⁻¹), diuron (400 g a.i. ha⁻¹), 2,4-D + diquat (1209 + 400 g a.i. ha⁻¹) and 2,4-D + diquat + diuron (1209 + 400 + 400 g a.i. ha⁻¹) at three times (08:00 a.m., 12:00 a.m. and 04:00 p.m.), plus an additional witness treatment. Control and mass evaluations of hairy fleabane plants were performed in both experiments, as well as the evaluation of photosynthetic parameters and leaf accumulation of hydrogen peroxide (H₂O₂) in the greenhouse experiment. The results indicated an increase in the control of the hairy fleabane with the addition of diuron to the mixture 2,4-D + diquat, resulting in 100% control in the application carried out at 04:00 p.m. There was a need to apply the spray solutions containing diquat at 08:00 a.m. and 04:00 p.m. to improve the control of the plants. The combination of 2,4-D + diquat + diuron, regardless of the time, resulted in greater degradation of chlorophylls *a* and *b*. When applied in conditions of lower light intensity, they presented an increase in H₂O₂ concentrations, with a greater accumulation of this reactive oxygen species (ROS) from the application at 04:00 p.m. It is concluded that the addition of diuron to the 2,4-D + diquat mixture avoids the occurrence of antagonism, with an increase in the control of 0.15 m tall hairy fleabane plants in applications with less light intensity (08:00 a.m. and 04:00 p.m.). However, for total control it is necessary to apply at 04:00 p.m., resulting in degradation of chlorophylls, reduced photosynthetic activity of plants and, consequently, greater accumulation of ROS.

Keywords: *Conyza* spp. Bipyrilidiums. Diuron. Oxidative stress. 2,4-D.

1 INTRODUÇÃO

A buva (*Conyza* spp.) é uma planta daninha nativa do continente americano que interfere globalmente nos sistemas de cultivo (AMARO-BLANCO et al., 2018), principalmente nas áreas de soja (*Glycine max* (L.) Merril) do Brasil, a qual está presente em mais de 16 milhões de ha (LUCIO et al., 2019). O comportamento invasivo dessa espécie está associado a sua capacidade de propagação, com uma única planta podendo originar 600.000 sementes (KASPARY et al., 2017). A produção de sementes leves e pilosas facilita a dispersão pelo vento por longas distâncias, ou ainda por meio do transporte de máquinas agrícolas (LUCIO et al., 2019). As sementes apresentam alta viabilidade, germinando em diferentes temperaturas e intensidades luminosas (LOURA et al., 2020; VALENCIA-GREDILLA et al., 2020). Contudo, as sementes das espécies são fotoblásticas positivas e, portanto precisam de luz para germinarem (YAMASHITA et al., 2016).

A buva é uma espécie com grande habilidade competitiva. A presença de uma única planta de buva por m² é capaz de reduzir o rendimento de grãos de soja em 397 kg ha⁻¹, e na densidade de 13 plantas por m⁻², a redução pode chegar a 1000 kg ha⁻¹ (TREZZI et al., 2013; AGOSTINETTO; SILVA; VARGAS, 2017). Além da grande capacidade invasiva e competitiva com as culturas, ao longo de sua evolução a *C. bonariensis* desenvolveu biótipos resistentes a vários mecanismos de ação, com maior distribuição da resistência aos herbicidas inibidores da enzima 5-enol-piruvilshiquimato-3-fosfato-sintase (EPSPS), no qual se encontra o glyphosate (HEAP, 2021).

A adoção do manejo integrado com estratégias diversificadas de controle é fundamental para minimizar ou evitar uma maior disseminação dessa planta daninha (LUCIO et al., 2019). Essas estratégias incluem o plantio direto com a limpeza de maquinários, o uso de plantas de cobertura, a rotação de culturas e a utilização de herbicidas com diferentes mecanismos de ação, incluindo pré e pós-emergentes (ZAMBRANO-NAVEA; BASTIDA; GONZALEZ-ANDUJAR, 2016).

Em pós-emergência, na realização de dessecações antecipando a semeadura de culturas como a soja e o milho (*Zea mays* L.), o controle de buva é muitas vezes realizado com 2,4-D (mimetizador de auxina) (McCAULEY; JOHNSON; YOUNG, 2018; ZIMMER et al., 2018), com aplicação sequencial de inibidores do fotossistema I (FSI), como o diquat (TAHMASEBI et al., 2018) e o paraquat (ZIMMER

et al., 2018). O 2,4-D é um herbicida sistêmico, que mimetiza a ação das auxinas, resultando no acúmulo de etileno e em interferências na divisão e alongação celular, assim como em formação de EROs (GROSSMANN, 2010). Já os inibidores do FSI são herbicidas que desviam o fluxo de elétrons que, na presença de luz, reagem com O₂, convertendo-se em EROs, levando à necrose dos tecidos em poucas horas após a aplicação em resposta ao dano gerado as membranas celulares (HESS, 2000; HAWKES, 2014). Por essa razão, a aplicação desses herbicidas em mistura em tanque não é recomendada uma vez que a rápida ação dos bipyridilos inibe a translocação do 2,4-D, resultando em antagonismo (EUBANK et al., 2013).

Essas limitações na ação das misturas em tanque podem ser minimizadas quando herbicidas inibidores do fotossistema II (FSII), como o diuron são adicionados a calda (NORSWORTHY; SMITH; GRIFFITH, 2011). Esse herbicida inibe a fotossíntese antes que os inibidores do FSI alterem rapidamente a integridade das membranas e iniba tanto a translocação dos demais herbicidas presentes quanto sua própria translocação (HAYWARD; COLBY; PARHAM, 1988). Outra forma de evitar o antagonismo a partir dessas misturas pode ser obtida por meio de aplicações em horários com baixa intensidade luminosa, pois evita a rápida formação de EROs, o que aumenta a translocação do herbicida e, conseqüentemente potencializa o controle (MONTGOMERY et al., 2017). Plantas mantidas no escuro após a aplicação e em seguida expostas a luminosidade também apresentam maior translocação que quando exposta de forma imediata a luz (MORETTI; HANSON, 2016).

Baseado no exposto, as hipóteses deste trabalho são de que a aplicação de 2,4-D associado ao diquat controla buva, desde que realizada em horário adequado e/ou associada ao herbicida diuron. Diante disso, objetivou-se com o estudo avaliar o efeito do horário de aplicação e da adição de diuron ao 2,4-D e diquat sobre o controle de buva.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida na área experimental da Universidade Estadual de Londrina, no estado do Paraná, Brasil, latitude 23° 20' 30", longitude 51° 12' 40" e altitude de 560 m. Foram realizados dois experimentos durante o ano de 2019, sendo um em campo e outro em casa de vegetação.

2.1 Origem e Produção do Material Vegetal

2.1.1 Experimento I – Campo

O experimento foi conduzido em parcelas com dimensões de 3,0 m de comprimento e 3,0 m de largura (9 m²), sendo considerada como área útil para as avaliações a área central de cada parcela, desprezando 1 m em cada lado da parcela. O solo na área experimental foi classificado como Latossolo vermelho distrófico, constituído por 12% de areia, 36% de silte e 52% de argila; pH (CaCl₂) 5,50; 2,28 g dm⁻³ de matéria orgânica e 9,25 cmol_c dm⁻³ de capacidade de troca catiônica. A área onde foi conduzido o experimento encontrava-se em pousio, com infestação natural de plantas de buva (*Conyza* spp.). As avaliações foram realizadas em cinco plantas por parcela, medindo aproximadamente 0,15 m de altura, as quais foram marcadas com uma fita no início da pesquisa. Durante a condução do experimento (novembro de 2019), a precipitação pluviométrica total foi de 13,60 mm, e a temperatura do ar média de 24,39 °C.

2.1.2 Experimento II – Casa de Vegetação

O experimento foi conduzido em vasos plásticos com capacidade de 0,5 dm³, preenchidos com Latossolo vermelho distrófico peneirado, constituído por 30% de areia, 25% de silte e 45% de argila; pH (CaCl₂) 5,30; 20,10 g kg⁻¹ de matéria orgânica e 9,90 cmol_c dm⁻³ de capacidade de troca catiônica. Foram coletadas sementes de buva (*Conyza* spp.) na mesma área em que o experimento de campo foi conduzido, e semeadas em bandejas plásticas contendo uma camada de 10 cm de substrato orgânico. Após a germinação, foi transplantada uma plântula de buva por

unidade experimental. As plantas foram irrigadas periodicamente, mantendo a umidade do solo próxima da capacidade de campo. A aplicação dos tratamentos foi realizada quando as plantas de buva encontravam-se com 0,15 m de altura.

