

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Dissertação

**Distribuição geográfica e caracterização de biótipos de
Lolium multiflorum Lam. resistentes ao herbicida
clethodim**

Theodoro Schneider

Pelotas, 2015

THEODORO SCHNEIDER

**Distribuição geográfica e caracterização de biótipos de *Lolium multiflorum* Lam.
resistentes ao herbicida clethodim**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (área do conhecimento: Herbologia).

Orientador: Dr. Leandro Vargas

Coorientadores: Dr. Dirceu Agostinetto

Dr. Mario Antonio Bianchi

Pelotas, 2015

Banca examinadora:

Bióloga Dr^a. Daiane de Pinho Benemann

Eng. Agr. Dr. Carlos Eduardo Schaedler

Eng. Agr. Dr. Mario Antonio Bianchi

Eng. Agr. Dr. Leandro Vargas
(Orientador)

Aos meus pais, Rudimar e Lucia;
A minha irmã Nícia;
À minha noiva, Vanessa.

OFEREÇO E DEDICO

“Coloque a lealdade e a confiança acima de qualquer coisa;
não te alies aos moralmente inferiores;
não receies corrigir teus erros.”

Confúcio

Agradecimentos

A Deus, pelo dom da vida e por ter-me proporcionado força e coragem durante o transcorrer desta etapa.

Aos meus pais, Rudimar e Lúcia por terem me concedido a vida e terem me dado todo o carinho, amor, educação e suporte que possibilitaram trilhar este caminho.

A minha irmã, Nícia, pelo exemplo de dedicação, caráter, e principalmente pelo amor e amizade.

À minha noiva Vanessa, pelo amor e carinho incondicionais, por estar sempre presente durante todas as etapas da minha vida acadêmica, pela amizade, dedicação, incentivo e paciência.

Ao Professor Leandro Vargas, pela orientação, paciência, incentivo, amizade, e por ter-me demonstrado confiança e segurança, que foram essenciais durante a execução do trabalho.

Ao Professor Dirceu Agostinetti, pelos ensinamentos, amizade, confiança, conselhos, disponibilidade, e por não ter medido esforços para ajudar-me na garantia do bom andamento da pesquisa.

Ao Professor Mario Bianchi, pelo auxílio para o cumprimento de etapas importantes do mestrado, pelos conselhos e disponibilidade de seu laboratório para a minha estada durante a finalização desta dissertação.

Ao meu cunhado Samuel pela amizade e incentivo.

Ao meu sobrinho Solano pela alegria proporcionada com a sua chegada à família.

À família da minha noiva Vanessa, pela amizade, carinho, apoio e acolhida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade pela oportunidade de realização do curso e aos professores que contribuíram para minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de Mestrado.

Aos colegas do CEHERB, que se tornaram grandes amigos, pela amizade, momentos de convívio, incentivo e auxílio na execução das atividades, em especial aos alunos de Pós-Graduação André da Rosa Ulguim, Andres Monge, Ana Claudia Langaro, Camila Tarouco, Franciele Mariani, Cláudia Oliveira, Diego Fraga, Jader Franco, Joanei Cechin, Lais Perboni, Marcos Nohatto, Queli Ruchel, Renan Zandoná, Vinícius Zimmer, Mariane Pertile, Bruno da Silva e Fernanda Carati, e alunos de Graduação Jéssica Gomes, Jéssica Garcia, Sandro Piesanti, Humberto Farias, Ana Marina e Thiago Duarte.

Ao servidor Nixon Westendorff pelo apoio e amizade.

A todos os que contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo

SCHNEIDER, Theodoro. **Distribuição geográfica e caracterização de biótipos de *Lolium multiflorum* Lam. resistentes ao herbicida clethodim**. 2015. 72f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O azevém (*Lolium multiflorum*) é uma planta daninha de ciclo anual, presente em lavouras de inverno, em pomares e vinhedos da região Sul do Brasil. A espécie é normalmente controlada pelo herbicida clethodim, no entanto, o uso continuado desse produto selecionou biótipos resistentes. Diante disso, os objetivos da pesquisa foram avaliar a distribuição dos biótipos de azevém resistentes ao herbicida clethodim no Rio Grande do Sul (RS); determinar a dose necessária de clethodim para controlar 50% da população (C_{50}) e reduzir 50% da produção de massa da matéria seca da parte aérea (MS_{50}) dos biótipos resistentes, em relação ao biótipo suscetível; verificar o mecanismo de resistência através da resposta dos biótipos à aplicação de inibidores do metabolismo da cyt-P450; e indicar herbicidas alternativos para o controle de biótipos resistentes ao clethodim. Para isso, foram conduzidos experimentos em casa de vegetação, laboratório e a campo, utilizando-se sementes provenientes de plantas que sobreviveram à aplicação de clethodim, suspeitas de resistência, coletadas em lavouras no Estado do RS. De acordo com os resultados, não há biótipos de azevém resistentes ao herbicida clethodim quando aplicado a dose de 120g i.a. ha^{-1} (dose máxima de registro) e estágio recomendado, no entanto, há biótipos com menor suscetibilidade que sobreviveram a metade da máxima dose de registro (60g i.a. ha^{-1}). Já, para plantas sobreviventes de aplicações a campo, os biótipos são controlados 50% com doses do herbicida entre 28,4 e 29,5 vezes maiores comparados ao biótipo suscetível, e a redução de 50% da matéria seca ocorre com doses entre 540 e 575 vezes superior aquela necessária para o biótipo suscetível. Ensaio realizado a campo revelou que os herbicidas paraquat e amônio-glufosinato, são alternativas eficientes para controle de azevém. Os biótipos apresentaram metabolismo do clethodim pelo complexo cyt-P450, no que se refere à inibição por butóxido de piperonila (PBO), indicando que o metabolismo é a provável causa das falhas de controle observadas a campo.

Palavras-chave: Azevém. Clethodim. Poaceae. Resistência.

Abstract

SCHNEIDER, Theodoro. **Geographic distribution and characterization of *Lolium multiflorum* Lam. biotypes resistant to clethodim herbicide**, 2015. 72f. Master of Science - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The ryegrass (*Lolium multiflorum*) is a weed of annual cycle, growing in a winter fields, orchards and vineyards of Brazilian southern. The specie normally is controlled with clethodim herbicide, however, the continuous use of this product selected resistant biotypes. Therefore, the objectives of this research were evaluating the distribution of ryegrass biotypes resistant to clethodim in Rio Grande do Sul (RS); determine the required dose to control 50% of population (C_{50}) and reduce 50% of dry matter (GR_{50}) of resistant biotypes, relative to susceptible biotype; examine the mechanism of resistance by application of cyt-P450 inhibitors; and indicate alternative herbicides to control biotypes resistant to clethodim. Thereunto, trials were conducted in greenhouse, lab and field, using seeds from plants that survived to clethodim application, suspected of resistance, collected in RS state fields. According to results, there are not ryegrass biotypes resistant to clethodim when applied 120g a.i. ha^{-1} (maximum register dose) and phenological stage recomendate, however, there are biotypes with less susceptible that survived to half commercial dose (60g a.i. ha^{-1}). As for survived plants of field application, the biotypes were controlled 50% with herbicide dose between 28,4 and 29,5 times larger compared to susceptible biotype, and 50% of dry matter was reduced with doses between 540 and 575 times larger than necessary to control the susceptible biotype. Field trials revealed that paraquat and glufosinate-ammonium herbicides are efficient alternatives to ryegrass control. The biotypes showed clethodim metabolism by cyt-P450, as regards to inhibition by piperonyl butoxide (PBO), indicating that metabolism is probably the causes of control failures observed in the field.

Key words: Ryegrass. Clethodim. Poaceae. Resistance.

Lista de Figuras

Figura 1	Localização geográfica dos municípios onde foi realizada coleta de sementes de plantas de azevém com suspeita de resistência aos herbicidas inibidores da enzima ACCase no Estado do Rio Grande do Sul. Adaptado de Geolive – Mapas temáticos RS, 2011.....	25
Figura 2	Localização geográfica dos municípios onde ocorreram biótipos com menor suscetibilidade aos herbicidas inibidores da ACCase no Estado do Rio Grande do Sul. Adaptado de Geolive – Mapas temáticos RS, 2011.....	30
Figura 3	Taxa fotossintética ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) dos biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> resistente e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliada aos 14 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013.....	38
Figura 4	Controle (%) dos biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> resistentes e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliado aos 10 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013.....	39
Figura 5	Controle (%) dos biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> resistentes e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliado aos 20 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013.....	40
Figura 6	Controle (%) dos biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> resistentes e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliado aos 32 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013.....	41
Figura 7	Massa da matéria seca da parte aérea (%) dos biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> resistentes e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliada aos 32 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013.....	44

Lista de Tabelas

Tabela 1	Localização e resposta (0= suscetível, 1= menor suscetibilidade ou 2= resistente) de biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> em função da aplicação de 120g i.a. ha ⁻¹ de clethodim avaliado visualmente aos 28 dias após o tratamento (DAT) Embrapa-Trigo, Passo Fundo/RS, 2013.....	26
Tabela 2	Valores de C ₅₀ com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência dos biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> resistentes e suscetível, em resposta à aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim (0, 13,5, 27, 54, 108, 216, 432 e 864g i.a. ha ⁻¹) avaliado aos 20 e 32 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013.....	42
Tabela 3	Valores de MS ₅₀ com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência dos biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> resistentes e suscetível, em resposta à aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim (0, 13,5, 27, 54, 108, 216, 432 e 864g i.a. ha ⁻¹), avaliado aos 32 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013.....	45
Tabela 4	Mecanismo de ação, ingrediente ativo, produto comercial e dose dos herbicidas utilizados. Coqueiros do Sul/RS, 2013.....	50
Tabela 5	Controle (%) aos 14 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT) e massa da matéria seca da parte aérea (g) de biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>) suscetível (SUS) e resistentes (COQ 8), submetidos à aplicação de clethodim, isolado ou antecedido em trinta minutos da aplicação do inibidor do cyt-P450 monooxigenase (PBO) e testemunha sem aplicação. Capão do Leão/RS, 2014.....	54
Tabela 6	Controle (%) aos 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos, de biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> com suspeita de resistência ao clethodim, em resposta a aplicação de diferentes herbicidas. Coqueiros do Sul/RS, 2013.....	57

Sumário

1 Introdução.....	14
2 Capítulo I - Distribuição geográfica de azevém resistente a herbicidas inibidores da enzima ACCase no Rio Grande do Sul.....	21
2.1 Introdução.....	21
2.2 Material e Métodos.....	24
2.3 Resultados e discussão.....	26
2.4 Conclusões.....	32
3 Capítulo II - Resistência de biótipos de azevém ao herbicida clethodim.....	33
3.1 Introdução.....	33
3.2 Material e Métodos.....	35
3.3 Resultados e discussão.....	37
3.4 Conclusões.....	46
4 Capítulo III - Mecanismo de resistência e controle alternativo de biótipos de azevém resistentes ao herbicida clethodim.....	47
4.1 Introdução.....	50
4.2 Material e Métodos.....	50
4.2.1 Estudo do metabolismo do herbicida clethodim.....	50
4.2.2 Experimento de controle alternativo de biótipos resistentes ao clethodim.....	51
4.3 Resultados e discussão.....	52
4.3.1 Metabolismo do herbicida clethodim.....	52
4.3.2 Controle alternativo de biótipos resistentes ao herbicida clethodim....	56
4.4 Conclusões.....	59

5 Conclusões.....	60
6 Referências.....	61
Vita.....	72

1 INTRODUÇÃO

A família Poaceae é considerada uma das mais numerosas entre as angiospermas, sendo representada por 707 gêneros e 11.337 espécies mundialmente (STEVENS, 2012). No Brasil, já foram confirmados aproximadamente 215 gêneros e 1.434 espécies e no Rio Grande do Sul (RS), são relatados 97 gêneros e 452 espécies (FILGUEIRAS et al., 2014).

O azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) espécie da família Poaceae, é uma planta anual, herbácea, de fecundação cruzada, amplamente utilizada como planta forrageira e de fácil adaptação a diversas condições ambientais (KISSMANN, 1999). Tem origem na região do mar mediterrâneo, no sul da Europa e norte da África (KISSMANN, 1996). Em contrapartida, é considerada planta daninha em culturas anuais e perenes na região sul do Brasil (ROMAN et al., 2004). Na cultura do trigo, o azevém compete intensamente pelos recursos do meio, principalmente devido às semelhanças entre as duas espécies (RADOSEVICH; HOLT; GHERSA, 1997) e em culturas de verão, na pré-semeadura, interferindo no estabelecimento dessas culturas.

A palha de azevém possui elevado potencial em suprimir a emergência e o crescimento de plantas daninhas estivais, chegando a produzir até 5200 kg MS ha (BALBINOT JR et al., 2007). Esta palha produzida dificulta a emergência e/ou crescimento de várias espécies daninhas devido ao efeito físico, sombreamento, à redução da amplitude térmica do solo, ao aumento da população de microorganismos que podem afetar os diásporos de plantas daninhas e à liberação de aleloquímicos (TREZZI; VIDAL, 2004; SOUZA et al., 2006).

O potencial de perda de produtividade das culturas devido à presença de plantas daninhas é mais elevado do que qualquer praga (OERKE, 2006). O controle de plantas daninhas em sistemas agrícolas, em todo o mundo, tem sido dominado

pelo uso de herbicidas (BUSI et al., 2012). Por este motivo, a elevada pressão de seleção exercida pelos herbicidas tem contribuído para a evolução global de populações de plantas daninhas resistentes a herbicidas (POWLES, YU, 2010). A resistência é caracterizada como a habilidade adquirida e herdável de uma planta daninha em sobreviver e se reproduzir depois de submetida a uma dose herbicida a qual normalmente tem um controle efetivo sobre a população (VARGAS et al., 2009).

Atualmente, há aproximadamente 438 casos em 238 espécies de plantas daninhas resistentes a um ou mais mecanismos de ação herbicida, em 84 culturas e em 65 países do mundo (HEAP, 2015). Destes biótipos, 33,10% apresentam resistência aos herbicidas inibidores da ALS, 16,43% às triazinas, 10,5% aos herbicidas inibidores da ACCase (Acetyl coenzima A carboxylase), 7,07% às glicinas, 7,07% às auxinas sintéticas, 5,7% às ureias e amidas, 2,73% às dinitroanilidas e os 17,4% restantes aos demais grupos de herbicidas (HEAP, 2015). Biótipos da espécie de *L. multiflorum* foram identificados pela primeira vez como resistentes em 1987, no Estado do Oregon, nos Estados Unidos, ao herbicida diclofop-methyl, cujo mecanismo de ação é a inibição da ACCase (HEAP, 2015). No Brasil, o primeiro caso de resistência foi registrado em 2003, ao herbicida glyphosate, um inibidor da enol piruvil shiquimato fosfato sintase (EPSPs), no entanto foram registrados casos de resistência aos herbicidas inibidores da ALS e resistência múltipla a glyphosate e clethodim, este último um inibidor da ACCase (HEAP, 2015).

ACCase é enzima chave na biossíntese de lipídeos que catalisa a formação de malonyl-CoA oriundo da carboxilação do acetyl-CoA (HARWOOD, 1988; OHLROGGE; BROWSE, 1995; DÉLYE, 2005a). Os ácidos graxos são componentes importantes de membranas, tais como da membrana celular e do cloroplasto, que não somente involucram os fluidos celulares (citossol), mas também servem como barreira para compostos que entram ou saem da célula. Os ácidos graxos são usados como constituintes de ceras e da suberina da cutícula e, também, para armazenar energia (ROMAN, 2007).

Dois tipos de ACCase são conhecidos: A ACCase heterodimérica procariótica composta por múltiplas subunidades, e a ACCase homodimérica eucariótica composta por uma unidade de proteína multifuncional (HARWOOD, 1996; NIKOLSKAYA et al., 1999; POWLES; YU, 2010). As poaceas apresentam

formas homodiméricas similares tanto nos plastídios como no citosol, não apresentando a forma heterodimérica, já as dicotiledôneas apresentam as duas formas da ACCase, sendo que a forma heterodimérica é insensível aos herbicidas inibidores da ACCase (BURTON, 1997; NIKOLAU et al., 2003; DÉLYE, 2005; POWLES; YU, 2010). Sendo assim, a seletividade dos herbicidas inibidores da ACCase em plantas dicotiledôneas está baseada nas diferenças das formas da ACCase heterodimérica presente nas dicotiledôneas (geralmente insensíveis) e homodimérica presente nas gramíneas (geralmente sensíveis).

Os herbicidas inibidores da ACCase são pós-emergentes seletivos a culturas dicotiledôneas, sendo compreendidos por três grupos químicos: ariloxifenoxipropionatos (APPs), ciclohexanodionas (CHDs) e fenilpirazolinás (FPZs). Os APP e CHD foram introduzidos há pouco mais de 30 anos, e FPZ, foi introduzido no mercado mais recentemente em 2006 (DEVINE; SHIMABUKURO, 1994; HOFER et al., 2006). A molécula clethodim pertence ao grupo das ciclohexanodionas, sendo um dos principais herbicidas utilizados no controle de azevém em pré-semeadura de trigo e milho. Os três grupos químicos possuem atividades similares em inibir a ACCase homodimérica em poaceas, e exibem sintomas similar de fitotoxicidade (BURTON, 1997).

A frequência de ocorrência de populações resistentes aos inibidores da ACCase é geralmente atribuída à alta frequência inicial de indivíduos (10^{-6} plantas) que apresentam o biótipo resistente na natureza para este grupo de herbicidas (VIDAL; FLECK, 1997). Biótipos de plantas daninhas resistentes aos inibidores da ACCase podem surgir após seis a dez anos de pressão de seleção (DEVINE, 1997). Em adição, a evolução da resistência é atribuída à falta de rotação de culturas que propicia a rotação de herbicidas com mecanismo de ação distinto e/ou mistura de herbicidas (BECKIE; REBOUD, 2009). O agravante deste caso é que para *L. multiflorum* muitas populações desta espécie, em todo o mundo, estão evoluindo com resistência aos poucos herbicidas pós-emergentes existentes no mercado para o controle da espécie. Ainda que, em muitos casos, a evolução está levando à resistência múltipla, reduzindo o “leque” de herbicidas alternativos para o controle (KAUNDUN et al., 2013). Resistência múltipla caracteriza-se por uma planta possuir resistência a dois ou mais herbicidas de diferentes mecanismo de ação, devido a dois ou mais mecanismos de resistência, sendo que a resistência cruzada ocorre quando um biótipo é resistente a dois ou mais herbicidas, devido a apenas um

mecanismo e a diferentes grupos químicos do mesmo mecanismo de ação (AGOSTINETTO; VARGAS, 2009).

A comprovação científica da resistência de populações de plantas daninhas aos herbicidas inicia-se com diagnósticos campo, seguidos de estudos de casa-de-vegetação e/ou laboratório. Experimentos de curvas de dose-resposta permitem quantificar o nível da resistência, sendo representadas através de modelos não lineares, como log-logísticos, utilizando parâmetros que são biologicamente significativos quando aplicados à resposta de plantas a herbicidas (SEEFELDT; JENSEN; FUERST, 1995).

