

**RESPOSTA DE BIÓTIPOS DE CAPIM PÉ-DE-GALINHA
(*Eleusine indica*) AOS HERBICIDAS GLIFOSATO,
CLETODIM E HALOXIFOPE-P-METÍLICO**

José Junior Nunes
Eng. Agrônomo

JOSÉ JUNIOR NUNES

**RESPOSTA DE BIÓTIPOS DE CAPIM PÉ-DE-GALINHA (*Eleusine indica*) AOS
HERBICIDAS GLIFOSATO, CLETODIM E HALOXIFOPE-P-METÍLICO**

Orientador: Prof. Dr. Paulo César Ribeiro da Cunha

Coorientador: Dr. Rodrigo Werle

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas para obtenção do título de MESTRE.

Urutaí – GO
2020

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

N972r Nunes, José Junior
RESPOSTA DE BIÓTIPOS DE CAPIM PÉ-DE-GALINHA
(Eleusine indica) AOS HERBICIDAS GLIFOSATO, CLETODIM
E HALOXIFOPE-P-METÍLICO / José Junior Nunes;
orientador Dr. Paulo César Ribeiro da Cunha; co-
orientador Dr. Rodrigo Werle. -- Urutaí, 2020.
43 p.

Dissertação (Mestrado em Mestrado Profissional em
Proteção de Plantas) -- Instituto Federal Goiano,
Campus Urutaí, 2020.

1. Resistência. 2. Graminídeas. 3. Inibidores da
ACCase. 4. Inibidor da EPSPS. 5. Gramíneas. I. Cunha,
Dr. Paulo César Ribeiro da , orient. II. Werle, Dr.
Rodrigo, co-orient. III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: José Junior Nunes

Matrícula: 2019101330540142

Título do Trabalho: RESPOSTA DE BIÓTIPOS DE CAPIM PÉ-DE-GALINHA (*Eleusine indica*) AOS HERBICIDAS GLIFOSATO, CLETODIM E HALOXIFOPE-P-METÍLICO

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: __/__/__

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

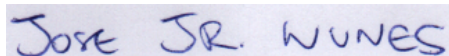
- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Primavera do Leste - MT,

Local

12/01/2021.

Data



Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

FOLHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Título da dissertação: Resposta de biótipos de capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*) aos herbicidas glifosato, cletodim e haloxifope-p-metílico.

Orientador: Prof. Dr. Paulo César Ribeiro da Cunha

Autor: Jose Junior Nunes

Dissertação de Mestrado **APROVADA** em **18 de novembro de 2020**, como parte das exigências para obtenção do Título **MESTRE EM PROTEÇÃO DE PLANTAS**, pela Banca Examinadora especificada a seguir:

Prof. Dr. Paulo César Ribeiro da Cunha - IF Goiano - Campus Urutaí
Orientador

Prof. Dr. Alexandre Tonon Rosa

Prof. Dr. Maxuel Coura Oliveira

Prof. Dr. Rodrigo Werle

Universidade de Wisconsin

Universidade do Oeste

Paulista

Universidade de Wisconsin

Documento assinado eletronicamente por:

- Alexandre Tonon Rosa, Alexandre Tonon Rosa - Professor Avaliador de Banca - Universidade de Wisconsin Madison (60746948000112), em 06/01/2021 22:24:22.
- Rodrigo Werle, Rodrigo Werle - Professor Avaliador de Banca - Universidade de Wisconsin Madison (60746948000112), em 18/12/2020 09:39:36.
- Maxwel Coura Oliveira, Maxwel Coura Oliveira - Professor Avaliador de Banca - Associação Prudentina de Educação e Cultura (44860740000173), em 15/12/2020 20:33:40.
- Paulo Cesar Ribeiro da Cunha, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 11/12/2020 18:01:15.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 20/11/2020. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 212907

Código de Autenticação: 9d130d5f1b



INSTITUTO FEDERAL GOIANO

Campus Urutaí

Rodovia Geraldo Silva Nascimento, Km 2,5, Zona Rural, None, URUTAI / GO, CEP 75790-000

(64) 3465-1900

DEDICATÓRIA

Aos meus pais (José Nunes & Claudia S. B. Nunes) dedico. Por sempre incentivarem a busca constante do conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por proporcionar saúde durante toda esta jornada.

A minha família (José Nunes, Claudia S. B. Nunes & Gabriel H. Nunes), familiares e amigos pelo incentivo contínuo e amizade.

Aos meus orientadores Dr. Paulo César Ribeiro da Cunha e Dr. Rodrigo Werle por toda orientação, conhecimento compartilhado e companheirismo durante o desenvolvimento deste projeto.

Ao Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí e todos seus professores e funcionários envolvidos direta e indiretamente em minha formação. Em especial aos professores Dr. Marco Antonio Moreira de Freitas, Dr. Anderson Rodrigo da Silva e Dr. Flávio Gonçalves de Jesus, pois além do conhecimento e companheirismo, contribuíram de forma ímpar em oportunidades essenciais ao meu desenvolvimento profissional durante minha trajetória na busca do título de mestre.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	7
MATERIAL E MÉTODOS	8
RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
CONCLUSÕES	28
REFERÊNCIAS	29
APÊNDICES	33

RESUMO

O capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) é atualmente um dos principais desafios no manejo de plantas daninhas no sistema de produção agrícola brasileiro, devido tanto a sua ampla dispersão, quanto aos inúmeros casos de resistência já confirmados, casos que além de dificultar o manejo desta espécie, também elevam os custos de produção do produtor rural. Desta forma o presente trabalho teve como objetivo avaliar a resposta de biótipos de capim-pé-de-galinha a glifosato, cletodim e haloxifope-p-metílico visando o possível diagnóstico de populações resistentes a estes herbicidas. Para tal, dezessete biótipos (B1 ao B17) dessa espécie foram coletados em áreas de produção na região de Primavera do Leste – MT e selecionadas por meio de uma triagem inicial realizada em casa de vegetação no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, onde as sementes foram semeadas em vasos de 5 dm³ e quando as plantas atingiram o estágio de um a três perfilhos (4 plantas por vaso), foi realizada a aplicação dos herbicidas em suas respectivas doses recomendadas, glifosato (960 g e.a. ha⁻¹), haloxifope-p-metílico (60 g e.a. ha⁻¹) e cletodim (96 g i.a. ha⁻¹). Avaliação de eficácia de controle (0 a 100%) foi realizada aos 28 DAA no intuito de selecionar quais biótipos apresentaram menores níveis de controle a cada um dos herbicidas para execução dos ensaios de curva de dose resposta. Dos dezessete biótipos, B1 e B4 foram selecionados para os graminicidas cletodim e haloxifope-p-metílico; B11, B14 e B15 para os herbicidas cletodim, haloxifope-p-metílico e glifosato; e B16 apenas para haloxifope-p-metílico e glifosato, além dos biótipos selecionados, foi adicionado um biótipo suscetível aos herbicidas como comparativo. Os ensaios de curva de dose resposta, seguiram a mesma metodologia da triagem inicial, no entanto foi adotado a amplitude de dose de 0 a 16 vezes a dose recomendada de cada produto (0D, D/16, D/8, D/4, D/2, D, 2D, 4D, 8D, 16D, onde D é igual a dose recomendada). Aos 28 DAA foi realizada a avaliação de controle e a coleta das plantas não controladas para secagem em estufa a 65°C até o ponto de massa constante e determinação da biomassa seca de capim-pé-de-galinha por vaso. Os dados de eficácia e biomassa seca foram utilizados para construção das curvas de dose resposta por meio do modelo de regressão não-linear log-logístico e para determinação dos valores de C₅₀/C₈₀ e GR₅₀/GR₈₀ de cada herbicida. Apesar de apresentarem o mesmo mecanismo de ação, foi possível observar que existem variações na resistência a haloxifope-p-metílico e cletodim, sendo observado um maior número de biótipos resistentes e maiores fatores de resistência para o FOP em relação ao DIM. Dentre os quatro biótipos selecionados e tratados com glifosato, três apresentaram eficácia de controle insatisfatória (<80%) com a dose recomendada do herbicida. Destes três biótipos B11 e B15 se destacaram pois além de se caracterizarem como resistentes ao glifosato, também não foram controlados satisfatoriamente por cletodim e haloxifope-p-metílico, caracterizando-se como uma suspeita de resistência múltipla aos três herbicidas. Sementes da geração F1 destes biótipos foram coletadas e serão submetidas a um novo ensaio de curva de dose resposta, se confirmado, estes podem ser um dos primeiros casos de resistência múltipla de capim-pé-de-galinha no Brasil envolvendo cletodim, haloxifope-p-metílico e glifosato.

Palavras-chave: Resistência; Graminídeas; Inibidores da ACCase; Inibidor da EPSPS; Gramíneas.

ABSTRACT

Goosegrass (*Eleusine indica*) is currently one of the most troublesome weed species in the Brazilian cropping system, due to its wide dispersion and the several cases of resistance already confirmed, cases that besides hamper the management of this species, also increase production costs for producers. Thus, the present work aimed to evaluate the response of goosegrass biotypes to glyphosate, clethodim, and haloxyfop-p-methyl aiming for the possible diagnosis of biotypes resistant to these herbicides. For such, seventeen goosegrass biotypes (B1 to B17) were collected in production areas in the region of Primavera do Leste, Mato Grosso State, and screened in a greenhouse in a completely randomized design with four replications. The seeds were sown in pots of 5 dm³, and when the plants reached the stage of one to three tillers (4 plants per pot), the herbicides were applied in their respective recommended rates, glyphosate (960 g a.e. ha⁻¹), haloxyfop-p-methyl (60 g a.e. ha⁻¹), and clethodim (96 g a.i. ha⁻¹). Control efficacy assessment (0 to 100%) was performed at 28DAT to select which biotypes showed the lowest control level to each herbicide and conduct the dose-response trials. From the seventeen biotypes, B1 and B4 were chosen for the graminicides clethodim and haloxyfop-p-methyl; B11, B14, and B15 for the herbicides clethodim, haloxyfop-p-methyl and glyphosate; and B16 only for haloxyfop-p-methyl and glyphosate, in addition to the selected biotypes, a susceptible one to the herbicides was added as a comparison. The dose-response trials followed the same methodology of the screening; however, it was adopted a dose range of 0 to 16 times the recommended rate of each herbicide (0D, D/16, D/8, D/4, D/2, D, 2D, 4D, 8D, 16D, where D is equal to the recommended rate). At 28DAT, an efficacy assessment was performed. Also, the biomass of uncontrolled plants was collected for drying in an oven at 65°C until constant weight to establish the dry biomass of goosegrass per pot. The efficacy and dry biomass data were used to construct the dose-response curves using the non-linear log-logistic model and determine the values of C₅₀/C₈₀ and GR₅₀/GR₈₀ for each herbicide. Despite having the same mechanism of action, it was possible to observe variations in resistance to haloxyfop-p-methyl and clethodim, with a greater number of resistant biotypes and greater resistance factors for the FOP compared to the DIM. Among the four biotypes selected and treated with glyphosate, three presented poor control (<80%) at the recommended rate. Out of these three biotypes B11 and B15 stood out because, in addition to being characterized as resistant to glyphosate, they were also not satisfactorily controlled by clethodim and haloxyfop-p-methyl, being a suspicion of multiple resistance to these three herbicides. F1 generation seeds of these biotypes were collected and will be subjected to a new dose-response curve trial if confirmed; these may be one of the first cases of goosegrass multiple resistance in Brazil involving clethodim, haloxyfop-p-methyl, and glyphosate.

Key words: Resistance; Graminicides; ACCase inhibitors; EPSPS inhibitors; Grasses.

INTRODUÇÃO

A forte pressão de seleção imposta pelo uso constante e quase que exclusivo de herbicidas para o controle de plantas daninhas tem resultado em um aumento na evolução de biótipos resistentes as mais diversas ferramentas químicas utilizadas (Neve et al. 2009). Desde o primeiro relato nos anos 50, mais de 500 novos casos de resistência já foram confirmados mundialmente, sendo 262 espécies resistentes a 23 dos 26 sítios de ação já disponíveis. No Brasil até a presente data de dezembro de 2020 somam-se 50 casos, abrangendo 29 espécies e oito diferentes sítios de ação (Heap 2020).

De acordo com a *Weed Science Society of America* (WSSA), a resistência de plantas daninhas a herbicidas é definida como a habilidade hereditária de uma planta sobreviver e se reproduzir após exposição a uma dose de herbicida normalmente letal para o biótipo selvagem da planta, a qual pode ocorrer de forma natural ou induzida por meio de técnicas como engenharia genética ou seleção de variantes produzidas por culturas de tecidos ou mutagêneses (Heap 2005). Para que o biótipo de uma espécie de planta daninha sobreviva a ação de determinado herbicida e seja considerada resistente é necessário que esse indivíduo desenvolva e apresente um ou mais mecanismos de resistência, os quais são divididos em duas categorias, *target-site resistance* (TSR) e *non-target-site resistance* (NTSR), podendo ser traduzidos como resistência específica ao sítio de ação do herbicida (TSR) e não específica ou metabólica (NTSR) (Borgatto & Netto 2016).

Se tratando de TSR, esta pode ocorrer devido a mutações ou alterações no sítio alvo de ação do herbicida que resultem na perda de afinidade e incapacidade do herbicida em se ligar e inibir os processos metabólicos em que atua. Este mecanismo de resistência é característico de herbicidas que inibem enzimas responsáveis por rotas metabólicas específicas da planta, como por exemplo os herbicidas inibidores da Acetyl-CoA carboxilase (ACCase), os inibidores da Acetolactato sintase (ALS) e o inibidor da 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) (Borgatto & Netto 2016).

A amplificação gênica é outro mecanismo de resistência caracterizado como TSR, onde o biótipo resistente tem a capacidade de expressar/sintetizar uma quantidade maior de cópias da enzima sobre qual o herbicida inibe (Borgatto & Netto 2016). Este mecanismo de resistência já foi relatado em espécies como *Eleusine indica*, *Lolium rigidum*, *Lolium perenne* ssp. *multiflorum*, *Amaranthus palmeri* e *Amaranthus tuberculatus*. Sendo todos, até então, relatos

de espécies com biótipos resistentes ao herbicida glifosato (N – (phosphonomethyl) glycine) (CHATAM et al., 2015; CHEN et al., 2015; GAINES et al., 2010; SALAS et al., 2010; POWLES; YU, 2010). Laforest et al. (2017), também relataram amplificação gênica da enzima ACCase em um biótipo de *Digitaria sanguinalis*, sendo este o primeiro relato deste mecanismo de resistência a um sítio de ação diferente da inibição da enzima EPSPS.