2.2 Delineamento Experimental e Tratamentos

Em ambos os experimentos o delineamento adotado foi inteiramente casualizado com quatro repetições, organizados em esquema fatorial 5 x 3, além da testemunha sem aplicação de herbicida como tratamento adicional. O fator A foi composto pelos herbicidas 2,4-D (1209 g i.a. ha⁻¹); diquat (400 g i.a. ha⁻¹); diuron (400 g i.a. ha⁻¹); 2,4-D + diquat (1209 + 400 g i.a. ha⁻¹) e 2,4-D + diquat + diuron (1209 + 400 + 400 g i.a. ha⁻¹). O fator B correspondeu aos horários de aplicação das caldas herbicidas, sendo 08:00 h; 12:00 h e 16:00 h. Utilizaram-se os herbicidas 2,4-D (U 46 BR[®], 806 g i.a. L⁻¹, Nufarm), diquat (Reglone[®], 200 g i.a. L⁻¹, Syngenta) e diuron (Herburon 500 BR[®], 500 g i.a. L⁻¹, Adama). Em todos os tratamentos foi acrescido 0,1% (v/v) do adjuvante hidrocarboneto alifático e aromático (Joint'Oil[®], Dow AgroSciences).

2.3 Aplicação dos Tratamentos

Em ambos os experimentos as aplicações dos herbicidas foram realizadas com o auxílio de um pulverizador costal pressurizado à CO₂, equipado com pontas do tipo jato plano com pré-orifício, modelo ADI 11002, espaçadas 0,5 m entre si e posicionadas a 0,5 m da superfície dos alvos. A pressão de trabalho utilizada foi de 0,414 MPa, com velocidade de deslocamento de 1,0 m s⁻¹, resultando em uma taxa de aplicação equivalente a 150 L de calda ha⁻¹. As aplicações dos tratamentos foram efetuadas sob as condições apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições meteorológicas no momento das aplicações de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo e casa de vegetação.

Experimento I - Campo			
Horário de aplicação	PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)	UR (%)
08:00	137,8	23,7	53,5
12:00	1305,1	28,2	40,1
16:00	56,2	27,1	42,6
Experimento II – Casa de Vegetação			
Horário de aplicação	PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)	UR (%)
08:00	166,9	24,2	59,0
12:00	1343,8	29,8	45,4
16:00	46,5	26,9	51,3

PAR: radiação fotossinteticamente ativa; T: temperatura; UR: umidade relativa.

2.4 Avaliações

Em ambos os experimentos foram realizadas as avaliações visuais de controle aos 7 e 15 dias após o tratamento (DAT). Em cada avaliação foram atribuídas notas em escala percentual, em que zero e cem representam ausência de injúria e morte das plantas, respectivamente (FRANS; CROWLEY, 1986). Aos 15 DAT, as plantas foram coletadas e pesadas para determinação da massa fresca da parte aérea (MFPA). Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar a 60°C até atingirem massa constante, a fim de determinar a massa seca da parte aérea (MSPA). No experimento I, conduzido em campo, essas avaliações foram realizadas conjuntamente em todas as plantas marcadas nas parcelas, formando uma amostra composta em cada parcela.

No experimento de casa de vegetação também foram avaliadas a atividade do FSII, o acúmulo de H_2O_2 e os teores de pigmentos fotossintetizantes. A atividade do FSII foi avaliada por meio de fluorescência da clorofila *a* medida, 24 h após a aplicação dos herbicidas, considerando os diferentes horários de aplicação. A avaliação foi realizada com fluorômetro OS1p (Opti-Sciences, Hudson, NH, EUA) em folhas do terço médio de cada planta. A taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo FSII (rETR) foi calculada como $r\text{ETR} = \Delta F/F_m' \times \text{PAR} \times 0,5 \times 0,84$, em que PAR é a radiação fotossinteticamente ativa; 0,5 é a partição da luz entre os FS; e 0,84 é o coeficiente de absorção da folha (BAKER, 2008).

A avaliação do acúmulo de EROs foi realizada por meio da determinação do conteúdo de H_2O_2 nas folhas. As amostras foram coletadas considerando-se uma folha do terço médio por unidade experimental, 24 h após a

aplicação dos tratamentos. No momento da coleta, as amostras foram alocadas individualmente em envelopes de papel alumínio, imediatamente imersos em nitrogênio líquido e transferidas para biofreezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises. As folhas (0,1 g) foram maceradas em cadinho com nitrogênio líquido e extraídas com 1,4 mL de ácido tricloroacético (0,2%) diluído em metanol. Após centrifugação a $15.645 \times g$, a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 5 min, o sobrenadante foi utilizado para a dosagem de H_2O_2 , pela reação com iodeto de potássio 1 M em tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,5). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 390 nm e os níveis de H_2O_2 foram calculados por meio do uso de uma curva padrão feita com concentrações conhecidas de H_2O_2 , e expressos em nmol por grama de massa fresca de folha (nmol g^{-1} MF) (ALEXIEVA et al., 2001).

As avaliações dos teores de pigmentos fotossintetizantes foram realizadas por meio da determinação do conteúdo de clorofila *a* (Ca) e *b* (Cb) nas folhas. As amostras foram coletadas considerando uma folha do terço médio por unidade experimental, aos 3 DAT. No momento da coleta, as amostras (0,1 g) foram alocadas individualmente em tubos de centrifugação e homogeneizadas, com 5 mL de acetona (80%) e armazenados sob refrigeração por sete dias, sem luz. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 663,2 e 646,8 nm para determinação da Ca e Cb, respectivamente, expressos em mg por grama de massa fresca de folha (mg g^{-1} MF) (ARNON, 1949).

2.5 Análises Estatísticas

Em ambos os experimentos, os dados foram analisados pela estatística descritiva para obtenção das medidas de tendência central, dispersão e verificação de presença de dados discrepantes. Após a análise exploratória foram verificadas a normalidade dos erros, a homocedasticidade das variâncias e a independência dos erros, por meio dos testes de Shapiro-Wilk, Bartlett e Durbin Watson, respectivamente ($p < 0,05$). Após aceitas as pressuposições foi realizada a análise de variância, e quando constatado efeito significativo as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Na avaliação de controle, os dados da testemunha sem aplicação do herbicida foram desconsiderados das análises estatísticas, a fim de atender aos pressupostos da análise de variância.

Os dados de controle aos 15 DAT foram analisados pelo método de

Colby (1967) para verificar o tipo de interação entre os herbicidas (sinergismo, aditividade ou antagonismo) em cada horário de aplicação. As equações utilizadas para análise esperada na interação dupla (Equação 1) e tripla (Equação 2) estão descritas a seguir:

$$E = (X+Y) - \frac{(X.Y)}{100} \quad \text{Equação 1}$$

$$E = (X+Y+Z) - \frac{(X.Y + X.Z + Y.Z)}{100} \quad \text{Equação 2}$$

Em que: E é o controle esperado pela mistura de herbicidas, indicado como porcentagem; e X, Y e Z representam a porcentagem de controle observado pelos herbicidas aplicados isoladamente.

Segundo Colby (1967), quando a resposta da mistura dos herbicidas (efeito observado) é superior a esperada, a mistura é sinérgica; quando for inferior a esperada, é antagônica; e, quando igual, é aditiva. A significância estatística desse método foi obtida pela comparação de dois tratamentos de amostras independentes pelo teste t ($p < 0,05$).

Os dados das avaliações de MFPA, MSPA, acúmulo de H_2O_2 e teores de pigmentos fotossintetizantes foram comparados com a testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Foi avaliado o coeficiente de correlação de Pearson (r) ($p < 0,05$) entre todas as variáveis avaliadas, desconsiderando os dados das testemunhas sem aplicação. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R CORE TEAM, 2021).