Os modelos log-logísticos permitem determinar o valor do fator de resistência (FR), a partir da determinação da dose necessária para o controle de 50% da população (C_{50}) e da dose necessária para reduzir em 50% a massa seca da parte aérea da população (MS_{50}) com suspeita de resistência (GAZZIERO et al., 2009). O FR refere-se ao número de vezes que a dose necessária para o controle da população resistente é superior do que a dose que causa o mesmo efeito na população suscetível (HALL, 1998).

A resistência de plantas daninhas é processo evolutivo, e sua dinâmica e impacto são dependentes de inúmeros fatores. Fatores relacionados à genética (frequência de genes resistentes, número de genes envolvidos com a resistência, se o gene de resistência é dominante e se ocorre custo de adaptação dos genes de resistência), à biologia da espécie (se possui polinização cruzada ou autopolinização, capacidade de produção de sementes, longevidade do banco de sementes no solo e capacidade de dispersão do pólen), ao herbicida (estrutura química, local de ação e tempo de atividade residual) e práticas operacionais (dose do herbicida, habilidade do operador e manejo adotado como, por exemplo, práticas alternativas ao controle químico de plantas daninhas e rotação de culturas) (JASIENIUK; BRULE-BABEL; MORRISON, 1996; POWLES; YU, 2010).

O tipo de herança da resistência é aspecto fundamental no estabelecimento da resistência em uma população de plantas. Há dois tipos básicos de herança: a citoplasmática (materna) e a nuclear. Herança citoplasmática é aquela em que os caracteres hereditários são transmitidos via citoplasma, assim, somente a planta mãe poderá transmitir a característica para seus filhos, sendo exemplo a resistência às triazinas. Por outro lado, se a herança for nuclear, a transmissão será via cromossomos, e dessa forma, tanto o pai como a mãe podem transmitir a

resistência, sendo exemplo a resistência aos inibidores da ALS. Na resistência com herança materna não ocorre migração de alelos entre populações adjacentes, assim, a evolução deste tipo de resistência é mais lenta do que a do tipo nuclear, em que ocorre migração de alelos via pólen. (JASIENIUK; BRULE-BABEL; MORRISON, 1996; POWLES; YU, 2010).

O mecanismo que confere resistência de plantas daninhas a herbicidas pode estar relacionado com o sítio de ação do herbicida alterado e/ou não relacionado ao sítio de ação. Para a resistência aos herbicidas inibidores da enzima ACCase, a alteração no local de ação do herbicida é o mecanismo de maior ocorrência. Isso ocorre devido à mutação pontual no gene ACCase, resultando em uma alteração nos aminoácidos da enzima alvo, o que impede ou reduz a ligação do herbicida no seu local de ação (TRANIEL; WRIGHT, 2002; DÉLYE, 2005; POWLES; YU, 2010). No entanto, em muitos estudos o foco é somente elucidar o mecanismo relacionado ao local alvo e não examinar a resistência não relacionada ao local de ação do herbicida (AHAMAD-HAMDANI et al., 2013; BURGOS et al., 2013).

A primeira alteração no gene ACCase foi encontrada em biótipos de *L. rigidum*, com alteração do aminoácido Leucina (Leu) por isoleucina (Ile) na posição 1781, sendo esta a mutação mais ocorrente em resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ACCase (POWLES, YU, 2010). Atualmente, há oito mutações encontradas conferindo resistência a estes herbicidas, sendo elas: Leucina - 1781 - Isoleucina, Triptofano – 1999 - Cisteína, Triptofano – 2027 - Cisteína, Isoleucina – 2041 - Asparagina, Isoleucina – 2041 - Valina, Asparagina – 2078 - Glicina, Cisteína – 2088 - Arginina, Glicina – 2096 - Alanina (DÉLYE, 2005; WHITE; MOSS; KARP, 2005; CHRISTOFFERS; PEDERSON, 2007; YU et al., 2007; POWLES, YU, 2010; PETIT et al., 2010).

O nível e o espectro de resistência estão intimamente ligados com a mutação ocorrida, o herbicida e a dose utilizada para a avaliação (DÉLYE; MATÉJICEK, MICHEL, 2008; KAUNDUN, 2010, YU et al., 2007). Para obter informações precisas é necessário caracterizar o biótipo com resistência através de sequenciamento do gene em estudo e a quais herbicidas a resistência está ocorrendo (DÉLYE; MATÉJICEK, MICHEL, 2008; DÉLYE et al., 2005; YU et al., 2007). Uma mutação pode causar resistência a um determinado herbicida e não a outros, a exemplo da mutação Asparagina – 2078 – Glicina que confere alta resistência a vários (CHD e APP) herbicidas inibidores da ACCase, mas não

apresenta resistência ao herbicida (CHD) clethodim (DÉLYE; MATÉJICEK, MICHEL, 2008; YU et al., 2007). Para tanto, é errado assumir que todas as mutações causam níveis elevados de resistência.

Em adição, o mecanismo de resistência não relacionado com o local de ação pode ocorrer por redução da absorção, redução ou aumento da translocação, aumento da taxa de metabolização e da compartimentalização do herbicida (POWLES, YU, 2010). Para a resistência aos herbicidas inibidores da ACCase, a metabolização pelo Citocromo P450 monooxigenase (cyt P450) é o segundo mecanismo de maior ocorrência (DÉLYE, 2005; POWLES, YU, 2010). Outros mecanismos não foram identificados até o presente momento para resistência a estes herbicidas. A metabolização dos herbicidas ocorre pelo aumento da atividade do cyt P450, reduzindo a quantidade do herbicida no sítio de ação, ficando abaixo do nível letal, e/ou protegendo a planta da ação do herbicida (YU; POWLES, 2014). Esse mecanismo de resistência merece especial atenção, uma vez que pode conferir resistência múltipla a dois ou mais mecanismos de ação herbicidas, reduzindo a possibilidade de controle com herbicidas de mecanismo de ação distinto (POWLES, YU, 2010).

O incremento da metabolização pode ser estudado utilizando-se inibidores específicos do cyt P450, que podem reduzir parcial ou totalmente a expressão de enzimas detoxificantes e, por consequência, reduzir o fator de resistência dos biótipos avaliados (LETOUZE; GASQUEZ, 2003; MATZENBACHER, 2012).

O manejo de áreas infestadas com plantas daninhas resistentes é realizado por medidas que visem à redução da pressão de seleção e práticas que têm por finalidade impedir a dominância de biótipos resistentes (VARGAS et al., 2009). A associação de herbicidas e utilização de herbicidas com mecanismos de ação diferentes são preconizadas para o manejo de plantas daninhas resistentes (JOHNSON; GIBSON, 2006; SHANER, 2000; VARGAS et al., 2009). Para o controle de *Lolium multiflorum* existem 74 marcas comerciais registradas de 17 ingredientes ativos herbicidas diferentes, incluindo clethodim (AGROFIT, 2015). Dessa forma, outros herbicidas podem ser utilizados para o controle das plantas de azevém em pré-semeadura de trigo, milho e soja.

Sendo assim, o conhecimento dos locais de ocorrência de casos de resistência de *Lolium multiflorum* ao clethodim no RS e o mecanismo de resistência dos biótipos podem auxiliar na determinação da gravidade do problema e na proposição

de alternativas para o controle. Para isso, devem ser realizados estudos específicos que visem confirmar a ocorrência de biótipos resistentes ao clethodim, determinar o nível de resistência destes biótipos, e identificar os fatores envolvidos no desenvolvimento deste fenômeno. Assim, busca-se evitar que ocorra a disseminação dos biótipos resistentes, de forma que o uso do clethodim nessas áreas não prejudique o manejo de plantas daninhas e que aumente o tempo de utilização do herbicida.

Hipotetiza-se que existem biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes ao clethodim no RS e que estes são sensíveis a herbicidas de outros mecanismos de ação. Os objetivos foram identificar a ocorrência da resistência de azevém ao clethodim no RS, determinar a C_{50} e MS_{50} , investigar o possível mecanismo de resistência, avaliar os fatores envolvidos nas falhas de controle observadas a campo, e propor alternativas para o controle químico destes biótipos.

2 CAPÍTULO I - Distribuição geográfica de azevém resistente ao herbicida clethodim Rio Grande do Sul.

2.1 Introdução

O azevém (*Lolium multiflorum*) é uma poaceae de inverno, de ciclo anual ou bianual de fecundação cruzada, rústica, de folhas finas, adaptadas às baixas temperaturas da região sul do Brasil. É utilizada como cobertura de inverno no sistema de semeadura direta, como uma cultura agrícola para o uso forrageiro, ou ainda para proporcionar cobertura morta em pomares e para o sistema de semeadura direta. Apesar de ser utilizado para fins culturais, o azevém pode se constituir uma planta daninha em diversas culturas (KISSMANN, 2007). O azevém destaca-se dentre as plantas daninhas ocorrentes nas lavouras de trigo e milho no Brasil e em outros países (ROMAN et al., 2004), competindo intensamente por recursos do meio (RADOSEVICH; HOLT; GHERSA, 1997) e interferindo no estabelecimento dessas culturas.

No sistema de semeadura direta ou em pomares, o controle do azevém é normalmente realizado com a aplicação de herbicidas não-seletivos, sendo o glyphosate o mais utilizado. O uso intensivo do glyphosate para esse fim deve-se a sua alta eficiência, em diferentes estágios vegetativos das espécies, combinado ao seu custo baixo comparado aos demais herbicidas (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2003). O uso intensivo de um herbicida impõe alta pressão de seleção sobre a população de plantas resultando na seleção de biótipos resistentes preexistentes na população (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2003; VARGAS et al., 2009; POWLES; YU, 2010). O uso repetido de glyphosate selecionou biótipos de azevém resistentes a este herbicida (ROMAN et al., 2004).

A resistência é definida como a capacidade inerente e herdável de um biótipo, dentro de uma determinada população, de sobreviver e se reproduzir após exposição à dose de registro do herbicida para o controle da espécie, obedecidos os critérios de aplicação (GAZZIERO et al., 2009). A resistência de plantas daninhas a herbicidas é um processo evolutivo, e a dinâmica e o impacto são dependentes de diversos fatores. Os fatores capazes de determinar como a resistência é impulsionada são a diversidade genética da população, a existência de genes de resistência a um herbicida específico e fatores operacionais (POWLES; YU, 2010).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é um problema de caráter mundial. No Brasil, nos últimos anos, ganhou importância devido ao surgimento de inúmeros casos de espécies resistentes a diferentes mecanismos de ação herbicida. No Rio Grande do Sul (RS) destacam-se as espécies com resistência ao glyphosate *Conyza bonariensis*, *Conyza canadensis* e *Lolium multiflorum* (HEAP, 2015). O azevém possui resistência múltipla ao glyphosate e aos inibidores da ACCase (HEAP, 2015). Em nível mundial, o azevém apresenta resistência a seis mecanismos de ação herbicida e no Brasil, apresenta resistência aos Inibidores da 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintase (EPSPs), acetolactato sintase (ALS) e acetil Coenzima A carboxilase (ACCase) (HEAP, 2015).

Como alternativa de controle de populações de azevém resistente a glyphosate e inibidores da ALS, principalmente em pré-semeadura de milho e trigo, são utilizados os herbicidas inibidores da enzima ACCase (ROMAN et al., 2004). Os herbicidas inibidores da ACCase são aplicados em pós-emergência das plantas daninhas, controlam espécies poaceas e são seletivos para as culturas magnoliopsidas (VIDAL; MEROTTO JR, 2001). Entretanto, alguns herbicidas inibidores da ACCase como diclofop-methyl, clodinafop-propargyl e pinoxadem, apresentam seletividade também para as culturas liliopsidas como o trigo (CHHOKAR et al., 2008; KUK et al., 2008), e profoxidim e cyalofop, para a cultura do arroz (USUI, 2001).

O uso repetido de herbicidas inibidores da ACCase resultou na seleção de biótipos resistentes a esse mecanismo de ação no Brasil. As características bioecológicas do azevém como: variabilidade genética, alogamia, e elevada produção de sementes, associada a estratégias de manejo inadequadas torna a seleção de biótipos resistentes previsível e preocupante (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2003).

Diante de um cenário de aumento da ocorrência de casos de resistência de plantas daninhas a herbicidas, medidas que preconizam o manejo da resistência são fundamentais, sendo que o monitoramento constante da lavoura para identificação dos focos de resistência e eliminação das plantas suspeitas são importantes (HUGH, 2006; LAZAROTO; FLECK; VIDAL, 2008). Depois de identificada a resistência a campo, a adoção de práticas como rotação de culturas, misturas de herbicidas, aplicações localizadas e a associação de métodos de controle reduzem o impacto do problema (HUGH, 2006). O controle proativo de resistência com a utilização de herbicidas pré-emergentes pode levar a um custo 26% maior, no entanto, este aumento se justifica frente ao custo de controle reativo, quando as plantas são resistentes aos glyphosate, onde se faz necessário a mistura de herbicidas, tornando o custo 358% maior para viabilizar o cultivo livre da interferência de plantas daninhas resistentes (MUELLER et al., 2005).

O conhecimento das espécies resistentes e da extensão da área infestada fornece conhecimento da gravidade do problema e permite determinar o manejo da resistência e tornar o processo de seleção de biótipos resistentes mais lenta, auxiliando na tomada de decisões reativas no controle destas populações (OWEN; MARTINEZ; POWLES, 2014). Além disso, o mapeamento da resistência permite estabelecer os custos da resistência, definição de políticas públicas e assistência técnica direcionada.

No Brasil não existe levantamento de área infestada com azevém resistente aos herbicidas inibidores da ACCase. A realização de levantamento de populações de azevém com resistência aos herbicidas inibidores da ACCase é uma ferramenta que permitirá identificar os locais de ocorrência desta resistência e determinar estratégias de manejo específicas para cada região de acordo com suas características. De posse destas informações, a tomada de decisão e a adoção de estratégias de prevenção e controle da resistência se tornam aplicável, recuperando a viabilidade de cultivo nessas áreas.

Hipotetiza-se neste trabalho que existem biótipos de azevém resistentes ao herbicida clethodim no Estado do Rio Grande do Sul e o objetivo foi avaliar a distribuição geográfica dos biótipos de azevém resistentes a este no Estado do Rio Grande do Sul.

2.2 Material e Métodos

Para a realização do trabalho, foram coletadas sementes de plantas de azevém que sobreviveram a aplicação de herbicidas inibidores da ACCase em lavouras da região norte do Estado do Rio Grande do Sul. As sementes que compunham as amostras eram provenientes de uma planta e todos os pontos de coleta foram identificados por coordenadas geodésicas, através da utilização do *Global Positioning System* (GPS).

A coleta das sementes ocorreu entre os meses de setembro e novembro de 2013, em propriedades localizadas nos municípios: Água Santa (3), Alto Alegre (2), Augusto Pestana (2), Barra Funda (2), Barracão (4), Boa Vista do Cadeado, Boa Vista do Incra (3), Bom Progresso, Campo Novo, Capão Bonito do Sul, Carazinho (3), Caseiros (2), Ciríaco (2), Colorado, Condor, Coqueiros do Sul (5), Coronel Bicaco, Coxilha (2), Crissiumal (4), Cruz Alta (3), David Canabarro (2), Ernestina, Erval Seco (3), Espumoso (2), Frederico Westphalen, Gentil, Horizontina (2), Humaitá (2), Ibiaçá (2), Ibiraiaras (2), Independência (2), Jóia (3), Julio de Castilhos (3), Lagoa Vermelha (3), Machadinho (4), Mato Castelhano, Maximiliano de Almeida, Muitos Capões (2), Nova Candelária, Novo Barreiro, Paim Filho (2), Palmeira das Missões (2), Panambi (4), Passo Fundo, Pejuçara (3), Saldanha Marinho (2), Salto do Jacuí, Sananduva (3), Santa Rosa, Santa Bárbara do Sul (3), Santa Cecília do Sul, Santo Augusto, Santo Cristo (2), São João da Urtiga, São José do Inhacorá, São José do Ouro (2), São Miguel das Missões, Seberi (2), Selbach, Tapejara (2), Tapera, Taquaruçu do Sul (2), Tenente Portela (2), Tio Hugo (2), Três de Maio (4), Três Passos (2), Tucunduva (3), Tupanciretã (2), Tuparendi, Vacaria (2), Victor Graeff, Vila Lângaro (4) e Vista Alegre (Fig. 1), totalizando 152 amostras de sementes coletadas em 74 municípios.

Após as coletas as sementes foram limpas, identificadas e armazenadas até o momento de serem utilizadas em experimentos. O experimento, realizado para confirmação da resistência, foi conduzido entre outubro e dezembro de 2013, em casa de vegetação da Embrapa Trigo, no município de Passo Fundo-RS, em delineamento completamente casualizado e os tratamentos arranjados em esquema fatorial, onde o fator A constou dos biótipos de diferentes locais de coleta e fator B constou de duas doses do herbicida clethodim, 60 e 120g i.a. ha⁻¹, representando a metade da máxima dose de registro e a máxima dose de registro, respectivamente,

para o controle de azevém em pré-semeadura de milho e trigo (AGROFIT, 2014). Adicionou-se ainda um tratamento testemunha sem aplicação herbicida. As unidades experimentais constituíram-se de vasos plásticos, com capacidade volumétrica de 500mL, contendo substrato comercial, sendo compostas por cinco plantas vaso⁻¹.

Quando as plantas atingiram o estágio vegetativo de quatro folhas a um afilho, foi aplicado o herbicida, utilizando-se pulverizador costal, pressurizado a CO₂, calibrado para proporcionar volume de aplicação de 120L ha⁻¹ de calda herbicida, equipado com pontas de pulverização do tipo leque 110.015. Utilizou-se adicionalmente na calda o adjuvante Lanza® na dose de 0,5% v/v.

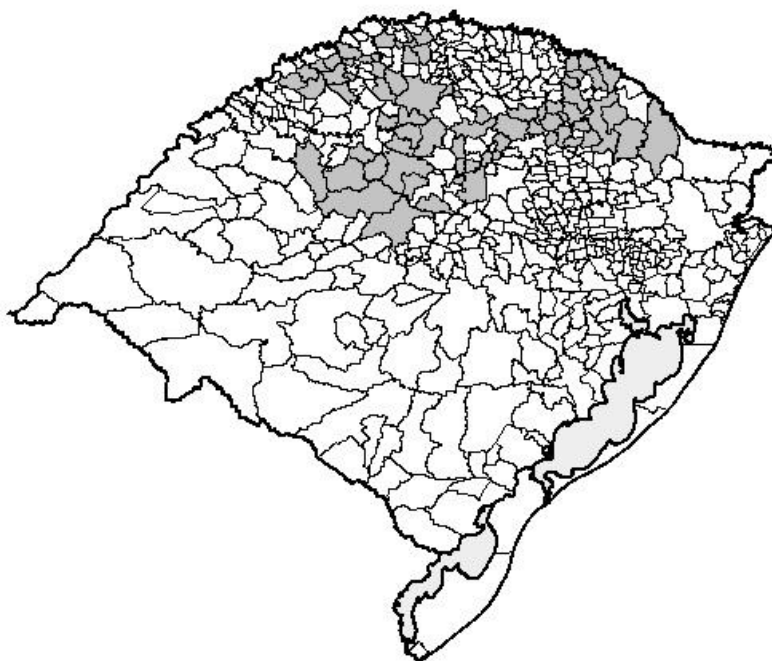


Figura 1 – Localização geográfica dos municípios onde foi realizada coleta de sementes de plantas de azevém com suspeita de resistência ao herbicida clethodim no Estado do Rio Grande do Sul. Adaptado de Geolive – Mapas temáticos RS, 2011.

