

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**ÉRIKA CERQUEIRA DA SILVA**

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE POPULAÇÕES DE PLANTAS COM  
EVIDÊNCIAS DE RESISTÊNCIA AO HERBICIDA GLIFOSATO EM  
LAVOURAS CAFEIEIRAS**

**ALEGRE - ES  
2023**

ÉRIKA CERQUEIRA DA SILVA

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE POPULAÇÕES DE PLANTAS DANINHAS  
QUANTO Á RESISTÊNCIA AO HERBICIDA GLIFOSATO EM LAVOURAS  
CAFEEIRAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia para obtenção do título de Mestre.

Orientador Prof. Dr.: Leandro Pin Dalvi

ALEGRE - ES  
2023

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de  
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

S586d Silva, Érika Cerqueira da, 1996-  
Detecção e caracterização de populações de plantas com  
evidências de resistência ao herbicida glifosato em lavouras  
cafeeiras / Érika Cerqueira da Silva. - 2023.  
49 f. : il.

Orientador: Leandro Pin Dalvi.

Coorientadores: Fabio Luiz de Oliveira, Tais Cristina Bastos  
Soares.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal  
do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Plantas - Efeito dos herbicidas. I. Dalvi, Leandro Pin. II.  
Oliveira, Fabio Luiz de. III. Soares, Tais Cristina Bastos. IV.  
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências  
Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 63

---

**ÉRIKA CERQUEIRA DA SILVA**

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE POPULAÇÕES DE PLANTAS DANINHAS  
QUANTO À RESISTÊNCIA AO HERBICIDA GLIFOSATO EM LAVOURAS  
CAFEEIRAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia na área de Produção de Plantas Cultivadas e Nativas

Aprovada em 27 de julho de 2023

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**

Prof. Dr. Leandro Pin Dalvi  
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)  
Orientador



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo

Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por LEANDRO PIN DALVI - SIAPE 1881438

Departamento de Agronomia - DA/CCAEm 27/07/2023 às 16:33

Para verificar assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/759537?tipoArquivo=O>

Prof. Dra. Lilianne Gomes da Silva  
Instituto Federal do Espírito Santo (IFES)

Documento assinado digitalmente



LILIANNE GOMES DA SILVA

Data: 28/07/2023 10:10:11-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Josimar Aleixo da Silva  
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

Documento assinado digitalmente



JOSIMAR ALEIXO DA SILVA

Data: 28/07/2023 19:44:37-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que sempre esteve à frente da minha vida como um escudo de proteção e amparo. Dando-me a oportunidade da vida para realizar meus sonhos.

Agradeço a minha família, que o amor, encorajamento e apoio foram essenciais para superar os desafios. A minha irmã, seu incentivo inabalável foi uma fonte de motivação e inspiração.

A minha mãe que sempre esteve ao meu lado. Sua confiança em mim impulsionou minha determinação e fortaleceu minha convicção de que eu poderia alcançar grandes conquistas.

Ao meu noivo por seu apoio e incentivo. Sua presença constante, encorajamento e palavras de estímulo foram uma fonte de força e motivação inestimáveis. Sou extremamente grata por poder compartilhar minhas conquistas e desafios ao seu lado.

Aos meus queridos amigos, gostaria de aproveitar este momento especial para expressar minha profunda gratidão a cada um de vocês. Sem dúvida, foi a nossa amizade que me deu forças para enfrentar os momentos de dúvida e cansaço, tornando essa jornada mais leve e significativa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Leandro Pin Dalvi, pela orientação, paciência e conhecimentos compartilhados ao longo deste projeto. Desde o início, sua disposição em compartilhar seus conhecimentos e insights foi uma fonte inspiradora.

Também gostaria de agradecer aos membros da banca examinadora, Prof. Dra. Lilianne Gomes da Silva e ao Dr. Josimar Aleixo da Silva, por dedicarem seu tempo para avaliar e fornecer valiosas sugestões e críticas construtivas ao meu trabalho.

Sou imensamente grata a todos os meus colegas de laboratório que contribuíram com discussões, insights e apoio técnico. Suas ideias e perspectivas enriqueceram minha pesquisa. Além disso, expressei minha gratidão às instituições: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Universidade Federal do Espírito Santo pela concessão de bolsa de estudos e apoio financeiro que tornaram possível a realização deste trabalho e por fornecer o ambiente acadêmico propício e recursos necessários para a realização desta dissertação, até mesmo durante a graduação, em que a UFES se tornou minha casa.

A todos os mencionados acima e a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para este trabalho, meu sincero agradecimento. Sei que as palavras jamais serão suficientes para expressar minha profunda gratidão por tudo que vocês representam para mim.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e *há* tempo para todo o propósito *debaixo* do *céu*.”