Já a NTSR, é caracterizada por alterações nos processos fisiológicos, metabólicos ou genético que interferem na chegada do herbicida ao seu sítio alvo, e conseqüentemente, resultando em menor eficácia. Metabolização ou desintoxicação do herbicida; absorção foliar e/ou translocação diferencial do herbicida; e sequestro ou compartimentalização do herbicida, são exemplos de mecanismos desenvolvidos por biótipos resistentes a diversas classes de herbicidas (Borgatto & Netto 2016). Os mecanismos descritos como NTSR tem preocupado cientistas da área devido à complexidade que estes casos podem apresentar, tendo em vista que a TSR quando desenvolvida é exclusiva ao determinado mecanismo de ação, ou seja, há certa previsibilidade dos possíveis herbicidas afetados, já a NTSR quando desenvolvida pode abranger não só um, mas outros mecanismos de ação distintos, inclusive mecanismos de ação que ainda não foram descobertos (Délye et al. 2013).

De acordo com o mecanismo ou mecanismos de resistência desenvolvido, um biótipo pode apresentar resistência simples, cruzada ou múltipla. A resistência simples é caracterizada por determinado biótipo resistente a um único herbicida ou a um único grupo químico. Já a resistência cruzada se trata de casos em que determinado biótipo apresenta a habilidade de sobreviver a ação de dois ou mais herbicidas pertencentes ao mesmo mecanismo de ação, entretanto de grupos químicos diferentes, geralmente essa habilidade é adquirida por meio de mutações genéticas no sítio alvo. Já a resistência múltipla é caracterizada por um biótipo que possui mecanismos que conferem resistência a herbicidas de diferentes mecanismos de ação (Borgatto & Netto 2016). Mundialmente um dos casos mais complexos já descrito de resistência múltipla, são os biótipos de *Lolium rigidum* que desenvolveram resistência a sete diferentes mecanismos de ação, sendo estes seguidos do grupo de acordo com a *WSSA I*) inibidores da ACCase (G1); *II*) inibidores da ALS (G2); *III*) inibidor da síntese de caroteno (G13); *IV*) inibidores de microtúbulos (G3); *V*) inibidor de mitose (G23); *VI*) inibidores da síntese de ácidos graxos de cadeia longa (G15); *VII*) inibidores da síntese de lipídios (G8). Já no Brasil o caso mais complexo é o da *Conyza sumatrensis* capaz de sobreviver a cinco mecanismos de ação, sendo estes *I*) inibidores do fotossistema II (G7); *II*) inibidores do FSI (22); *III*) inibidores

da PROTOX (G14); *IV*) inibidor da EPSPS (G9); *V*) auxínicas sintéticas (G4) (Heap 2020).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas impacta o sistema de diversas formas, sendo o aumento nos custos de produção, a dificuldade encontrada no controle e manejo de biótipos resistentes e a perda de ferramentas importantes para o manejo de plantas daninhas os principais impactos negativos a serem citados (Adegas et al. 2017). Dentre os casos de resistência já descritos mundialmente, aqueles que envolvem o herbicida glifosato são os mais preocupantes devido à importância desta ferramenta para o manejo de plantas daninhas, o qual com o advento da tecnologia Roundup Ready® passou a ser o principal herbicida utilizado mundialmente nestes sistemas de cultivo (Dill et al. 2008; Duke & Powles 2008; Gazziero et al. 2016). Shaner (2000), em uma revisão sobre o impacto da adoção da tecnologia RR sobre o uso de outros herbicidas ainda no início de sua utilização já previa que o glifosato iria passar a ser a ferramenta mais utilizada nas culturas com esta tecnologia, entretanto, sua adoção de forma isolada resultaria na mudança florística das espécies de plantas daninhas, levando a seleção primeiramente de espécies tolerantes e posteriormente de espécies resistentes, havendo a necessidade do uso de outros herbicidas para complementar os escapes de controle deixados pelo glifosato.

O herbicida glifosato apresenta como mecanismo de ação a inibição da enzima 5-enolpiruvyl-shikimate-3-phosphate sintase (EPSPS), responsável por uma das etapas de síntese dos aminoácidos aromáticos triptofano, fenilalanina e tirosina. A ausência dos aminoácidos inibe a síntese proteica e a formação de compostos secundários como algumas vitaminas e hormônios (Rodrigues & Almeida 2018). A inibição da enzima EPSPS leva também a desregulação do fluxo de carbono na planta e ao acúmulo de compostos intermediários tóxicos, o shikimato ou shikimato-3-fosfato (Roman et al. 2007).

Após sua aplicação, o glifosato é prontamente absorvido pela parte aérea e translocado para regiões meristemáticas da planta via simplasto ou apoplasto, permitindo desta forma o controle de espécies perenes ou de plantas em avançado estágio de desenvolvimento. Quando em contato com o solo, o glifosato é fortemente adsorvido aos colóides e não apresenta efeito residual no solo, permitindo a semeadura de diversas culturas de forma segura logo após sua aplicação (Rodrigues & Almeida 2018; Roman et al. 2007). Características como estas e outras, juntamente ao seu amplo espectro de controle, fazem com que o glifosato seja o herbicida mais utilizado no atual sistema de produção agrícola mundial, garantindo o título de herbicida do século (Dukes & Powles 2008).

Até a presente data (julho de 2020), 48 espécies já foram confirmadas resistentes ao herbicida glifosato, sendo 24 casos de monocotiledôneas e 24 de eudicotiledoneas. No Brasil, dos 50 casos de resistência do país, somam-se nove espécies com resistência confirmada ao glifosato, sendo estas de acordo com o ano de confirmação, *Lolium perenne ssp. multiflorum* (2003), *Conyza bonariensis* (2005), *C. canadensis* (2005), *Digitaria insularis* (2008), *C. sumatrensis* (2010), *Chloris elata* (2014), *Eleusine indica* (2016), *Amaranthus palmeri* (2016) e *A. hybridus* (2018). Com destaque as espécies *Lolium perenne ssp. multiflorum*, *C. sumatrensis*, *Eleusine indica*, *Amaranthus palmeri* e *A. hybridus*, que além da resistência ao glifosato, já tiveram biótipos confirmados com resistência múltipla a pelo menos mais um mecanismo de ação (Heap 2020).

Se tratando do controle de gramíneas por meio da aplicação de herbicidas em pós emergência, além do glifosato, os herbicidas inibidores da ACCase (acetyl coenzima A carboxilase), popularmente conhecidos como FOPs (ariloxifenoxipropionatos) e DIMs (ciclohexanodionas), são a principal alternativa para o manejo de plantas daninhas gramíneas. Apesar de pertencerem a grupos químicos diferentes, estes herbicidas atuam inibindo a enzima ACCase, a qual é responsável pela síntese de ácidos graxos na planta, os quais são constituintes de ceras e suberina, são essenciais para formação de membranas, e utilizados também como forma de armazenamento de energia. A falta de ácidos graxos no metabolismo da planta leva a paralisação da síntese de membranas necessárias para o crescimento e a multiplicação celular, causando a paralisação imediata no crescimento e a consequente morte após um período de 7 a 14 dias. (Rodrigues & Almeida 2018; Roman et al. 2007).

Assim como o glifosato, os inibidores da ACCase são herbicidas de caráter sistêmico, podendo se mover tanto via simplasto, quanto apoplasto. Apesar de ocorrer movimentação destes herbicidas para os tecidos meristemáticos das plantas tratadas, no caso dos graminicidas, é recomendado que a aplicação seja realizada em plantas com estágios iniciais de desenvolvimento, evitando plantas adultas ou perenizadas, uma vez que plantas jovens apresentam maior demanda de constituintes da membrana celular para o seu crescimento, já plantas adultas a atividade meristemática é menor, reduzindo desta forma a eficácia destes produtos (Roman et al. 2007).

Se tratando dos casos de resistência de plantas daninhas aos inibidores da ACCase, 49 espécies já foram confirmadas resistentes a estes herbicidas no mundo. Já no Brasil sete espécies foram relatadas, são elas *Urochloa plantaginea* (1997), *Digitaria ciliaris* (2002),

Eleusine indica (2003), *Avena fatua* (2010), *Lolium perenne ssp. multiflorum* (2010), *Echinochloa crus-galli var. crus-galli* (2015) e *Digitaria insularis* (2016). Com destaque as espécies *Echinochloa crus-galli var. crus-galli*, *Lolium perenne ssp. multiflorum* e *Eleusine indica*, que além da resistência aos inibidores da ACCase, já tiveram biótipos confirmados com resistência múltipla a pelo menos mais um mecanismo de ação (Heap 2020).

Nos últimos anos o grande desafio no manejo de plantas daninhas no cerrado brasileiro tem sido o controle de gramíneas, com destaque a duas espécies, *Digitaria insularis* e *Eleusine indica* (Adegas et al. 2017; Lopez-Ovejero et al. 2017). Ambas já foram relatadas com biótipos resistentes tanto ao glifosato, quanto aos inibidores da ACCase, entretanto, apenas *Eleusine indica* teve um biótipo do estado do Mato Grosso confirmado com resistência múltipla aos herbicidas fenoxaprop-p-ethyl, glyphosate e haloxyfop-methyl (Heap 2020).

Popularmente conhecida no Brasil como capim-pé-de-galinha e internacionalmente como goosegrass, a espécie *Eleusine indica* (L.) Gaertn é considerada uma das cinco plantas daninhas mais problemáticas no mundo, devido ao grande número de relatos de culturas que infesta e aos casos de resistência mundialmente já descritos (Heap 2020; Holm et al. 1977). Se trata de uma gramínea de ciclo anual com metabolismo fotossintético do tipo C4, aproximadamente 30 – 50 cm de altura e reprodução por sementes (Kissmann 2007; Lorenzi 2014). Takano et al. (2016) avaliando o crescimento, desenvolvimento e produção de sementes do capim-pé-de-galinha, observaram que esta espécie iniciou o processo de perfilhamento já aos 9 dias após sua emergência, sendo o pico maior observado dos 38 aos 43 DAE. Os autores também observaram que a produção de sementes se iniciou aos 38 e estendeu-se até os 108 DAE, produzindo cerca de 120 mil sementes por planta durante o ciclo médio de vida de 120 dias. O capim-pé-de-galinha tem ganhado destaque no cenário de manejo de plantas daninhas brasileiro, em especial nas áreas de produção do cerrado. De acordo com Lucio et al. (2019), em levantamento realizado na safra agrícola 2016/17, o capim-pé-de-galinha é a segunda espécie mais frequente nas áreas de produção de soja brasileiras, infestando cerca de 40% das áreas amostradas, ficando atrás apenas das espécies de buva.

Além da ampla infestação, esta espécie impressiona também devido a sua diversidade genética e a habilidade em desenvolver resistência aos mais diversos herbicidas utilizados para o seu controle. Como exemplos pode se citar as mutações que conferem resistência ao herbicida glifosato, o capim-pé-de-galinha foi a primeira espécie a desenvolver tanto a mutação simples, em um ponto da enzima EPSPS (Pro106Ser), quanto a mutação dupla, em dois pontos da

enzima, conhecida como TIPS (Tre102Ile e Pro106Ser) (BAERSON et al., 2002; YU et al., 2015). Foi também a primeira espécie a desenvolver resistência múltipla aos três herbicidas não seletivos utilizados mundialmente, fato observado na Malásia, onde uma população apresentou resistência múltipla ao glifosato, ao glufosinato de amônio e ao paraquat, além dos herbicidas inibidores da ACCase (Jalaludin et al. 2014). Por fim no México foi confirmada como a primeira espécie a desenvolver dois mecanismos de TSR que conferissem de maneira conjunta resistência ao glifosato, sendo identificada a mutação Pro106Ser e também a superexpressão do gene que codifica a enzima EPSPS em um mesmo biótipo (Gherekhloo et al. 2017).

No Brasil o primeiro relato de resistência de capim-pé-de-galinha a herbicidas foi no ano de 2003, onde biótipos do estado do Mato Grosso foram confirmados resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase por meio de uma mutação enzimática (Asp2078Gly) que conferiu variados níveis de resistência cruzada aos herbicidas cyhalofop-butyl, fenoxaprop-P-ethyl e sethoxydim (Osuna et al. 2012). Na época estes herbicidas eram utilizados frequentemente para o manejo de gramíneas em lavouras de soja, logo com o advento da tecnologia RR® e a possibilidade de utilizar o glifosato em aplicações de pós-emergência da cultura, mitigou-se o problema por um certo período (Adegas et al. 2017). Entretanto, como resposta ao uso contínuo desta tecnologia ao longo dos últimos anos, em 2016 foi confirmado o primeiro caso de resistência do capim-pé-de-galinha ao glifosato no Brasil (Heap 2020). Na ocasião biótipos do município de Campo Mourão no estado do Paraná, foram confirmados resistentes por meio da mutação Pro106Ser na enzima EPSPS, sendo este o primeiro relato desta mutação por uma planta daninha na América do Sul (Takano et al. 2017, 2019). Ainda envolvendo o glifosato e os inibidores da ACCase, um caso mais complexo foi relatado no ano de 2017, onde biótipos de capim-pé-de-galinha do estado do Mato Grosso foram confirmados resistentes aos herbicidas glifosato e aos graminicidas fenoxaprop-P-ethyl e haloxyfop-methyl, sendo este o primeiro caso no país de uma espécie gramínea a desenvolver resistência múltipla aos inibidores da ACCase e ao inibidor da EPSPS (Heap 2020). Este caso de resistência é de grande preocupação para o sistema produtivo, pois se tratando do manejo de capim-pé-de-galinha em pós-emergência, o herbicida glifosato e os inibidores da ACCase são as duas ferramentas mais utilizadas e mais efetivas. Logo manejar de forma efetiva e consciente biótipos com esta característica é fundamental para a preservação destas ferramentas.