A variável avaliada foi controle visual aos 28 dias após a aplicação do tratamento (DAT), sendo os biótipos identificados de acordo com a resposta aos herbicidas como suscetíveis ou resistentes, adotando-se escala binária onde zero (0) representou a morte das plantas e um (1) sobrevivência. Os dados obtidos foram analisados por estatística descritiva, procurando-se estabelecer relações entre a

distribuição de casos de azevém com suspeita de resistência aos inibidores da enzima ACCase.

2.3 Resultados e Discussão

A análise dos dados revelou que todos os 152 biótipos coletados foram controlados com a dose de 120g i.a. ha⁻¹ de clethodim, evidenciando a não ocorrência de resistência a este herbicida (tab. 1). No entanto, 14 biótipos sobreviveram à aplicação de metade da máxima dose de registro (60 g i.a. ha⁻¹) para o controle de azevém, mostrando diferença de sensibilidade (tab. 1). Resultados similares foram observados em estudos de sensibilidade de biótipos de *Euphorbia heterophylla* e *Eleusine* spp. com suspeita de resistência ao herbicida glyphosate, oriundos de lavouras de soja RR do RS (NOHATTO, 2010; ULGUIM, 2012; VARGAS et al., 2013).

Tabela 1 – Localização e resposta (0=morte, 1= sobrevivência) de biótipos de *Lolium multiflorum* em função da aplicação de 60 e 120g i.a. ha⁻¹ de clethodim avaliado visualmente aos 28 dias após o tratamento (DAT). Embrapa-Trigo, Passo Fundo/RS, 2013.

Biótipo	Município	Coordenadas		Resposta ao Clethodim	
		Latitude	Longitude	60 g	120 g
AGS 01	Água Santa	28°17' 38"	51°58' 34"	0	0
AGS 02	Água Santa	28°15' 11"	51°58' 50"	1	0
AGS 03	Água Santa	28° 14' 38"	51° 58' 57"	1	0
ALA 01	Alto Alegre	28° 46' 34"	52° 56' 15"	0	0
ALA 02	Alto Alegre	28° 46' 45"	52° 59' 06"	0	0
APE 01	Augusto Pestana	28° 31' 43"	54° 01' 11"	0	0
APE 02	Augusto Pestana	28° 33' 04"	54° 03' 51"	0	0
BAF 01	Barra Funda	28° 55' 55"	53° 03' 27"	0	0
BAF 02	Barra Funda	27° 55' 59"	53° 00' 30"	0	0
BAR 01	Barracão	27° 48' 60"	51° 26' 42"	0	0
BAR 02	Barracão	27° 39' 51"	51° 32' 55"	0	0
BAR 03	Barracão	27° 35' 55"	51° 38' 25"	0	0
BAR 04	Barracão	27° 41' 04"	51° 30' 53"	0	0
BVC 01	Boa Vista do Cadeado	28° 32' 45"	53° 47' 40"	0	0
BVI 01	Boa Vista do Incra	28° 56' 40"	53° 24' 59"	0	0
BVI 02	Boa Vista do Incra	28° 56' 45"	53° 24' 49"	0	0
BVI 03	Boa Vista do Incra	28° 52' 38"	53° 27' 51"	0	0
BOP	Bom Progresso	27° 34' 25"	53° 51' 58"	0	0
CAN	Campo Novo	27° 40' 48"	53° 50' 31"	0	0
CBS	Capão Bonito do Sul	28° 18' 60"	51° 21' 09"	0	0
CAR 01	Carazinho	28° 20' 09"	52° 55' 34"	0	0
CAR 02	Carazinho	28° 20' 36"	52° 51' 19"	0	0
CAR 03	Carazinho	28° 20' 34"	52° 54' 39"	0	0

CAS 01	Caseiros	28° 13' 30"	51° 38' 27"	0	0
CAS 02	Caseiros	28° 16' 44"	51° 40' 44"	0	0
CIR 01	Ciríaco	28° 18' 26"	51° 57' 11"	0	0
CIR 02	Ciríaco	28° 19' 06"	51° 54' 34"	0	0
COL 01	Colorado	28° 22' 18"	52° 17' 21"	0	0
CON 01	Condor	28° 09' 49"	53° 28' 05"	0	0
COQ 1	Coqueiros do Sul	28° 11' 20"	52° 44' 33"	0	0
COQ 2	Coqueiros do Sul	28° 11' 09"	52° 44' 19"	1	0
COQ 3	Coqueiros do Sul	28° 11' 23"	52° 44' 38"	0	0
COQ 4	Coqueiros do Sul	28° 11' 37"	52° 44' 23"	0	0
COQ 5	Coqueiros do Sul	28° 11' 33"	52° 44' 17"	1	0
COB	Coronel Bicaco	27° 46' 13"	53° 34' 37"	0	0
COX 01	Coxilha	28° 07' 01"	52° 15' 51"	0	0
COX 02	Coxilha	28° 10' 06"	52° 18' 51"	0	0
CRI 01	Crissiumal	27° 30' 55"	54° 08' 13"	0	0
CRI 02	Crissiumal	27° 32' 37"	54° 01' 18"	0	0
CRI 03	Crissiumal	27° 33' 06"	54° 15' 34"	0	0
CRI 04	Crissiumal	27° 30' 47"	54° 12' 12"	0	0
CRA 01	Cruz Alta	28° 51' 52"	53° 36' 44"	0	0
CRA 02	Cruz Alta	28° 47' 26"	53° 36' 16"	0	0
CRA 03	Cruz Alta	28° 42' 47"	53° 35' 07"	0	0
DAC 01	David Canabarro	28° 23' 53"	51° 48' 02"	0	0
DAC 02	David Canabarro	28° 22' 57"	51° 51' 11"	1	0
ERN 01	Ernestina	27° 33' 19"	52° 30' 35"	0	0
ERS 01	Erval Seco	27° 31' 16"	53° 28' 31"	1	0
ERS 02	Erval Seco	27° 31' 24"	53° 28' 17"	0	0
ERS 03	Erval Seco	27° 31' 57"	53° 28' 39"	0	0
ESP 01	Espumoso	28° 49' 39"	52° 54' 08"	0	0
ESP 02	Espumoso	28° 52' 18"	52° 43' 19"	1	0
FRW 01	Frederico Westphalen	27° 24' 12"	53° 24' 41"	0	0
GEN 01	Gentil	28° 18' 57"	51° 02' 06"	0	0
HOR 01	Horizontina	27° 36' 23"	54° 21' 30"	0	0
HOR 02	Horizontina	27° 35' 09"	54° 20' 57"	0	0
HUM 01	Humaitá	27° 33' 12"	53° 55' 39"	0	0
HUM 02	Humaitá	27° 34' 19"	53° 55' 54"	0	0
IBI 01	Ibiaçá	28° 03' 37"	51° 49' 44"	0	0
IBI 02	Ibiaçá	28° 03' 47"	51° 50' 43"	0	0
IBR 01	Ibiraíaras	28° 20' 47"	51° 38' 49"	1	0
IBR 02	Ibiraíaras	28° 20' 34"	51° 38' 45"	0	0
IND 01	Independência	27° 52' 54"	54° 11' 49"	0	0
IND 02	Independência	27° 52' 28"	54° 11' 52"	0	0
JOI 01	Jóia	28° 44' 18"	54° 10' 07"	0	0
JOI 02	Jóia	28° 43' 33"	54° 09' 56"	0	0
JOI 03	Jóia	28° 44' 14"	54° 10' 06"	0	0
JCA 01	Julio de Castilhos	29° 16' 01"	53° 39' 19"	0	0
JCA 02	Julio de Castilhos	29° 06' 56"	53° 39' 57"	0	0
JCA 03	Julio de Castilhos	29° 11' 02"	53° 40' 40"	0	0
LAV 01	Lagoa Vermelha	28° 04' 23"	51° 27' 58"	0	0
LAV 02	Lagoa Vermelha	28° 17' 52"	51° 27' 01"	0	0
LAV 03	Lagoa Vermelha	28° 17' 31"	51° 23' 48"	0	0
MAC 01	Machadinho	27° 35' 55"	51° 38' 25"	0	0
MAC 02	Machadinho	27° 39' 37"	51° 33' 53"	0	0
MAC 03	Machadinho	27° 34' 18"	51° 40' 38"	0	0
MAC 04	Machadinho	27° 36' 46"	51° 42' 18"	0	0
MCA 01	Mato Castelhano	28° 18' 53"	51° 08' 35"	0	0
MAX 01	Maximiliano de Almeida	27° 36' 58"	51° 47' 35"	0	0
MUC 01	Muitos Capões	28° 19' 32"	51° 15' 04"	0	0
MUC 02	Muitos Capões	28° 19' 34"	51° 14' 10"	0	0
NCA 01	Nova Candelária	27° 38' 06"	54° 08' 17"	0	0
NBA 01	Novo Barreiro	27° 55' 07"	53° 05' 11"	0	0

PAF 01	Paim Filho	27° 43' 30"	51° 44' 27"	0	0
PAF 02	Paim Filho	27° 41' 48"	51° 47' 53"	0	0
PAM 01	Palmeira das Missões	27° 53' 53"	53° 15' 45"	0	0
PAM 02	Palmeira das Missões	27° 45' 51"	53° 30' 06"	0	0
PAN 01	Panambi	28° 20' 31"	53° 33' 60"	1	0
PAN 02	Panambi	28° 15' 36"	53° 28' 18"	0	0
PAN 03	Panambi	28° 21' 50"	53° 27' 39"	0	0
PAN 04	Panambi	28° 21' 03"	53° 27' 39"	0	0
PAS 01	Passo Fundo	28° 14' 13"	52° 34' 15"	0	0
PEJ 01	Pejuçara	28° 19' 30"	53° 39' 52"	0	0
PEJ 02	Pejuçara	28° 19' 27"	53° 39' 48"	0	0
PEJ 03	Pejuçara	28° 25' 53"	53° 33' 24"	1	0
SAM 01	Saldanha Marinho	28° 25' 59"	53° 08' 11"	0	0
SAM 02	Saldanha Marinho	28° 23' 40"	53° 03' 15"	0	0
SAJ 01	Salto do Jacuí	29° 03' 43"	53° 09' 32"	0	0
SAN 01	Sananduva	27° 58' 20"	51° 47' 35"	0	0
SAN 02	Sananduva	27° 53' 37"	51° 49' 15"	0	0
SAN 03	Sananduva	27° 58' 20"	51° 47' 34"	0	0
SAR 01	Santa Rosa	27° 50' 59"	54° 32' 59"	0	0
SAB 01	Santa Bárbara do Sul	28° 24' 27"	53° 13' 53"	0	0
SAB 02	Santa Bárbara do Sul	28° 22' 48"	53° 24' 13"	0	0
SAB 03	Santa Bárbara do Sul	28° 23' 25"	53° 24' 13"	0	0
SAC 01	Santa Cecília do Sul	28° 15' 30"	51° 59' 47"	0	0
SAG 01	Santo Augusto	27° 43' 08"	53° 50' 58"	0	0
SCR 01	Santo Cristo	27° 50' 30"	54° 34' 44"	0	0
SCR 02	Santo Cristo	27° 50' 30"	54° 35' 23"	1	0
SJU 01	São João da Urtiga	27° 51' 15"	51° 49' 26"	0	0
SJI 01	São José do Inhacorá	27° 41' 37"	54° 09' 12"	0	0
SJO 01	São José do Ouro	27° 46' 55"	51° 38' 29"	0	0
SJO 02	São José do Ouro	27° 43' 12"	51° 32' 15"	0	0
SMM 01	S. Miguel das Missões	28° 59' 31"	54° 22' 35"	0	0
SEB 01	Seberi	27° 25' 44"	53° 25' 17"	0	0
SEB 02	Seberi	27° 25' 36"	53° 25' 24"	0	0
SEL 01	Selbach	28° 38' 02"	52° 56' 07"	0	0
TAP 01	Tapejara	28° 03' 44"	51° 54' 58"	0	0
TAP 02	Tapejara	28° 04' 11"	51° 58' 21"	0	0
TPE 01	Tapera	28° 38' 44"	52° 51' 14"	0	0
TAQ 01	Taquaruçu do Sul	27° 23' 56"	53° 28' 45"	1	0
TAQ 02	Taquaruçu do Sul	27° 24' 01"	53° 27' 54"	0	0
TPO 01	Tenente Portela	27° 23' 32"	53° 49' 59"	1	0
TPO 02	Tenente Portela	27° 23' 34"	53° 47' 54"	0	0
TIH 01	Tio Hugo	28° 35' 28"	52° 38' 02"	0	0
TIH 02	Tio Hugo	28° 33' 28"	52° 34' 18"	0	0
TRM 01	Três de Maio	27° 44' 40"	54° 12' 53"	0	0
TRM 02	Três de Maio	27° 48' 52"	54° 15' 16"	0	0
TRM 03	Três de Maio	27° 49' 00"	54° 15' 05"	0	0
TRM 04	Três de Maio	27° 47' 10"	54° 14' 59"	0	0
TRP 01	Três Passos	27° 25' 33"	53° 55' 22"	0	0
TRP 02	Três Passos	27° 29' 47"	53° 53' 36"	0	0
TUC 01	Tucunduva	27° 36' 39"	54° 28' 49"	0	0
TUC 02	Tucunduva	27° 39' 26"	54° 27' 10"	0	0
TUC 03	Tucunduva	27° 36' 39"	54° 28' 58"	0	0
TUP 01	Tupanciretã	29° 02' 59"	53° 40' 55"	0	0
TUP 02	Tupanciretã	29° 02' 43"	53° 40' 18"	0	0
TPA 01	Tuparendi	27° 44' 22"	54° 24' 23"	0	0
VAC 01	Vacaria	28° 25' 25"	51° 01' 19"	0	0
VAC 02	Vacaria	28° 30' 39"	50° 51' 49"	0	0
VGR 01	Victor Graeff	28° 37' 52"	52° 45' 32"	0	0
VLA 01	Vila Lângaro	28° 08' 28"	52° 12' 28"	1	0
VLA 02	Vila Lângaro	28° 08' 03"	52° 09' 09"	0	0

VLA 03	Vila Lângaro	28° 08' 34"	52° 09' 08"	0	0
VLA 04	Vila Lângaro	28° 08' 19"	52° 09' 18"	0	0
VIA 01	Vista Alegre	27° 22' 35"	53° 29' 34"	0	0

A utilização da máxima dose de registro do herbicida deve-se ao fato de que uma planta somente pode ser classificada como resistente a herbicida, se ela sobreviver e se reproduzir após a exposição da dose de registro do produto para o controle da espécie, obedecido os critérios de aplicação (estádio vegetativo indicado, condições de clima, entre outros) (GAZZIERO et al., 2009). Já, a utilização da metade da máxima dose de registro, se justifica pelo fato de que o processo de seleção de resistência pode ser influenciado pela utilização de sub-doses dos herbicidas e por haver suscetibilidade diferencial de biótipos a aplicação do herbicida (NEVE; POWLES, 2005; YU et al., 2013; YU; POWLES, 2014).

Os 14 biótipos que sobreviveram à aplicação da metade da dose de registro apresentaram diferença de suscetibilidade ao herbicida clethodim, estando concentrados em 12 municípios das regiões Noroeste, Nordeste e Centro-oeste, sendo eles: localizados nos municípios de Água Santa (2), Coqueiros do Sul (2), David Canabarro, Erval Seco, Espumoso, Ibiraiaras, Panambi, Pejuçara, Santo Cristo, Taquaruçu do Sul, Tenente Portela e Vila Lângaro (Fig. 2).

As falhas de controle de azevém observadas em áreas com aplicação de clethodim, em lavouras de trigo e milho do RS, e o resultado deste estudo evidenciam o controle dos biótipos com suspeita de resistência, indicando que a causa destas falhas de controle pode ser devido a outros fatores. Práticas de manejo como uso de sub-doses de clethodim, utilização intensiva do herbicida e ausência de rotação de culturas foram sugeridas como causas das falhas de controle de *Euphorbia heterophylla* ao herbicida glyphosate no RS (NOHATTO, 2010; VARGAS et al., 2013), podendo também ser os motivos para tal observação em azevém com o herbicida clethodim.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é um processo evolucionário e pré-existente na natureza, influenciado pela biologia da espécie, fatores genéticos e relacionados com o herbicida em questão (MAXWELL; MORTIMER, 1994), dentre eles, a pressão exercida pela taxa de aplicação de herbicidas é um importante fator de seleção de biótipos resistentes (POWLES; YU, 2010). No entanto, recentes estudos têm demonstrado que recorrentes seleções com doses reduzidas (menores do que a dose de registro) de herbicidas inibidores da ACCase resultam em rápida

evolução da resistência a herbicidas em apenas três gerações (NEVE; POWLES, 2005; MANALIL et al., 2011). A diferença de suscetibilidade encontrada nos 14 biótipos que sobreviveram à aplicação da metade da dose do herbicida pode ser resultado da utilização de baixas doses, como 72 a 84g i.a. ha⁻¹ de clethodim, por parte dos produtores.



Figura 2 – Localização geográfica dos municípios onde ocorreram biótipos com menor suscetibilidade ao herbicida clethodim no Estado do Rio Grande do Sul. Adaptado de Geolive – Mapas temáticos RS, 2011.

Em geral, na maioria dos casos de resistência aos herbicidas inibidores da ACCase o mecanismo de resistência está relacionado com uma alteração no local de ação do herbicida devido a uma mutação no gene que codifica a expressão da enzima ACCase. No entanto, a metabolização que permite que a planta detoxifique o herbicida a compostos não tóxicos também é um importante mecanismo que confere a resistência e em muitos casos este mecanismo confere resistência cruzada ou múltipla a diferentes herbicidas de grupo químico e mecanismo de ação distintos (DELYE, 2005; POWLES; YU, 2010). O modo de ação primário de herbicidas inibidores da ACCase consiste na inibição da síntese de lipídeos, por inibir a enzima (ROMAN, 2007). A ACCase presente em poaceas é sensível à inibição por estes herbicidas (RODRIGUES, 1994). Entretanto, algumas condições

são recomendadas para que os herbicidas possam alcançar maior eficiência, como, por exemplo, a aplicação nos momentos em que as plantas apresentam elevada atividade metabólica (PEREIRA et al., 2011).