Eclesiastes 3

## RESUMO

A exportação de café é determinante para a economia do Espírito Santo. Desde a introdução do Glifosato, este herbicida tem sido aplicado repetidas vezes numa mesma área, prática que contribuiu para seleção de biótipos de plantas daninhas resistentes. O objetivo deste trabalho foi detectar e caracterizar plantas daninhas suspeitas de resistência ao Glifosato, que ocorrem em lavouras cafeeiras dos municípios de Vargem Alta e Alegre, e estimar as variáveis estomáticas e variáveis fisiológicas para a discriminação da resistência. Para isso, propágulos das plantas suspeitas de resistência foram coletados em lavouras de café dessas regiões. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, município de Alegre. Foram avaliados seis biótipos de *Digitaria insularis* no delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições, e a parcela experimental constituída por vasos de seis biótipos com cinco aplicações do herbicida. As variáveis estomáticas foram mensuradas 14 dias da aplicação do herbicida (DAA) e as variáveis fisiológicas foram mensuradas aos 30 DAA. O biótipo B6, foi caracterizado como suscetível, apresentando diferenças em razão da maior densidade estomática e maior condutância estomática e por não resistir as doses de glifosato aplicadas, apresentando menores desempenhos quanto aos índices fisiológicos de balanço de nitrogênio, antocianina, flavonoides e clorofila. Já os demais biótipos (B1, B2, B3, B4 e B5) se caracterizaram como resistentes, houve modificações quanto aos índices fisiológicos de balanço de nitrogênio, antocianina, flavonoides e clorofila, porém os biótipos resistiram as doses de glifosato aplicadas, confirmando que a ação do herbicida não refletiu na eficiência de controle.

**Palavras-chaves:** Biotipos. Café. Resistência

## ABSTRACT

Coffee exports are crucial for the economy of Espírito Santo. Since the introduction of Glyphosate, this herbicide has been applied repeatedly in the same area, a practice that has contributed to the selection of resistant weed biotypes. The objective of this work was to detect and characterize weeds suspected of resistance to glyphosate, which occur in coffee crops in the municipalities of Vargem Alta and Alegre, and to estimate the stomatal and physiological variables for resistance discrimination. For this, propagules of plants suspected of resistance were collected from coffee plantations in these regions. The experiment was carried out in a greenhouse at the Center for Agricultural Sciences and Engineering at the Federal University of Espírito Santo, in the municipality of Alegre. Six *Digitaria insularis* biotypes were evaluated in a completely randomized design with 5 replications, and the experimental plot consisted of vases of six biotypes with five herbicide applications. Stomatal variables were measured 14 days after herbicide application (DAA) and physiological variables were measured at 30 DAA. The B6 biotype was characterized as susceptible, presenting differences due to the higher stomatal density and greater stomatal conductance and for not resisting the glyphosate doses applied, presenting lower performances regarding the physiological indices of nitrogen balance, anthocyanin, flavonoids and chlorophyll. The other biotypes (B1, B2, B3, B4 and B5) were characterized as resistant, there were changes regarding the physiological indices of nitrogen, anthocyanin, flavonoids and chlorophyll balance, but the biotypes resisted the doses of glyphosate applied, confirming that the herbicide action did not reflect on control efficiency.

**Keywords:** Biotypes. Coffee. Resistance



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estimativa do índice do balanço de nitrogênio de seis biótipos de <i>Digitaria insularis</i> submetidas a diferentes concentrações de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.....	30
Figura 2 - Estimativa do índice de flavonoides de seis biótipos de <i>Digitaria insularis</i> submetidas a diferentes concentrações de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023. ....	32
Figura 3 - Estimativa do índice de antocianina de seis biótipos de <i>Digitaria insularis</i> submetidas a diferentes concentrações de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023. ....	34
Figura 4 - Estimativa do índice de clorofila de seis biótipos de <i>Digitaria insularis</i> submetidas a diferentes concentrações de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023. ....	36
Figura 5 - Biótipo B5 de <i>Digitaria insularis</i> submetida a 400% da concentração de glifosato, aos 15 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023. ....	37
Figura 6 - Anatomia estomática da folha de <i>Digitaria insularis</i> . A - Detalhe da epiderme foliar, evidenciando os estômatos em fileiras ao longo das nervuras em vista frontal na objetiva de 20x – barra de 1 µm. B - Impressão foliar, destacando em vista frontal na objetiva de 20x – barra de 1 µm. B – Impressão foliar, destacando em vista frontal o estômato (Es) em forma de halteres na objetiva de 40x.....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo da análise de variância e coeficientes de variação dos componentes fisiológicos avaliados: Clorofila, Antocianina, Flavonoides e Balanço de Nitrogênio (NFI) aos 30 dias após aplicação (DAA). Espírito Santo – ES. UFES, 2023.....	28
Tabela 2 - Índice de balanço de nitrogênio para de seis biótipos de <i>Digitaria insularis</i> submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023. ....	31
Tabela 3 - Índice de flavonoides para de seis biótipos de <i>Digitaria insularis</i> submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023. ....	33
Tabela 4 - Índice de antocianina para seis biótipos de <i>Digitaria insularis</i> submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023. ....	35
Tabela 5 - Índice de clorofila para de seis biótipos de <i>Digitaria insularis</i> submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023. ....	37
Tabela 6 - Médias para os seis biótipos de <i>Digitaria insularis</i> submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 15 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.....	40
Tabela 7 - Gráficos de Violino. Variação das características estomáticas para cada biótipo em diferentes concentrações de glifosato. As características de densidade estomática e condutância estomática. Os biótipos são indicados por B1, B2, B3, B4, B5, B6. E as concentrações de glifosato indicadas por: 0%, 50%, 100%, 200% e 400%. ....	43