3 RESULTADOS

3.1 Experimento I – Campo

No experimento em campo houve interação entre os herbicidas e os horários de aplicação para todas as variáveis avaliadas (APÊNDICE F). O horário de aplicação teve efeito principalmente nos tratamentos contendo o diquat, tanto aos 7 DAT (Figura 1A) quanto aos 15 DAT (Figura 1B). Aos 15 DAT, a aplicação do diquat isolado foi mais eficiente às 16:00 h, com 96,25% de controle, comparada aos 91,50 e 79,75% de controle obtidos com as aplicações às 08:00 e 12:00 h, respectivamente. Quando foi realizada a aplicação de 2,4-D + diquat, os controles obtidos pelas aplicações às 08:00 e 16:00 h foram iguais (82,5%), porém superiores em 10% a aplicação realizada às 12:00 h. Além da aplicação em horários de menor intensidade luminosa, a adição de diuron ao 2,4-D + diquat resultou em incremento de controle, chegando a 97,5 e 100% para as aplicações às 08:00 e 16:00 h, respectivamente (Figura 1B). Os controles proporcionados pelos tratamentos formados por diquat isolado e 2,4-D + diquat + diuron não diferiram às 16:00 h, no entanto, apenas esse último tratamento proporcionou 100% de controle, o que descarta a possibilidade de ocorrência de rebrota das plantas.

Em plantas submetidas a aplicação de diuron isolado, o controle foi de apenas 10,50%, tanto aos 7 DAT (Figura 1A) quanto aos 15 DAT (Figura 1B), independente do horário aplicado. Na última avaliação de controle utilizando o 2,4-D não houve diferença entre os horários de aplicação, com controle médio de 51% (Figura 1B).

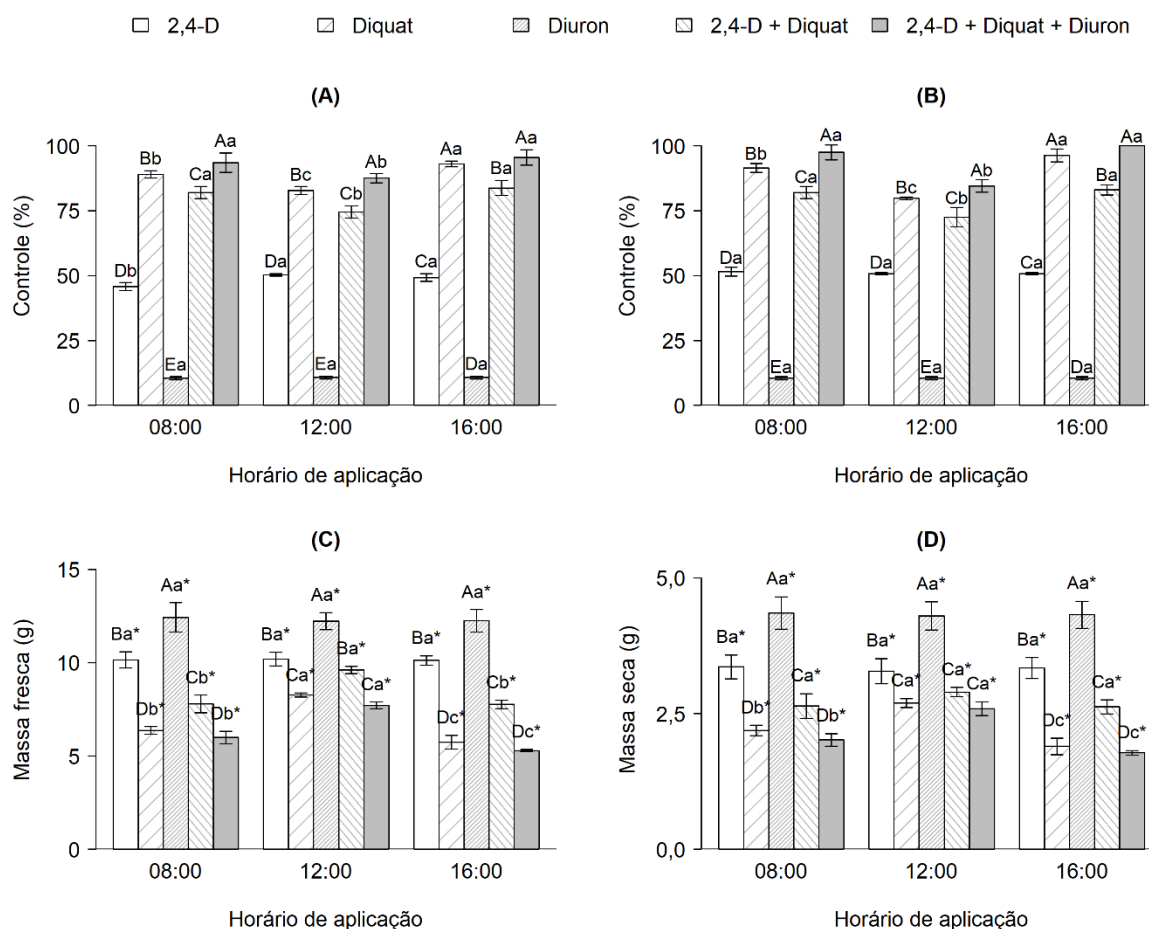
A análise de Colby demonstra que, independentemente do horário de aplicação, a mistura de 2,4-D + diquat resultou em antagonismo para o controle aos 15 DAT (Tabela 2). Contudo, a adição de diuron melhorou a eficiência da mistura de 2,4-D + diquat, resultando em sinergismo nas aplicações realizadas às 08:00 e 16:00 h, e em aditividade para a aplicação realizada às 12:00 h (Tabela 2).

Nas avaliações de MFPA (Figura 1C) e MSPA (Figura 1D), os tratamentos diquat e 2,4-D + diquat + diuron apresentaram os melhores resultados, com os menores índices de massa nas aplicações realizadas 16:00 h. Nesse horário, a MFPA das plantas expostas ao diquat foi reduzida em 10 e 30,5%, e a MSPA em 13,2 e 29,4%, em comparação a aplicação realizada às 08:00 e 12:00 h,

respectivamente. Já na combinação 2,4-D + diquat + diuron aplicada às 16:00 h, a redução da MFPA foi de 11,7 e 31,5%, e a MSPA foi de 11,9 e 31,3%, em relação as aplicações realizadas às 08:00 e 12:00 h, respectivamente. Os valores de MSPA desses tratamentos aplicados às 12:00 h não diferiram da mistura 2,4-D + diquat, a qual não foi influenciada pelo horário de aplicação, com média de 2,72 g.

O acúmulo de massa das plantas expostas as aplicações dos herbicidas 2,4-D e diuron isolados também não diferiu em função do horário de aplicação, tanto na avaliação de MFPA quanto de MSPA, com acúmulo médio de 10,15 e 12,30 g de MFPA e 3,33 e 4,32 g de MSPA, respectivamente. Todos os tratamentos diferiram da testemunha nas avaliações de MFPA (17,61 g) e MSPA (6,90 g).

Figura 1 - Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo.



As letras maiúsculas iguais entre as caldas dentro de cada horário de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais entre os horários de aplicação não

diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). As médias utilizadas para a construção do teste de Tukey das variáveis controle (A e B) e massa fresca e seca da parte aérea (C e D) foram oriundas da transformação dos dados pela raiz quadrada (\sqrt{y}) e $\log(y)$, respectivamente. *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio padrão.

Tabela 2 - Controle (%) aos 15 dias após o tratamento (DAT) de plantas de buva observados (Obs) e interação esperada (Esp) pelo método de Colby (1967) em resposta a aplicação de 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo.

Tratamentos		Controle aos 15 DAT (%)		
2,4-D + Diquat		Obs (%)	Esp (%)	Res
08:00		82,00	95,89	Ant*
12:00		72,50	90,03	Ant*
16:00		83,00	98,15	Ant*
Tratamentos		Controle aos 15 DAT (%)		
2,4-D + Diquat + Diuron		Obs (%)	Esp (%)	Res
08:00		97,50	86,43	Sin*
12:00		84,50	82,58	Adi ^{ns}
16:00		100,00	88,07	Sin*

*Significativo segundo o teste t ($p < 0,05$); ^{ns}não significativo segundo o teste t ($p < 0,05$); Res: resposta; Adi: aditividade; Ant: antagonismo; Sin: sinergismo.

3.2 Experimento II – Casa de Vegetação

De forma semelhante ao observado no campo, houve interação significativa entre os fatores avaliados para todas as variáveis analisadas (APÊNDICES G e H). Para o controle aos 7 DAT (Figura 2A), os melhores resultados são observados para a aplicação de diquat às 16:00 h e para as aplicações de 2,4-D + diquat + diuron às 8:00 e 16:00 h, com controle médio de 94,2%. Para o controle aos 15 DAT (Figura 2B), esses tratamentos apresentaram respostas estatisticamente iguais às da avaliação anterior. Contudo, apenas a mistura tripla (2,4-D + diquat + diuron) aplicada às 16:00 h proporcionou 100% de controle de buva, o que descarta a possibilidade de ocorrência de rebrota das plantas. Quando foi realizada a aplicação de 2,4-D + diquat, os controles obtidos nas aplicações às 08:00 e 16:00 h não diferiram (82,5%), porém foram superiores em 11% a aplicação realizada às 12:00 h.