Assim, de acordo com os resultados obtidos rejeita-se a hipótese da ocorrência da resistência de *Lolium multiflorum* ao clethodim, entretanto, não se pode descartar a ocorrência da diferença de suscetibilidade. Em nível de campo, há inúmeros relatos de falhas de controle de azevém com a aplicação de clethodim, o que sugere a ocorrência de resistência, fato este não confirmado neste trabalho. A sobrevivência das plantas em nível de campo ocorre sem uma explicação lógica, uma vez que isso ocorre com aplicações tratorizadas e em aplicações com pulverizador de precisão com até o dobro da dose de registro. A mudança de ambiente e época de crescimento diferente daquela que ocorre o controle químico a campo, ocasionado pela coleta no campo e semeado em casa de vegetação, pode resultar em menor interferência de fatores ambientais, talvez interferindo no metabolismo das plantas. Desta forma, não se tem uma explicação científica para a sobrevivência dessas plantas.

Por outro lado, não se pode ignorar o fato que falhas de controle estão ocorrendo a nível de campo e que as plantas remanescentes não são controladas com doses acima das indicadas na bula do clethodim (120g i.a. ha⁻¹). Considerando que a característica não é transmitida hereditariamente as opções resumem-se a fatores epigenéticos. A resistência epigenética ocorre quando um gene é acionado e resulta na superexpressão da enzima alvo do herbicida, ou, até mesmo na expressão de enzimas de metabolismo ou sequestro no vacúolo ou espaços intercelulares da molécula herbicida (GRESSEL, 2009). Os efeitos epigenéticos podem ou não ser transferidos a próxima geração por meio da meiose, contrariando a teoria da herdabilidade da resistência (BRUCE et al., 2007).

Considerando os resultados obtidos neste trabalho fica evidente a necessidade de avaliação da ocorrência de resistência epigenética em azevém. Além disso, vale destacar a importância do manejo do azevém, sobretudo com a utilização do manejo integrado de plantas daninhas, fundamentados com a implementação de rotação de culturas, rotação e/ou associação de herbicidas com mecanismo de ação distinto a fim de retardar o surgimento e evolução de biótipos resistentes a herbicidas.

2.4 Conclusões

Os biótipos AGS 02, AGS 03, COQ 02, COQ 05, DAC 02, ERS 01, ESP 01, IBR 01, PAN 01, PEJ 03, SCR 01, TAQ 01, TPO 01 e VLA 01 apresentam menor suscetibilidade, não sendo controlados com a aplicação da metade da máxima dose de registro de clethodim para o controle de azevém.

Não há diferença entre os biótipos sensíveis e suspeitos de resistência capaz de justificar a sobrevivência, em nível de campo, a aplicação de 120g i.a. ha⁻¹ de clethodim.

3 CAPÍTULO II - Resistência de biótipos de azevém ao herbicida clethodim

3.1 Introdução

O manejo da vegetação para o estabelecimento das culturas tem grande importância para formação da palhada e controle de daninhas. A dessecação evita que as espécies presentes na área continuem vegetando juntamente com a cultura, resultando em danos tanto na quantidade como na qualidade dos grãos. Os herbicidas são a principal ferramenta utilizada no manejo de plantas daninhas e a associação do intenso uso desses produtos e a frequência inicial de indivíduos resistentes na população torna inevitável a evolução de populações de espécies daninhas resistentes (POWLES; YU, 2010; JASIENIUK et al., 1996).

Resistência é a capacidade inerente e herdável de alguns biótipos, dentro de uma determinada população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição à dose de um herbicida, que normalmente seria letal a uma população normal (suscetível) da mesma espécie (CHRISTOFFOLETI et al., 2008).

Evidências sugerem que o surgimento da resistência a um herbicida em uma população de plantas deve-se à seleção de biótipos resistentes preexistentes que, devido à pressão exercida por repetidas aplicações do mesmo ingrediente ativo, eliminando plantas sensíveis, permanecem as plantas resistentes, com espaço para se desenvolver e se multiplicar (ROMAN, 2007).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é um problema de caráter mundial, de rápida evolução, que causa preocupação e prejuízos à agricultura em diversos países. Depois de detectada a resistência em uma lavoura, medidas que minimizem a pressão de seleção e a evolução devem ser adotadas. O surgimento de biótipos resistentes tem ocorrido para todos os mecanismos de herbicidas,

embora alguns desses tenham selecionado biótipos resistentes com mais frequência que outros (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2003).

No sistema de semeadura direta ou em pomares, o controle de azevém normalmente é realizado com a aplicação de herbicidas não seletivos, sendo o glyphosate o mais utilizado, no entanto, o uso repetido desse herbicida proporcionou o surgimento de biótipos resistentes no Estado do Rio Grande do Sul (ROMAN et al., 2004). Com isso, os herbicidas inibidores da ACCase tornaram-se alternativa de controle. Dentre os herbicidas inibidores da enzima ACCase destaca-se o clethodim, herbicida do grupo químico ciclohexanodionas, utilizado para o controle de plantas daninhas poaceas anuais e perenes em pós-emergência e com reduzido dano a espécies não alvo (COX; ALLEN, 2008).

Os herbicidas inibidores da ACCase são o terceiro mecanismo de ação com o maior número de casos de resistência, sendo que o gênero *Lolium* se constitui no mais numeroso em casos de resistência a estes herbicidas (HEAP, 2015). Atualmente, 238 espécies são relatadas como apresentando resistência a um ou mais mecanismos de ação herbicidas, totalizando 438 casos e, destas, 46 espécies apresentam resistência aos herbicidas inibidores da ACCase. No Brasil, as espécies *Urochloa plantaginea*, *Digitaria ciliaris*, *Eleusine indica*, *Lolium multiflorum* e *Avena fatua*, são registradas como resistentes a herbicidas inibidores da ACCase (HEAP, 2015).

De modo geral, o rápido desenvolvimento da resistência aos herbicidas inibidores da ACCase deve-se à elevada frequência inicial de indivíduos resistentes e pelo fato dos genes envolvidos na resistência serem nucleares, sendo transferidos via semente e pólen, o que contribui também para a rápida evolução da resistência (DÉLYE, 2005).

No Brasil, nas últimas safras verificou-se redução da eficiência de controle do azevém com o uso dos herbicidas inibidores da enzima ACCase. As falhas são observadas em áreas tratadas com diferentes herbicidas ariloxifenoxipropionatos e ciclohexanodionas e ocorrem em manchas ou plantas isoladas. A análise dos casos não evidencia uma explicação plausível para justificar as falhas, uma vez que os fatores de aplicação como a dose, o estágio vegetativo, condições ambientais, equipamentos, adjuvantes, entre outros, são adequados. Além disso, as falhas ocorrem somente em uma espécie presente na área, no caso *Lolium multiflorum* e aplicações com pulverizadores de precisão apresentaram resultados semelhantes.

Esses fatos sugerem que o *Lolium multiflorum*, além da resistência ao glyphosate, adquiriu resistência ao herbicida clethodim.

A caracterização quantitativa do nível de resistência pode ser realizada por meio de curvas de dose-resposta, as quais permitem identificar a dose do herbicida que proporciona 50% de controle da população (C_{50}) ou de redução de 50% da produção de matéria seca da parte aérea (MS_{50}) (CHRISTOFFOLETI, 2002; BURGOS et al., 2013). Com o conhecimento destas variáveis obtém-se o fator de resistência (FR), que se refere ao número de vezes que a dose necessária para o controle da população resistente é maior do que a dose que causa o mesmo efeito na população suscetível (HALL; STROME; HORSMAN, 1998). Neste contexto, hipotetiza-se que existem biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes ao herbicida clethodim no Brasil e que os biótipos resistentes necessitam de maior dose do herbicida clethodim do que os biótipos suscetíveis para controle de 50% da população (C_{50}) reduzir em 50 % a produção de massa seca (MS_{50}). Objetivou-se com este trabalho, determinar os parâmetros C_{50} e MS_{50} dos biótipos resistentes e suscetível ao clethodim.

3.2 Material e Métodos

A fim de comprovar a resistência de azevém ao herbicida clethodim, foi realizado um experimento no período de julho a setembro de 2013, em casa de vegetação pertencente ao CEHERB/FAEM/UFPel.

Inicialmente, realizou-se coleta em lavouras comerciais, no município de Coqueiros do Sul, Rio Grande do Sul, de oito biótipos que sobreviveram à dose de 400mL ha⁻¹ do herbicida Select® (96g i.a. de clethodim). As plantas coletadas possuíam entre 6 e 8 filhotes que foram separados após a coleta e originaram as plantas (clones) que foram avaliadas nos experimentos posteriores. As plantas de azevém das quais se extraíram os filhotes foram isoladas. Os filhotes foram transplantados para vasos com capacidade de 500mL, contendo solo e submetidos à seleção massal, em casa de vegetação, utilizando-se a dose de 450mL ha⁻¹ do herbicida Select® (108g i.a. de clethodim). Deste experimento, foram selecionados os biótipos que apresentaram maior nível de resistência, nominados como COQ 6 e COQ 7. Em nova separação de filhotes das plantas-mãe, obtiveram-se clones para a formação das unidades experimentais para condução dos ensaios de curva dose-

resposta. Como testemunha foi utilizado plantas oriundas do mesmo local de coleta dos biótipos resistentes, também separadas por afilhos.

O delineamento experimental utilizado foi blocos completamente casualizados, com quatro repetições, sendo as unidades experimentais compostas por vasos com capacidade volumétrica de 550mL, com uma planta por vaso. Os tratamentos foram arranjos em esquema fatorial onde o fator A testou biótipos de azevém suscetível (SUS) e resistentes (COQ 6 e COQ 7), enquanto o fator B comparou doses crescentes do herbicida clethodim (Select 240EC®).

Para determinar os valores de C_{50} e MS_{50} , aplicaram-se doses crescentes de herbicida clethodim (0, 13,5, 27, 54, 108, 216, 432 e 864g i.a. ha^{-1}), considerando 108g i.a. ha^{-1} a dose para o controle de azevém (AGROFIT, 2015). Os tratamentos foram aplicados em pós-emergência, quando as plantas clones estavam no estágio de quatro folhas. Para isto, utilizou-se pulverizador costal de precisão, pressurizado com CO_2 , equipado com pontas tipo leque 110.015, distribuindo-se volume de calda equivalente a 120L ha^{-1} . Adicionou-se à calda o adjuvante Lanza® na dose de 0,5% v/v.

As variáveis avaliadas foram taxa fotossintética (no biótipo suscetível e no biótipo resistente COQ 6), controle e massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) de todos os biótipos. A taxa fotossintética foi avaliada aos 14 DAT, sendo realizada na folha mais jovem, com limbo foliar totalmente expandido, utilizando analisador de gases no infravermelho (IRGA), marca LI-COR, modelo LI-6400 entre 8 e 9 horas da manhã, em dia de céu limpo. O controle foi avaliado visualmente por dois avaliadores, aos 10, 20 e 32 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), utilizando-se escala percentual, onde zero representou ausência de sintomas e cem a morte das plantas (Frans et al., 1986).

Aos 32 DAT realizou-se a colheita das plantas para determinação da produção da MMSPA. Para isso, submeteu-se o material vegetal à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, até se obter massa constante. Transformou-se a matéria seca para valores percentuais, comparando-se a matéria obtida nos tratamentos que receberam herbicida com a matéria obtida na testemunha, considerada 100%.

Os dados foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro Wilk) e, posteriormente, foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Para os dados onde foi constatada significância estatística, foi realizada a análise de regressão

para o fator dose, e para o fator biótipo foi procedida comparação entre C_{50} ou MS_{50} dos biótipos em estudo.

A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa SigmaPlot 10.0 (SIGMAPLOT, 2007), ajustando-se os dados à equação de regressão sigmoidal do tipo logístico, conforme segue:

$$y = a / [1 + (x / x_0)^b]$$

onde: y = porcentagem de controle; x = dose do herbicida; e a , x_0 e b = parâmetros da equação, sendo que a é a diferença entre os pontos máximo e mínimo da curva, x_0 é a dose que proporciona 50% de resposta da variável e b é a declividade da curva.

Os valores de C_{50} e MS_{50} foram obtidos através do cálculo aritmético do valor necessário para promover 50% da resposta, de acordo com os parâmetros gerados nas equações das curvas. A partir dos valores de C_{50} e MS_{50} , obtiveram-se os FR para cada biótipo com suspeita de resistência em comparação com o suscetível. Para a utilização do FR, foi necessário verificar o intervalo de confiança ($p \geq 0,95$) do biótipo suscetível em relação ao resistente.

Para a confirmação da resistência, se adotará os critérios sugeridos pelo comitê internacional de resistência de plantas daninhas a herbicidas (HRAC), sendo considerada resistente a planta daninha que não é controlada pela dose comercial do herbicida, que em condições normais controla a população suscetível da mesma espécie. Com base nos valores de C_{50} e MS_{50} , a diferença significativa indica a ocorrência de resistência (HEAP, 2015).

3.3 Resultados e Discussão

Verificou-se interação entre os fatores biótipo e dose para todas as variáveis avaliadas. O teste de Shapiro Wilk demonstrou não ser necessária a transformação dos dados.

O efeito do herbicida clethodim na taxa fotossintética ajustou-se à equação de regressão sigmoidal do tipo logístico, sendo que os valores de coeficiente de determinação (R^2) variaram de 0,82 a 0,99 para o biótipo resistente e suscetível, respectivamente (Fig. 3).

A partir da análise do gráfico de taxa fotossintética dos biótipos resistente e suscetível observou-se que a ausência de sobreposição dos intervalos de confiança

do biótipo suscetível em relação ao biótipo resistente, é possível afirmar que a taxa fotossintética foi afetada em função da aplicação do herbicida clethodim (Fig. 3). A taxa fotossintética do biótipo resistente foi levemente afetada com o incremento das doses do herbicida, no entanto este efeito foi menor quando comparado com o biótipo suscetível. Não foi possível medir a taxa fotossintética do biótipo suscetível nas maiores doses do herbicida clethodim (432 e 864g i.a. ha⁻¹) em função da morte das plantas.

Apesar do mecanismo de ação dos herbicidas inibidores da ACCase não estar ligado diretamente com o processo fotossintético, pelo fato de inibir um processo metabólico, estes herbicidas podem causar modificações na fotossíntese (CHRISTENSEN; TEICHER; STREIBIG, 2003; XIA, 2006). Em função da aplicação do herbicida, mesmo quando ainda não são visíveis os sintomas, ocorrem injúrias causadas no aparelho fotossintético, reduzindo a capacidade de realização de fotossíntese pela planta (BARBAGALLO et al., 2003).

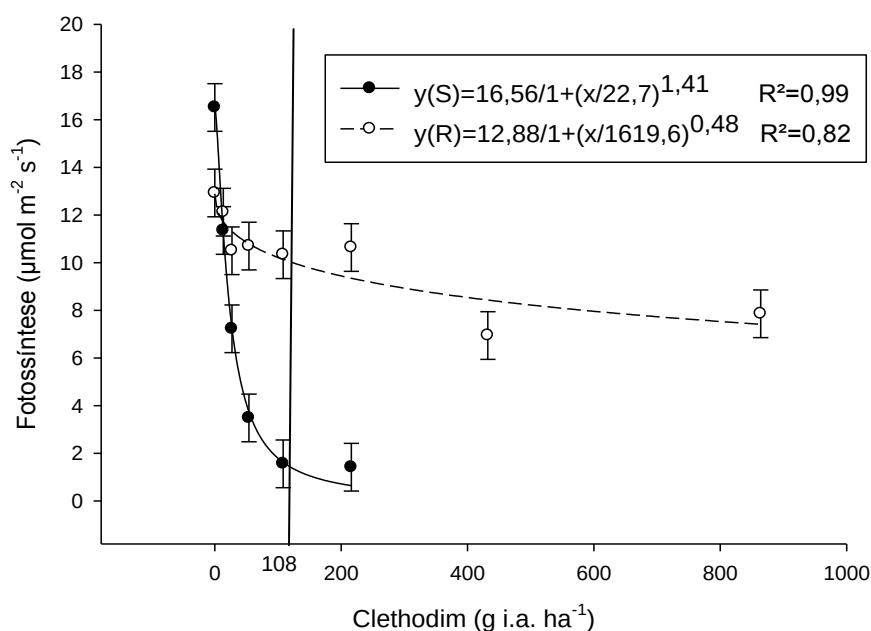


Figura 3 – Taxa fotossintética (µmol m⁻² s⁻¹) dos biótipos de *Lolium multiflorum* resistente e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliada aos 14 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013. Os pontos representam os valores as barras verticais a diferença mínima significativa da média (DMS). A linha no gráfico indica o ponto na dose de registro.

A diferença da taxa fotossintética dos biótipos resistentes provavelmente está ligada à capacidade deste biótipo sobreviver à aplicação do herbicida, independente do mecanismo de resistência. A análise da taxa fotossintética em complemento à curva dose resposta se justifica, uma vez que os resultados serão complementares aos resultados de controle visual, caracterizado como fator subjetivo.

Os dados da avaliação de controle do azevém com herbicida clethodim ajustou-se à equação de regressão sigmoidal do tipo logístico nas três épocas de avaliação, sendo que os valores do coeficiente de determinação (R^2) variaram de 0,94 a 0,99, para os biótipos, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo (Fig. 4, 5 e 6). A partir das equações calcularam-se os valores de C_{50} para os biótipos de azevém resistentes e suscetível.

Na avaliação aos 10 DAT o controle dos biótipos resistentes COQ 6 e COQ 7 não atingiu nível de 50% e, dessa forma, não foi possível calcular os valores de C_{50} para essa época de avaliação. Contudo, observou-se maior fitotoxicidade para o biótipo suscetível comparado aos biótipos resistentes. A dose de 108g i.a. ha⁻¹ de clethodim, equivalente à máxima dose registrada, apresentou controle próximo de 50% para o biótipo suscetível e de 13% e 8% para os biótipos resistentes COQ 6 e COQ 7, respectivamente (Fig.4). A menor fitotoxicidade do clethodim detectada na avaliação de 10 DAT deve-se à velocidade de ação mais lenta quando comparado aos herbicidas inibidores da EPSPs, por exemplo.

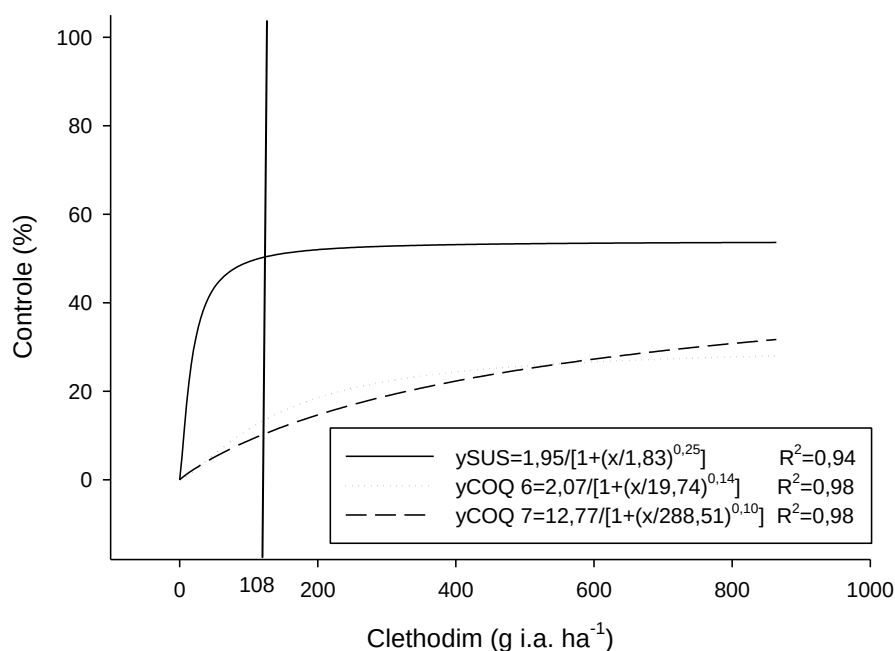


Figura 4 – Controle (%) dos biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliado aos 10 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013. A linha no gráfico indica o ponto na dose de registro.