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	12
2. OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo geral .....	12
2.2 Objetivos específicos .....	12
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1 plantas daninhas.....	13
3.2 Resistência de plantas daninhas.....	14
3.3 Glifosato .....	15
3.4 Efeitos do glifosato .....	16
4. REFERÊNCIAS .....	18
CAPÍTULO 1.....	22
1. INTRODUÇÃO .....	22
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	25
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
4. CONCLUSÃO .....	44
5. REFERÊNCIAS.....	45

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O *Coffea* L., pertence à família Rubiaceae e é originário do continente africano. O gênero compreende mais de cem espécies, destacando-se economicamente *Coffea arábica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex Froehner (KALSCHNE *et al.*, 2018; LEMES, 2005). Entre os estados brasileiros, Minas Gerais é o maior produtor, representando 52,3% do café produzido, seguido por Espírito Santo e São Paulo, com produção de 10,1 milhões (21,3%) e 4,6 milhões de sacas (9,7%), respectivamente.

Com objetivo de melhorar a produção de café, o controle das plantas daninhas é considerado um dos requisitos cruciais para o sucesso na produção. A aplicação de herbicidas tem sido a ferramenta adotada com maior frequência para o controle dessas plantas sendo importantes devido à eficácia, facilidade de utilização e viabilidade de custos (DAVIS e FRISVOLD, 2017). O glifosato, é o herbicida mais consumido no mundo desde que foi introduzido pela primeira vez em meados de 1974, possui ação direta na via do chiquimato, inibindo a síntese de aminoácidos fundamentais para a produção de diversos compostos bioquímicos nas plantas (NELSON, 2008).

A resistência ocorre naturalmente devido a seleção de indivíduos em populações com variabilidade genética (HOLT *et al.* 1993). Diante disso, as daninhas resistentes aos herbicidas são aquelas que sobrevivem quando expostas a doses que seriam letais aos indivíduos suscetíveis, sendo essa uma capacidade natural e herdável de determinados biótipos da mesma espécie (CHRISTOFFOLETI, LÓPEZ-OVEJERO, 2004).

No Brasil, existem diversas espécies de plantas daninhas que acometem as lavouras de café. Uma das principais e que gera inúmeros prejuízos é o capim-amargoso, *Digitaria insularis* (L.) Mez ex Ekman (MACHADO *et al.*, 2006) a espécie citada possui alta incidência nas lavouras de café do Espírito Santo. Logo, a resistência de plantas daninhas aos herbicidas é uma preocupação crescente na agricultura moderna. A *D. insularis*, conhecida como capim-amargoso, é uma espécie de planta daninha de difícil controle que tem apresentado resistência ao herbicida glifosato em diversos locais.

Diversos estudos têm se dedicado a investigar as variações fisiológicas em biótipos de plantas daninhas resistentes ao glifosato. Alguns desses sugerem que o glifosato pode afetar o metabolismo das plantas, levando a alterações nos níveis de compostos bioquímicos

importantes. Para isso, a caracterização de biótipos resistentes pode ser baseada em características estomáticas e fisiológicas. Portanto, esta pesquisa teve como objetivo detectar biótipos resistentes (R) e suscetíveis (S) ao herbicida glifosato, com intuito de entender as relações entre os diferentes grupos de plantas e sua resistência ao glifosato e identificar padrões ou similaridades entre os biótipos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Caracterizar populações de capim-amargoso com potencial de resistência ao mecanismo de ação do Glifosato, provenientes de lavouras cafeeiras do estado do Espírito Santo, a partir de variáveis estomáticas e fisiológicas.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Estimar parâmetros estomáticos e fisiológicos relacionados à resistência ao glifosato em populações de capim-amargoso.
- Avaliação da morfometria estomática de biótipos de capim-amargoso com potencial de resistência Glifosato.
- Estimação de índices fisiológicos potencialmente relacionados à resistência de biótipos de capim-amargoso ao Glifosato.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 plantas daninhas