Em plantas submetidas a aplicação de diuron ocorreram os menores índices de controle em comparação as demais caldas pulverizadas, independente do horário aplicado, com controle de apenas 11,25%, tanto aos 7 DAT (Figura 2A) quanto aos 15 DAT (Figura 2B). Em ambas as avaliações de controle a eficiência de 2,4-D isolado não foi influenciada em virtude do horário de aplicação, com média de controle

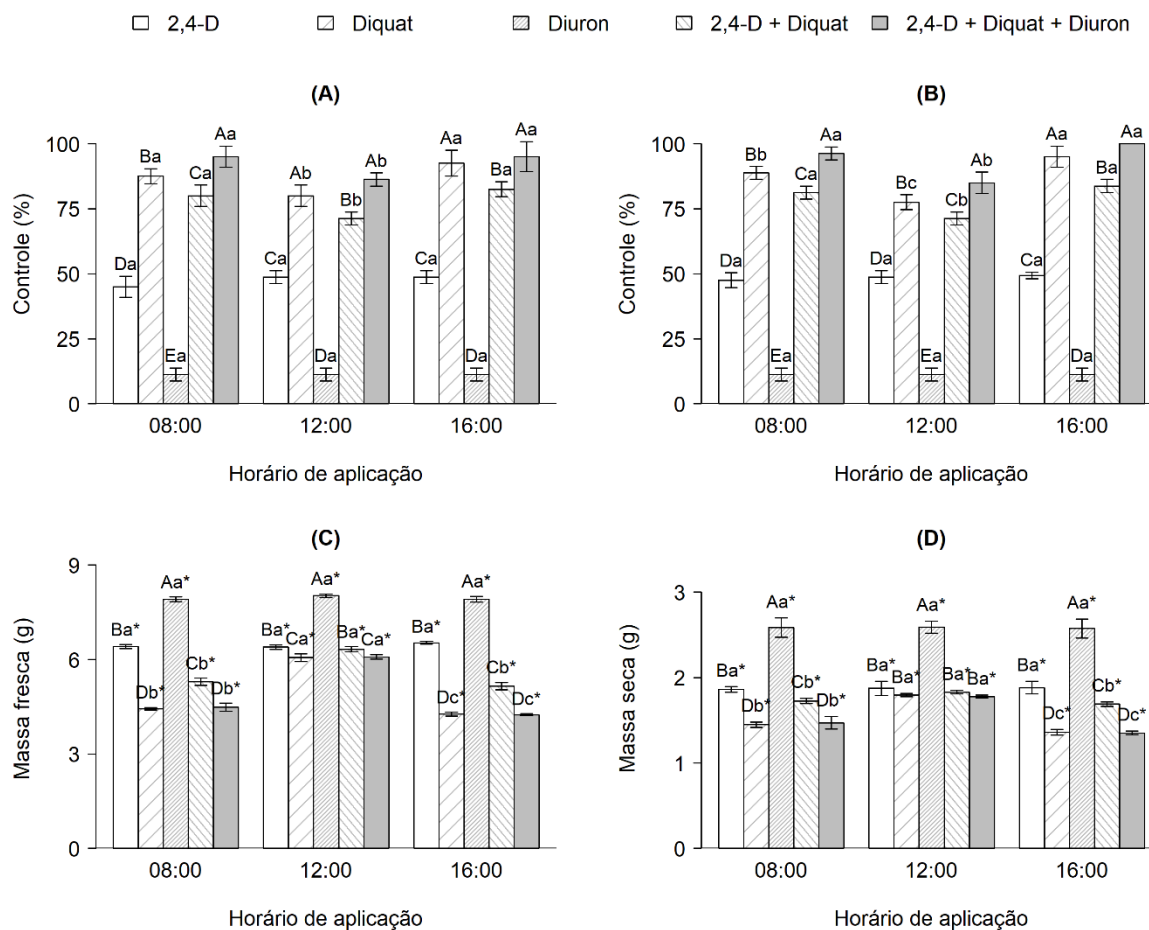
de 47,5% aos 7 DAT e 48,5% aos 15 DAT.

Assim como no experimento de campo, de acordo com o método de Colby, a mistura de 2,4-D + diquat foi antagônica, independentemente do horário de aplicação, para o controle aos 15 DAT (Tabela 3). No entanto, a adição de diuron potencializou a eficiência dessa mistura, resultando em sinergismo nas aplicações realizadas às 08:00 e 16:00 h, e em aditividade quando aplicada às 12:00 h (Tabela 3).

As avaliações de MFPA (Figura 2C) indicam que, independente do horário de aplicação, as plantas de buva tratadas com diquat isolado e a combinação 2,4-D + diquat + diuron resultaram em menores acúmulos de massa, em comparação as demais caldas pulverizadas. Já para a MSPA (Figura 2D), esses tratamentos apresentaram os menores valores nas aplicações realizadas às 08:00 e 16:00 h. A maior eficiência de diquat e 2,4-D + diquat + diuron ocorreu na aplicação às 16:00 h, com médias de 5,18 g de MFPA e 1,35 g de MSPA. Quando foi realizada a aplicação de 2,4-D + diquat, os índices de MFPA e MSPA às 08:00 e 16:00 h não diferiram, com média de 5,22 e 1,70 g, respectivamente. Contudo, esses valores foram inferiores a aplicação realizada às 12:00 h, em 17,4% na MFPA e em 7,1% na MSPA.

Para os herbicidas 2,4-D e diuron, os resultados de massa das plantas não foram influenciados pelo horário de aplicação. O diuron apresentou os maiores índices de MFPA e MSPA, em comparação aos demais herbicidas, independente do horário de aplicação, com acúmulo médio de 7,95 e 2,58 g, respectivamente. Já para o herbicida 2,4-D, a média da MFPA foi de 6,45 g e da MSPA foi de 1,87 g. Todos os tratamentos herbicidas diferiram da testemunha, a qual apresentou os maiores valores de MFPA e MSPA resultando em 10,52 g e 3,59 g, respectivamente.

Figura 2 - Controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) (A) e aos 15 DAT (B), massa fresca da parte aérea (MFPA) (C) e massa seca da parte aérea (MSPA) (D) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.



As letras maiúsculas iguais entre as caldas dentro de cada horário de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais entre os horários de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). As médias utilizadas para a construção do teste de Tukey da variável massa seca da parte aérea (D) foram oriundas da transformação dos dados pela recíproca da raiz quadrada ($1/\sqrt{y}$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio padrão.

Tabela 3 - Controle (%) aos 15 dias após o tratamento (DAT) de plantas de buva observados (Obs) e interação esperada (Esp) pelo método de Colby (1967) em resposta a aplicação de 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.

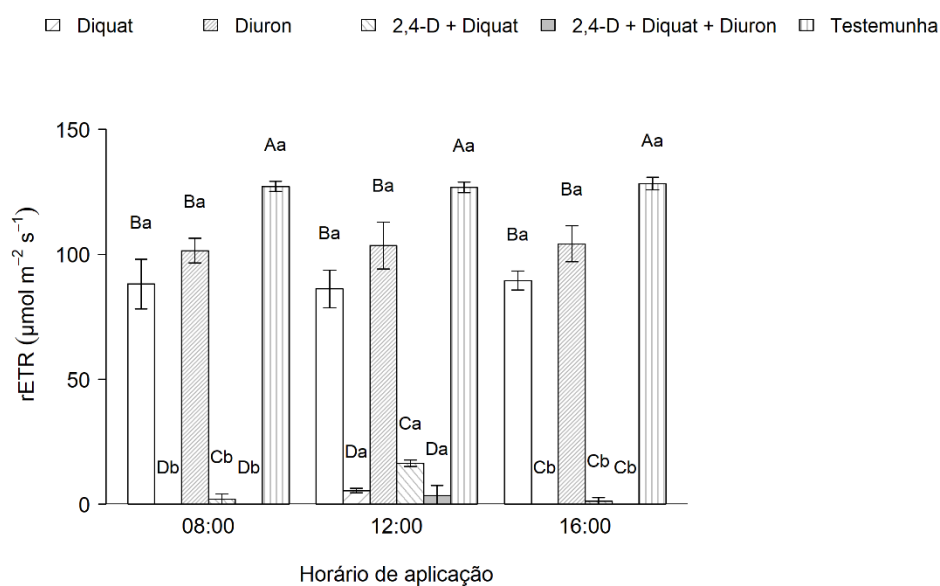
Tratamentos		Controle aos 15 DAT (%)		
2,4-D + Diquat		Obs (%)	Esp (%)	Res
08:00		81,25	94,12	Ant*
12:00		71,25	88,50	Ant*
16:00		83,75	97,47	Ant*
Tratamentos		Controle aos 15 DAT (%)		
2,4-D + Diquat + Diuron		Obs (%)	Esp (%)	Res
08:00		96,25	85,22	Sin*
12:00		85,00	81,33	Adi ^{ns}
16:00		100,00	87,10	Sin*

*Significativo segundo o teste t ($p < 0,05$); ^{ns}não significativo segundo o teste t ($p < 0,05$); Res: resposta; Adi: aditividade; Ant: antagonismo; Sin: sinergismo.