Na avaliação realizada aos 20 DAT os biótipos resistentes foram menos afetados, considerando-se a mesma dose comparada ao suscetível (Fig. 5). Observou-se que para obter controle de 50% do biótipo suscetível foi necessária a dose de 17g i.a. ha⁻¹ de clethodim e para os biótipos resistentes COQ 6 e COQ 7, a dose foi de 520 e 410g i.a. ha⁻¹, respectivamente. A dose recomendada de clethodim resultou em controle de 88% do biótipo suscetível e de 32 e 35% para os biótipos resistentes COQ 6 e COQ 7, respectivamente (Fig. 5).

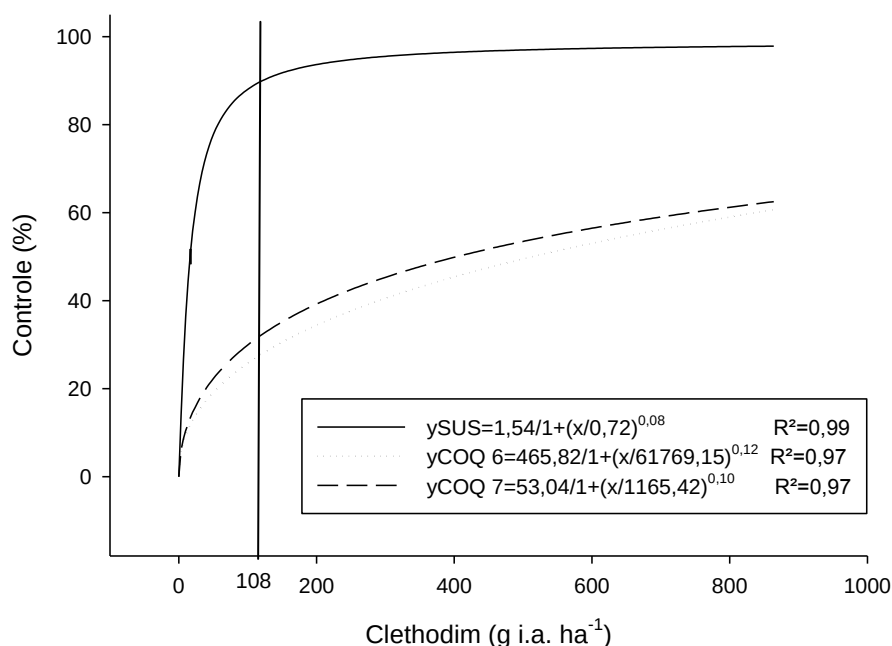


Figura 5 – Controle (%) dos biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliado aos 20 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013. . A linha no gráfico indica o ponto na dose de registro.

A avaliação realizada aos 32 DAT evidenciou, para o biótipo suscetível, controle de 50% com a dose de 9,5g i.a. ha⁻¹ de clethodim. Já para os biótipos resistentes COQ 6 e COQ 7 foi necessária a dose de 270 e 280g i.a ha⁻¹, respectivamente, para obter 50% de controle (Fig.6). Observou-se, também, que a dose de 54g i.a. ha⁻¹, correspondente a 50% da dose de registro do clethodim para azevém, foi suficiente para obter controle acima de 95% do biótipo suscetível. Este biótipo foi controlado quando se utilizou a máxima dose de registro do produto, ou seja, 108g i.a. ha⁻¹. Já os biótipos resistentes COQ 6 e COQ 7, quando se utilizou a dose de 864g i.a. ha⁻¹, correspondente a 8 vezes a dose de registro e a maior dose avaliada neste estudo, evidenciaram controle de 68 e 66%, respectivamente (Fig.6).

A variabilidade genética das populações de plantas daninhas é afetada por diversos fatores evolutivos, como o sistema de produção (práticas culturais), interações entre cultura e planta daninha, fluxo gênico (dispersão de pólen e sementes), distribuição geográfica e seleção natural (HUANGFU; SONG; QIANG, 2009). Desta forma, as diferenças observadas, entre os biótipos de azevém avaliados, podem decorrer de características genéticas intrínsecas dos biótipos e que influenciam a resposta aos herbicidas, neste caso ao clethodim. A constituição

genética de uma espécie pode determinar graus variáveis de resistência ou suscetibilidade aos herbicidas (HARTWING, et al., 2008). Contudo, considerando que tanto o biótipo suscetível quanto os biótipos resistentes possuem o mesmo local de origem, é possível afirmar que as diferenças observadas entre os biótipos avaliados são resultado das práticas culturais utilizadas, especialmente pela ação do herbicida.

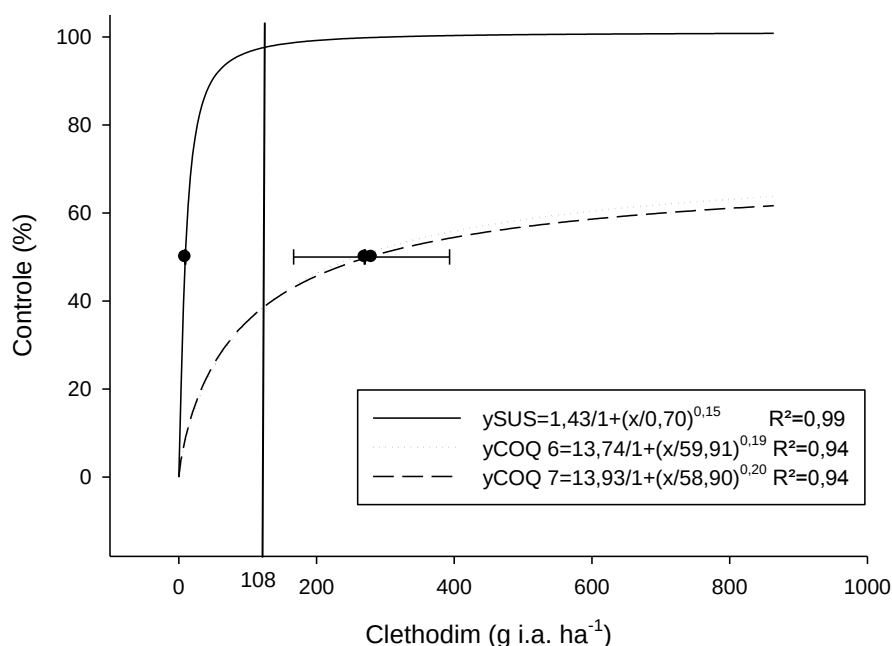


Figura 6 – Controle (%) dos biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliado aos 32 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013. Barras de erro correspondem ao intervalo de confiança em 95% de probabilidade de erro da dose que causa 50% de controle da planta. A linha no gráfico indica o ponto na dose de registro.

Com base no C_{50} foi possível determinar o fator de resistência (FR) que representa o número de vezes que a dose necessária para controlar 50% dos biótipos resistentes é superior à dose para ocasionar o mesmo controle ao biótipo suscetível. Foi possível determinar o FR para duas (20 e 32 DAT) das três épocas de avaliadas (Tab. 2). O FR aos 20 DAT foi de 30,5 e 24,11 para os biótipos resistentes COQ 6 e COQ 7, respectivamente. Já, aos 32 DAT, última época de avaliação, o valor do FR para os biótipos COQ 6 e COQ 7 foi de 28,4 e 29,5, respectivamente. Esses valores de FR indicam que a dose do herbicida clethodim necessária para proporcionar 50% de controle é 28,4 e 29,5 vezes maior do que a

necessária para produzir o mesmo efeito sobre o biótipo suscetível. Os altos valores do FR podem ser explicados pelas datas de coleta das plantas para determinação da MMSPA, já que 32 DAT foi tempo suficiente para os biótipos resistentes evidenciarem crescimento vigoroso, enquanto o biótipo suscetível foi controlado já aos 20 DAT (Fig. 5).

Resultados semelhantes foram observados em estudos com biótipos de *Eleusine indica*, *Digitaria ciliaris* e *Lolium multiflorum* resistentes a herbicidas inibidores da ACCase, cujos FR foram 18, 33 e 15,3, respectivamente (VIDAL, 2006; LÓPEZ-OVEJERO, 2006; VARGAS et al., 2013). Já biótipos de *Lolium multiflorum* oriundos dos Estados Unidos apresentaram FR de 5 (KUK; BURGOS; SCOTT, 2008).

Tabela 2 - Valores de C_{50} com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência dos biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes e suscetível, em resposta à aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim (0, 13,5, 27, 54, 108, 216, 432 e 864g i.a. ha^{-1}) avaliado aos 20 e 32 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013.

Biótipo	C_{50}^1	IC	FR ²
	g i.a. ha ⁻¹	95%	
20 DAT			
COQ 6	520	(-118121,8) – 119161,8	30,5
COQ 7	410	(-732,1) – 1552,1	24,11
SUS	17	16,3 – 17,7	-
32 DAT			
COQ 6	270	211,3 – 328,7	28,4
COQ 7	280	166,8 – 393,1	29,5
SUS	9,5	8,8 – 10,2	-

¹ C_{50} = dose necessária para obter 50% de controle;

²Fator de resistência ao herbicida clethodim dos biótipos de *Lolium multiflorum*, obtido da divisão do C_{50} do biótipo resistente em relação ao biótipo suscetível ao clethodim.

Herbicidas inibidores da enzima ACCase são a principal alternativa para o controle de biótipos de azevém resistentes ao glyphosate, no entanto, seu uso repetido tem ocasionado a seleção de biótipos com resistência múltipla aos inibidores da EPSPs e ACCase. Estudos comprovam resistência de biótipos de azevém ao herbicida clethodim quando aplicado na dose de 192g i.a. ha^{-1} (VARGAS et al., 2013).

A maioria dos casos de resistência aos herbicidas inibidores da ACCase estão relacionados com mutação do gene que codifica esta enzima (POWLES; YU, 2010). Já os níveis diferenciais de resistência podem estar relacionados com o tipo de mutação e de acordo com o aminoácido que foi alterado no DNA, exigindo maior

ou menor dose para o controle (BECKIE; WARWICK; SAUDER, 2012; YU et al., 2012).

A avaliação da massa da matéria seca da parte aérea aos 32 DAT confirmou os resultados de controle observados, quando ocorreu decréscimo sigmoidal das curvas com o incremento da dose do herbicida clethodim, para os três biótipos, sendo mais acentuado para o biótipo suscetível (Fig. 7). A variável ajustou-se à equação de regressão sigmoidal do tipo logístico, sendo que os valores de coeficiente de determinação (R^2) variaram de 0,96 a 0,99 para os biótipos, demonstrando novamente ajuste satisfatório dos dados ao modelo.

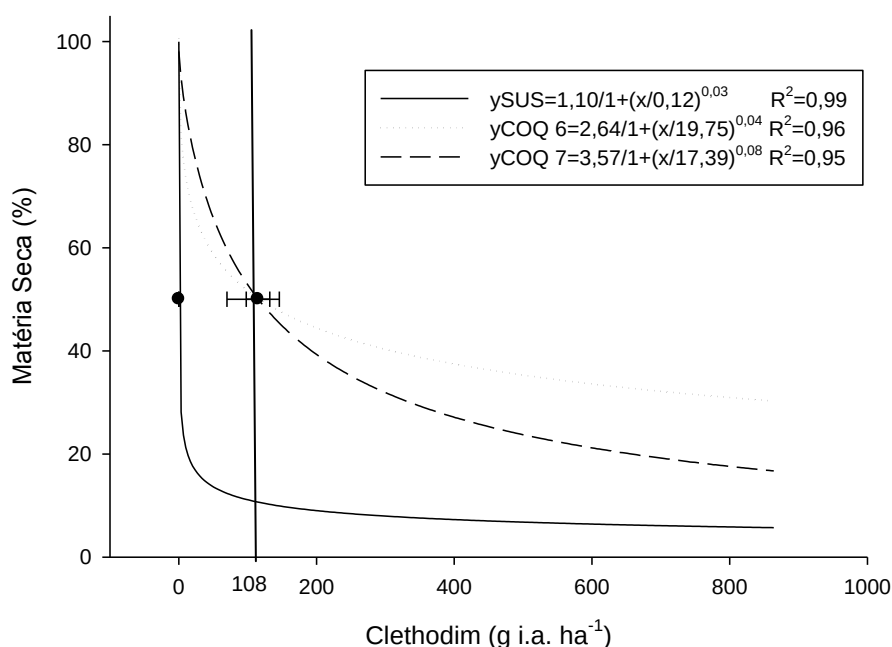


Figura 7 – Massa da matéria seca da parte aérea (%) dos biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes e suscetível, em função da aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim, avaliada aos 32 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013. Barras de erro correspondem ao intervalo de confiança em 95% de probabilidade de erro da dose que causa 50% de controle da planta. A linha no gráfico indica o ponto na dose de registro.

A dose necessária para reduzir 50% da MMSPS (MS_{50}) do biótipo suscetível foi de 0,2g i.a. ha⁻¹ de clethodim, e para os biótipos resistentes COQ 6 e COQ 7 a dose foi de 108 e 115g i.a. ha⁻¹ de clethodim, respectivamente. Considerando o valor de FR 540 e 575 para os biótipos COQ 6 e COQ 7, respectivamente, confirma-se a evidência de que os biótipos avaliados são resistentes ao herbicida clethodim (Tab. 3). Para biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase

foram observados valores de FR de 400 para o herbicida diclofop e 165 para o herbicida clodinafop (KUK; BURGOS; SCOTT, 2008). Já para biótipos de *Phalaris paradoxa* os valores observados foram de 19,07 para o herbicida cycloxydim e 5,05 para clethodim (CRUZ-HIPOLITO et al., 2012).

Tabela 3 – Valores de MS_{50} com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência dos biótipos de *Lolium multiflorum* resistentes e suscetível, em resposta à aplicação de diferentes doses do herbicida clethodim (0, 13,5, 27, 54, 108, 216, 432 e 864g i.a. ha⁻¹), avaliado aos 32 dias após o tratamento (DAT). Capão do Leão/RS, 2013.

Biótipo	MS_{50} ¹	IC	FR ²
	g i.a. ha ⁻¹	95%	
COQ 6	108	70,1 – 145,9	540
COQ 7	115	97,9 – 132,1	575
SUS	0,2	0,1 – 0,3	-

¹ G_{50} = dose necessária para obter 50% de redução de matéria seca;

²Fator de resistência ao herbicida clethodim dos biótipos de *Lolium multiflorum*, obtido da divisão do G_{50} do biótipo resistente em relação ao biótipo suscetível ao clethodim.

Apesar da maioria dos casos de resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da enzima ACCase estar relacionada a alterações no sítio de ação da enzima, existem relatos correlacionando a resistência a estes herbicidas a processos metabólicos (POWLES; YU, 2010; BUSI; VILA-AIUB; POWLES, 2010). Quando o mecanismo de resistência se deve à alteração no sítio de ação, as mutações podem ser agrupadas da seguinte forma: alta resistência a ariloxifenoxipropionatos (APPs), ciclohexanodionas (CHDs) e fenilpyrazolinas (FPZs) (ex.: biótipos de *Setaria* spp., *Alopecurus myosuroides* e *Avena fatua*); alta resistência a APPs e a FPZs e baixa as CHDs (ex.: *Lolium rigidum*, *Avena sterilis* e *Alopecurus myosuroides*); alta resistência a APPs e muito baixa ou nenhuma resistência a CHDs e FPZs (ex.: *Lolium rigidum*, *Avena fatua*, *A. sterilis* e *Lolium multiflorum*); uma ou mais mutações conferem níveis intermediários de resistência a ambos os grupos de herbicidas (ex.: *Avena fatua*); e, alta resistência a ambos os grupos de herbicidas (ex. *Avena fatua*) (BOURGEOIS; KENKEL, 1997; DEVINE, 1997; MOSS et al., 2003; DÉLYE et al., 2005b; WHITE; MOSS; KARP, 2005; ZHANG; POWLES, 2006a; ZHANG; POWLES, 2006b; LIU et al., 2007; YU et al., 2007; HOCHBERG; SIBONY; RUBIN, 2009; PETIT et al., 2010; KAUNDUN, 2010).

O azevém é uma espécie daninha importante nos sistemas de cultivo do Rio Grande do Sul (RS). Biótipos de azevém resistentes aos herbicidas inibidores das

enzimas EPSPs e ALS e com resistência múltipla a inibidores da EPSPs e ACCase já foram identificados no RS (HEAP, 2014). Este fato torna complexo o manejo dessa espécie, exigindo maior conhecimento técnico e científico para manejo dessas populações resistentes.

Estudos complementares, objetivando elucidar os mecanismos envolvidos na resistência dos biótipos de azevém aos herbicidas inibidores da enzima ACCase, são importantes para estabelecimento de estratégias de manejo. O conhecimento dos mecanismos de resistência é fundamental para escolha de alternativas de manejo e controle e na tomada de decisão relacionada aos sistemas produtivos.

3.4 Conclusões

Os resultados obtidos neste estudo confirmam que os biótipos de azevém COQ 6 e COQ 7 são resistentes ao herbicida clethodim; que o FR para os biótipos COQ 6 e COQ 7 é 28,4 e 29,5, respectivamente; e que a redução de 50% da matéria seca desses biótipos ocorre com as doses 540 e 575 vezes maior do que aquela necessária para o biótipo suscetível.

4 CAPÍTULO III - Mecanismo de resistência e controle alternativo de biótipos de azevém resistentes ao clethodim

4.1 Introdução

A evolução da resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da enzima acetil coenzima A carboxilase (ACCase) é uma ameaça para a eficiência no controle de espécies poaceas em sistemas agrícolas. Os inibidores da ACCase foram lançados no mercado no final da década de 1970, e desde então já foram registradas 46 espécies de plantas daninhas resistentes a esses herbicidas (SHANER, 2014; HEAP, 2014). Entre as poaceas resistentes, o azevém (*L. multiflorum*), identificado como resistente pela primeira vez em 1987 nos Estados Unidos, possui grande importância no sul do Brasil, sendo que após o registro do primeiro caso de azevém resistente foram relatados casos na Argentina, Chile, Dinamarca, França, Itália e no Brasil. No Brasil, os casos foram confirmados no ano de 2010, no estado do Rio Grande do Sul (HEAP, 2014).

O clethodim é um herbicida que atua inibindo a enzima ACCase, impedindo a biossíntese de ácidos graxos. Os ácidos graxos são componentes importantes de membranas, tais como membrana celular e do cloroplasto, que não somente envolvem os fluidos celulares, mas também servem como barreira para compostos que entram ou saem da célula. Os ácidos graxos são usados como constituintes de ceras e da suberina da cutícula e, também, para armazenar energia (NIKOLAU; OHLROGGE; WURTELE, 2003; ROMAN et al., 2006; YU et al., 2007).