De acordo com Pitelli (2015) o conjunto de plantas que infestam áreas agrícolas, pecuárias e de outros setores do interesse humano, são conceituadas como daninhas. Plantas que ocupam locais onde por qualquer motivo, a cobertura natural foi extinta e o solo tornou-se total ou parcialmente exposto. Ou seja, as plantas espontâneas ainda podem ser qualquer planta superior que venha interferir no quesito econômico afetando o interesse do homem e do meio ambiente, podendo causar inúmeros prejuízos. Em diversas situações, a presença das plantas daninhas causa mais prejuízos do que pragas ou doenças (PITELLI, 2015)

Desse modo, o controle das plantas daninhas é considerado um dos requisitos cruciais para o sucesso da produção. As daninhas são caracterizadas por causar efeitos negativos para as culturas de interesse econômico, afetando o rendimento e a produtividade agrícola (GEROWITT, 2003). Isso acontece, pois, as plantas daninhas possuem diversas vantagens em relação as culturas, elas conseguem se adaptar a insolação, possuem elevada eficácia de reprodução e de disseminação de seus propágulos e sementes, visto que são facilmente propagados em curta e longa distância. Além disso, possuem alta capacidade de sobrevivência por longos períodos em situações adversas (ARAÚJO *et al.*, 2018).

O crescimento das plantas daninhas junto as culturas interferem no desenvolvimento e produção, pois elas competem diretamente por: luz, água, CO<sub>2</sub> e nutrientes. Sendo esses recursos essenciais para o crescimento das culturas. Os danos causados por essa competição podem variar dependendo da espécie nas lavouras, podem interferir nas fases de crescimento, desenvolvimento e ainda, estimular perdas de 13 a 87% (CHRISTOFFOLETI *et al.*, 2015). Para as lavouras de café do Brasil, a competição com as daninhas promove perdas que podem variar em até 80% da produção do cafeeiro, sendo esse o fator chave de maior preocupação para a produção de café no país (CARVALHO *et al.*, 2013).

Em 2017, cerca de 37 espécies de ervas daninhas evoluíram para resistência ao glifosato, e novas espécies geneticamente resistentes estão sendo relatadas a uma taxa atual de mais de duas novas espécies por ano. (HEAP, 2017). Uma parcela desse aumento de plantas daninhas geneticamente resistentes ocorreu devido ao uso exclusivo do glifosato ano após ano pelos agricultores (DUKE, 2017). O gênero *Digitaria sp.* abrange espécies daninhas geneticamente

resistentes que causam graves problemas, reduzindo a eficácia do manejo das plantas daninhas e aumentando drasticamente o custo do manejo.

### 3.2 Resistência de plantas daninhas

A tecnologia dominante utilizada em todo o mundo para o controle das plantas daninhas que infestam culturas de interesse são os herbicidas. Porém, a partir do seu uso excessivo tem sido relatado diversos exemplos da evolução das populações das ervas resistentes (POWLES; YU 2010). Um ponto chave para a evolução da resistência aos herbicidas é a intensidade dessa seleção que vai ser determinada através da taxa de uso do herbicida em questão, medida em g ha<sup>2</sup>. Isso posto, na situação em que os herbicidas são utilizados na fase ideal do crescimento da planta e nas indicações de taxa dos rótulos, causam mortalidade muito alta (GAINES *et al.*, 2021).

No entanto, em situações em que os herbicidas são usados em taxas errôneas e fora das indicações, não causam a alta mortalidade das plantas daninhas e sim resultam na evolução da resistência aos herbicidas. Dessa forma, a seleção de mutações consideradas raras que podem ser parte da variação genética permanente ou espontaneamente nas populações de plantas daninhas é a causa da resistência a herbicidas (NEVE *et al.*, 2009). Conseqüentemente, a resistência é transferida para as novas populações via pólen ou via movimento de sementes, ao passo que as mutações aumentam em frequência (BECKIE *et al.*, 2019). Por fim, o contexto em volta da resistência a herbicidas demanda de mais pesquisas para compreender as relações de variação genética, mutações e fluxo gênico para entendermos a ocorrência da resistência (GAINES *et al.*, 2021)

A evolução da resistência a herbicidas é grande. Dito isso, em uma ampla gama de plantas daninhas globalmente registradas, existem cerca de 263 espécies resistentes, sendo 152 espécies dicotiledôneas e 111 monocotiledôneas (HEAP, I 2022). Assim, os cinco herbicidas mais utilizados são os que competem com a resistência de maior número de espécies registradas. São eles: glifosato, inibidores da acetolactato sintase, acetil Co-Inibidores da carboxilase, auxinas sintéticas e inibidores do fotossistema II, segundo o Comitê de Ação a Resistência aos Herbicidas (HRAC-BR).