OBJETIVOS

Tendo como base que a resistência de plantas daninhas a herbicidas tem aumentando mundialmente, e que no cerrado brasileiro, o capim-pé-de-galinha tem ganhado destaque no cenário de manejo de plantas daninhas devido à dificuldade encontrada no seu controle, este trabalho tem como objetivo principal avaliar o comportamento de diferentes populações de capim pé-de-galinha coletados em áreas de produção do estado do Mato Grosso, frente a aplicação de glifosato, cletodim e haloxifope-p-metílico visando o possível diagnóstico de populações com resistência a estes herbicidas. Assim como auxiliar no monitoramento desta espécie em áreas da região levando informação ao produtor rural sobre a mitigação e manejo de biótipos de difícil controle.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de sementes de capim-pé-de-galinha foram coletadas em áreas de produção da região de Primavera do Leste – MT. Áreas quais produtores e técnicos haviam relatado falhas de controle por parte do glifosato e/ou dos herbicidas inibidores da ACCase no controle desta espécie. As sementes foram coletadas de cerca de 20 a 30 plantas adultas presentes em lavouras de algodão ou milho (durante os meses de março e abril do ano de 2019), como as culturas se apresentavam em estágio avançado de desenvolvimento no momento da coleta, suspeita-se que estas plantas não foram controladas pelas intervenções de herbicidas realizadas na pós-emergência de cada cultura. As sementes coletadas foram armazenadas em sacos de papel e devidamente identificadas, sendo o ponto de coleta de cada área marcado por meio de suas coordenadas geográficas. As amostras foram numericamente sequenciadas de acordo com a data de coleta, sendo cada ponto de coleta referenciado como um biótipo.

No total foram coletados 17 biótipos (B1 ao B17), logo com intuito de selecionar as populações mais tolerantes aos herbicidas em estudo, instalou-se (durante os meses de julho a setembro de 2019) o primeiro experimento de triagem inicial executado na casa de vegetação da Universidade de Cuiabá – Campus Primavera do Leste – MT. O ensaio foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada unidade experimental composta por um vaso plástico com a capacidade de 5,0 dm³ preenchidos com solo e irrigados diariamente com lâmina d'água de 4 mm. Os três centímetros superficiais de cada vaso foram preenchidos com substrato puro, no intuito de evitar a emergência de plantas da mesma ou de diferentes espécies de plantas daninhas que poderiam contaminar os vasos. As características do solo utilizado podem ser visualizadas na tabela a seguir:

Tabela 1: Características físico-químicas do solo utilizado.

pH	P	K	K	Ca	Mg	Al	H+Al	M.O.	Argila	Silte	Areia	
Água	CaCl ₂	mg/dm ³		cmolc/dm ³				g/dm ³				
6.2	5.3	2.7	72.3	0.19	1.9	0.5	0.0	2.7	23.0	365	70	565
				S.B.	C.T.C.	V	m					
				cmolc/dm ³		%						
				2.6	5.3	49.5	0.0					

Cerca de quinze sementes de cada biótipo foram semeadas na superfície de cada vaso e recobertas com uma camada de meio centímetro de substrato. Após a emergência das plantas foi

realizado o desbaste e selecionadas quatro plantas uniformes por vaso. Quando estas atingiram o estágio de um a três perfilhos foi realizada a aplicação dos herbicidas glifosato (960 g e.a. ha⁻¹), haloxifope-p-metílico (60 g e.a ha⁻¹) e cletodim (96 g i.a ha⁻¹), todos em suas respectivas doses recomendadas e com a adição de óleo vegetal (Rumba®) a calda de aplicação na dose de 0,5% v/v em todos os tratamentos.

A aplicação dos herbicidas foi realizada em ambiente aberto fora da casa de vegetação, por meio de um pulverizador manual pressurizado a CO₂ e munido de uma barra de aplicação de seis pontas no espaçamento de 50 cm entre elas do tipo leque AXI 110.02, a pressão de trabalho foi de 2.5 kgf cm⁻² e volume de calda de 150 L ha⁻¹. A avaliação de eficácia foi realizada aos 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA) por meio de notas de controle atribuídas visualmente a cada unidade experimental com o auxílio da escala de notas proposta pela Asociación Latinoamericana de Malezas (Alam 1974), onde 0% corresponde a nenhuma injúria e 100% a morte total da planta.

Os resultados obtidos durante a triagem foram utilizados como base para tomada de decisão na etapa subsequente do projeto, sendo essa a instalação de ensaios de curva de dose resposta (durante os meses de outubro/2019 a abril/2020). Para isto foram selecionados os biótipos com os maiores índices de sobrevivência a cada herbicida, sendo aqueles que apresentaram níveis de controle acima de 80% descartados desta etapa.

Os ensaios foram conduzidos seguindo a mesma metodologia de instalação e condução do ensaio da triagem inicial, avaliando os seguintes biótipos para os seguintes herbicidas em suas respectivas proporções de doses (Tabelas 2 e 3). Além dos biótipos selecionados durante o processo de triagem, foi coletada uma amostra de sementes de plantas de capim pé-de-galinha na área urbana de Primavera do Leste – MT, por serem plantas provenientes da área urbana, estas por sua vez provavelmente não sofreram pressão de seleção por parte dos herbicidas avaliados, desta forma após teste prévio por meio da aplicação dos herbicidas em suas respectivas doses recomendadas, esta amostra foi utilizada como o biótipo susceptível durante cada experimento de curva de dose resposta. A Figura 1 ilustra a localização dos biótipos coletados para o presente estudo no estado do Mato Grosso, no entanto destaca apenas os números dos biótipos selecionados para etapa de curva de dose resposta do trabalho, todos localizados no município de Primavera do Leste - MT. Os demais biótipos coletados e não utilizados na etapa de curva de dose resposta estão representados apenas pelos pontos na cor preta do mapa.

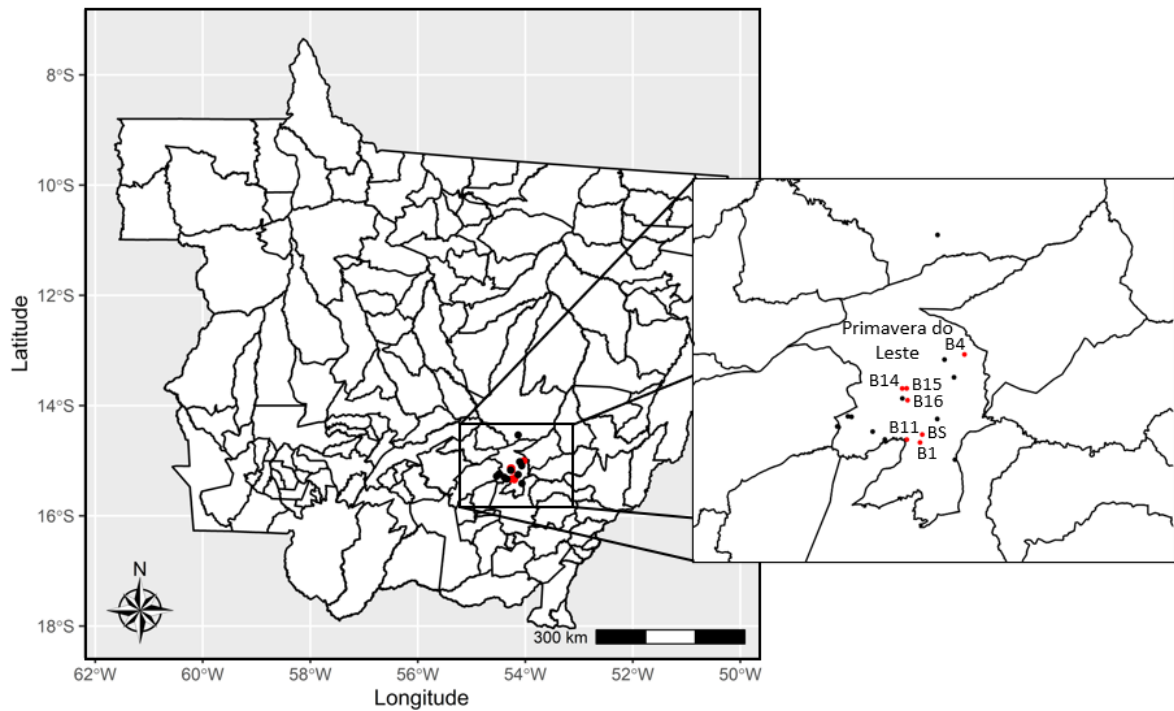


Figura 1: Mapa geográfico do estado do Mato Grosso com detalhe do município de Primavera do Leste e os pontos de coleta dos biótipos utilizados nos ensaios de curva de dose resposta. BS (biótipo susceptível); B1 (biótipo 1); B4 (biótipo 4); B11 (biótipo 11); B14 (biótipo 14); B15 (biótipo 15); B16 (biótipo 16) representados pelos pontos vermelhos, e os demais biótipos avaliados na triagem representados pelos pontos na cor preta.

Tabela 2: Biótipos e herbicidas avaliados na metodologia de curva de dose resposta.

Biótipo	Herbicidas Alvo
B1	Cletodim e haloxifope-p-metílico
B4	Cletodim e haloxifope-p-metílico
B11	Cletodim, haloxifope-p-metílico e glifosato
B14	Cletodim, haloxifope-p-metílico e glifosato
B15	Cletodim, haloxifope-p-metílico e glifosato
B16	Haloxifope-p-metílico e glifosato
S	Biótipo susceptível

Tabela 3: Amplitude de doses utilizadas para cada herbicida avaliado.

Herbicida	Proporção da dose recomendada (D)									
	0D	D/16	D/8	D/4	D/2	D	2D	4D	8D	16D
	Dose ¹ em g e.a./i.a. ha ⁻¹									
Cletodim ²	0	6	12	24	48	96	192	384	768	1536
Haloxifope-p-metfílico ³	0	3,75	7,5	15	30	60	120	240	480	960
Glifosato ⁴	0	60	120	240	480	960	1920	3840	7680	15360

¹adicionado óleo vegetal (Rumba® na dose de 0,5% v/v em todas as doses e herbicidas; ²produto comercial Poquer®; ³produto comercial Verdict R®; ⁴produto comercial Stinger WG®.

Assim como na etapa de triagem, as aplicações foram realizadas quando as plantas atingiram o estágio de um a três perfilhos por meio de um pulverizador manual pressurizado a CO₂ e munido de uma barra de aplicação de seis pontas no espaçamento de 50 cm entre elas do tipo leque AXI 110.02, a pressão de trabalho foi de 2.5 kgf cm⁻² e volume de calda de 150 l ha⁻¹. A avaliação de eficácia foi realizada aos 28DAA, seguindo a mesma metodologia adotada na triagem. Aos 28 DAA também foi realizada a avaliação de biomassa seca, por meio da coleta da parte aérea das plantas que sobreviveram a aplicação de cada herbicida para secagem em estufa a 65°C até atingir o ponto de massa constante, posterior a isso o material seco foi pesado em balança de precisão para determinação da biomassa seca em g vaso⁻¹.

Com intuito de padronizar os dados de biomassa de todos os biótipos para construção das curvas de dose resposta, a massa seca obtida em g vaso⁻¹ foi utilizada para o cálculo de redução de biomassa (Rd) em relação a testemunha por meio da seguinte formula adaptada de Barroso et al. (2014):

$$Rd = 100 - \frac{\text{Biomassa seca das plantas tratadas (g vaso)}}{\text{Biomassa seca da testemunha (g vaso)}} \times 100$$

em que a biomassa seca da testemunha (g vaso⁻¹) foi a média de massa seca na ausência da aplicação de herbicidas, e a biomassa seca das plantas tratadas (g vaso⁻¹) foi a média de massa seca obtida após a aplicação de cada respectivo tratamento.

Os dados obtidos foram ajustados a curva de dose resposta do controle e da redução de biomassa por meio do modelo de regressão não-linear log-logístico de quatro parâmetros com o auxílio do pacote “drc” (Ritz et al., 2015) por meio da seguinte equação:

$$f(x) = c + \frac{d - c}{1 + \exp(b(\log(x) - \log(e)))}$$

em que: ‘f’ = porcentagem de controle ou redução de biomassa; ‘x’ = log da dose do herbicida;

e '*b*', '*c*', '*d*' e '*e*' os parâmetros da curva; de modo que '*c*' e '*d*' são os limites inferiores e superiores da curva os quais foram fixados no modelo em '0' e '100', respectivamente; '*b*' é a declividade da curva; e '*e*' a dose que proporciona 50% de resposta da variável em estudo.

Os valores de C_{50}/C_{80} ou GR_{50}/GR_{80} , que correspondem as doses necessárias para obter 50%/80% de controle ou reduzir a biomassa seca em 50%/80%, respectivamente, foram calculados através da função *ED*, também disponível no pacote "*drc*". E por meio dos valores de C_{50} e GR_{50} foi calculado o fator de resistência (*F*), que corresponde à razão entre o C_{50} ou GR_{50} do biótipo resistente e o C_{50} ou GR_{50} do biótipo suscetível. O fator de resistência ($F = R/S$) expressa o número de vezes em que a dose necessária para controlar 50% do biótipo resistente é superior a dose que controla 50% do biótipo suscetível (Hall et al., 1998). As análises foram realizadas por meio do Software R versão 4.0.2 (R Core Team 2020).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da triagem inicial foi possível obter biótipos com a capacidade de tolerar de maneira individual a dose recomendada dos três herbicidas avaliados. No entanto como a triagem foi utilizado apenas como critério de seleção dos biótipos, o mesmo não será apresentado nos resultados. Desta forma os resultados a seguir são provenientes dos dados obtidos por meio dos ensaios de curva de dose resposta para cada um dos herbicidas.

Resultados dos ensaios de curva de dose resposta do herbicida cletodim

A Tabela 4 retrata as doses estimadas de cletodim em g i.a. ha⁻¹ para proporcionar 50 e 80% de controle, C₅₀ e C₈₀, respectivamente, assim como para reduzir a biomassa seca acumulada nas mesmas proporções, GR₅₀ e GR₈₀, ambas variáveis foram avaliadas aos 28 DAA. Com posse dos valores de C₅₀ e GR₅₀ foi calculado o FR de cada biótipo com base no seu respectivo comparativo suscetível.

Tabela 4. Doses de cletodim estimadas para proporcionar C₅₀/C₈₀ e GR₅₀/GR₈₀, e o fator de resistência de acordo com a dose estimada de C₅₀ e GR₅₀. Primavera do Leste – MT, 2020.