As avaliações de rETR indicam que a atividade fotossintética das plantas de buva tratadas com herbicidas foi reduzida em comparação a testemunha, independente do herbicida e horário de aplicação (Figura 3). As maiores inibições foram observadas nos tratamentos contendo diquat. O herbicida diquat e a combinação de 2,4-D + diquat + diuron, independente do horário de aplicação, não diferiram entre si. Contudo, às 08:00 e 16:00 h reduziram em média a rETR em 100%, em comparação a aplicação realizada às 12:00 h, a qual resultou em $4,45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os tratamentos diquat e 2,4-D + diquat + diuron resultaram nos menores valores de rETR, em comparação as demais caldas pulverizadas. No entanto, às 16:00 h não houve diferença na rETR entre esses tratamentos e a mistura 2,4-D + diquat.

Para a combinação de 2,4-D + diquat houve maior inibição da rETR nas aplicações realizadas às 08:00 e 16:00 h, diferindo em 87,8 e 93%, respectivamente, da aplicação às 12:00 h, a qual resultou em $16,4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Já para os herbicidas isolados 2,4-D e diuron, não houve diferença entre os horários de aplicação. Esses tratamentos, independente do horário em que foram aplicados resultaram nos maiores valores de rETR em comparação aos tratamentos herbicidas, com rETR média de $95,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A testemunha sem herbicida também não diferiu em função dos horários, resultando em rETR média de $127,4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Figura 3 - Taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.

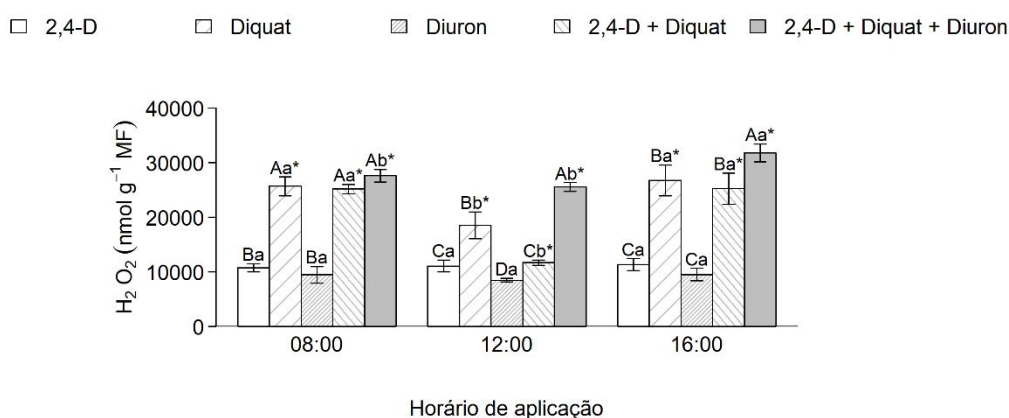


As letras maiúsculas iguais entre as caldas dentro de cada horário de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais entre os horários de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). As médias utilizadas para a construção do teste de Tukey foram oriundas da transformação dos dados pela raiz quadrada (\sqrt{y}). As barras verticais indicam o desvio padrão.

As avaliações de acúmulo de H_2O_2 indicaram que as maiores concentrações foram obtidas com a aplicação de 2,4-D + diquat + diuron realizada às 16:00 h, com $31795,92 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF}$ (Figura 4). Para as aplicações realizadas às 12:00 e 16:00 h a adição de diuron a mistura potencializaram o estresse oxidativo nas plantas de buva. Para os tratamentos diquat isolado e a mistura 2,4-D + diquat não houve diferença entre as aplicações às 08:00 e 16:00 h, resultando em concentração média de $25736,72 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF}$. Contudo, foram superiores em 27,87 e 54,49% em relação aos tratamentos diquat e 2,4-D + diquat, respectivamente, aplicados às 12:00 h.

Para os herbicidas 2,4-D e diuron não houve efeito significativo do horário de aplicação, contudo, esses herbicidas diferiram entre si apenas quando foram aplicados às 12:00 h, com 2,4-D resultando em $11104,32 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF}$ e diuron $8503,66 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF}$. As aplicações de 2,4-D e diuron, independente do horário aplicado, não diferiram da testemunha sem herbicida. No entanto, os demais tratamentos herbicidas apresentaram maior acúmulo de EROs em comparação a testemunha, a qual resultou em $8374,60 \text{ nmol g}^{-1} \text{ MF}$.

Figura 4 - Concentração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nas folhas de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.



As letras maiúsculas iguais entre as caldas dentro de cada horário de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais entre os horários de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). As médias utilizadas para a construção do teste de Tukey foram oriundas da transformação dos dados pela raiz quadrada (\sqrt{y}). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio padrão.

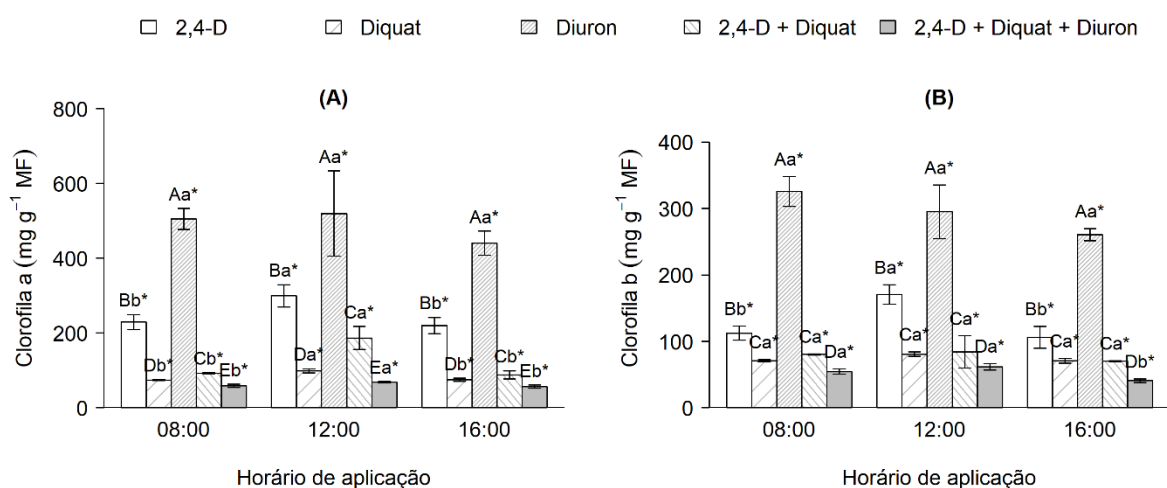
As avaliações dos teores de pigmentos fotossintetizantes indicam que a mistura 2,4-D + diquat + diuron apresentaram os menores conteúdos de Ca (Figura 5A) e Cb (Figura 5B) nas folhas de buva. Além da adição de diuron, o horário de aplicação potencializou os danos nesses pigmentos. Dessa forma, essa combinação resultou em menores índices de Ca nas aplicações realizadas às 08:00 e 16:00 h, as quais não diferiram entre si ($57,73 \text{ mg g}^{-1} \text{ MF}$), com valores 15,64% inferiores ao da aplicação às 12:00 h. Já para a avaliação de Cb, às 16:00 h houve o menor conteúdo nas folhas, com $40,76 \text{ mg g}^{-1} \text{ MF}$, diferindo em média 29,93% das aplicações às 08:00 e 12:00 h.