Existem dois mecanismos de resistência ao glifosato, os relacionados ao sítio alvo do herbicida e os que não envolvem vias relacionadas ao sítio alvo (GAINES *et al.*, 2020). Os mecanismos de resistência relacionado ao sítio alvo são específicos para um grupo de sítio de ação e estão associados ao enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintase, mutação, superexpressão

ou amplificação. Outrossim, o mecanismo do sítio não alvo se relaciona a translocação reduzida para o tecido meristemático, que impede que os níveis fitotóxicos do glifosato atinjam o local-alvo (DÉLYE C, 2013). Nesse sentido, o que pode explicar a redução da translocação é o sequestro vacuolar do glifosato ou a redução da captação e exclusão.

Por esse motivo, a evolução dos casos de resistência pode ser explicada por fatores agrupados em genéticos, bioecológicos e agronômicos. Os fatores inerentes às populações de plantas daninhas são classificados em genéticos, a interação entre a planta e o ecossistema em que ela se encontra é responsável pelos fatores bioecológicos e os fatores decorrentes das práticas agrícolas utilizadas no campo são atribuídos aos fatores agronômicos (CHRISTOFFOLETTI; NICOLAI, 2016).

Para compor, a engenharia genética e o melhoramento convencional de plantas permitiram a introdução e comercialização de culturas resistentes a diversos herbicidas (glyphosate; glufosinate; imidazolinonas; etc.) conferindo inúmeras vantagens no controle de plantas daninhas (BONNY, 2016). Entretanto, a utilização de culturas resistentes a herbicidas como um único modo de ação, associado à utilização incorreta dessa tecnologia, causaram o rápido aparecimento de inúmeras plantas daninhas resistentes a estes herbicidas (LOPEZ-OVEJERO *et al.*, 2014).

### 3.3 Glifosato

O glifosato tornou-se o herbicida mais utilizado no mundo desde que foi introduzido pela primeira vez, em meados de 1974. Já em 1995, na Austrália, foi exposto a evolução da resistência ao glifosato pela população de *L. rigidum* e o herbicida foi aplicado repetidamente no campo por mais de 15 anos (BAYLIS, AD., 2000). Desde então, as plantas daninhas resistentes ao glifosato evoluíram junto ao sistema de cultivo, em que as aplicações repetidas de glifosato muitas vezes constituíram a única tática de manejo para as plantas espontâneas.

Utilizado para o controle de plantas daninhas, o glifosato é um herbicida sistêmico não seletivo que contém como ingrediente ativo a presença de N-(fosfometil) glicina. O tipo de sal utilizado (sal de isopropilamina, sal de amônio e sal de potássio) e a concentração de ingrediente ativo são fatores que diferem as formulações de glifosato disponíveis existentes no mercado (BAUR; APONTE, 2014).

Após a absorção pela planta, o glifosato atua inibindo a enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintetase (EPSPS), que produz EPSP de shiquimato-3-fosfato e fosfoenolpiruvato (PEP) na formação do acúmulo de ácido chiquímico. O bloqueio da EPSPS



impede a biossíntese de aminoácidos aromáticos triptofano, tirosina e fenilalanina nas plantas sensíveis, que são essenciais para produção de proteínas (GOMES *et al.*, 2015). Sendo assim, a ação do glifosato se diferencia da ação dos outros herbicidas por ser o único que consegue bloquear a rota enzimática do shiquimato.

É através da parte aérea que ocorre a absorção do glifosato pelas plantas, que atinge seu máximo após 96 horas da aplicação. Para chegar no local-alvo, o herbicida é translocado via simplasto junto aos fotoassimilados das folhas para o tecido meristemático (CRUZ-HIPOLITO *et al.*, 2011). Além disso, ele possui absorção facilitada através dos carreadores de fosfato que se encontram nas membranas celulares. Ao longo de sua entrada na planta, os primeiros sintomas podem ser notados através do amarelecimento das folhas, depois é observado a necrose. Portanto, é observado a morte da planta, variando entre 21 a 28 dias depois da aplicação do glifosato (FERREIRA *et al.*, 2018).

### 3.4 Efeitos do glifosato

As plantas daninhas crescem junto às plantas de interesse econômico, e elas competem por luz solar, água e nutrientes. Dessa forma, os herbicidas agrícolas acabam sendo amplamente utilizados para controlar as daninhas (DILL, 2005). O organofosforado é o herbicida mais utilizado no mundo (BERNAL *et al.*, 2012). Ademais, o glifosato é o organofosforado mais popular, efetivamente utilizado em plantas daninhas, gramíneas anuais e perenes, árvores e arbustos.