Biótipo	Dose de cletodim em g i.a. ha ⁻¹							
	Eficácia de controle				Redução de biomassa			
	C ₅₀ ¹	p-valor ²	C ₈₀	FR _{C50}	GR ₅₀	p-valor	GR ₈₀	FR _{GR50}
S1	4.6 (0.6) ³	-	8.7 (0.9)	-	5.0 (0.7)	-	6.3 (0.7)	-
B4	53.6 (2.1)	<0.0001	76.8 (5.7)	11.7	52.3 (1.9)	<0.0001	70.8 (6.4)	10.5
B11	86.2 (3.7)	<0.0001	124.3 (7.8)	18.9	73.8 (4.7)	<0.0001	147.3 (12.6)	14.8
S2	4.1 (1.2)	-	6.1 (0.4)	-	4.3 (1.8)	-	7.4 (0.6)	-
B1	50.5 (2.4)	<0.0001	79.0 (5.7)	12.3	35.1 (1.7)	<0.0001	51.6 (3.5)	8.1
S3	5.0 (0.5)	-	8.6 (0.8)	-	4.2 (0.9)	-	6.7 (0.6)	-
B14	49.5 (2.4)	<0.0001	80.0 (5.5)	9.9	31.8 (2.0)	<0.0001	66.3 (6.0)	7.7
B15	112.6 (7.1)	<0.0001	253.4 (23.5)	22.6	101.9 (6.1)	<0.0001	200.1 (18.7)	24.5

¹C₅₀: dose necessária para proporcionar 50% de controle, C₈₀: dose necessária para proporcionar 80% de controle, FR₅₀: fator de resistência com base no valor de C₅₀, GR₅₀: dose necessária para reduzir o crescimento em 50%, GR₈₀ dose necessária para reduzir o crescimento em 80%, FR₅₀: fator de resistência com base no valor de GR₅₀.

²p-valor com intervalo de confiança de 95% do C₅₀ e GR₅₀ dos biótipos provenientes da triagem em comparação ao biótipo suscetível.

³valores entre parênteses representam o erro padrão com intervalo de confiança de 95% do respectivo parâmetro de controle ou de redução de biomassa.

As Figuras 2 e 3 retratam as curvas de dose resposta para os biótipos tratados com cletodim em relação a eficácia de controle e redução de biomassa, respectivamente, ambas variáveis avaliadas aos 28 DAA.

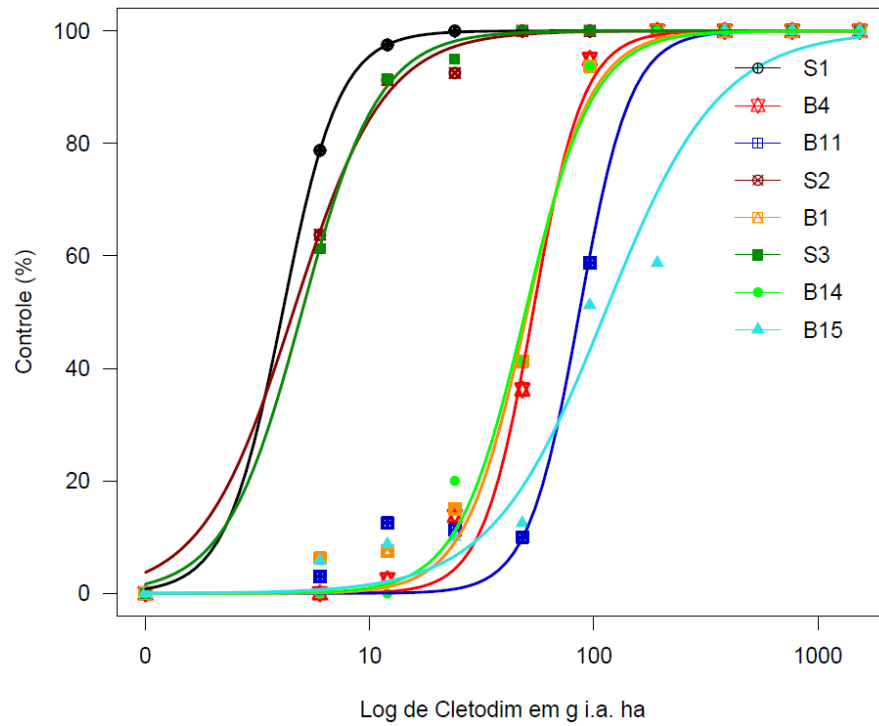


Figura 2. Curvas de dose resposta para o controle dos biótipos tratados com cletodim aos 28 DAA. Primavera do Leste – MT, 2020.

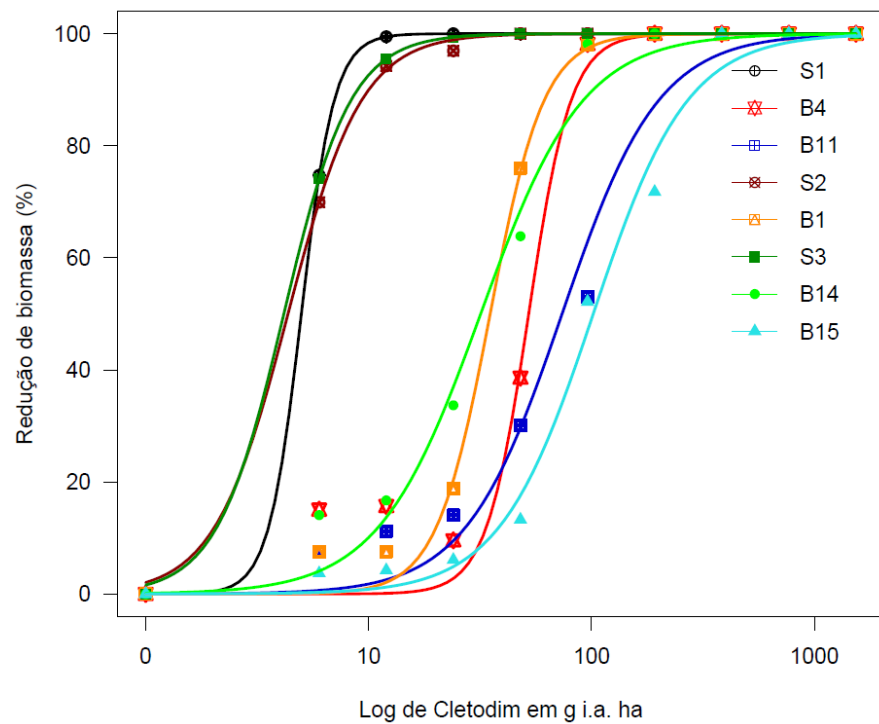


Figura 3. Curvas de dose resposta para a redução de biomassa dos biótipos tratados com cletodim aos 28 DAA. Primavera do Leste – MT, 2020.

No campo da ciência das plantas daninhas existem duas definições de resistência, a acadêmica e a agrônômica, cada uma destas leva em consideração critérios para sua determinação. No caso da acadêmica, a resistência é considerada quando há diferenças significativas na resposta de duas populações da mesma espécie a determinado herbicida, sem levar em consideração a dose recomendada do mesmo. Por outro lado, a resistência agrônômica é estabelecida quando uma população sobrevive a dose recomendada do herbicida em condições normais de campo (Heap 2005). Cada uma destas definições apresenta seus pontos positivos e negativos, no entanto, como o presente trabalho está diretamente ligado ao agricultor que enfrenta dificuldades no manejo do capim-pé-de-galinha, a definição agrônômica se enquadra melhor na interpretação dos resultados.

Como pode ser observado na Tabela 4, levando em consideração a definição acadêmica todos os biótipos estudados podem ser considerados resistentes, uma vez que, todos apresentaram valores de C_{50}/C_{80} e GR_{50}/GR_{80} significativamente superior daqueles observados no biótipo suscetível, no entanto apenas os biótipos B11 e B15 necessitaram de uma dose maior do que a dose recomendada de cletodim para esta espécie ($96 \text{ g i.a. ha}^{-1}$) para obter controle acima de 80%, que é a eficácia mínima requerida no Brasil para o registro de um herbicida. Logo, em condições de campo seguindo todas as recomendações necessárias para o controle do capim-pé-de-galinha com cletodim, o produtor provavelmente obteria sucesso no controle das demais populações.

Os biótipos do presente estudo são provenientes de áreas onde produtores e técnicos relatam baixa resposta no controle proporcionado não só por cletodim, mas também por outros graminicidas, e em alguns casos por glifosato. No entanto como pode ser observado, diversos biótipos foram controlados pela dose recomendada de cletodim quando seguida todas as recomendações para sua aplicação, fato este que pode estar atrelado a baixa resposta observada no campo. Sabe-se que muitas vezes produtores realizam suas aplicações em plantas fora do estágio adequado, sendo este o principal fator que pode afetar a eficácia não só de cletodim, mas de outros herbicidas (Takano et al. 2016, 2017).

Mesmo que controlados pela dose recomendada de cletodim, os biótipos B1, B4 e B14 apresentaram valores de C_{50}/C_{80} e GR_{50}/GR_{80} significativamente superior daqueles observados no biótipo suscetível (Tabela 4). Isto mostra a grande diferença de comportamento entre um biótipo selvagem, que não vinha sendo exposto ao herbicida, e aos biótipos de campo, que frequentemente são expostos não só ao cletodim, mas a diversos outros herbicidas do mesmo e

de diferentes mecanismos de ação.

O primeiro relato de capim pé-de-galinha resistente aos inibidores da ACCase no Brasil foi no ano de 2003, coincidentemente também no estado do Mato Grosso, na época estes eram a principal opção para o controle de gramíneas na cultura da soja, uma vez que ainda se estava no início da adoção da tecnologia Roundup Ready (Heap 2020). Segundo Osuna et al. (2012), o mecanismo de resistência responsável para este biótipo proveniente do Mato Grosso se trata da mutação Asp2078Gly na enzima ACCase. Na ocasião os autores observaram um valor de C_{50} do biótipo resistente bem acima dos valores obtidos para cletodim no presente estudo, sendo em torno de 737,10 g do herbicida.

Já Andrade Junior (2018), avaliando o comportamento de biótipos também provenientes do estado do Mato Grosso, observou C_{50} para cletodim de três populações classificadas como resistentes de 96,7, 104,1 e 190,1 g i.a. ha^{-1} . No entanto o autor observou fatores de resistência da ordem de 3,5 até 6,9 vezes, uma vez que, o suscetível utilizado apresentou C_{50} de 27,6 g i.a. ha^{-1} , bem acima do observado no presente estudo (Tabela 4). O que mostra que apesar do fator de resistência ser um parâmetro importante para comparação de biótipos dentro de um estudo, o mesmo não é tão assertivo para diferentes trabalhos, pois o fator de resistência é diretamente afetado pelo comportamento do suscetível utilizado, o que pode variar por diversos fatores.

No estado do Mato Grosso, além da soja, os herbicidas inibidores da ACCase são frequentemente utilizados na cultura do algodoeiro visando o manejo de gramíneas, em especial para o controle de capim-pé-de-galinha. Em levantamento realizado pelo Instituto Mato-Grossense do Algodão (IMAmt), no ano de 2016 foram coletadas 57 amostras de sementes desta espécie em áreas de produção de algodão no Mato Grosso, deste total 68,4% sobreviveram a aplicação do dobro da dose recomendada dos herbicidas cletodim (216 g i.a ha^{-1}) e tepraloxymid (208 g i.a ha^{-1}), mostrando a existência de um elevado número de populações capazes de tolerar altas doses destes herbicidas (Andrade Junior et al. 2018). É conveniente destacar estes resultados, haja visto que dos 1.132.566 hectares cultivados com algodão no Mato Grosso na safra 2019/20, cerca de 87% foram cultivados como algodão de segunda safra após o cultivo da soja na área (Imea 2020). Logo temos um cenário onde os herbicidas inibidores da enzima ACCase podem ser utilizados em duas culturas de forma sequencial, aumentando desta forma a pressão de seleção imposta por estes herbicidas.

Resultados dos ensaios de curva de dose resposta do herbicida haloxifope-p-metílico

Dentre os herbicidas avaliados, haloxifope-p-metílico foi o qual obteve as menores respostas, com os maiores fatores de resistência para os biótipos estudados. Como pode ser observado nas Tabela 5 e 6, as quais ilustram os valores de C_{50}/C_{80} e GR_{50}/GR_{80} e o fator de resistência para cada biótipo aos 28 DAA, em nenhum deles, com exceção do suscetível, foi possível observar eficácia de 80% com a dose recomendada para o capim-pé-de-galinha (60 g e.a. ha⁻¹).

Tabela 5. Doses de haloxifope-p-metílico estimadas para proporcionar C_{50}/C_{80} e o fator de resistência de acordo com a dose estimada de C_{50} . Primavera do Leste – MT, 2020.

Biótipo	Dose de haloxifope-p-metílico em g e.a. ha ⁻¹			
	Eficácia de controle			
	C_{50} ¹	p-valor ²	C_{80}	FR _{C50}
S1	3.1 (0.4) ³	-	6.5 (0.7)	-
B4	607.2 (120.6)	<0.0001	7014.6 (3231.8)	194.0
B11	1224.3 (346.5)	<0.0001	16045.9 (11309.7)	391.2
S2	3.4 (0.4)	-	7.2 (0.8)	-
B1	58.7 (4.3)	<0.0001	145.8 (19.3)	17.3
B16	140.6 (14.6)	<0.0001	727.9 (129.5)	41.5
S3	3.6 (0.3)	-	6.7 (0.7)	-
B14	164.9 (11.9)	<0.0001	354.4 (35.9)	45.5
B15	334.4 (36.2)	<0.0001	1610.2 (373.5)	92.4

¹ C_{50} : dose necessária para proporcionar 50% de controle, C_{80} : dose necessária para proporcionar 80% de controle, FR₅₀: fator de resistência com base no valor de C_{50} .

²p-valor com intervalo de confiança de 95% do C_{50} dos biótipos provenientes da triagem em comparação ao biótipo suscetível.

³valores entre parênteses representam o erro padrão com intervalo de confiança de 95% do respectivo parâmetro de controle.

As Figuras 4 e 5 retratam as curvas de dose resposta para os biótipos tratados com haloxifope-p-metílico em relação a eficácia de controle e redução de biomassa, respectivamente, ambas variáveis avaliadas aos 28 DAA.

Tabela 6. Doses de haloxifope-p-metílico estimadas para proporcionar GR₅₀/GR₈₀ e o fator de resistência de acordo com a dose estimada de GR₅₀. Primavera do Leste – MT, 2020.