Para o tratamento diquat isolado, os níveis de Ca obtidos pelas aplicações às 08:00 e 16:00 h não diferiram ($74,63 \text{ mg g}^{-1} \text{ MF}$), porém foram inferiores em 24,67% a aplicação realizada às 12:00 h (Figura 5A). Na avaliação de Cb, esse herbicida não diferiu em função do horário, resultando em média $74,15 \text{ mg g}^{-1} \text{ MF}$ (Figura 5B). A combinação de 2,4-D + diquat, independente do horário de aplicação, apresentou maior conteúdo de Ca em comparação ao herbicida diquat. Observou-se a maior diferença de Ca entre esses herbicidas às 12:00 h, com 2,4-D + diquat e diquat resultando em $186,95$ e $99,07 \text{ mg g}^{-1} \text{ MF}$. Já nas avaliações de Cb, não houve efeito do horário aplicado para a mistura 2,4-D + diquat. Independente do horário de aplicação, essa mistura não diferiu do herbicida diquat, com valor médio de $78,24 \text{ mg g}^{-1} \text{ MF}$.

g^{-1} MF de *Cb*.

Quando foi realizada a aplicação de 2,4-D, nas avaliações de *Ca* e *Cb*, não houve diferença entre 08:00 e 16:00 h, com média de 224,60 e 109,25 mg g^{-1} MF, respectivamente. Contudo, esses valores foram inferiores a aplicação realizada às 12:00 h, em 25,08% na *Ca* e em 35,93% na *Cb*. Para o herbicida diuron não houve influência do horário de aplicação, tanto nas avaliações de *Ca* quanto de *Cb*, com valores médios de 488,59 e 293,72 mg g^{-1} MF, respectivamente. Todos os tratamentos foram inferiores a testemunha sem herbicida, a qual apresentou 655,76 mg g^{-1} MF de *Ca* e 526,80 mg g^{-1} MF de *Cb*.

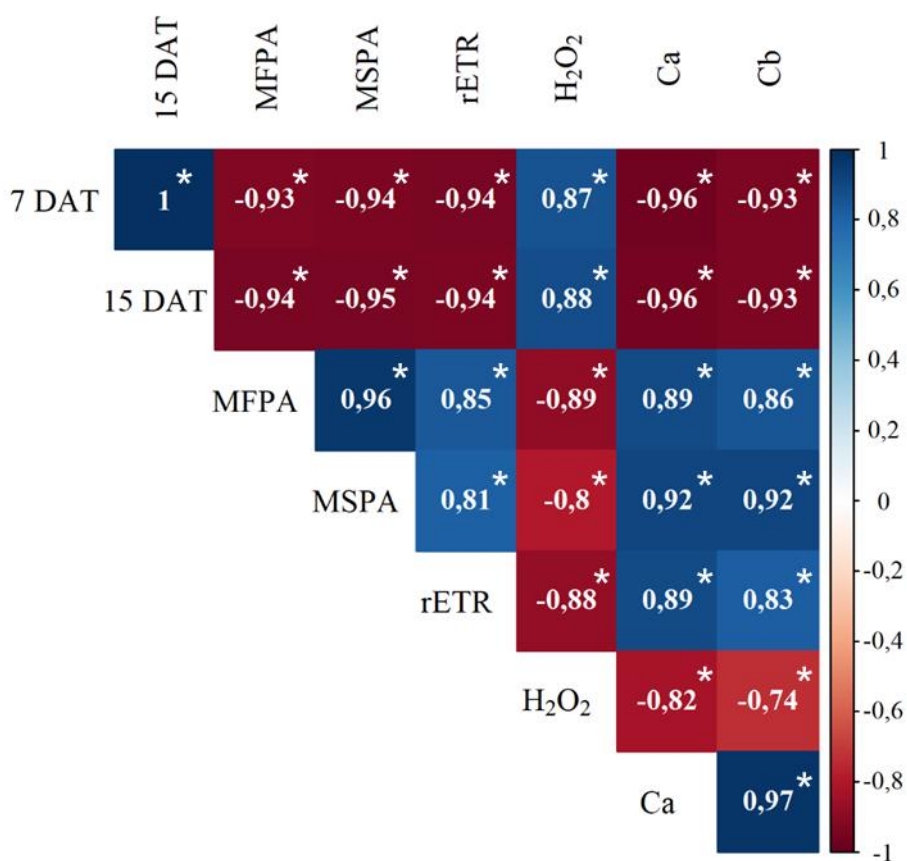
Figura 5 - Clorofila *a* (*Ca*) (A) e clorofila *b* (*Cb*) (B) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.



As letras maiúsculas iguais entre as caldas dentro de cada horário de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas iguais entre os horários de aplicação não diferem entre si, segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). As médias utilizadas para a construção do teste de Tukey foram oriundas da transformação dos dados pela recíproca da raiz quadrada ($1/\sqrt{y}$). *Diferem da testemunha pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio padrão.

Conforme esperado, os controles de ambas as avaliações se correlacionaram negativamente com as massas fresca e seca da parte aérea de plantas de buva, medidas ao final do experimento (Figura 6). Além disso, foram observadas correlações negativas entre as porcentagens de controle aos 7 ou 15 DAT e os parâmetros fotossintéticos ($r\text{ETR}$, *Ca* e *Cb*). No entanto, houve correlação positiva entre as avaliações de controle e a concentração foliar de H_2O_2 . Exceto a concentração foliar de H_2O_2 , todas as variáveis fisiológicas e de massa se correlacionaram positivamente entre si.

Figura 6 - Coeficiente de correlação de Pearson (r) das variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR), concentração foliar de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), clorofila *a* (Ca) e clorofila *b* (Cb) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.



* Significativo ($p < 0,05$).

4 DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que a aplicação de caldas contendo diquat foi mais eficiente quando realizada em horários de menor intensidade luminosa (08:00 e 16:00 h). Dessa forma, aos 15 DAT, as plantas de buva expostas a aplicação de diquat às 12:00 h apresentaram menor controle em comparação aos demais horários, em ambos os experimentos (Figuras 1B e 2B). Embora o diquat seja considerado um herbicida de contato, esse herbicida apresenta log K_{ow} compatível com herbicidas móveis pelo xilema e pelo floema (log K_{ow} -4,26) (BROMILOW; CHAMBERLAIN; EVANS, 1990; SHANER, 2014; RODRIGUES; ALMEIDA, 2018). Contudo, a alta intensidade luminosa catalisa a degradação da membrana lipídica, inviabilizando a translocação do herbicida via floema e limitando os danos nos tecidos vegetais (BRUNHARO; HANSON, 2017). Dessa forma, é possível observar que as aplicações de diquat realizadas com menor intensidade luminosa (08:00 e 16:00 h) retardaram esse efeito inicial, promovendo maior redução na rETR (Figura 3) e maior acúmulo de H_2O_2 24 h após a aplicação (Figura 4) em comparação ao tratamento das 12:00 h.

A associação de 2,4-D + diquat apresentou maior controle em comparação ao 2,4-D isolado aos 7 (Figuras 1A e 2A) e 15 DAT (Figuras 1B e 2B). No entanto, independente do horário de aplicação, houve antagonismo na associação de 2,4-D + diquat aos 15 DAT (Tabelas 2 e 3). A ação sistêmica do 2,4-D pode ser limitada pela associação com diquat, comprometendo sua mobilidade pelo xilema e floema (BROMILOW; CHAMBERLAIN; EVANS, 1990) em função dos danos causados a esses vasos condutores. Wehtje; Altland e Gilliam (2008) observaram maior controle inicial quatro dias após a aplicação de glyphosate + diquat, em comparação ao glyphosate isolado, entretanto, com o passar dos dias observaram maior controle com glyphosate isolado e rebrota no tratamento associado. Os resultados obtidos por esses autores indicam redução na eficiência a longo prazo da mistura, o que poderia ocorrer com os tratamentos 2,4-D + diquat.