No solo, o glifosato é pouco ativo ou até mesmo inativo (CERDEIRA; DUKE 2006). Isso porque após ser adsorvido às partículas do solo ele é digerido por vários microrganismos (PESSAGNO *et al.*, 2008). Para os animais e para as pessoas, o glifosato é seguro, haja visto que seu alvo direto é a enzima 5-enolpiruvil-3-shiquimato fosfato sintase (EPSPS). A enzima EPSPS é base para a vida das plantas, uma vez que é essencial para a formação do corismato componente precursor do ácido salicílico e dos aminoácidos indispensáveis ao desenvolvimento das plantas, sendo eles: fenilalanina, triptofano e tirosina (XU *et al.*, 2003). Para mais, o acúmulo do ácido chiquímico impede o funcionamento como um todo de outras vias bioquímicas por causar a drenagem de carbono (MONACO *et al.*, 2002). Essa rota é responsável por até 30% do carbono fixado pela fotossíntese e até 30% da biomassa seca da planta (MAEDA; DUDAREVA, 2012).

Conseqüentemente, a longa permanência do glifosato nas plantas permite sua interação com nutrientes e metabólitos que servem de drenos para sua translocação, ou ainda permitem

que esse composto seja exsudado para a rizosfera (NEUMANN *et al.*, 2006). Ainda, devido a suas propriedades móveis no floema e sua ação lenta, auxiliam na movimentação do herbicida por toda a planta para matar todos os meristemas. A ação do glifosato afeta inúmeros processos fisiológicos e bioquímicos nas plantas, o que reduz a eficiência da fotossíntese, aumenta a degradação da clorofila, inibe a função da clorofila, a síntese do caroteno, a atividade da redutase do ferro, inibe a transdução e aumenta a oxidação da auxina (GOMES *et al.* 2014).

Então, após a translocação do glifosato ele é distribuído por toda a planta e os efeitos negativos são observados em espécies sensíveis, sendo mudas ou plantas adultas. Com isso, observa-se a clorose foliar e tecidual, redução do crescimento, murcha e a redução da produção de semente. Ou seja, causando toxicidade ou competição entre as espécies, redução do recrutamento e pressão diferencial de herbívoros e micorrizas (BOUTIN *et al.*, 2014).

### **3.5 *Digitaria insularis* (L.) Mez ex Ekman**

O gênero *Digitaria sp.* abrange cerca de 300 espécies de plantas distribuídas em diferentes regiões do mundo (Canto-Dorow, 2001). A *Digitaria insularis* (L.) Mez ex Ekman (MACHADO, et al, 2006) é nativa da América tropical e subtropical e é uma planta daninha, a qual pertence à família das Poaceae (KISSMANN, 1997). Essa espécie é de grande importância para o Brasil, pois infesta culturas anuais e perenes, podendo ser encontrado em pastagens, lavouras de café, pomares, beira de estradas e terrenos baldios.

*D. insularis* é uma espécie de gramínea de ciclo perene, possui metabolismo fotossintético do tipo C4, sua propagação ocorre por sementes e por rizomas (LORENZI, 2000). As sementes são pequenas e possuem uma certa penugem o que aumenta sua porcentagem de germinação e colabora para que o capim amargoso aumente rápido em número (CORREIA; DURIGAN 2009).

A germinação pode ocorrer na ausência ou presença de luz, em temperaturas que variam entre 15 e 35°C, a emergência de plântulas ocorre preferencialmente quando as sementes se encontram em posições mais profundas no solo, entre 1 e 3 cm de profundidade (MARTINS *et al.*, 2009). Após a germinação, a planta se torna rústica, com formação de inúmeros rizomas e com o conjunto destes, a formação de grandes touceiras. Sendo esse o estágio que maior dificulta o manejo de *D. insularis* (PARREIRA *et al.*, 2010).

Em consequência, houve um aumento crescente na dose de glifosato requerida para o controle do capim amargoso. Em algumas culturas de milho, soja, café e laranja as populações de *D. insularis* foram selecionadas e tidas como resistentes ao herbicida e em muitos casos é o único herbicida usado (POWLES, 2008). À vista disso, destaca-se a importância de *D.*

*Insularis*, umas das plantas daninhas do Brasil, pelo fato de ser uma espécie resistente ao glifosato (TIMOSSI, 2009).