O mecanismo de resistência das plantas daninhas a herbicidas pode estar relacionado com o sítio de ação do herbicida e/ou não relacionado ao sítio de ação do herbicida. O mecanismo de resistência relacionado com o sítio de ação do herbicida pode ocorrer devido à mutação pontual no gene, resultando em uma

alteração nos aminoácidos da enzima alvo, o que impede ou reduz a ligação do herbicida com o local de ação (TRANEL; WRIGHT, 2002; DÉLYE, 2005; POWLES; YU, 2010). Em contraste, a resistência não relacionada ao sítio de ação do herbicida pode ser conferida pelo aumento na atividade das enzimas metabólicas, reduzindo a quantidade do herbicida no sítio de ação, ficando abaixo do nível letal, e/ou protegendo a planta da ação do herbicida (YU; POWLES, 2014).

A insensibilidade da enzima é o mecanismo mais comum de plantas daninhas resistentes aos inibidores da ACCase (POWLES; YU, 2010). Este fato ocorre devido à mutação no gene ACCase, diminuindo a afinidade da enzima ACCase com os herbicidas inibidores desta (YU et al., 2007; BURGOS, et al., 2013). A primeira mutação encontrada foi em *Lolium rigidum*, identificando uma alteração do aminoácido leucina (Leu) para isoleucina (Ile) na posição 1981 do gene da ACCase, conferindo assim resistência, sendo esta a mutação ocorrente com maior frequência (DÉLYE; WANG; DARMENCY, 2002; ZAGNITKO et al., 2001; POWLES; YU, 2010). Atualmente, oito mutações no gene ACCase são conhecidas, sendo que o espectro de resistência é determinado por particularidades da molécula do herbicida, da mutação ocorrida, da homozigose ou heterozigose e, mais importante, do herbicida e a dose utilizada para a avaliação (DÉLYE; MATÉJICEK; MICHEL, 2008; KAUDUN, 2010; YU et al., 2007).

A resistência de plantas daninhas ocasionada pela metabolização é o segundo mecanismo mais comum de resistência para os inibidores da ACCase. Este mecanismo de resistência merece especial atenção, pois pode conferir resistência múltipla a dois ou mais mecanismos de ação herbicida, reduzindo a possibilidade de controle com diferentes herbicidas de mecanismo de ação distinto (POWLES; YU, 2010). Citocromo P450 monooxigenase (P450), glicosiltransferase (GT) e glutathione S-transferase (GST) são os maiores complexos enzimáticos envolvidos na resistência metabólica (KREUZ; TOMMASINI, 1996; SIMINSZKY, 2006; YUAN; TRANEL; STEWART, 2007). O primeiro caso de resistência envolvendo a metabolização de herbicidas foi identificado em 1980 em biótipos de *Alopecurus myosuroides* e *Lolium rigidum*, resultando em resistência múltipla a diversos mecanismos de ação, até mesmo a herbicidas nunca utilizados anteriormente (HEAP; KNIGHT, 1986; MOSS; CUSSANS, 1985). Para os herbicidas inibidores da ACCase, a resistência metabólica foi identificada para as seguintes espécies: *A. myosuroides*, *L. rigidum*, *L. multiflorum*, *Avena sterilis*, *Echinochloa phyllopogon* e *Digitaria sanguinalis* (BAKKALI et al.,

2007; COCKER et al., 2001; LETOUZÉ; GASQUEZ, 2003; TARDIF; POWLES, 1999; YASUOR et al., 2009).

Os complexos P450 e GST podem ser inibidos pela ação de alguns inibidores e a resistência ser revertida, tornando a planta novamente suscetível a determinados herbicidas (PRESTON et al., 1996; CUMMINS et al., 2013). Os inibidores do complexo P450, matathion, aminobenzotriazole e butóxico de piperonila, podem inibir *in vivo* o metabolismo de alguns herbicidas, assim revertendo a resistência (PRESTON et al., 1996). Biótipos de *A. myosuroides*, *L. rigidum* apresentaram metabolismo do herbicida diclofop e *Poa annua* metabolismo de fenoxaprop-P-ethyl, evidenciado pela aplicação do inibidor do complexo P450 butóxico de piperonila (PRESTON et al., 1996; LETOUZÉ; GASQUEZ, 2003; WANG, et al., 2013).

Ainda assim, medidas de controle de biótipos resistentes necessitam ser adotadas, podendo ser realizadas através da aplicação de herbicidas com mecanismo de ação distinto. A associação de herbicidas e utilização de herbicidas com mecanismos de ação diferente são preconizadas para o manejo de plantas daninhas resistentes (JOHNSON; BIBSON, 2006; SHANER, 2000; VARGAS et al., 2009). Para o controle de azevém resistente a clethodim, a aplicação de paraquat e sulfometuron em pós-emergência, e triflurarina, s-metolachlor e pyroxasulfone em pré-emergência, são alternativas eficientes de controle (OWEN; MARTINEZ; POWLES, 2012). Desta maneira, alternativas para o manejo de azevém resistente ao clethodim devem ser avaliadas/desenvolvidas e indicadas aos produtores.

O conhecimento do mecanismo pelo qual as plantas de azevém apresentam redução de controle ao clethodim em lavouras do RS e a indicação de herbicidas alternativos ao controle destes biótipos são importantes para a implementação de práticas de manejo integrado dessa planta daninha. As hipóteses para este trabalho foram que o biótipo de azevém resistente ao herbicida clethodim apresenta alteração no metabolismo do herbicida e que estes biótipos são controlados por herbicidas com outros mecanismos de ação. Assim, objetivou-se com esse trabalho investigar a resposta de biótipos de azevém à aplicação de clethodim após o tratamento com inibidor de metabolismo da Cyt-P450 monooxigenase, e propor alternativas de controle químico.

4.2 Material e Métodos

Para atingir os objetivos foram conduzidos experimentos em casa-de-vegetação, pertencente ao CEHERB/FAEM/UFPel, e em área agrícola localizada no município de Coqueiros do Sul, RS (coordenadas geográficas S 28°11'13" O 52°44'34").

As plantas utilizadas nos experimentos de metabolização do herbicida clethodim originaram-se de plantas que sobreviveram (COQ 8) à aplicação de clethodim em área agrícola no município de Coqueiros do Sul. Para tanto, aplicou-se o herbicida clethodim em uma área de 6 hectares, coletando-se as plantas que sobreviveram 30 dias após a aplicação do herbicida. Para a confirmação plena, repetiu-se a aplicação em casa-de-vegetação, conforme metodologia descrita no Capítulo II. A descrição do material e métodos específicos de cada experimento estão descritos a seguir.

4.2.1 Experimento de controle alternativo de biótipos resistentes ao clethodim

No período de julho a agosto de 2013, realizou-se experimento em área agrícola localizada no município de Coqueiros do Sul, RS, onde havia histórico de sucessivas aplicações do herbicida clethodim e falhas de controle haviam sido relatadas no ano anterior à realização do experimento. O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados, com três repetições, sendo que cada unidade experimental ocupou a área de 6m² (3m x 2). Os tratamentos constaram de herbicidas pertencentes a diferentes mecanismos de ação (tab. 4), sendo aplicados na sua dose comercial de registro e o dobro da dose. A aplicação dos herbicidas ocorreu no dia 05/07/2013, no momento as plantas de azevém possuíam de 5 a 6 afilhos. Para isso, utilizou-se pulverizador costal de precisão, pressurizado com CO₂, equipado com pontas tipo leque 110.015, distribuindo-se volume de calda equivalente a 150L ha⁻¹.

Tabela 4. Mecanismo de ação, ingrediente ativo, produto comercial e dose dos herbicidas utilizados. Coqueiros do Sul/RS, 2013.

Mecanismo de Ação	Ingrediente Ativo	Produto Comercial	Dose g i.a. ha ⁻¹
Inib. da ALS	Nicosulfuron	Sanson®	60
	Iodosulfuron-metílico	Hussar®	6
Inib. do Fotossistema I	Paraquat	Gramoxone®	400
Inib. da Glutamina Sintetase	Amônio-Glufosinato	Finale®	600
	Clomazone	Gamit®	750
Inibi. da Síntese de Carotenoides	Tembotrione	Soberan®	100
	Clethodim	Select®	144
Inib. da ACCase	Haloxifop-methyl	Verdict®	60

Foi adicionado óleo mineral aos herbicidas Hussar (0,3%v/v), Finale (0,2% v/v), Soberam (1L/ha), Select (0,5% v/v) e Verdict (0,5% v/v).

As variáveis analisadas foram controle aos 14, 21 e 28 DAT, e posteriormente os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade e homocedasticidade, e posteriormente foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Em caso de significância estatística, compararam-se as médias pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

4.2.2 Estudo do metabolismo do herbicida clethodim

Realizou-se um experimento em casa de vegetação, no período de agosto a outubro de 2014, em delineamento experimental blocos casualizados, com quatro repetições. Os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial sendo o fator A composto pelos biótipos de azevém (COQ 8 e SUS); e, o fator B constou da aplicação do inibidor do Cyt-P450 monooxigenase butóxido de piperonila (PBO), isolado ou antecedendo o herbicida clethodim; clethodim isolado; e a testemunha sem aplicação.

As plantas foram submetidas à aplicação dos tratamentos herbicidas quando estavam em estágio de quatro folhas a um afilho. Trinta minutos antes da aplicação do herbicida clethodim, na dose de 120g i.a. ha⁻¹, aplicou-se o inibidor de metabolização PBO, na dose de 2100g i.a. ha⁻¹ (PRESTON et al., 1996). Para ambas as aplicações foi utilizado pulverizador costal, pressurizado a CO₂, com

pontas de pulverização do tipo leque 110.015, que proporcionaram volume de aplicação de 120L ha⁻¹.

As variáveis analisadas foram: controle aos 14 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), e massa da matéria seca da parte aérea (MMSPA) aos 28 DAT. A avaliação de controle foi realizada utilizando-se escala percentual, onde zero representou ausência de injúrias e cem a morte das plantas (FRANS et al.,1986). Para a determinação da MMSPA, realizou-se a coleta do material com posterior secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60°C até obter-se massa constante, quando o material foi pesado e o valor transformado para MMSPA planta⁻¹.

Os dados foram analisados quanto à normalidade, pelo teste de Shapiro-Wilk, com posterior análise da variância ($p \leq 0,05$). Quando observada significância estatística, realizou-se o teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para os fatores biótipos e inibidores.

4.3 Resultados e Discussão

Os resultados e discussão de cada experimento estão descritos a seguir, adotando-se a sequência dos materiais e métodos.

4.3.1 Metabolismo do herbicida clethodim

O teste de Shapiro-Wilk demonstrou não ser necessária a transformação dos dados. Observou-se interação entre os fatores para as variáveis controle, em todas as épocas de avaliação e para a MMSPA (tab.5).

A aplicação do herbicida clethodim isolado, aos 14 DAT, apresentou controle em torno de 52% para o biótipo suscetível (SUS), sendo que para o biótipo resistente COQ 8 o controle mostrou-se inferior (tab.5). No entanto, aos 28 DAT o controle do biótipo SUS evoluiu para aproximadamente 71%, enquanto no biótipo resistente evoluiu menos (39%). A aplicação do inibidor do cyt-P450 PBO isolado não evidenciou diferenças entre os biótipos avaliados. Em plantas o cyt-P450 além de funções fisiológicas de biossíntese de hormônios, lipídios, ácidos graxos e metabólitos secundários, o complexo cyt-P450 são importantes na detoxificação de substâncias químicas nocivas, dentre elas os herbicidas, por hidroxilação ou

desaquição, tornando-os menos fitotóxicos (REICHHART; HEHN; DIDIERJEAN, 2000; POWLES; YU, 2010).

Já a associação do clethodim e do PBO resultou em aumento de controle no biótipo COQ 8 aos 14 e 28 DAT. Os valores de controle foram de 48 e 75% para biótipo SUS e de 45 e 77% para os biótipos COQ 8, aos 14 e 28 DAT, respectivamente. Assim, o PBO elevou a fitotoxicidade herbicida no biótipo resistente ao mesmo nível do biótipo suscetível, resultando em efeito sinérgico. O inibidor de metabolização PBO, aplicado previamente ao imazethapyr, reduziu o fator de resistência de biótipos de capim-arroz (MATZENBACHER, 2012). Biótipos de *Lolium rigidum* e *Alopecurus myosuroides* foram melhor controlados pelos herbicidas chlorotoluron e fenoxaprop-ethyl, respectivamente, quando submetidos à aplicação prévia de PBO (BURNET et al., 1992; YU; LETOUZÉ; GASQUEZ, 2001; POWLES, 2014a.). A adição de inibidores do cyt-P450 como o PBO, reduz a seletividade de inúmeros herbicidas, que são metabolizados pelas enzimas do P450, para cultura do trigo (BUSI; VILA-AIUB; POWLES, 2010).

Na variável MMSPA, observou-se que para ambos os biótipos, a aplicação isolada do PBO, não causou redução em comparação à testemunha sem aplicação (tab.5). Já na aplicação isolada do herbicida clethodim, o biótipo SUS mostrou uma redução de 61% da MMSPA para a testemunha, e para o biótipo COQ 8, a redução não foi significativa em relação à testemunha. No entanto, a aplicação de clethodim + PBO resultou em redução de 56% da MMSPA do biótipo suscetível comparado à aplicação somente do herbicida de forma isolada, resultando em um efeito sinérgico desta associação (tab.5). Estes resultados de MSPA corroboram com os resultados de controle aos 14 e 28 DAT, onde a aplicação do herbicida clethodim, precedida pela aplicação do inibidor do cyt-P450 PBO, ocasionou incremento de controle do biótipo resistentes COQ 8, resultando em efeito sinérgico.

Tabela 5 – Controle (%) aos 14 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT) e massa da matéria seca da parte aérea (g) de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível (SUS) e resistentes (COQ 8), submetidos à aplicação de clethodim, isolado ou antecedido em trinta minutos da aplicação do inibidor do cyt-P450 monooxigenase (PBO) e testemunha sem aplicação. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2014.

Tratamentos	Biótipos					
		SUS		COQ 8		
		Controle (%) aos 14 DAT ¹				
Testemunha	A ²	0,0	b ²	A	0,0	c
PBO	A	1,2	b	A	2,5	c
Clethodim	A	52,5	a	A	33,7	b
PBO + Clethodim	A	48,7	a	B	45,2	a
C.V (%)	18,64					
Controle (%) aos 28 DAT						
Testemunha	A	0,0	b	A	0,0	c
PBO	A	1,0	b	A	0,0	c
Clethodim	A	71,5	a	B	39,5	b
PBO + Clethodim	A	75,0	a	A	77,0	a
C.V (%)	9,44					
Massa da Matéria seca da parte aérea (g planta ⁻¹)						
Testemunha	A	3,705	a	A	3,785	a
PBO	A	3,332	a	A	3,215	a
Clethodim	B	1,452	b	A	2,985	a
PBO + Clethodim	A	0,925	b	A	1,307	b
C.V (%)	22,39					

¹ Dias após o tratamento. ² Médias seguidas pela mesma letra nas linhas (maiúsculas) e nas colunas (minúsculas), não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Dentre os inibidores de metabolização, o inseticida butóxido de piperonila é um dos utilizados para identificar a ocorrência de metabolização como mecanismo que confere resistência a plantas daninhas. O PBO atua no metabolismo oxidativo do grupo metileno do cyt P450, levando à formação de carbeno e de um complexo praticamente irreversível com o heme ferro de enzimas P450 (FEYEREISEN, 1999).

O mecanismo de resistência devido à metabolização de herbicidas é relatado para várias espécies, sendo *Lolium rigidum* a que apresenta resistência múltipla ao maior número de herbicidas de diferentes mecanismos (YU; POWLES, 2014). Biótipos de *L. rigidum* apresentam resistência a dinitroanilinas, inibidores da ACCase e

ALS; inibidores da ALS + Fotossistema II; inibidores da ALS +ACCCase+Fotossistema II; e inibidores da ALS + ACCase (BURNET et al., 1993b; PRESTON; POWLES, 1997; TARDIF; POWLES, 1999; NEVE; POWLES, 2005b; YU et al., 2013a; YU et al., 2013b).

Além de *L. rigidum* e *A. myosuroides*, outras espécies de plantas daninhas foram diagnosticadas com resistência a herbicidas devido à metabolização, entre elas: *Abutilon theophrasti* a atrazina (ANDERSON; GRONWALD, 1991); *Sonchus oleraceus* a simazina (FRAGA; TASENDE, 2003); *Sinapis arvensis* a ethametsulfuron (VELDHUIS et al., 2000); *Stellaria media* a mecoprop (COUPLAND; LUTMAN; HEATH, 1990); *Digitaria sanguinalis* a imazethapyr (HIDAYAT; PRESTON, 2001); *Bromus tectorum* a propoxycarbazone (PARK; FANDRICH; MALLORY-SMITH, 2004); *Setaria* spp. a atrazina (DE PRADO; LOPEZ-MARTINEZ; GONZALES-GUTIERREZ, 2000); *Phalaris minor* a isoproturon (SING; KIRKWOOD; MARSHALL, 1998); *Avena sterilis* a diclofop (MANEECHOTE; PRESTON; POWLES, 1997); e, *Echinochloa phyllopogon* a vários herbicidas (YASUOR et al., 2009).

Avaliando-se a resposta do biótipo COQ 8 aos 14 e 28 DAT, observa-se que houve diferença quando se aplicou clethodim isolado e clethodim + PBO, sendo que para estes tratamentos o controle foi próximo a 33 e 45% e 39 e 77% respectivamente, aos 14 e 28 DAT, respectivamente (tab.5). Em biótipos de *A. myosuroides*, a adição do inibidor PBO, reduziu o fator de resistência para os herbicidas fenoxaprop-ethyl, clodinafop e haloxifop (LETOUZE; GASQUEZ, 2003). No entanto, a aplicação prévia de PBO não proporcionou aumento de controle em capim-arroz por quinclorac em relação à aplicação isolada do herbicida, porém incrementou o controle com o herbicida imazethapyr. (MATZENBACHER, 2012).

Analisando-se a variável MMSPA, observou-se que a aplicação de clethodim precedida da aplicação de PBO resultou em menor massa seca, em comparação aos demais tratamentos para o biótipo COQ 8 (tab.5). Plantas de *E. phyllopogon* tratadas previamente com inibidor do cyt-P450, apresentaram aumento no controle e menor massa da matéria fresca em relação às plantas tratadas apenas com penoxsulam, sugerindo possível envolvimento da metabolização como mecanismo de resistência (YASUOR et al., 2009).