A adição de diuron a essa combinação de herbicidas evitou o antagonismo, com incremento na eficiência do controle quando aplicado às 08:00 e 16:00 h (Tabelas 1 e 2). A resposta promovida pelo diuron ocorre devido a redução do dano imediato na membrana e, conseqüentemente, morte celular causada pelo diquat, permitindo assim que ocorra translocação desse herbicida. O dano lento da membrana é resultado da redução do fluxo de elétrons no FSI, devido a ação do

diuron, o que limita o fluxo de elétrons no FSII. Dessa forma, reduz a taxa na qual o diquat captura elétrons no FSI, minimizando os níveis de superóxido formados durante a auto-oxidação (NORSWORTHY et al., 2011). A avaliação foi realizada 24 h após a aplicação, o que permitiu a translocação do herbicida, e juntamente com a exposição a luz no dia seguinte proporcionou a produção generalizada de EROs e consequentemente, maior controle das plantas (Figuras 1B e 2B). Portanto, a ação do diuron atenua, mas não evita a formação da radical superóxido no FSI. Dessa forma, na aplicação de 2,4-D + diquat + diuron às 16:00 h houve maior acúmulo de H_2O_2 nas folhas (Figura 4).

Outra explicação para a melhoria da eficiência do diquat com a associação de diuron é a geração de diferentes EROs, como oxigênio singlete e peróxido de hidrogênio. Por esses herbicidas atuarem em fotossistemas distintos, dificultam a desintoxicação promovida pelas atividades enzimáticas e não enzimáticas das plantas (HESS, 2000). No entanto, em alta intensidade luminosa (12:00 h) ocorre um aumento dessas atividades de desintoxicação em resposta ao estresse luminoso (fotoinibição) (COBB; READE, 2010), o que pode interferir na eficiência dos herbicidas aplicados nesse horário. Portanto, na adição de diuron às 12:00 h observou-se aditividade no controle aos 15 DAT e, não sinergismo como nos demais horários que apresentaram menor intensidade luminosa no momento da aplicação (Tabelas 2 e 3).

A combinação de 2,4-D + diquat + diuron resultou em maior degradação das clorofilas *a* (Figura 5A) e *b* (Figuras 5B), independente do horário de aplicação. A interrupção do fluxo de elétrons no FSII pela ação do diuron leva a formação de moléculas de clorofila no estado de alta energia (clorofila triplet), sendo que, esse excesso de energia acarreta na maior degradação dos tecidos, maior acúmulo de EROs (WELLER, 2003), e consequentemente menor conteúdo de clorofila *a* e *b*. Esses resultados corroboram os resultados da correlação, a qual indica associação negativa entre a concentração foliar de H_2O_2 e os pigmentos fotossintetizantes (Figura 6).

Em relação ao tratamento 2,4-D isolado não foi observado controle satisfatório (> 80%) nas avaliações aos 7 e 15 DAT. O 2,4-D necessita de maior período para ser translocado até os pontos de crescimento das plantas de buva e assim expressar sua máxima eficiência, em função de apresentar ação sistêmica (WALKER et al., 2012). Assim como nas aplicações de 2,4-D, as plantas tratadas com diuron também não foram controladas de forma satisfatória. Geralmente, o herbicida

diuron é aplicado em pré emergência, com doses superiores as utilizadas no presente experimento. Dessa forma, a utilização desse herbicida em pós emergência tem o intuito apenas de melhorar a eficiência da mistura 2,4-D + diquat, limitando o fluxo de elétrons no FSII.

Na prática, muitos produtores utilizam a mistura dos herbicidas diuron + paraquat comercialmente disponíveis na mesma formulação. Contudo, com a proibição da comercialização e uso do paraquat no Brasil (ANVISA, 2017), o diquat torna-se a opção mais próxima, por serem do mesmo mecanismo de ação. Assim, a adição de diuron a mistura 2,4-D + diquat pode ser uma alternativa viável nos sistemas de cultivo, por aumentar a eficiência de controle das plantas de buva e evitar a ocorrência de rebrota. No entanto, mais pesquisas são necessárias para compreender a eficiência de controle em estádios de desenvolvimento mais avançados das plantas de buva.

5 CONCLUSÃO

A adição de diuron à mistura 2,4-D + diquat evita a ocorrência de antagonismo, com incremento no controle das plantas de buva de 0,15 m de altura nas aplicações realizadas com menor intensidade luminosa (08:00 e 16:00 h). No entanto, para o controle total é necessário realizar a aplicação às 16:00 h, resultando em degradação das clorofilas, redução da atividade fotossintética das plantas e, conseqüentemente, maior acúmulo de EROs.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINETTO, D.; SILVA, D. R. O.; VARGAS, L. Soybean yield and economic thresholds due to glyphosate resistant hairy fleabane interference. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, p. 1-8, 2017.
- ALEXIEVA, V; SERGIEV, I; MAPELLI, S; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.
- AMARO-BLANCO, I.; FERNÁNDEZ-MORENO, P. T.; OSUNA-RUIZ, M. D.; BASTIDA, F.; DE PRADO, R. Mechanisms of glyphosate resistance and response to alternative herbicide-based management in populations of the three *Conyza* species introduced in Southern Spain. **Pest Management Science**, v. 74, n. 8, p. 1925-1937, 2018.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de diretoria colegiada – RDC nº 190, de 30 novembro de 2017**. 2017.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.
- BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BROMILOW, R. H.; CHAMBERLAIN, K.; EVANS, A. A. Physicochemical aspects of phloem translocation of herbicides. **Weed Science**, v. 38, n. 3, p. 305-314, 1990.
- BRUNHARO, C. A. C. G.; HANSON, B. D. Vacuolar sequestration of paraquat is involved in the resistance mechanism in *Lolium perenne* L. spp. *multiflorum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1485, 2017.
- COBB, A. H.; READE, J. P. H. **Herbicides and plant physiology**. 7.ed. Hoboken, 2010.
- COLBY, S. R. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicides combinations. **Weeds**, v.15, n.1, p. 20-22, 1967.
- EUBANK, T. W.; NANDULA, V. K.; REDDY, K. N.; POSTON, D. H.; SHAW, D. R. Saflufenacil efficacy on horseweed and its interaction with glyphosate. **Weed Biology and Management**, v. 13, p. 135-143, 2013.
- FRANS, R.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analysing plant responses to weed control practices. In: CAMPER, N. D. **Research Methods in Weed Science**. 3. ed. Champaign: Southern Weed Science Society, 1986. p. 29-45.
- GROSSMANN, K. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. **Pest Management Science**, v. 66, n. 2, p. 113-120, 2010.
- HAWKES, T. R. Mechanisms of resistance to paraquat in plants. **Pest Management Science**, v. 70, p. 1316-1323, 2014.

HAYWARD, D. M.; COLBY, S. R.; PARHAM, M. R. Enhancement of paraquat activity with photosynthetic inhibitors. **Abstract Weed Science Society of America**. v. 28, n. 5, 1988.

HEAP, I. **The international herbicide resistant weed database**. Disponível em: <www.weedscience.org>. Acesso em: 20 fev. 2021.

HESS, F. D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, v. 48, n. 2, p. 160-170, 2000.

KASPARY, T. E.; LAMEGO, F. P.; CUTTI, L.; AGUIAR, A. C. D. M.; RIGON, C. A. G.; BASSO, C. J. Growth, phenology, and seed viability between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible hairy fleabane. **Bragantia**, v. 76, n. 1, p. 92-101, 2017.

LOURA, D.; SAHIL, S.; FLORENTINE, S.; CHAUHAN, B. S. Germination ecology of hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) and its implications for weed management. **Weed Science**, p. 1-26, 2020.

LUCIO, F. R.; KALSING, A.; ADEGAS, F. S.; ROSSI, C. V. S.; CORREIA, N. M.; GAZZIERO, D. L. P.; DA SILVA, A. F. Dispersal and frequency of glyphosate resistant and glyphosate-tolerant weeds in soybean-producing edaphoclimatic microregions in Brazil. **Weed Technology**, v. 33, n. 1, p. 217-231, 2019.

McCAULEY, C. L.; JOHNSON, W. G.; YOUNG, B. G. Efficacy of halauxifen-methyl on glyphosate-resistant horseweed (*Erigeron canadensis*). **Weed Science**, v. 66, n. 6, p. 758-763, 2018.

MONTGOMERY, G. B.; TREADWAY, J. A.; REEVES, J. L.; STECKEL, L. E. Effect of time of day of application of 2,4-D, dicamba, glufosinate, paraquat, and saflufenacil on horseweed (*Conyza canadensis*) control. **Weed Technology**, v. 31, p. 550-556, 2017.

MORETTI, M. L.; HANSON, B. D. Reduced translocation is involved in resistance to glyphosate and paraquat in *Conyza bonariensis* and *Conyza canadensis* from California. **Weed Research**, v. 57, n. 1, p. 25-34, 2016.