Biótipo	Dose de haloxifope-p-metílico em g e.a. ha ⁻¹			
	Redução de biomassa			
	GR ₅₀ ¹	p-valor ²	GR ₈₀	FR _{GR50}
S1	2.9 (0.5) ³	-	6.8 (1.0)	-
B4	2705.6 (2488.5)	<0.0001	19404.0 (993892.8)	933.0
B11	2299.8 (1775.0)	<0.0001	12668.0 (462651.6)	793.0
S2	3.4 (0.5)	-	7.2 (1.0)	-
B1	40.7 (2.6)	<0.0001	56.7 (5.5)	12.0
B16	109.3 (12.7)	<0.0001	398.5 (75.0)	32.1
S3	1.9 (0.5)	-	4.8 (1.2)	-
B14	96.2 (12.8)	<0.0001	433.2 (84.6)	50.6
B15	182.9 (26.1)	<0.0001	1091.5 (320.5)	96.3

¹GR₅₀: dose necessária para reduzir o crescimento em 50%, GR₈₀ dose necessária para reduzir o crescimento em 80%, FR₅₀: fator de resistência com base no valor de GR₅₀.

²p-valor com intervalo de confiança de 95% do GR₅₀ dos biótipos provenientes da triagem em comparação ao biótipo suscetível.

³valores entre parênteses representam o erro padrão com intervalo de confiança de 95% do respectivo parâmetro de redução de biomassa.

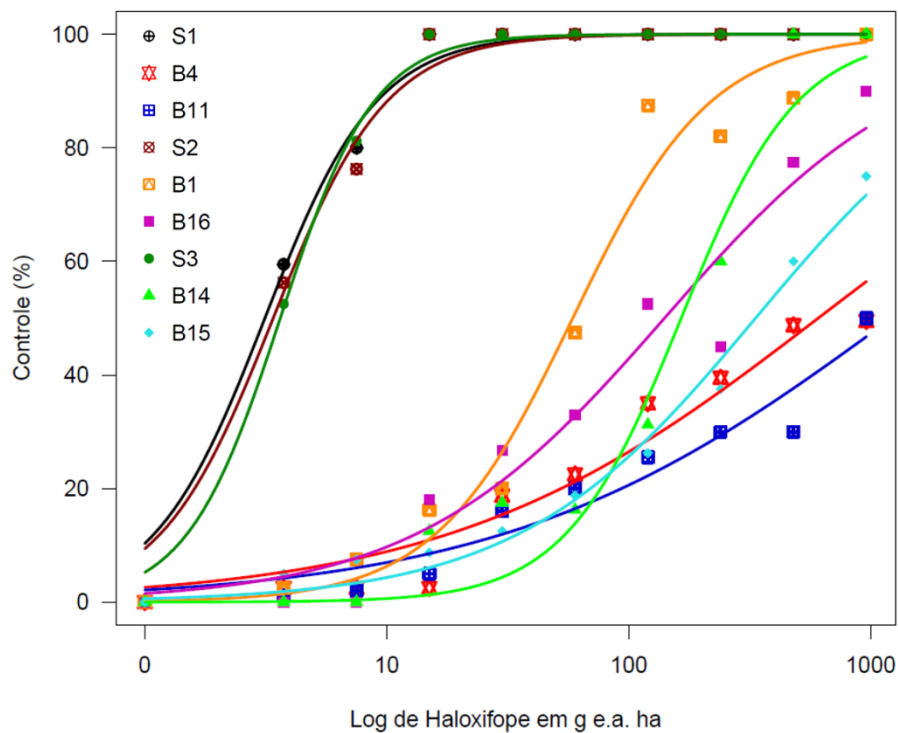


Figura 4. Curvas de dose resposta para o controle dos biótipos tratados com haloxifope-p-metílico aos 28 DAA. Primavera do Leste – MT, 2020.

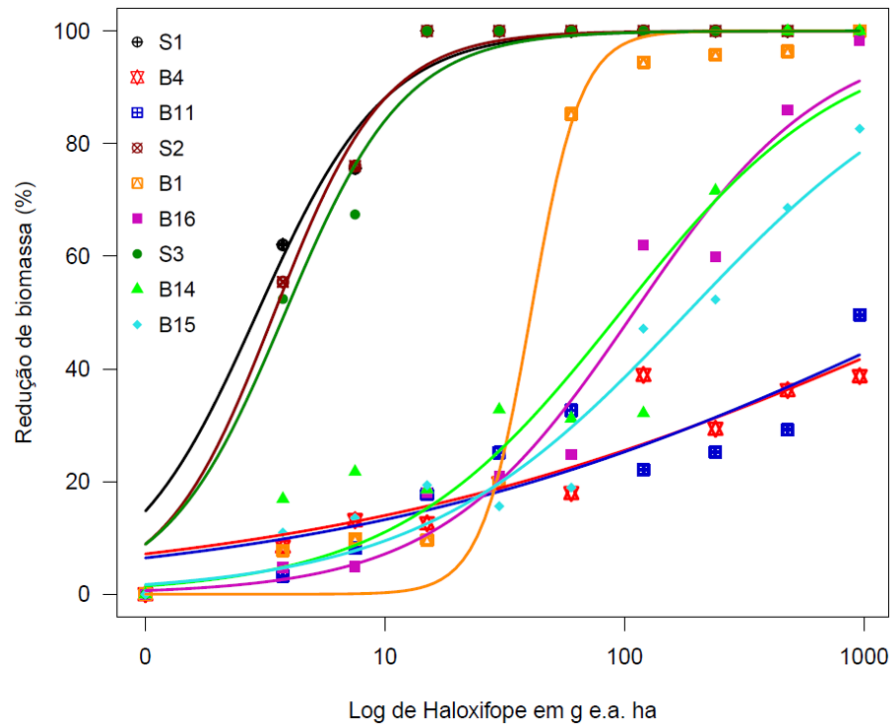


Figura 5. Curvas de dose resposta para a redução de biomassa dos biótipos tratados com haloxifope-p-metílico aos 28 DAA. Primavera do Leste – MT, 2020.

Assim como para cletodim, novamente foi possível observar a expressiva diferença na resposta dos biótipos provenientes do campo em relação ao biótipo selvagem (Tabela 4). A alta eficácia de haloxifope-p-metílico ao biótipo suscetível, resultou em baixos valores de C_{50} e GR_{50} , o que consequentemente proporcionou elevados fatores de resistência para alguns dos biótipos estudados, principalmente B4 e B11, os quais apresentaram as menores respostas (Tabelas 5 e 6). Os biótipos B4 e B11 se destacaram devido à baixa resposta ao haloxifope-p-metílico, apresentando FR_{c50} da ordem de 120,6 e 346,5 vezes, respectivamente, necessitando de uma dose de haloxifope-p-metílico de 607,2 g e.a. ha⁻¹ (B4) e 1224,3 g e.a. ha⁻¹ (B11) para obter-se 50% de controle (Tabela 5). Takano et al. (2019) observaram elevado fator de resistência de um biótipo de capim-amargoso também proveniente de Primavera do Leste – MT, o qual apresentou fator de resistência de 613 vezes, com C_{50} de 2232 g i.a. ha⁻¹ de haloxifope-p-metílico, no entanto, os autores não observaram resistência a cletodim. Já Andrade Junior (2018), observou C_{50} para três biótipos de capim-pé-de-galinha tratados com haloxifope-p-metílico da ordem de 49,8, 166,8 e 180,9 g i.a. ha⁻¹. Assim como Osuna et al. (2012), observou 185,3 g i.a. ha⁻¹ de haloxifope-p-metílico para obter a mesma eficácia. Valores estes próximos aos observados nos biótipos B1, B16 e B14, no entanto bem abaixo daqueles obtidos pelos biótipos B4, B11 e B15. Mostrando que no estado do Mato Grosso existe uma variação ampla

da resposta de capim-pé-de-galinha ao herbicida haloxifope-p-metílico.

Dentre os biótipos estudados, B11 e B15 não foram controlados pelas doses recomendada de nenhum dos dois graminicidas avaliados, caracterizando-se como biótipos de resistência cruzada a cletodim e haloxifope-p-metílico, sendo o graminicida do grupo dos FOPs com a menor eficácia e maiores fatores de resistência nos dois biótipos (Tabelas 4, 5 e 6). Fato também constatado por Andrade Junior (2018) e Osuna et al. (2012), que obtiveram populações com resistência cruzada aos mesmos graminicidas, com maiores fatores de resistência por parte de haloxifope-p-metílico em relação a cletodim. Apesar de atuarem no mesmo sítio alvo, os herbicidas pertencentes aos grupos químicos dos DIMs (ciclohexanodionas), FOPs (ariloxifenoxipropionatos) e DEN (fenilpirazolinona - pinoxaden), se ligam de forma específica a enzima ACCase, deste modo, existem variações no impacto das mutações que conferem resistência a estes herbicidas. No total já foram descritas mutações em sete posições da enzima ACCase, sendo essas, Ile1781Leu ou Val, Trp1999Cys ou Leu, Trp2027Cys, Ile2041Asn ou Val, Asp2078Gly, Cys2088Arg e Gly2096Ala ou Ser. Destas sabe-se que alterações nas posições Ile1781, Asp2078 e Cys2088 tendem a afetar os três grupos químicos (DIMs, FOPs e DEN). Enquanto na posição Trp2027 tendem a afetar tanto FOPs quanto DEN. E por fim, as posições Trp1999, Ile2041 e Gly2096 tendem a afetar apenas os FOPs, sendo este o grupo químico mais afetado por TSR (Gaines et al. 2020; Jang et al. 2013; Kaundun 2014; Yu et al. 2007). Das posições com mutações já descobertas, sabe-se que a posição Ile1781 está diretamente relacionada ao ponto de ligação dos herbicidas pertencentes aos três grupos (DIMs, FOPs e DEN), sendo este o motivo qual alterações nesta posição afetam diretamente os três grupos químicos. As posições Trp1999 e Ile2041 estão relacionadas ao ponto de ligação dos FOPs, sendo este o grupo qual é mais afetado por alterações nestas posições. Já as demais posições descritas como possíveis mutações, causam resistência devido à proximidade que cada uma fica localizada aos pontos chaves de ligação dos graminicidas (Jang et al. 2013; Gaines et al. 2020).

Segundo Beckie & Tardif (2012), cletodim é o graminicida com menor risco para seleção de TSR dentre os inibidores da ACCase, sendo apenas as mutações nas posições Asp2078 e Cys2088 quais apresentam potencial de causar resistência a esse herbicida. Fato este que pode estar correlacionado com o comportamento dos biótipos estudados, onde todos os quais foram submetidos ao ensaio de curva de dose resposta se mostraram resistentes ao haloxifope-p-metílico, enquanto apenas dois (B11 e B15) sobreviveram a dose recomendada de

cletodim, e foram caracterizados como resistentes perante a definição agrônômica. Apesar do baixo risco de cletodim ser afetado por mutações que conferem resistência aos inibidores da ACCase, o seu uso deve ser realizado de forma criteriosa no intuito de preservar essa ferramenta, pois embora em menor número, ainda existem possíveis mutações que podem afetá-lo, e também deve-se atentar a outros mecanismos de TSR e NTSR, já que sabe-se que a resistência é um processo evolutivo acelerado pelo uso frequente de uma única ferramenta (Jasieniuk et al. 1996).

São diversos os casos em que as plantas daninhas se adaptaram com extrema plasticidade a pressão de seleção imposta pelo uso contínuo de herbicidas. Como exemplo, pode-se citar o caso de amplificação genica da enzima ACCase em um biótipo de *Digitaria sanguinalis*, até então um mecanismo documentado apenas para espécies com biótipos resistentes ao glifosato, mas que agora também pode afetar inibidores da ACCase (Laforest et al. 2017). Outro ponto a se citar é a evolução na identificação de novas mutações na enzima EPSPS conferindo resistência ao glifosato, primeiramente relatou-se em um ponto da enzima, posteriormente em dois e já se tem relatos de mutações em três pontos da enzima EPSPS (Alcántara-De La Cruz et al. 2016; Baerson et al. 2002; García et al. 2019; Takano et al. 2019; Yu et al. 2015). Além de mutações cada vez mais complexas, as plantas daninhas também tem mostrado a capacidade de desenvolver mais de um mecanismo de resistência em um único biótipo, como o caso de um biótipo de capim-pé-de-galinha que desenvolveu a mutação Pro106Ser e também a superexpressão da enzima EPSPS, contando com dois mecanismos de TSR para sobreviver a ação do glifosato (Gherekhloo et al. 2017).

Quando se trata dos fatores que governam o aparecimento e desenvolvimento da resistência na natureza, existem uma série de aspectos relacionados tanto as práticas humanas, quanto as características inatas e biológicas de cada espécie de planta daninha que podem favorecer ou não o surgimento e desenvolvimento da resistência. No que se refere as características da planta daninha, espécies com extrema suscetibilidade a determinado herbicida, são mais propensas a rápida seleção de biótipos resistentes, uma vez que, a alta suscetibilidade favorece a eliminação do suscetível e a seleção do resistente (Christoffoleti et al. 2016). E como foi observado, o capim-pé-de-galinha é uma espécie extremamente sensível aos gramínicidas, dada a ampla diferença nos valores de C_{50}/GR_{50} observados entre os biótipos provenientes do campo e o suscetível, que não vinha sendo exposto aos herbicidas.

Um outro ponto a se destacar são as práticas agrônômicas executadas que exercem a

pressão de seleção pelo uso contínuo de determinado herbicida (Christoffoleti et al. 2016). E no que se refere ao uso dos graminicidas, nos últimos anos tem se notado um aumento considerável na sua utilização nas lavouras brasileiras para produção de grãos e fibras. Como exemplo pode-se citar o cletodim, um dos principais inibidores da ACCase utilizados no país (Takano et al. 2021). De acordo com o relatório de vendas de agrotóxicos realizado pelo IBAMA no Brasil, em 2010 comercializou-se 244,10 toneladas de cletodim no país, sendo 115,86 toneladas comercializadas apenas no estado do Mato Grosso, oito anos depois, em 2018, a quantidade nacional subiu para 3081,14 toneladas, e no estado do Mato Grosso para 750,33 toneladas do ingrediente ativo (Ibama 2020).