Algumas culturas e plantas daninhas possuem capacidade de metabolizar herbicidas por meio de sistemas enzimáticos, os quais são compostos principalmente por cinco famílias de proteínas: arylacilamidases (AAAs), citocromo

P450 monooxygenase (cyt P450), glutathione-S-transferase (GSTs), glycosyltransferase e transportadores ABC (“ATP binding cassette”) (YUAN; TRANEL; STEWART, 2007). Dentre esses sistemas enzimáticos, cyt-P450 e GSTs possuem maior importância para metabolização de herbicidas como causa da resistência. Contudo, a expressão dessas enzimas que conferem resistência por processo de metabolização pode ser influenciada por fatores ambientais ou até mesmo epigenético, o que não resultaria na passagem desta característica para progênie (MILDER; READE; COOB, 2007; GRESSEL, 2009).

O complexo cyt-P450 é uma superfamília de oxigenases, formando a maior classe enzimática vegetal. É compreendido por centenas de proteínas P450 presentes na maioria das plantas (WERCK-REICHHART; HEHN; DIDIERJEAN, 2000). Desempenha papel importante no metabolismo de diversas substâncias, atuando na oxidação de xenobióticos e promovendo a desintoxicação do organismo (SCHULER; WERCK-REICHHART, 2003; ZHU et al., 2008).

Os biótipos de *Lolium multiflorum* avaliados apresentam alterações quanto ao metabolismo que podem explicar o mecanismo de resistência ao herbicida clethodim observada em lavouras do RS. O aumento de controle e redução da MMSPA observado no biótipo resistente, quando aplicado o clethodim em sucessão ao inibidor PBO comparado à aplicação do herbicida de forma isolada, indica que a resistência desses biótipos ao herbicida inibidor da ACCase (clethodim) deve-se ao aumento da atividade de isoenzimas P450 (YU et al., 2009). No entanto, outros estudos relativos à metabolização devem ser realizados visando à confirmação mais concreta dos resultados com a utilização de outros inibidores do cyt-P450, pois diferentes inibidores atuam na inibição de distintas isoenzimas P450 (LETOUZE; GASQUEZ, 2001) e até mesmo trabalhos relacionados com a quantificação de metabólitos do herbicida.

4.3.2 Controle alternativo de biótipos resistentes ao herbicida clethodim

O teste de Shapiro-Wilk demonstrou não ser necessária a transformação dos dados. Para este experimento, evidenciou haver diferenças de controle da população de azevém a campo entre os herbicidas testados. Em todas as avaliações realizadas (14, 21 e 28 DAT), somente a aplicação de duas vezes a dose de paraquat proporcionou controle de 90% ou mais (tab.6).

Tabela 6 - Controle (%) aos 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos, de biótipos de *Lolium multiflorum* com 5 a 6 afilhos, suspeitos de resistência ao clethodim, em resposta à aplicação de diferentes herbicidas. Coqueiros do Sul/RS 2013.

Tratamentos	Dose g i.a. ha ⁻¹	Eficiência controle (%)		
		14 DAT	21 DAT	28 DAT
Testemunha	-----	0 m ¹	0 l	0 j
Nicosulfuron 1x	60	15 g	20 h	26 gh
Nicosulfuron 2x	120	15 g	24 g	30 fg
Paraquat 1x	400	80 c	80 c	74 b
Paraquat 2x	800	90 a	90 a	91 a
Amônio-glufosinato 1x	600	60 d	50 e	65 c
Amônio-glufosinato 2x	1200	85 b	84 b	81 b
Iodosulfuron-metílico 1x	6	7 j	5 j	18 hj
Iodosulfuron-metílico 2x	12	15 g	15 i	13 i
Clomazone 1x	750	13 h	15 i	19 hi
Clomazone 2x	1500	20 f	25 g	28 g
Tembotrione 1x	100	5 l	0 l	1 j
Tembotrione 2x	200	9 i	0 l	2 j
Clethodim 1x	144	16 g	50 e	44 de
Clethodim 2x	288	21 e	60 d	51 d
Haloxifop-methyl 1x	60	10 i	25 g	30 fg
Haloxifop-methyl 2x	120	20 f	45 f	38 ef
C.V. (%)	-----	3,21	3,6	13,36

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Duncan (p≤0,05).

No entanto, paraquat na dose de registro, aos 14 e 21 DAT, e amônio-glufosinato, no dobro da dose, em todas as avaliações, proporcionaram níveis de controle acima de 80%, que apesar de estar aquém do ideal de controle é considerado viável, podendo ser registrado para controle da espécie (MAPA, 2011). O menor controle obtido pelos demais herbicidas deve-se a três fatores: avançado estágio de desenvolvimento das plantas; tradicional baixa eficiência dos herbicidas;

e o fato da resistência ser confirmado. Apesar do estágio avançado, o herbicida clethodim, tradicionalmente, controla facilmente o azevém independente do estágio vegetativo e deveria ter proporcionado controle satisfatório. Populações de azevém resistentes ao glyphosate foram controladas em mais de 90% com os herbicidas clethodim e haloxifop-methyl e controle de 100% por amônio-glufosinato e paraquat (ROMAN et al., 2004; VARGAS et al., 2004).

Os herbicidas iodosulfuron-metílico e nicosulfuron possuem ação sobre azevém, proporcionando controle de até 100% quando aplicado em pós-emergência das culturas do trigo e milho, respectivamente em estágio de 1 a 2 afilhos (SANTOS, 2012; MORAES et al., 2013; AGROFIT, 2014). No entanto, neste trabalho sua eficiência foi baixa, sugerindo que possa haver biótipos resistentes também a este herbicida, uma vez que já há relatos de azevém resistente ao iodosulfuron-metílico no RS (tab.6) (HEAP, 2014).

O amônio-glufosinato pode ser uma alternativa para o controle de azevém em pós-emergência da cultura do milho, haja vista que existem genótipos geneticamente modificados disponíveis no mercado com característica de resistência a este herbicida. Os demais tratamentos foram testados com o intuito de avaliar possíveis herbicidas com mecanismo de ação alternativos com ação sobre azevém, como no caso de clomazone e tembotrione, apesar da conhecida limitação, principalmente em função do estágio de aplicação. O fato da aplicação do clomazone ter sido realizada em pós-emergência pode ser a causa da menor eficiência deste herbicida, uma vez que possui maior eficiência quando aplicado em pré-emergência (tab.6). Outros herbicidas pré-emergentes com indicação para controle de *Lolium multiflorum* são alachlor, acetolachlor, trifluralin e pendimethalin (AGROFIT, 2014). O uso de herbicidas com efeito residual é estratégia eficiente recomendada para o manejo de plantas daninhas resistentes, principalmente por possuírem mecanismos de ação distintos (OWEN et al., 2011).

Embora o controle de plantas daninhas em pré-emergência das culturas do trigo e milho seja realizado quase que exclusivamente com glyphosate e clethodim, devem-se usar práticas para evitar o surgimento de novos casos de resistência a estes herbicidas, que podem em casos extremos inviabilizar a produção dessas culturas. Portanto, a preocupação com as falhas de controle de *Lolium multiflorum* é pertinente, e os resultados deste experimento indicam que as falhas de controle em áreas tratadas com o herbicida clethodim se devem à resistência. É recomendável

que os produtores utilizem alternativas de controle envolvendo a aplicação de herbicidas alternativos, a fim de mitigar a evolução da resistência de azevém ao clethodim e, além disso, o uso de culturas com resistência a outros herbicidas aliado à rotação de culturas e de mecanismo de ação herbicida, com culturas como o milho resistente ao amônio-glufosinato.

4.4 Conclusões

A aplicação de PBO reverte a insensibilidade do biótipo de azevém COQ 8 ao herbicida clethodim, indicando que o metabolismo é a provável causa das falhas de controle observadas a campo;

O herbicida paraquat e amônio-glufosinato são alternativas eficientes ao herbicida clethodim para controle de *Lolium multiflorum*.

5 CONCLUSÕES

Os 152 biótipos testados não apresentam resistência ao herbicida clethodim, no entanto, os biótipos AGS 02, AGS 03, COQ 02, COQ 05, DAC 02, ERS 01, ESP 01, IBR 01, PAN 01, PEJ 03, SCR 01, TAQ 01, TPO 01 e VLA 01 apresentam menor suscetibilidade, não sendo controlados com a aplicação da metade da máxima dose de registro de clethodim para o controle de azevém. Já os biótipos COQ 6 e COQ 7 que sobreviveram a aplicações a campo, são resistentes ao herbicida clethodim; que o FR para os biótipos COQ 6 e COQ 7 é 28,4 e 29,5, respectivamente; e que a redução de 50% da matéria seca desses biótipos ocorre com as doses 540 e 575 vezes maior do que aquela necessária para o biótipo suscetível.

A aplicação de PBO reverte a insensibilidade do biótipo de azevém COQ 8 ao herbicida clethodim, indicando que o metabolismo é a provável causa das falhas de controle observadas a campo.

O herbicida paraquat e amônio-glufosinato são alternativas eficientes ao herbicida clethodim para controle de *Lolium multiflorum*.

6 REFERÊNCIAS

- AGROFIT**. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 09 jan. 2015.
- AHMAD-HAMDANI, M.S.; YU, Q.; HAN, H.; CAWTHRAY, G.R.; WANG, S.F.; POWLES, S.B. Herbicide resistance endowed by enhanced rates of herbicide metabolism in wild oat (*Avena* spp.), **Weed Science**, v.61, p.55-62, 2013.
- ANDERSON, M.P.; GRONWALD, J.W. Atrazine resistance in a velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) biotype due to enhanced glutathione S-transferase activity. **Plant Physiology**, v.96, p.104-109, 1991.
- BAKKALI, Y.; RUIZ-SANTAELLA, J.P.; OSUNA, M.D.; WAGNER, J.; FISCHER, A.J.; PRADO, R.D. Late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*): mechanisms involved in the resistance to fenoxaprop-p-ethyl. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.55, p.4052-4058, 2007.
- BALBINOT JR., A.A.; MORAES, A.; BACKES, R. L. Efeito de coberturas de inverno e sua época de manejo sobre a infestação de plantas daninhas na cultura de milho. **Planta Daninha**, v.25, p.473-480, 2007.
- BARBAGALLO, R.P.; OXBOROUGH, K.; PALLET, K.E.; BAKER, N.R. Rapid, Noninvasive Screening for Perturbations of Metabolism and Plant Growth Using Chlorophyll Fluorescence Imaging. **Plant Physiology**, v.132, p.495-493, 2003.
- BECKIE, H.J.; REBOUD, X. Selecting for weed resistance: herbicide rotation and mixture. **Weed Technology**, v.23, p.363-370, 2009.
- BECKIE, H.J.; WARWICK, C.A.; SAUDER, C.C. Acetolactate synthase inhibitor-resistant false cleavers (*Galium spurium*) in Western Canada. **Weed Technology**, v.26, p.151-155, 2012.
- BOURGEOIS, L.; KENKEL, N.C.; MORRISON, I.N. Characterization of cross-resistance patterns in acetyl-CoA carboxylase inhibitor resistant wild oat (*Avena fatua*). **Weed Science**, v.45, p.750-755, 1997.
- BRUCE, T.J.A.; MATTHES, M.C.; NAPIER, J.A.; PICKETT, J.A. Stressful “memories” of plants: evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, v.173, p.603-608, 2007.

BURGOS, N.R.; TRANEL, P.J.; STREIBIG, J.C.; DAVIS, V.M.; SHANER, D.; NORSWORTHY, J.K.; RITZ, C. Review: Confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. **Weed Science**, v.61, p.4-20, 2013.

BURNET, M.W.M.; LOVEYS, B.R.; HOLTUM, J.A.M.; POWLES, S.B. A mechanism of chlorotoluron resistance in *Lolium rigidum*. **Planta**, v.190, p.182-189, 1993a.

BURNET, M.W.M.; LOVEYS, B.R.; HOLTUM, J.A.M.; POWLES, S.B. Increased detoxification is a mechanism of simazine resistance in *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v.46, p.207-218, 1993b.

BURTON, J.D. Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology. **Van Diemestraat**, v.94, p.187-205, 1997.

BUSI, R.; VILA-AIUB, M.M.; POWLES, S.B. Genetic control of a cytochrome P450 metabolism-based herbicide resistance mechanism in *Lolium rigidum*. **Heredity**, v.1, p.1-8, 2010.

BUSI, R.; NEVE, P.; POWLES, S. Evolved polygenic herbicide resistance in *Lolium rigidum* by low-dose herbicide selection within standing genetic variation. **Evolutionary Applications**, v.6, p.231-242, 2012.

CHHOKAR, R. R.; SINGH, S.; SHARMA, R. K. Herbicides for control of isoproturon-resistant Littleseed Canarygrass (*Phalaris minor*) in wheat. **Crop Protection**, v.21, p.719-726, 2008.

CHRISTENSEN, M.G.; TEICHER, H.B.; STREIBIG, J.C. Linking fluorescence induction curve and biomass in herbicide screening. **Pest Management Science**, v.59, p.1303-1310, 2003.

CHRISTOFFERS, M.J.; PEDERSON, S.N.; Response of wild oat (*Avena fatua*) acetyl-coA carboxylase mutants to pinoxaden. **Weed Science Society of American Abstract**, n.256, 2007.

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

CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F. Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.21, p.507-515, 2003.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Eds) **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Piracicaba: HRAC-BR (3ed.), 2008. p.9-53.

COCKER, D.J.; NORTHCROFT, D.S.; COLEMAN, J.O.D.; MOSS, S.R. Resistance to ACCase-inhibiting herbicides and isoproturon in UK populations of *Lolium multiflorum*: mechanisms of resistance and implications for control. **Pest Management Science**, v.57, p.587-597, 2001.

COUPLAND, D.; LUTMAN, P.J.W.; HEATH, C. Uptake, translocation, and metabolism of mecoprop in a sensitive and resistant biotype of *Stellaria media*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.36, p.61-67, 1990.

COX, R. D.; ALLEN, E.B. Stability of exotic annual grasses following restoration efforts in southern California coastal sage shrub. **Journal of Applied Ecology**, v.45, p.495-504, 2008.

CRUZ-HIPOLITO, H.; DOMINGUEZ-VALENZUELA, J.A.; OSUNA, M.D.; DE PRADO, R. Resistance mechanism to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides in *Phalaris paradoxa* collected in Mexican wheat fields. **Plant Soil**, v.355, p.121-130, 2012.

CUMMINS, I.; WORTLEY, D.J.; SABBADIN, F.; HE, Z.; COXON, C.R.; STRAKER, H.E. Key role for a glutathione transferase in multiple-herbicide resistance in grass weeds. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.110, p.5812-5817, 2013.

DE PRADO, R.; LOPEZ-MARTINEZ, N.; GONZALEZ-GUTIERREZ, J. Identification of two mechanisms of atrazine resistance in *Setaria faberi* and *Setaria viridis* biotypes. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.67, p.114-124, 2000.

DÉLYE, C.; WANG, T.Y.; DARMENCY, H. An isoleucine-leucine substitution in chloroplastic acetyl-CoA carboxylase from green foxtail (*Setaria viridis* L. Beauv.) is responsible for resistance to the cyclohexanedione herbicide sethoxydim. **Planta**, v.214, p.421-427, 2002.

DÉLYE, C. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update. **Weed Science**, v.53, p.728-746, 2005.

DÉLYE, C.; ZHANG, X.Q.; MICHEL, S.; MATÉJICEK, A.; POWLES, S.B. Molecular bases for sensitivity to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in black-grass. **Plant Physiology**, v.137, p.794-806, 2005.

DÉLYE, C.; MATÉJICEK, A.; MICHEL, S. Cross-resistance pattern to ACCase-inhibiting herbicide conferred by mutant ACCase isoforms in *Alopecurus myosuroides* Huds. (black-grass) re-examined at the recommended herbicide field rate. **Pest Management Science**, v.64, p.1179-1186, 2008.

DEVINE, M.D. Mechanisms of resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: a review. **Pesticide Science**, v.51, p.259-264, 1997.

DEVINE, M.D.; SHIMABUKURO, R.H. Resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides. **Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry**. Editora Lewis, 1997, 169 p.

FEYEREISEN, R. Insect P450 enzymes. **Annual Review of Entomology**, v.44, p. 507-533, 1999.

FILGUEIRAS, T.S.; LONGHI-WAGNER, H.M.; VIANA, P.L.; ZANIN, A.; OLIVEIRA, R.C. DE; CANTO-DOROW, T.S.; SHIRASUNA, R.T.; VALLS, J.F.M.; OLIVEIRA, R.P.; RODRIGUES, R.S.; SANTOS-GONÇALVES, A.P.; WELKER, C.A.D.;

FERREIRA, F.M.; CARVALHO, M.L.S.; SILVA, A.S.; REIS, P.A.; DÓREA, M.C.; SILVA, C.; MOTA, A.C. *Poaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobra-sil/FB193>>. Acesso em: 18 Mar. 2014

FONTANA, Lisiane Camponogara. **Identificação de espécies, suscetibilidade a herbicidas e habilidade competitiva de milhã (*Digitaria* spp.) no Estado do Rio Grande do Sul**. 2011. 125f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

FRAGA, M.I.; TASENDE, M.G.; Mechanisms of resistance to simazine in *Sonchus oleraceus*. **Weed Research**, v. 43, p.333-340, 2003.

FRANS, R.; TALBERT, R.; MARX, D.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. In: CAMPER, N.D. (Ed.) **Research methods in weed science**. 3 ed. Champaign: Southern Weed Science Society, 1986. 37p.

GAZZIERO, D.L.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; VARGAS, L.; KRUSE, N.D.; GALLI, A.J.B.; TREZZI, M.M. Critérios para relatos oficiais estatísticos de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas. In: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. (Eds.) **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Passo Fundo: Berthier, 2009. p.91-101.

GEOLIVRE. Mapas temáticos RS. Disponível em: <<http://www.geolivres.gov.br>>. Acesso em: 17 set. 2011.

GRESSEL, J. Envolving understanding of the evolution of herbicide resistance. **Pest Management Science**, v.65, p.1164-1173, 2009.

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

HARTWIG, I.; BERTAN, I.; GALON, L.; NOLDIN, J.A.; CONCENÇO, G.; SILVA, A.F.; ASPIAZÚ, I.; FERREIRA, E.A. Tolerância de trigo (*Triticum aestivum*) e aveia (*Avena* sp.) a herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS). **Planta Daninha**, v.26, p.361-368, 2008.

HARWOOD, J.L. Fatty-acid metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.39, p.101-138, 1988.

HARWOOD, J.L. Recent advances in the biosynthesis of plant fatty acids. **Biochimica Et Biophysica Acta-Lipids and Lipid Metabolism**, v.1301, p.7-56, 1996.

HEAP, I.; KNIGHT, R. The occurrence of herbicide cross-resistance in a population of annual ryegrass, *Lolium rigidum*, resistant to diclofop-methyl. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.37, p.149-156, 1986.

HEAP, I. **Internacional survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: <www.weedscience.org>. Acesso em: 13 jan 2015.

HIDAYAT, I.; PRESTON, C. Cross-resistance to imazethapyr in a fluazifop-P-butyl-resistant population of *Digitaria sanguinalis*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.71, p.190-195, 2001.

HOCHBERG, O.; SIBONY, M.; RUBIN, B. The response of ACCase-resistant *Phalaris paradoxa* populations involves two different target site mutations. **Weed Research**, v.48, p.37-46, 2009.

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, p.989-995, 2006.