NORSWORTHY, J. K.; SMITH, K. L.; GRIFFITH, G. Evaluation of combinations of paraquat plus photosystem II-inhibiting herbicides for controlling failed stands of maize (*Zea mays*). **Crop Protection**, v. 30, n. 3, p. 307-310, 2011.

R CORE TEAM (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 7.ed. Londrina, 2018. 764 p.

SHANER, D. L. **Herbicide handbook**. 10.ed. Lawrence, 2014. 513 p.

TAHMASEBI, B. K.; ALEBRAHIM, M. T.; ROLDÁN-GOMEZ, R. A.; DA SILVEIRA, H. M.; DE CARVALHO, L. B.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; DE PRADO, R. Effectiveness of alternative herbicides on three *Conyza* species from Europe with and without glyphosate resistance. **Crop Protection**, v. 112, p. 350-355, 2018.

TREZZI, M. M.; BALBINOT JR, A. A.; BENIN, G.; DEBASTIANI, F.; PATEL, F.; MIOTTO JR, E. Competitive ability of soybean cultivars with horseweed (*Conyza bonariensis*). **Planta Daninha**, v. 31, n. 3, p. 543-550, 2013.

VALENCIA-GREDILLA, F.; SUPICICHE, M. L.; CHANTRE, G. R.; RECASENS, J.; ROYO-ESNAL, A. Germination behavior of *Conyza bonariensis* to constant and alternate temperatures across different populations. **Annals of Applied Biology**, v. 176, n. 1, p. 36-46, 2020.

WALKER, S.; BOUCHER, L.; COOK, T.; DAVIDSON, B.; MCLEAN, A.; WIDDERICK, M. Weed age affects chemical control of *Conyza bonariensis* in fallows. **Crop Protection**, v. 38, p. 15-20, 2012.

WEHTJE, G.; ALTLAND, J. E.; GILLIAM, C. H. Interaction of glyphosate and diquat in ready-to-use weed control products. **Weed Technology**, v. 22, n. 3, p. 472-476, 2008.

WELLER, S. Photosystem II inhibitors. In: **Herbicide action course**. West Lafayette, 2003, p. 131-184.

YAMASHITA, O. M.; GUIMARÃES, S. C.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; CARVALHO, M. A. C.; MASSAROTO, J. A.; KOGA, P. S.; CAMPOS, O. R. Germinação de sementes de duas espécies de *Conyza* em função da presença ou ausência de luz e interação com a adição de nitrato e ácido giberélico no substrato. **Ambiência**, v. 12, n. 2, p. 655-666, 2016.

ZAMBRANO-NAVEA, C.; BASTIDA, F.; GONZALEZ-ANDUJAR, J. L. A cohort-based stochastic model of the population dynamic and long-term management of *Conyza bonariensis* in fruiting tree crops. **Crop Protection**, v. 80, p. 15-20, 2016.

ZIMMER, MARCELO; YOUNG, BRYAN G.; JOHNSON, WILLIAM G. Herbicide Programs Utilizing halauxifen-methyl for glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) control in soybean. **Weed Technology**, v. 32, n. 6, p. 659-664, 2018.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento de dose e a realização de misturas de herbicidas nem sempre resultam em melhor controle de plantas daninhas de difícil controle, como o capim-amargoso e a buva. Dessa forma, a adoção de estratégias como o fracionamento dos graminicidas e a adição de glyphosate podem incrementar o controle de capim-amargoso perenizado, mesmo resistente aos inibidores da EPSPS.

Embora associar grupos químicos FOPs e DIMs na mesma aplicação nem sempre incrementa o controle, essa prática contribui na prevenção e no manejo da resistência aos graminicidas. A ordem de aplicação desses grupos químicos é uma forma de potencializar o controle final das plantas de capim-amargoso, com melhores resultados em aplicações de quizalofop-P-tefuril seguido de clethodim.

A ação de herbicidas inibidores de fotossistemas, como o diquat, necessita de ocorrência de luz após a aplicação para que o estresse oxidativo ocorra. No entanto, aplicações de diquat em horários com menor intensidade luminosa (ao amanhecer e principalmente, ao anoitecer) ou a exposição das plantas a períodos de escuro logo após a aplicação são estratégias para aumentar a eficiência de controle e, conseqüentemente evitar a rebrota.

Associar herbicidas sistêmicos, como o clethodim e 2,4-D ao diquat, geralmente resulta em antagonismo ou em redução na eficiência a longo prazo da mistura. No entanto, a adição de diuron a essas caldas e as aplicações em horários com menor intensidade luminosa podem minimizar esses efeitos, aumentar a ação dos herbicidas e, conseqüentemente, proporcionar maiores magnitudes de controle.

As informações obtidas neste trabalho podem ser adotadas em situações em que as plantas de capim-amargoso e buva estão em estádios iniciais ou avançados de desenvolvimento. O conhecimento sobre a eficiência de diferentes herbicidas em função do horário e da forma de aplicação proporciona maior controle e segurança na escolha do controle químico utilizado, além de reduzir os custos e os impactos ambientais.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 21, 35 e 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA), número de perfilhos por planta (NPP) e altura de plantas (AP) de capim-amargoso perenizado em resposta a aplicação de inibidores da ACCase.

FV	21 DAA	35 DAA	49 DAA	NPP	AP
Tratamentos	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Ano x Tratamentos	0,99	0,90	0,99	0,63	0,59
CV (%)	9,20	7,36	12,26	6,72	1,77

FV: fator de variação; CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE B - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 21, 35 e 49 dias após a aplicação A dos tratamentos (DAA), número de perfilhos por planta (NPP) e altura de plantas (AP) de capim-amargoso perenizado em resposta ao fracionamento de graminicidas e à adição de glyphosate.

FV	21 DAA	35 DAA	49 DAA	NPP	AP
Herbicidas (A)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Fracionamento (B)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Glyphosate (C)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
A x B	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	0,11	p < 0,05
A x C	0,25	p < 0,05	0,14	0,32	0,37
B x C	0,06	0,72	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
A x B x C	p < 0,05	p < 0,05	0,87	p < 0,05	0,86
CV (%)	3,74	4,27	5,81	27,12	7,50

FV: fator de variação; CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE C - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo.

FV	7 DAT	15 DAT	MFPA	MSPA
Herbicidas (A)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Horários (B)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
A x B	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
CV (%)	3,49	3,83	5,70	14,10

FV: fator de variação; CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE D - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e aos 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.

FV	7 DAT	15 DAT	MFPA	MSPA
Herbicidas (A)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Horários (B)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
A x B	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
CV (%)	4,96	3,65	10,01	9,48

FV: fator de variação; CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE E - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR) e concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) nas folhas de plantas de capim-amargoso em resposta a aplicação de clethodim, clethodim + diquat e clethodim + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.

FV	rETR	H₂O₂
Herbicidas (A)	p < 0,05	p < 0,05
Horários (B)	p < 0,05	p < 0,05
A x B	p < 0,05	p < 0,05
CV (%)	12,68	5,41

FV: fator de variação; CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE F - Resumo da análise de variância (ANOVA) para as variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de campo.

FV	7 DAT	15 DAT	MFPA	MSPA
Herbicidas (A)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Horários (B)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
A x B	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
CV (%)	1,48	1,42	1,93	5,56

FV: fator de variação; CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE G - Resumo da análise de variância para as variáveis controle (%) aos 7 dias após o tratamento (DAT) e 15 DAT, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.

FV	7 DAT	15 DAT	MFPA	MSPA
Herbicidas (A)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Horários (B)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
A x B	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
CV (%)	5,57	4,20	1,41	1,45

FV: fator de variação; CV: coeficiente de variação.

APÊNDICE H - Resumo da análise de variância para as variáveis taxa relativa de transporte linear de elétrons pelo fotossistema II (rETR), concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) nas folhas, clorofila *a* (Ca) e clorofila *b* (Cb) de plantas de buva em resposta a aplicação de 2,4-D, diquat, diuron, 2,4-D + diquat e 2,4-D + diquat + diuron em diferentes horários de aplicação em condições de casa de vegetação.

FV	rETR	H₂O₂	Ca	Cb
Herbicidas (A)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
Horários (B)	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
A x B	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05	p < 0,05
CV (%)	9,21	4,28	4,29	5,37

FV: fator de variação; CV: coeficiente de variação.