#### 4. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, K. C., SILVEIRA JÚNIOR, M. A., FERREIRA, E. A., OLIVEIRA, E. P., FERREIRA, R. L., & LEAL, A. J. F. Crescimento do feijoeiro sob efeito de adubação e competição com plantas daninhas. *Nativa*, Sinop, 6(1), 20-26. 2018.
- BAUR, P.; APONTE, J. Co-penetration of Actives and Adjuvants and Its Significance for the Matched Pair Liaison. American Chemical Society, Washington, v. 246, 2014.
- BAYLIS AD, Porque o glifosato é um herbicida global: pontos fortes, pontos fracos e perspectivas. *Pest Manag Sci* 56: 299 – 308. 2000.
- BECKIE H.J, BUSI R., BAGAVATHIANNAN M.V. and MARTIN S.L, Herbicide resistance gene flow in weeds: under-estimated and under-appreciated. **Agr Ecosyst Environ** 283:106566, 2019.
- BERNAL J, MARTIN MT, SOTO ME, NOZAL MJ, MAROTTI I, DINELLI G, BERNAL JL, Development and application of a liquid chromatography-mass spectrometry method to evaluate the glyphosate and aminomethylphosphonic acid dissipation in maize plants after foliar treatment. **J Agric Food Chem** 60:4017–4025. 2012.
- BONNY, S. Genetically modified herbicide-tolerant crops, weeds, and herbicides: Overview and impact. **Environmental Management**, 57: 31–48, 2016.
- BOUTIN, B. STRANDBERG, D. CARPENTER, S.K. MATHIASSEN, P.J. THOMAS. Herbicide impact on non-target plant reproduction: what are the toxicological and ecological implications? **Environ. Poll.**, 185, pp. 295-306. 2014.
- CARVALHO, L. B., CRUZ-HIPÓLITO, H. E., GONZÁLEZ-TORRALVA, F., ALVES, P. L. C. A., CHRISTOFFOLETI, P. J., De PRADO, R. Detection of sourgrass (*Digitaria insularis*) biotypes resistant to glyphosate in Brazil. *Weed Science*, 59: 171– 176, 2011.
- CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A.; BIANCO, S. Sourgrass densities affecting the initial growth and macronutrient content of coffee plants. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 109–115. **Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**. 2013.
- CERDEIRA AL, DUKE SO. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: a review. **J Environ Qual** 35:1633–1658. 2006.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; DE FIGUEIREDO, M. R. A.; PERES, L. E. P.; NISSEN, S.; GAINES, T. Auxinic herbicides, mechanisms of action, and weed resistance: A look into recent plant science advances. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, 2015.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: termos e definições importantes. In: CHRISTOFFOLETI, P. J.; Nicolai, M. Aspectos da resistência de plantas daninhas a herbicidas. 4. ed. Piracicaba: HRAC. Cap. 1, p. 11-32. 2016.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Definições e situação da resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 2.ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR), p.3-22. 2004.

CORREIA, N. M. and J. C. DURIGAN. Chemical management of adult *Digitaria insularis* with glyphosate alone and mixture with chlorimuron-ethyl or quizalofop-p-tefural in a no-tilled field. **Bragantia** 68:689–697. 2009.

DAVIS, A. S., FRISVOLD, G. Are herbicides a once in a century method of weed control? **Pest Management Science**, 2017.

DÉLYE C, Unravelling the genetic bases of non-target-site-based resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forthcoming decade. **Pest Manag Sci** 69: 176– 187, 2013.

DILL GM. Glyphosate-resistant crops: history, status and future. **Pest Manag Sci** 61:219–224. 2005.

DUKE SO and HEAP I, Evolution of weed resistance to herbicides. What have we learned after 70 years? In Biology, **Physiology and Molecular Biology of Weeds**, ed. by Jugulam M, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 63–86, 2017.

FERREIRA, S. D.; EXTECKOETTER, V.; GIBBERT, A. M.; BARBOSA, J. A.; COSTA, N. V. Biological cycle of susceptible and glyphosate-resistant sourgrass biotypes in two growth periods resistentes. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 36, p. 1–9, 2018.

GAINES TA, BUSI R, KUPPER A. Can new herbicide discovery allow weed management to outpace resistance evolution? **Pest Manag Sci**. Jul;77(7):3036-3041. 2021.

GAINES, T. A., DUKE, S. O., MORRAN S, RIGON CAG, TRANEL PJ, KUPPER., Küpper, A., & Dayan, F. E. Mechanisms of evolved herbicide resistance. *Journal of Biological Chemistry*, 295(30), 10307-10330. 2020.

GEROWITT B. Desenvolvimento e controle de ervas daninhas em sistemas agrícolas aráveis. **Agric Ecosyst Environ** 98:247–254. 2003.

GOMES, G. L. G. C.; CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D.; TRINDADE, M. L. B.; SILVA, J. R. M. Extraction and simultaneous determination of glyphosate, ampa and compounds of the shikimic acid pathway in plants. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 33, n. 2, p. 295–304, 2015.