HUANGFU, C.; SONG, X.; QIANG, S. Morphological disparities in the epidermal and anatomical features of the leaf among wild *Brassica juncea* populations. **Weed Biology and Management**, v.9, p.234-242, 2009.

HUGH, J. B. Herbicide-Resistant Weeds: Management Tactics and Practices. **Weed Technology**, v.20, p.793-814, 2006.

JASIENIUK, M.; BRULÉ-BABEL, A.L.; MORRISON, I.N. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. **Weed Science**, v.44, p.176-193, 1996.

JOHNSON, W.G.; GIBSON, K.D. Glyphosate-resistant weeds and resistance management strategies: an Indiana grower perspective. **Weed Technology**, v.20, p.768-772, 2006.

KAUNDUN, S.S. An aspartate to glycine change in the carboxyl transferase domain of acetyl CoA carboxylase is in part associated with resistance to ACCase inhibitor herbicides in a *Lolium multiflorum* population. **Pest Management Science**, v.66, p.1249-1256, 2010.

KAUNDUN, S.S.; BAILLY, G.C.; DALE, R.P.; HUTCHINGS, S.J.; MCINDOE, E.A. Novel W1999S mutation and non-target site resistance impact on acetyl-CoA carboxylase inhibiting herbicides to varying degrees in a UK *Lolium multiflorum* population. *Plus one*, v.8, p.58012, 2013.

KISSMANN, K.G. **Resistência de plantas a herbicidas**. São Paulo: Basf Brasileira, 1996. 33p.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. Tomo II. 2.ed. São Paulo: Basf Brasileira, 1999. 978p.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. TOMO I. 3ª Ed. São Paulo: Basf Brasileira S. A., 2007. CD-ROM.

KREUZ, K.K.; TOMMASINI, R. Old enzyme for a new job. **Plant Physiology**, v.111, p.394-353, 1996.

KUK, Y. I.; BURGOS, N. R.; SCOTT, S. C. Resistance Profile of Diclofop-Resistant Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum*) to ACCase- and ALS-Inhibiting Herbicides in Arkansas, USA. **Weed Science**, v.56, p.614-623, 2008.

LAZAROTO, C. A.; FLECK, N. G.; VIDAL, R. A. Biologia e ecofisiologia de buva (*Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*). **Ciência Rural**, v.38, p.852-860, 2008.

LETOUZÉ, A.; GASQUEZ, J. Inheritance of fenoxaprop-P-ethyl resistance in a blackgrass (*Alopecurus myosuroides*) population. **Theory and Applied Genetics**, v.103, p.288-296, 2001.

LETOUZÉ, A.; GASQUEZ, J. Enhanced activity of several herbicide-degrading enzymes: a suggested mechanism responsible for multiple resistance in blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Hud.). **Agronomie**, v.23, p.601-608, 2003.

LIU, W.J.; HARRISON, D.K.; CHALUPSKA, D.; GORNICKI, P.; O'DONNELL, C.C. Single-site mutations in the carboxyl transferase domain of plastid acetyl-CoA carboxylase confer resistance to grass-specific herbicides. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.104, p.3627-3632, 2007.

LÓPEZ-OVEJERO, Ramiro Fernando. **Resistência de populações da planta daninha *Digitaria ciliaris* a herbicidas inibidores da acetil coenzima A carboxilase (ACCase)**. 2006. 102f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo.

MANALIL, S.; BUSI, R.; RENTON, M.; POWLES, S.B. Rapid evolution of herbicide resistance by low herbicides dosages. **Weed Science**, v.59, p.210-217, 2011.

MATZENBACHER, Felipe de Oliveira. **Caracterização e controle de capim-arroz (*Echinochloa crus-galli*) resistente aos herbicidas do grupo das imidazolinonas e quinclorac em arroz irrigado**. 2012. 212f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – **AGROFIT Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/ap_produto_form_detalhe_cons?p_id_produto_formulado_tecnico=7714&p_tipo_janela=NEW. Acesso em: 10 dez.2014.

MAXWELL, B.D.; MORTIMER, A.M. Selection for herbicide resistance. In: POWLES, S.B e HOLTUM, J.A.M. Herbicide resistance in plants: biology and biology and biochemistry. **Boca Raton**, p.1-25, 1994.

MENEECHOTE, C.; PRESTON, C.; POWLES, S.B. A diclofop-methyl-resistant *Avena sterilis* biotype with a herbicide-resistant acetyl-coenzyme A carboxylase and enhanced metabolism of diclofop-methyl. **Pesticide Science**, v.49, p.105-114, 1997.

MILDER, L.J.; READE, J.P.H.; COOB, A.H. The effect of temperature on glutathione-S-Transferase activity and glutathione content in *Alopecurus myosuroides* (blackgrass) biotypes susceptible and resistant to herbicides. **Weed Research**, v.47, p.106-112, 2007.

MORAES, P.V.D.; AGOSTINETTO, D.; PANOZZO, L.E.; OLIVEIRA, C.; VIGNOLO, G.K.; MARKUS, C. Manejo de plantas de cobertura no controle de plantas daninhas

e desempenho produtivo da cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, p.497-508, 2013.

MOSS, S.R.; CUSSANS, G.W. Variability in the susceptibility of *Alopecurus myosuroides* (black-grass) to chlortoluron and isoproturon. **Aspects of Applied Biology**, v.9, p.91-98, 1985.

MOSS, S.R.; COCKER, K.M.; BROWN, A.C.; HALL, L.; FIELD, L.M. Characterization of target-site resistance to ACCase-inhibiting herbicides in the weed *Alopecurus myosuroides* (black-grass). **Pest Management Science**, v.59, p.190-201, 2003.

MUELLER, T.C.; MITCHELL, P.D.; YOUNG, B.G.; CULPEPPER, A.S. Proactive versus reactive management of glyphosate-resistant or – tolerant weeds. **Weed Technology**, v.19, p.924-933, 2005.

NEVE P.; POWLES S.B. Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. **Theoretic and Applied Genetics**, v.110, p.1154–1166, 2005a.

NEVE, P.; POWLES, S.B. High survival frequencies at low herbicide use rates in populations of *Lolium rigidum* result in rapid evolution of herbicide resistance. **Heredity**, v.95, p.485-492, 2005b.

NIKOLAU, B.J.; OHLROGGE, J.B.; WURTELE, E.S. Plant biotin-containing carboxylases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.414, p.211-222, 2003.

NIKOLSKAYA, T.; ZAGNITKO, O.; TEVZADZE, G.; HASELKORN, R.; GORNICKI, P. Herbicide sensitivity determinant of wheat plastid acetyl-CoA carboxylase is located in a 400-amino acid fragment of the carboxyl transferase domain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.96, p.14647-14651, 1999.

NOHATTO, Marcos André. **Resposta de *Euphorbia heterophylla* proveniente de lavouras de soja Roundup Ready® do Rio Grande do Sul ao herbicida glyphosate**. 2010. 76f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

OERKE, E.C. Crop loss to pests. **Journal of Agricultural Science**, v. 144, n. 1, p. 31-43, 2006.

OHLROGGE, J.; BROWSE, J. Lipid biosynthesis. **Plant Cell**, v.7, p.957-970, 1999.

OWEN, M.D.K.; YOUNG, B.G.; SHAW, D.R.; WILSON, R.G.; JORDAN, D.L.; DIXON, P.M.; WELLER, S.C. Benchmark study on glyphosate-resistant crop systems in the United States. Part 2: Perspectives. **Pest Management Science**, v.67, p.747-757, 2011.

OWEN, M. J.; MARTINEZ, N. J.; POWLES, S. B. Multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum* (annual ryegrass) now dominates across the Western Australian grain belt. **Weed Research**, v.54, p.314-324, 2014.

- PARK, K.W.; FANDRICH, L.; MALLORY-SMITH, C.A. Absorption, translocation, and metabolism of propoxycarbazone-sodium in ALS-inhibitor resistant *Bromus tectorum* biotypes. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.79, p.18-24, 2004.
- PEREIRA, M. R. R.; SOUZA, G. S. F.; MARTINS, D.; MELHORANÇA FILHO, A. L.; KLAR, A. E. Respostas de plantas de *Eleusine indica* sob diferentes condições hídricas a herbicidas inibidores da ACCase. **Planta Daninha**, v.29, p.397-404, 2011 .
- PETIT, C.; BAY, G.; PERNIN, F.; DÉLYE, C. Prevalence of cross or multiple resistance to the acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors fenoxaprop, clodinafop and pinoxadem in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) in France. **Pest Management Science**, v.66, p.168-177, 2010.
- POWLES, S.B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review Plant Biology**, v.61, p.317-347, 2010.
- PRESTON, C.; TARDIF, F.J.; CHRISTOPHER, J.T.; POWLES, S.B. Multiple resistance to dissimilar herbicide chemistries in a biotype of *Lolium rigidum* due to enhanced activity of several herbicide degrading enzymes. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.54, p.123-134, 1996.
- PRESTON, C.; POWLES, S.B. Light-dependent enhanced metabolism of chlorotoluron in a substituted urea herbicide-resistant biotype of *Lolium rigidum* Gaud. **Planta**, v.201, p.202-208, 1997.
- RADOSEVICH, S.R.; HOLT, J.; GHERSA, C. **Ecology of weeds and invasive plants**: Relationship to agriculture and natural resource management. 3.ed. John Wiley & Sons, 2007. 454p.
- RODRIGUES, J. D. **Absorção, translocação e modo de ação de defensivos**. Botucatu: UNESP, Instituto de Biociências, 1994. 106 p.
- ROMAN, E. S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M. A.; MATTEI, R. W. Resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.22, p.301-306, 2004.
- ROMAN, E.S. **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação**. Gráfica Editora Berthier, 2007. 160 p.
- SANTOS, JonyCley. **Efeito da época de aplicação de herbicidas sulfoniluréias no controle de azevém anual na cultura do trigo**. 2012. 40f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava.
- SCHULER, M.A.; WERCK-REICHHART, D. Functional genomics of P450s. **Annual Review of Plant Biology**, v.54, p.629-667, 2003.
- SEEFELDT, S.S.; JENSEN, J.E.; FUERST, E.P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, v.9, p.218-227, 1995.
- SIGMAPLOT – **Scientific Graphing Software**.Version 10.0, 2007.

SIMINSZKY, B. Plant cytochrome P450-mediated herbicide metabolism. **Phytochemistry Reviews**, v.5, p.445-458, 2006.

SING, S.; KIRKWOOD, R.C.; MARSHALL, G. Effect of the monooxygenase inhibitor piperonylbutoxide on the herbicidal activity and metabolism of isoproturon in herbicide resistant and susceptible biotypes of *Phalaris minor* and wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.59, p.143-153, 1998.

SHANER, D.L. The impact of glyphosate-tolerant crops on the use of other herbicides and on resistance management. **Pest Management Science**, v.56, p.320-326, 2000.

SHANER, D.L. Lessons learned from the history of herbicide resistance. **Weed Science**, v.62, p.427-431, 2014.

SOUZA, L.S.; VELINI, E.D.; MARTINS, D.; ROSOLEM, C.A. Efeito alelopático de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha**, v.24, n.4, p.657-668, 2006.

STEVENS, P.F. Angiosperm Phylogeny Website. Versão 12, 2012. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>>. Acesso em: 05 jan. 2015.

TARDIF, F.J.; POWLES, S.B. Effect of malathion on resistance to soil-applied herbicides in a population of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). **Weed Science**, v.47, p.258-261, 1999.

TRANIEL, P.J.; WRIGHT, T.R. Resistance of weeds to ALS inhibiting herbicides: what we have learned? **Weed Science**, v.50, p.700-712, 2002.

TREZZI, M.M.; VIDAL, R.A. Potencial de utilização de cobertura vegetal de sorgo e milho na supressão de plantas daninhas em condição de campo: II Efeitos da cobertura morta. **Planta Daninha**, v.22, n.1, p.1-10, 2004.

ULGUIM, André da Rosa. **Resposta de capim pé-de-galinha (*Eleusine spp.*) ao herbicida glyphosate**. 2012. 71f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

USUI, K. Metabolism and selectivity of rice herbicides in plants. **Weed Biology**, v.1, p.137-146, 2001.

VARGAS, L.; ROMAN, E.S.; RIZZARDI, M.A.; SILVA, V.C. Identificação de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) resistentes ao herbicida glyphosate em pomares de maçã. **Planta Daninha**, v.22, p.617-622, 2004.

VARGAS, L.; MORAES, R.M.A.; BERTO, C.M. Herança da resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, p.567-571, 2007.

VARGAS, L.; SILVA, A.A. da.; AGOSTINETTO, D.; GAZZIERO, D. Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas. In: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. (Eds.) **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Passo Fundo: Berthier, 2009. P.09-36.

- VARGAS, L.; GAZZIERO, D. **Seleção de plantas daninhas tolerantes e resistentes ao glyphosate**. Disponível em: <<http://www.agrolink.com.br/downloads/GlifosatoeselecaopeciesCongressomilho.PDF>>. Acesso em: 10 dez. 2009.
- VARGAS, L.; FRAGA, D.S.; AGOSTINETTO, D.; MARIANI, F.; DUARTE, T.V.; SILVA, B.M. Dose-response curves of *Lolium multiflorum* biotypes resistant and susceptible to clethodim. **Planta Daninha**, v.31, p.887-892, 2013.
- VARGAS, L.; NOHATTO, M.A.; AGOSTINETTO, D.; BIANCHI, M.A.; PAULA, J.M.; POLIDORO, E.; TOLEDO, R.E. Práticas de manejo e a resistência de *Euphorbia heterophylla* aos inibidores da ALS e tolerância ao glyphosate no Rio Grande do Sul. **Planta Daninha**, v.31, p.427-432, 2013.
- VERLDHUIS, L.J.; HALL, L.M.; O'DONOVAN, J.T.; DYER, W.; HALL, J.C. Metabolism-based resistance of a wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) biotype to ethametsulfuron-methyl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.2986-2990, 2000.
- VIDAL, R.A.; FLECK, N.G. Análise do risco da ocorrência de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas. **Planta Daninha**, v.15, p.152-161, 1997.
- VIDAL, R. A.; MERROTO JR., A. **Herbicidologia**. Porto Alegre: Evangraf, 2001. 152 p.
- VIDAL, R.A.; PORTES, E.S.; LAMEGO, F.P.; TREZZI, M.M. Resistência de *Eleusine indica* aos herbicidas inibidores da ACCase. **Planta Daninha**, v.24, p.163-171, 2006.
- WANG, H.; LI, J.; LV, B.; LOU, Y.; DONG, L. The role of cytochrome P450 monooxygenase in the different responses to fenoxaprop-P-ethyl in annual bluegrass (*Poa annua* L.) and short awned foxtail (*Alopecurus aequalis* Sobol.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.107, p.334-342, 2013.
- WERCK-REICHHART, D.; HEHN, A.; DIDIERJEAN, L. Cytochromes P450 for engineering herbicide tolerance. *Trends in Plant Science*, v.5, p.116-122, 2000.
- WHITE, G.M.; MOSS, S.R.; KARP, A. Differences in the molecular basis of resistance to the cyclohexanedione herbicide sethoxydim in *Lolium multiflorum*, **Weed Research**, v.45, p.440-448, 2005.
- XIA, X.J.; HUANG, Y.Y.; WANG, L.; HUANG, L.F.; YU, L.Y.; ZHOU, Y.H.; YU, J.K. Pesticides-induced depression of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in *Cucumis sativus* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.86, p.42-48, 2006.
- YASUOR, H.; OSUNA, M.D.; ORTIZ, A.; SALDAIN, N.E.; ECKERT, J.W.; FISCHER, A.J. Mechanism of resistance to penoxulam in watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.57, p.3653-3660, 2009.
- YU, Q.; COLLAVO, A.; ZHENG, M.Q.; OWEN, M.; SATTIN, M.; POWLES, S.B. Diversity of acetyl-coenzyme A carboxylase mutations in resistant *Lolium* populations: evaluation using clethodim. **Plant Physiology**, v.145, p.547-558, 2007.

YU, Q.; LI, M.; PURBA, E.; WALSH, M.J.; POWLES, S.B. Resistance evaluation for herbicide resistance-endowing acetolactate synthase (ALS) gene mutations using *Raphanus raphanistrum* populations homozygous for specific ALS mutations. **Weed Research**, v.52, p.178-186, 2012.

YU, Q.; AHMAD-HAMDANI, M.S.; HAN, H.; CHRISTOFFERS, M.J.; POWLES, S.B. Herbicide resistance-endowing ACCase gene mutations in hexaploid wild oat (*Avena fatua*): insights into resistance evolution in a hexaploid species. **Heredity**, v.110, p.220-231, 2013b.

YU, Q.; HAN, H.; CAWTHRAY, G.R.; WANG, S.F.; POWLES, S.B. Enhanced rates of herbicide metabolism in low herbicide-dose selected resistant *Lolium rigidum*. **Plant, Cell and Environment**, v.36, p.818-827, 2013.

YU, Q.; POWLES, S.B. Metabolism-based herbicide resistance and cross-resistance in crop weeds: a threat to herbicide sustainability and global crop production. **Plant Physiology**, v.166, p.1106-1118, 2014.

YU, Q.; POWLES, S.B.; Resistance to AHAS inhibitor herbicides: current understanding. **Pest Management Science**, v.70, p.1340-1350, 2014b.

YUAN, J.S.; TRANEL, P.J.; STEWART, C.N. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, v.12, p.6-13, 2007.

ZAGNITKO, O.; JELENSKA, J.; TEVZADZE, G.; HASELKORN, R.; GORNICKI, P. An isoleucine/leucine residue in the carboxyltransferase domain of acetyl-CoA carboxylase is critical for interaction with aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.98, p.6617-6622, 2001.

ZHANG, X.Q.; POWLES, S.B. The molecular basis for resistance to acetyl coenzyme A carboxylase (ACCase) inhibiting herbicides in two target-based resistant biotypes of annual ryegrass (*Lolium rigidum*). **Planta**, v.223, p.550-557, 2006a.

ZHANG, X.Q.; POWLES, S.B. Six amino acid substitutions in the carboxyl-transferase domain of the plastidic acetyl-CoA carboxylase gene are linked with resistance to herbicides in a *Lolium rigidum* population. **New Phytologist**, v.172, p.636-645, 2006b.

ZHU, J.; PATZOLDT, W.L.; SHEALY, R.T.; VODKIN, L.O.; CLOUGH, S.J.; TRANEL, P.J. Transcriptome response to glyphosate in sensitive and resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.6355-6363, 2008.

VITA

Theodoro Schneider é filho de Rudimar Schneider e Lucia Helena Correa Schneider. Nasceu em 17 de dezembro de 1987, no Município de Cruz Alta, Rio Grande do Sul. Formou-se pelo Colégio Estadual Lúcio Annes Dias em Cruz Alta/RS no ano de 2007. No ano de 2008 ingressou no curso de Agronomia da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), onde se graduou como Engenheiro Agrônomo em 2012. Foi estagiário e bolsista de Iniciação Científica (PIBIC/FAPERGS) na área de manejo de plantas daninhas. Estagiou na Texas A&M University, no departamento de solos e plantas de lavoura. Em 2013, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da FAEM, UFPel, em Capão do Leão/RS.