Tomando como base a área de soja plantada no país (35,8 milhões de ha) e no estado do Mato Grosso (9,7 milhões de ha) na safra 2018/19 (Conab 2020), e a dose recomendada de cletodim utilizada no presente estudo, as quantidades do herbicida comercializadas no país e no estado, seriam suficientes para tratar cerca de 89% da área nacional, e 80% da área estadual, cultivadas com soja, respectivamente. Destacando que essa comparação visa apenas ilustrar o quão frequente tem sido a utilização de graminicidas no país, pois sabe-se que outros graminicidas e outras culturas além de cletodim e soja são empregados, como por exemplo a cultura do algodão no estado do Mato Grosso, uma importante fonte de utilização dos inibidores da ACCase (Andrade Junior et al. 2018).

A razão pela qual um herbicida é amplamente utilizado em determinado país ou região é diretamente ligada as necessidades do produtor rural. No caso dos graminicidas, situações específicas como o manejo de milho RR® voluntario na cultura da soja (Lopez-Ovejero et al. 2016) e o manejo de biótipos de capim-amargoso e o próprio capim-pé-de-galinha resistentes ao glifosato (Gemelli et al. 2013; Takano et al. 2017, 2021), são algumas das necessidades específicas para a ampla adoção destes produtos devido a boa eficácia de controle proporcionada.

Resultados dos ensaios de curva de dose resposta do herbicida glifosato

Como pode ser observado na Tabela 7, a qual ilustra os valores de C_{50}/C_{80} e GR_{50}/GR_{80} e o fator de resistência para cada biótipo aos 28 DAA, em relação a aplicação de glifosato, os biótipos B11, B14 e B15 apresentaram os maiores fatores de resistência e necessitaram de uma dose maior que $960 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ para observar-se eficácia superior a 80%. Já o biótipo B16, apesar de necessitar de uma dose 2,5 vezes maior para obter a mesma eficácia de controle em relação ao biótipo suscetível, foi controlado efetivamente pela dose recomendada de glifosato.

Tabela 7. Doses de glifosato estimadas para proporcionar C_{50}/C_{80} e GR_{50}/GR_{80} , e o fator de resistência de acordo com a dose estimada de C_{50} e GR_{50} . Primavera do Leste – MT, 2020.

Biótipo	Dose de glifosato em g e.a. ha ⁻¹							
	Eficácia de controle				Redução de biomassa			
	C_{50}^1	p-valor ²	C_{80}	FR_{C50}	GR_{50}	p-valor	GR_{80}	FR_{GR50}
S1	164.6 (10.3) ³	-	342.6 (28.6)	-	136.0 (10.5)	-	290.5 (30.2)	-
B11	598.0 (37.0)	<0.0001	1319.6 (129.2)	3.6	358.9 (29.6)	<0.0001	872.4 (96.6)	2.6
B14	796.7 (41.5)	<0.0001	1407.9 (129.6)	4.8	303.7 (32.0)	<0.0001	1194.6 (165.6)	2.2
S2	132.5 (9.0)	-	306.3 (28.2)	-	81.3 (8.9)	-	228.3 (29.0)	-
B15	743.1 (50.8)	<0.0001	1930.3 (194.1)	5.6	300.3 (19.5)	<0.0001	548.5 (65.9)	3.7
B16	332.1 (21.0)	<0.0001	731.0 (73.8)	2.5	175.3 (9.1)	<0.0001	248.4 (19.7)	2.2

¹ C_{50} : dose necessária para proporcionar 50% de controle, C_{80} : dose necessária para proporcionar 80% de controle, FR_{50} : fator de resistência com base no valor de C_{50} , GR_{50} : dose necessária para reduzir o crescimento em 50%, GR_{80} dose necessária para reduzir o crescimento em 80%, FR_{GR50} : fator de resistência com base no valor de GR_{50} .

²p-valor com intervalo de confiança de 95% do C_{50} e GR_{50} dos biótipos provenientes da triagem em comparação ao biótipo suscetível.

³valores entre parênteses representam o erro padrão com intervalo de confiança de 95% do respectivo parâmetro de controle ou de redução de biomassa.

As Figuras 6 e 7 retratam as curvas de dose resposta para os biótipos tratados com glifosato em relação a eficácia de controle e redução de biomassa, respectivamente, ambas variáveis avaliadas aos 28 DAA.

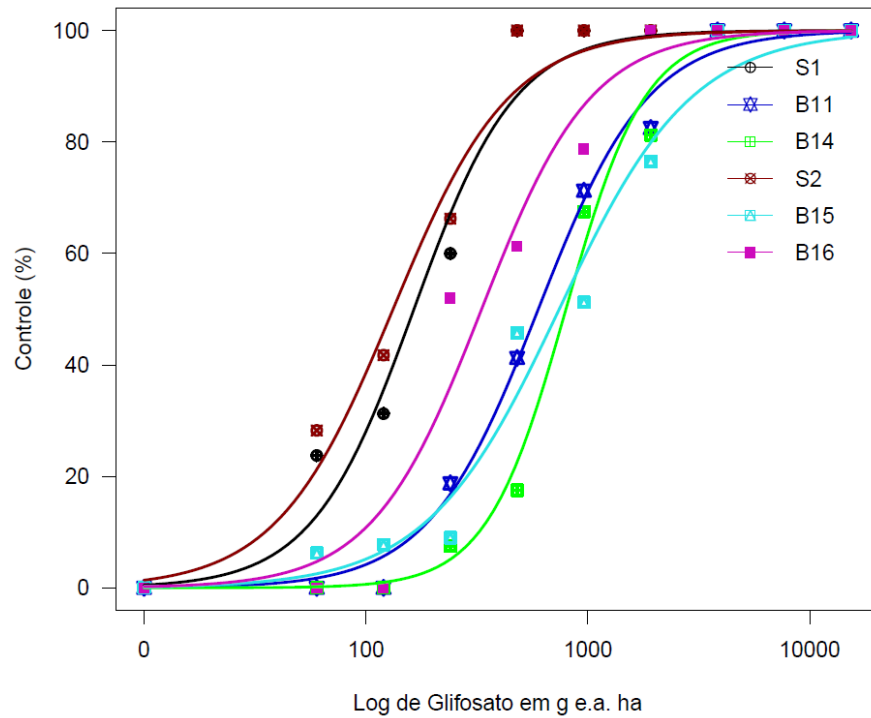


Figura 6. Curvas de dose resposta para o controle dos biótipos tratados com glifosato aos 28 DAA. Primavera do Leste – MT, 2020.

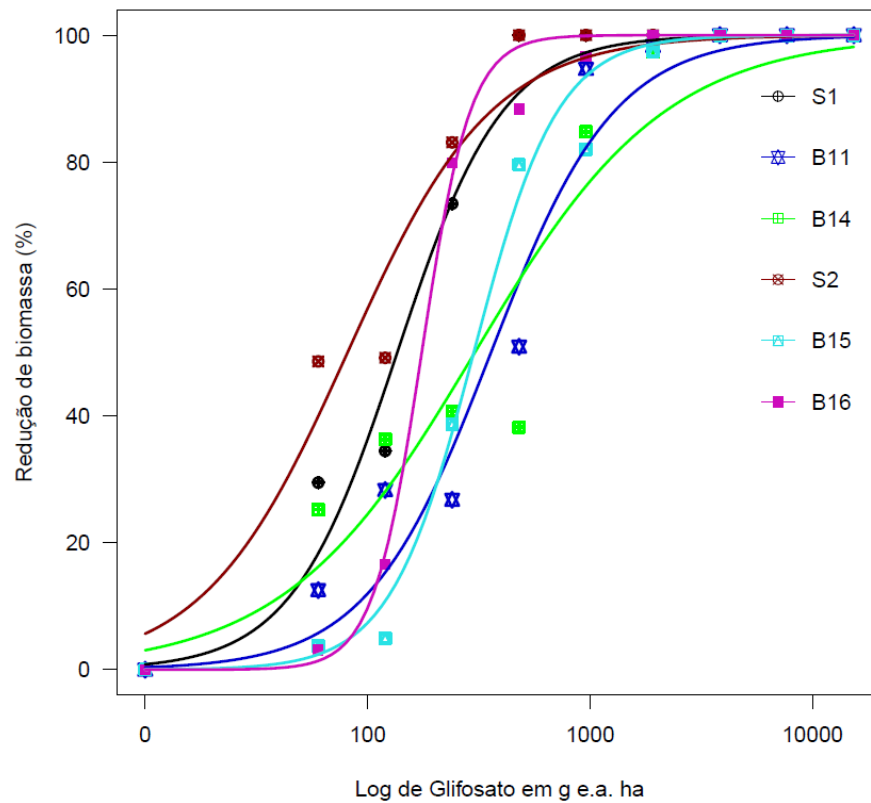


Figura 7. Curvas de dose resposta para a redução de biomassa dos biótipos tratados com glifosato aos 28 DAA. Primavera do Leste – MT, 2020.

Os primeiros relatos de capim-pé-de-galinha resistente ao glifosato no Brasil foram de

biótipos provenientes do estado do Paraná, onde Takano et al. (2017) observaram fatores de resistência da ordem de 4,4 a 7,9 vezes em quatro populações que sobreviveram a dose recomendada de glifosato ($960 \text{ g e.a. ha}^{-1}$), para os demais biótipos, assim como no presente estudo, Takano et al. (2017) observaram fator de resistência maior que 1, no entanto, todos foram satisfatoriamente controlados pela dose recomendada de glifosato. Segundo Takano et al. (2019), a mutação Pro106Ser na enzima EPSPS é o mecanismo responsável pela resistência ao glifosato nestes biótipos.

O biótipo B16, assim como para alguns biótipos aqui tratados com cletodim, e biótipos estudados por Takano et al. (2017), apesar de necessitarem de doses maiores para obter uma mesma eficácia de controle, ou redução da biomassa, em relação ao biótipo suscetível, foram satisfatoriamente controlados pelas doses recomendada do herbicida em questão. E apesar de produtores relatarem falhas de controle no campo e suspeita de resistência, o controle ineficiente pode estar atrelado a condições inadequadas durante as aplicações, sendo na grande maioria das vezes relacionado com estágio avançado de desenvolvimento. Como observado por Takano et al. (2017), onde os autores necessitaram de uma dose de $204,3 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ de glifosato para obter 80% de controle do biótipo suscetível no estágio de 2 a 3 perfilhos, quando a aplicação foi realizada no estágio de 5 a 6 perfilhos, a dose necessária para a mesma eficácia mais que duplicou e foi de $478,1 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ do herbicida. Mostrando que é uma característica inata da espécie necessitar de doses maiores para o controle de plantas acima do estágio de aplicação.

Além de apresentarem C_{80} maior que a dose de $960 \text{ g e.a. ha}^{-1}$ de glifosato, os biótipos B11 e B15 também não foram controlados pelas doses recomendadas de cletodim e haloxifope-p-metílico, e o B14 não foi controlado pela dose recomendada de haloxifope-p-metílico, sendo estes biótipos com indícios de resistência múltipla a glifosato e aos inibidores da ACCase (Tabelas 4, 5, 6 e 7). Apesar de já ter sido confirmado este tipo de resistência no Brasil, o caso registrado envolve glifosato, haloxifope-p-metílico e fenoxaprop-p-ethyl, mas não cletodim (Heap 2020). Desta forma, sementes da geração F1 destes biótipos foram coletadas, e um novo experimento de curva de dose resposta será conduzido se confirmado, este poderá ser um dos primeiros relatos de resistência múltipla envolvendo glifosato, haloxifope-p-metílico e cletodim em um mesmo biótipo de capim-pé-de-galinha.

Um caso similar de resistência múltipla a glifosato e aos FOPs já registrado para o capim-pé-de-galinha no Brasil, foi observado por Deng et al. (2020), que relataram resistência

múltipla a cyhalofop-butyl e glifosato, sendo observado a mutação Asp2078Gly como mecanismo de resistência ao graminicida, e superexpressão da enzima EPSPS como mecanismo de resistência ao glifosato, não sendo observado mutações neste sitio de ação. Já na Malásia foram confirmados diversos casos de resistência de capim-pé-de-galinha a diferentes mecanismos de ação, como por exemplo, resistência múltipla a glufosinato de amônio e a paraquat. (Chuah et al. 2010). É um dos casos mais complexos já descritos, onde um biótipo desenvolveu resistência múltipla a quatro diferentes mecanismos de ação, adquirindo a capacidade de tolerar glifosato, glufosinato de amônio, paraquat e os graminicidas butroxydim, fluazifop-p-butyl e haloxifop-p-metílico. Este caso em questão foi o primeiro relato de uma espécie capaz de sobreviver a ação dos três herbicidas não seletivos glifosato, glufosinato de amônio e paraquat (Jalaludin et al. 2014).

Além da plasticidade nos casos de resistência aos mais variados mecanismos de ação, o capim-pé-de-galinha também já demonstrou apresentar elevada variabilidade genética quando se trata das mutações que conferem resistência ao glifosato. Sendo a primeira espécie a desenvolver tanto a mutação simples (Pro106Ser), quanto a mutação dupla (Tre102Ile e Pro106Ser) na enzima EPSPS (Baerson et al. 2002; Yu et al. 2015).

A dupla mutação, também conhecida como TIPS, apesar de proporcionar elevado fator de resistência, da ordem de >180 vezes ($C_{50} > 25,900 \text{ g i.a. ha}^{-1}$ de glifosato) (Yu et al. 2015) na ausência de glifosato, esta apresenta elevado custo adaptativo para o biótipo, com redução no acúmulo de massa e capacidade de produção de sementes (Han et al. 2017). A mesma mutação foi reportada em biótipos de capim-pé-de-galinha na China, no entanto, ao contrário do que foi observado na Malásia, a mutação TIPS não proporcionou o mesmo fator de resistência para os biótipos chineses, com base no GR_{50} na Malásia observou-se fator de resistência da ordem de 31,1 vezes, ao passo que, na China foi de 14 vezes (Chen et al. 2017; Yu et al. 2015). Outro fato curioso em relação a mutação TIPS, é que coincidentemente, esta mutação foi desenvolvida através de processos mutagênicos e introduzida na primeira geração de milho resistente ao glifosato (GA21) (Spencer et al. 2000). Anos depois o capim-pé-de-galinha foi a primeira espécie a desenvolver a mesma alteração genética, mostrando a capacidade das plantas daninhas em se adaptar a pressão de seleção imposta pelo uso contínuo de uma mesma ferramenta.

Uma das principais estratégias adotadas para o manejo de biótipos resistentes a determinado herbicida, é a utilização de outros herbicidas com diferentes mecanismos de ação, seja de forma isolada ou em associações (Délye et al. 2013). Como por exemplo, para o manejo

de biótipos de capim-pé-de-galinha resistentes a glifosato, a utilização de inibidores da ACCase (Takano et al. 2017). No entanto a simples presunção de que misturas de dois ou mais produtos com diferentes mecanismos de ação é suficiente para manejar a resistência deve ser reconsiderada. Uma vez que, somente quando os dois produtos adotados atuam de forma eficaz no controle de determinado biótipo, é que se tem sucesso nesta tática de manejo (Délye et al. 2013).

No caso do manejo de capim-pé-de-galinha com resistência tanto a glifosato quanto aos inibidores da ACCase, o que se tem realizado é a utilização dos dois grupos de herbicidas associados para manejar os biótipos com baixa resposta a pelo menos um destes. No entanto essa associação só é realizada a campo quando se percebe que um deles perderam a eficácia no controle, logo, mesmo que em associação, apenas um ira exercer o controle, e consequentemente, exercerá a pressão de seleção de biótipos agora com resistência múltipla, o que já foi relatado tanto para o capim-pé-de-galinha, quanto para o capim-amargoso, as duas principais gramíneas problemas no cerrado brasileiro (Adegas et al. 2017; Heap 2020; Takano et al. 2021).

Um outro ponto importante na adoção de misturas de produtos com diferentes mecanismos de ação para o manejo de biótipos resistentes é o mecanismo que confere resistência a planta daninha. Segundo Comont et al. (2020), casos de resistência múltipla devido a mutação genética pode ser mitigado pela associação de dois produtos com diferentes mecanismos de ação, no entanto, quando se trata de NTSR, a eficácia da associação é colocada em cheque, pois apesar de atuarem em sítios de ação distintos, o mecanismo de resistência não apresenta ligação com o sitio de ação de cada produto.

Deste modo, a tática básica da utilização de gramínicidas em associação a glifosato para o manejo de gramíneas com resistência a esses produtos no Brasil pode ter vida curta e o resultado a seleção de biótipos cada vez mais difíceis de serem controlados. E no que se refere ao manejo de plantas daninhas gramíneas, essas são as duas principais e melhores ferramentas químicas disponíveis para o manejo destas espécies em culturas como a soja e o algodão. Logo a preservação destas ferramentas é de suma importância para o futuro do sistema agrícola brasileiro, tendo em vista que, apesar da previsão futura mostrar uma aumento no número de casos de plantas daninhas resistentes, o mesmo não se observa para o descobrimento de herbicidas com novos mecanismos de ação (Westwood et al. 2017), portanto preservar o que se tem disponível é essencial.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, e nos casos reportados mundialmente, é evidente a variabilidade genética e plasticidade do capim-pé-de-galinha em se adaptar as ferramentas químicas disponíveis para o seu controle. Embora apresentem o mesmo mecanismo de ação, foi possível observar que existem variações nos casos de resistência de capim-pé-de-galinha a cletodim e haloxifope-p-metílico, sendo observado um maior número de biótipos resistentes e maiores fatores de resistência sempre para o FOP em relação ao DIM.

Dentre os quatro biótipos selecionados e tratados com glifosato, apenas três se caracterizaram como resistentes perante a definição agrônômica. Destes três biótipos, B11 e B15 se destacaram pois além de se caracterizarem como resistentes ao glifosato, também não foram controlados satisfatoriamente por cletodim e haloxifope-p-metílico, caracterizando-se como uma suspeita de resistência múltipla aos três herbicidas. Sementes da geração F1 destes biótipos foram coletadas e serão submetidas a um novo ensaio de curva de dose resposta, se confirmado, estes podem ser um dos primeiros casos de resistência múltipla no Brasil envolvendo cletodim, haloxifope-p-metílico e glifosato.

Levando-se em consideração a importância destes herbicidas para o sistema produtivo brasileiro, é necessário a integração de outras ferramentas para o manejo não só do capim-pé-de-galinha, mas também de outras espécies com biótipos resistentes a herbicidas no Brasil. Como exemplo de ferramentas é conveniente destacar o uso de produtos com diferentes mecanismos de ação, adoção de herbicidas pré-emergentes, a rotação de culturas e biotecnologias disponíveis no mercado, e também a intensificação do monitoramento das áreas produtoras, visando o possível diagnóstico de falhas de controle e o manejo correto das plantas daninhas, levando em consideração estágio de aplicação adequado e recomendações de bula de cada produto adotado.

REFERÊNCIAS

- Adegas FS, Vargas L, Gazziero DLP, Karam D, Silva AF, Agostinetto D (2017) Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil. Londrina: Embrapa Soja.
- Alcántara-De La Cruz R, Fernández-Moreno PT, Ozuna CV, Rojano-Delgado AM, Cruz-Hipolito HE, Domínguez-Valenzuela JA, Barro F, De Prado R (2016) Target and non-target site mechanisms developed by glyphosate-resistant hairy beggarticks (*Bidens pilosa* L.) populations from Mexico. *Front Plant Sci* 7:1492
- [ALAM] Asociación Latinoamericana de Malezas (1974) Recomendaciones sobre unificación de los sistemas de evaluación en ensayos de control de malezas ALAM 1:35-38
- Andrade Junior ER (2018) Capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) resistente a herbicidas inibidores da ACCase em áreas algodoeiras de Mato Grosso. Tese (Agricultura Tropical). Cuiabá: Faculdade de Agronomia e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso. 84 p
- Andrade Junior ER, Cavenaghi AL, Guimarães SC, Scoz LB (2018) Capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) em Mato Grosso: resistência a herbicidas inibidores da ACCase e indicação de sítios de ação alternativos. Cuiaba: Instituto Mato-Grossense do Algodão. 12 p
- Baerson SR, Rodriguez DJ, Tran M, Feng Y.M, Biest NA, Dill GM (2002) Glyphosate-resistant goosegrass. Identification of a mutation in the target enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Plant Physiol* 129:1265–1275
- Barroso AAM, Albrecht AJP, Reis FC, Filho RV (2014) Interação entre herbicidas inibidores da ACCase e diferentes formulações de glyphosate no controle de capim-amargoso. *Planta Daninha* 32:619-627
- Beckie HJ, Tardif FJ (2012) Herbicide cross resistance in weeds. *Crop Protection* 35:15-28
- Chen J, Jiang C, Huang H, Wei S, Huang Z, Wang H, Zhao D, Zhang C (2017) Characterization of *Eleusine indica* with gene mutation or amplification in EPSPS to glyphosate. *Pestic Biochem Physiol* 143:201-206
- Chuah TS, Low VL, Cha TS, Ismail BS (2010) Initial report of glufosinate and paraquat multiple resistance that evolved in a biotype of goosegrass (*Eleusine indica*) in Malaysia. *Weed Biol Manage* 10:229–233
- Christoffoleti PJ, Nicolai M, López-Ovejero RF, Borgato EA, Netto AG, Melo MSC (2016) Resistência de plantas daninhas a herbicidas: termos e definições importantes. Pages 11-32 in Christoffoleti PJ, Nicolai M, eds. Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas. Piracicaba: HRAC-BR
- Comont D, Lowe C, Hull R, Crook L, Hicks HL, Onkokesung N, Beffa R, Childs DZ, Edwards R, Freckleton RP, Neve P (2020) Evolution of generalist resistance to herbicide mixtures reveals a trade-off in resistance management. *Nat Comm* 11:1-9
- [CONAB] Companhia Nacional de Abastecimento (2020). <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos?limitstart=0>. Acesso: 10 de junho de 2020

Delye C, Jasieniuk M, Le Corre V (2013) Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. *Trends Genet* 29:649-658

Deng W, Yang Q, Chen Y, Yang M, Xia Z, Zhu J, Chen Y, Cai J, Yuan S (2020) Cyhalofop-butyl and glyphosate multiple herbicide resistance evolved in an *Eleusine indica* population collected in Chinese direct-seeding rice. *J Agric Food Chem* 68:2623–2630

Dill GM, Cajacob CA, Padgett SR (2008) Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. *Pest Manag Sci* 64:326–333

Duke SO, Powles SB (2008) Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Manag Sci* 64:319-325

Gaines TA, Duke SO, Morran S, Rigon CAG, Tranel PJ, Küpper A, Dayan FE (2020) Mechanisms of evolved herbicide resistance. *JBC* 10.1074/jbc.REV120.013572

Gaines TA, Zhang W, Wang D, Bukun B, Chisholm ST, Shaner DL, Nissen SJ, Patzoldt WL, Tranel PJ, Culpepper AS, Grey TL, Webster TM, Vencill WK, Sammons RD, Jiang J, Preston C, Leach JE, Westra P (2010) Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Proc Natl Acad Sci* 107:1029-1034

García MJ, Palma-Bautista C, Rojano-Delgado AM, Bracamonte E, Portugal J, Alcántara-De La Cruz R, De Prado R (2019) The Triple amino acid substitution TAP-IVS in the EPSPS gene confers high glyphosate resistance to the superweed *Amaranthus hybridus*. *Int J Mol Sci* 20:1-15

Gazziero DLP, Adegas FS, Meschede DK, Vargas L, Karam D, Maciel CDG, Fornarolli D, Gomes MM (2016) A era glyphosate. Pages 11-21 in Meschede DK, Gazziero DLP A era glyphosate: agricultura, meio ambiente e homem. Londrina: Midiograf II

Gemelli A, Oliveira Junior RS, Constantin J, Braz GBP, Campos Jumes TM, Gheno EA, Rios FA, Franchini LHM (2013) Strategies to control of sourgrass (*Digitaria insularis*) glyphosate resistant in the out-of-season corn crop. *Revista Brasileira de Herbicidas* 12:162-170

Gherekhloo J, Fernández-Moreno PT, Alcántara-De La Cruz R, Sánchez-González E, Cruz-Hipolito HE, Domínguez-Valenzuela JA, De Prado R (2017) Pro-106-Ser mutation and EPSPS overexpression acting together simultaneously in glyphosate resistant goosegrass (*Eleusine indica*). *Sci Rep* 7:6702

Hall LM, Strome KM, Horsman GP (1998) Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false clover (*Gallium spurium*). *Weed Sci* 46:390-396

Han H, Vila-Aiub MM, Jalalidin A, Yu Q, Powles SB (2017) A double EPSPS gene mutation endowing glyphosate resistance shows a remarkably high resistance cost. *Plant Cell & Environ* 40:3031-3042

[IBAMA] Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (2020). <http://www.ibama.gov.br/relatorios/quimicos-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. Acesso: 10 de junho de 2020

- Heap I (2005) Criteria for confirmation of the herbicide-resistant weeds. <http://www.weedscience.org/Documents/ResistanceCriterion.pdf>. Acesso: 18 de julho de 2019
- Heap I (2020) The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. <http://www.weedscience.org>. Acesso: 10 de junho de 2020
- [IMEA] Instituto Mato-grossense de Economia Agropecuária (2020). <http://www.imea.com.br/imea-site/relatorios-mercado-detalhe?c=1&s=9>. Acesso: 19 de junho de 2020
- Jalaludin A, Yu Q, Powles SB (2014) Multiple resistance across glufosinate, glyphosate, paraquat and ACCase-inhibiting herbicides in *Eleusine indica* population. *Weed Res* 55:82-89
- Jang S, Marjanovic J, Gornicki P (2013) Resistance to herbicides caused by single amino acid mutations in acetyl-CoA carboxylase in resistant populations of grassy weeds. *New Phytologist* 197:1110-1116
- Jasieniuk M, Brûlé-Babel AL, Morrison IN (1996) The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. *Weed Sci* 44:176-193
- Kaundun SS (2014) Resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides. *Pest Manag Sci* 70:1405-1417
- Kissmann KG (2007) Plantas infestantes e nocivas. 3 ed. São Paulo: BASF
- Laforest M, Soufiane B, Simard MJ, Obeid K, Page E, Nurse RE (2017) Acetyl-CoA carboxylase overexpression in herbicide-resistant large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). *Pest Manag Sci* 73:2227-2235
- López-Ovejero RF, Soares DJ, Oliveira NC, Kawaguchi IT, Berger GU, Carvalho SJP, Christoffoleti PJ (2016) Interferência e controle de milho voluntário tolerante ao glifosato na cultura da soja. *Pesq Agropec Brasil* 51:340-347
- Lorenzi H (2014) Manual de identificação e controle de plantas daninhas. 7 ed. São Paulo: Instituto Plantarum. 384 p
- Lucio FR, Kalsing A, Adegas FS, Rossi CVS, Correia NM, Gazziero DLP, Silva AF (2019) Dispersal and frequency of glyphosate-resistant and glyphosate-tolerant weeds in soybean-producing edaphoclimatic microregions in Brazil. *Weed Technol* 33:217-231
- Neve P, Vila-Aiub M, Roux F (2009) Evolutionary-thinking in agricultural weed management. *New Phytologist* 184:783-793
- Osuna MD, Goulart ICGR, Vidal RA, Kalsing A, Ruiz Santaella JP, De Prado R (2012) Resistance to ACCase inhibitors in *Eleusine indica* from Brazil involves a target site mutation. *Planta Daninha* 30:675-681
- Powles SB, Yu Q (2010) Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annu Rev Plant Biol* 61:317-347

R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Ritz C, Baty F, Streibig JC, Gerhard D (2015) Dose-response analysis using R. PLOS ONE 10(12), e0146021

Roman ES, Beckie H, Vargas L, Hall L, Rizzardi MA, Wolf TM (2007) Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação. Passo Fundo: Berthier, 158 p

Salas RA, Dayan FE, Pan Z, Watson SB, Dickson JW, Scott RC, Burgos NR (2012) EPSPS gene amplification in glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perenne* spp. *multiflorum*) from Arkansas. Pest Manag Sci 68:1223-1230

Shaner DL (2000) The impact of glyphosate-resistant crops on the use of other herbicides and resistance management. Pest Manag Sci 56:320-326

Spencer M, Mumm R, Gwyn J (2000) Glyphosate resistant maize lines. Dekalb Genetics Corporation: US 6,040,497. pp. 1-59

Takano HK, Melo MSC, Ovejero RFL, Westra PH, Gaines TA, Dayan FE (2020) Trp2027Cys mutation evolves in *Digitaria insularis* with cross-resistance to ACCase inhibitors. Pestic Biochem Physiol 164:1-6

Takano HK, Mendes RR, Scoz LB, Lopez-Ovejero RF, Constantin J, Gaines TA, Westra P, Dayan FE, Oliveira RS (2019) Proline-106 EPSPS mutation imparting glyphosate resistance in goosegrass (*Eleusine indica*) emerges in South America. Weed Sci 67:48-56

Takano HK, Oliveira Junior RS, Constantin J, Braz GBP, Gheno EA (2017) Goosegrass resistant to glyphosate in Brazil. Planta Daninha 35:1-9

Takano HK, Oliveira Junior RS, Constantin J, Braz GBP, Padovese JC (2016) Growth, development and seed production of goosegrass. Planta Daninha 34:249-257

Takano HK, Ovejero RFL, Belchior GG, Maymone GPL, Dayan FE (2021) ACCase-inhibiting herbicides: mechanism of action, resistance evolution and stewardship. Sci Agric 78, 10.1590/1678-992x-2019-0102

Westwood JH, Charudattan R, Duke SO, Fennimore SA, Marrone P, Slaughter DC, Swanton C, Zollinger R (2017) Weed management in 2050: perspectives on the future of weed science. Weed Sci 66:275-285

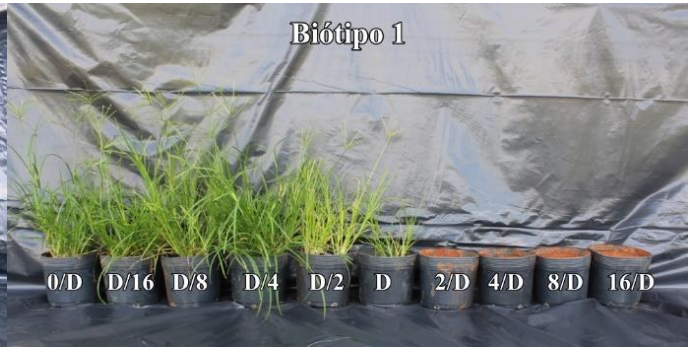
Yu Q, Jalaludin A, Han H, Chen M, Sammons RD, Powles SB (2015) Evolution of a double amino acid substitution in the EPSP synthase in *Eleusine indica* conferring high level glyphosate resistance. Plant Physiol 4:1440-1447

Yu Q, Collavo A, Zheng MQ, Owen M, Sattin M, Powles SB (2007) Diversity of acetyl-coenzyme A carboxylase mutations in resistant *Lolium* populations: evaluation using clethodim. Plant Physiol 145:547-558

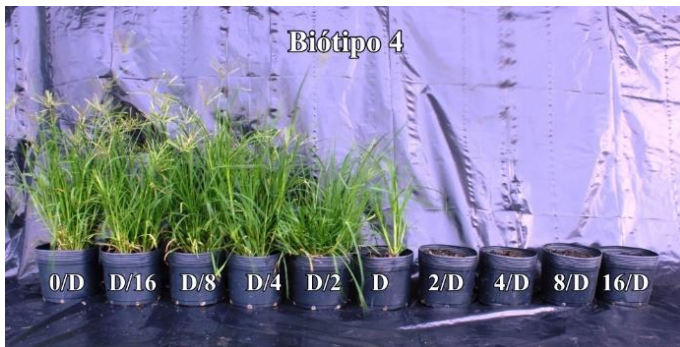
APÊNDICES



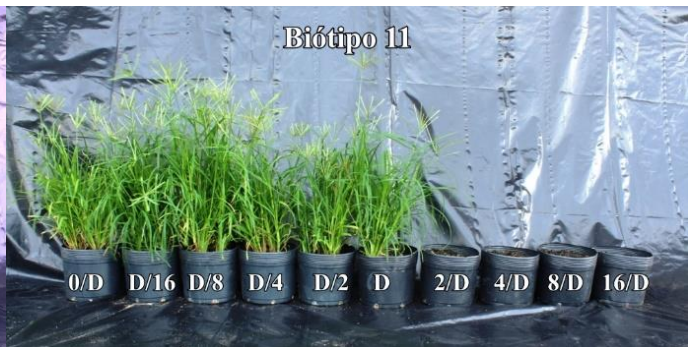
Apêndice 1a. Biótipo suscetível.



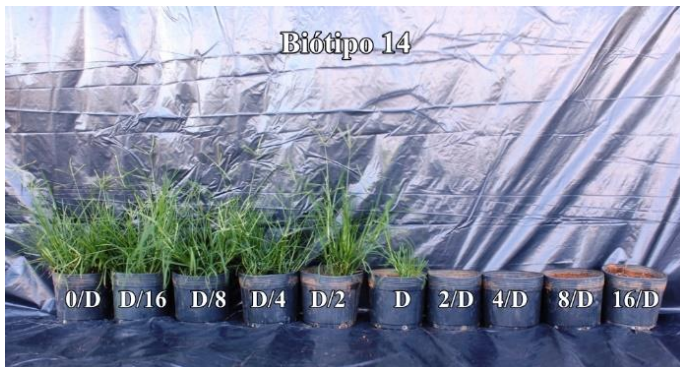
Apêndice 1b. Biótipo 1.



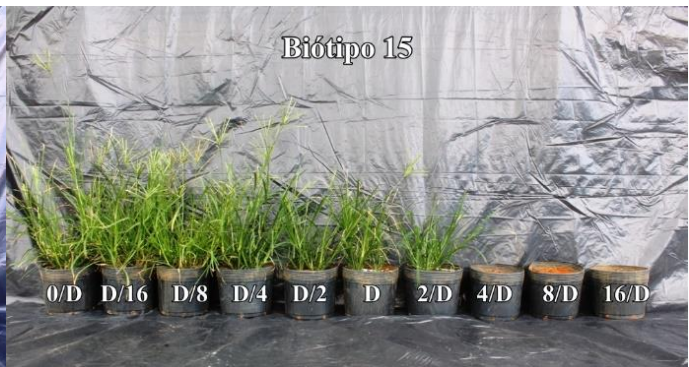
Apêndice 1c. Biótipo 4.



Apêndice 1d. Biótipo 11.

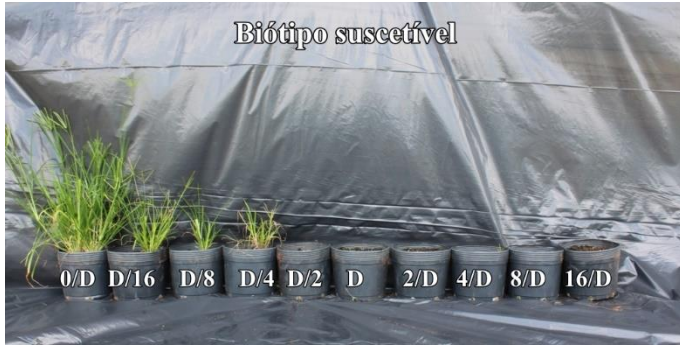


Apêndice 1e. Biótipo 14.

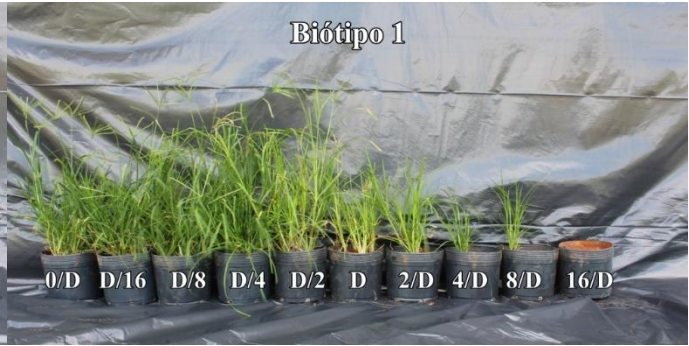


Apêndice 1f. Biótipo 15.

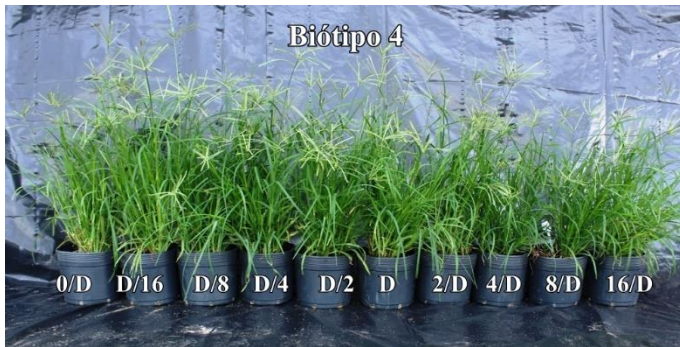
Apêndice 1. Imagens comparativas dos biótipos tratados com cletodim aos 28 DAA. Primavera do Leste - MT.



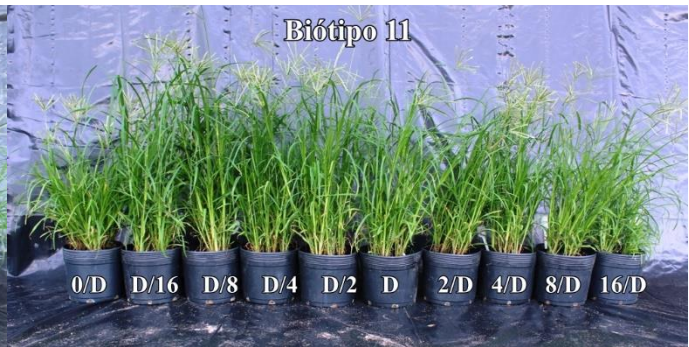
Apêndice 2a. Biótipo suscetível.



Apêndice 2b. Biótipo 1.



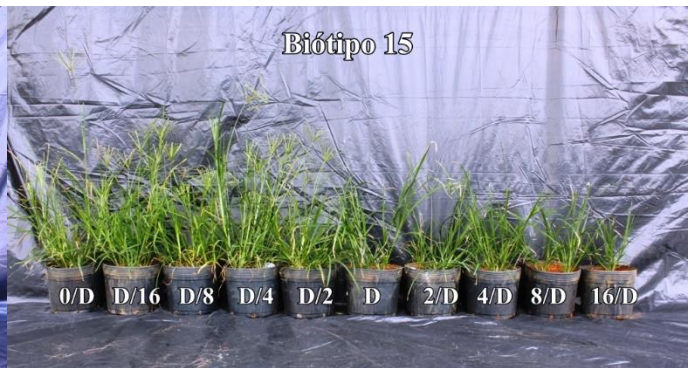
Apêndice 2c. Biótipo 4.



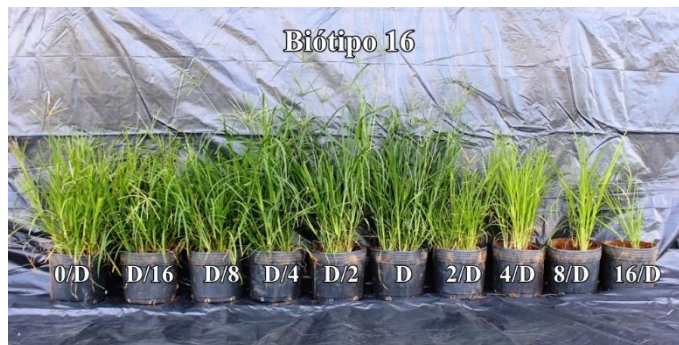
Apêndice 2d. Biótipo 11.



Apêndice 2d. Biótipo 14.



Apêndice 2e. Biótipo 15.

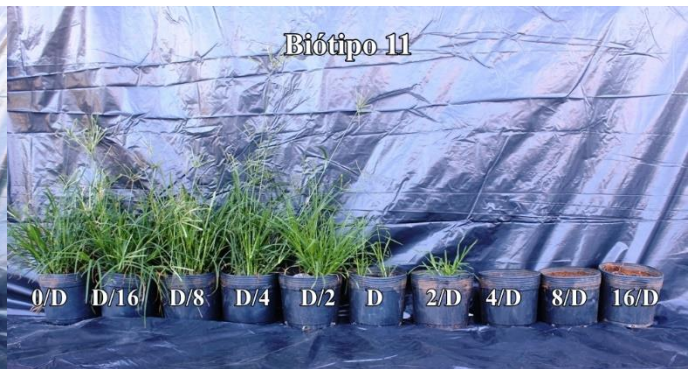


Apêndice 2f. Biótipo 16.

Apêndice 2. Imagens comparativas dos biótipos tratados com haloxifope-p-metílico aos 28 DAA. Primavera do Leste - MT.



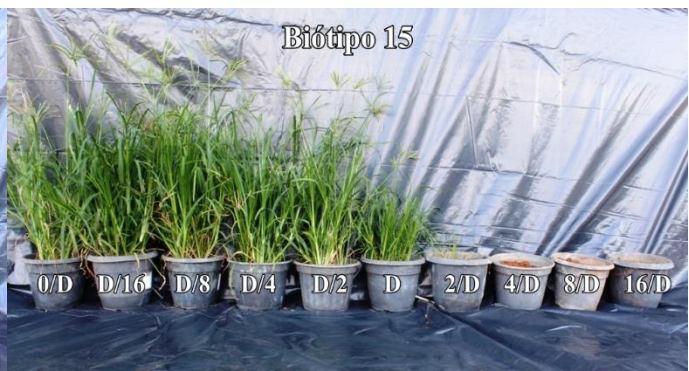
Apêndice 3a. Biótipo suscetível.



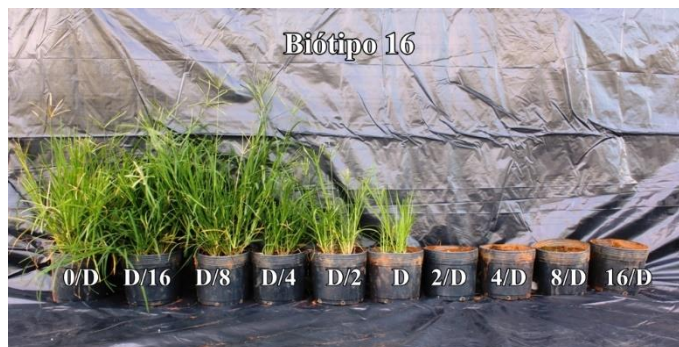
Apêndice 3b. Biótipo 11.



Apêndice 3c. Biótipo 14.



Apêndice 3d. Biótipo 15.



Apêndice 3e. Biótipo 16.

Apêndice 3. Imagens comparativas dos biótipos tratados com glifosato aos 28 DAA. Primavera do Leste - MT.