GOMES, M. P., E. SMEDBOL, A. CHALIFOUR, L. HÉNAULT-ETHIER, M. LABRECQUE, L. LEPAGE, M. LUCOTTE, and P. Juneau. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: An overview. *J. Exp. Bot.* 65: 4691-4703. 2014.

HEAP I, International Survey of Herbicide Resistant Weeds. **International survey of herbicide-resistant weeds**.. Tuesday, June 6, 2017.

HEAP I, The international survey of herbicide resistant weeds. **International survey of herbicide-resistant weeds** Available: [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com). 03 June 2022.

KALSCHNE, D. L.; VIEGAS, M. C.; CONTI, A. J.; CORSO, M. P.; BESSANI, M. T. Steam pressure treatment of defective *Coffea canephora* beans improves the volatile profile and sensory acceptance of roasted coffee blends. **Food Research International**, v. 105, n. August 2017, p. 393–402, 2018.

KISSMANN, K. G. *Digitaria insularis*. Pages 510–513 in K. G. Kissmann, ed. *Plantas Infestantes e Nocivas*, Tomo I. São Paulo: BASF. 1997.

LEMES, L.N. **Período anterior à interferência das plantas daninhas em um cafezal em formação (*Coffea arabica* cv. Rubi)**. 68f. 2005. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 2005.

LOPEZ-OVEJERO, R. F., Ferreira, A. C., Vrivellari, A., Braga, D. P. V. Culturas geneticamente modificadas tolerantes a herbicidas. In: Monquero, P. A. (Ed.) **Aspectos da biologia e manejo de plantas daninhas** (287–306). São Paulo: RiMa Editora, 2014.

LORENZI, H. *Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas*. 3.ed. **Nova Odessa: Plantarum**, 608 p. 2000.

MACHADO, A. F. L, FERREIRA, L.R., FERREIRA, F.A., FIALHO, C. M. T, TUFFISANTOS, L. D, MACHADO, M.S. Análise de crescimento de *Digitaria insularis*. *Planta Daninha* 24:641–647. 2006.

MACHADO, A. F. L, FERREIRA, L.R., FERREIRA, F.A., FIALHO, C. M. T, TUFFISANTOS, L. D, MACHADO, M.S. Análise de crescimento de *Digitaria insularis*. *Planta Daninha* 24:641–647. 2006.

MAEDA, H.; DUDAREVA, N. The Shikimate Pathway and Aromatic Amino Acid Biosynthesis in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 63, 73–105. 2012.

MARTINS J.F., BALDAN E.F., DALAZEN G., ROCHA E.S., MARTINS E.M.F. Efeito da profundidade de semeadura na emergência do capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Fedde). In: Congresso de Iniciação Científica da UNESP (CIC), 21., São José do Rio Preto, SP, 2009. São José do Rio Preto: UNESP. 2009.

MONACO, T.J.; WELLER, S.C.; ASHTON, F.M. **Weed Science: Principles and Practices**, 4th ed.; John Wiley & Sons: New York, NY, USA, 2002.

NELSON S. Glyphosate injury to coffee plants. Honolulu (HI): University of Hawaii. 5 p. (Plant Disease; PD-56). 2008.

NEUMANN, G.; KOHLS, S.; LANDSBERG, E.; STOCK-OLIVEIRA, K. S.; YAMADA, T.; RÖMHELD, V. Relevance of glyphosate transfer to non-target plants via the rhizosphere. *J. Plant Dis. Protect. Special Issue*, v. 20, p. 963-969, 2006.

NEVE P, VILA-AIUB M and Roux F, Evolutionary thinking in agricultural weed management. **New Phytol** 184:783–793, 2009.

PARREIRA, M. C., ALVES, P. L. C. A., MARTINS, D., & CHRISTOFFOLETI, P. J. Manejo químico de *Digitaria insularis* em área de plantio direto. *Revista Brasileira Ciências Agrárias*, 5(1), 13-17. 2010.

PESSAGNO RC, TORREZ SANCHEZ RM, dos SANTOS AFONSO M. Glyphosate behavior at soil and mineral-water interfaces. **Environ Pollut** (Barking, Essex: 1987) 153:53–59. 2008.

PITELLI, R. A. **O TERMO PLANTA-DANINHA**. *Planta Daninha*, v. 33, n. 3, p. 622– 623, 2015.

POWLES S. B., YU, Q. **Evolution in action: plant resistance to herbicides**. *Annual Review of Plant Biology*, 61: 317–347, 2010.

TIMOSSI, P. C. Management of *Digitaria insularis* sprouts under no-till corn cultivation. **Planta Daninha** 27:175–179. 2009.

XU, J., LI, S., WANG, X., LI, H., & CHENG, Q. The first intron of rice EPSP synthase enhances expression of foreign gene. *Science in China Series C: Life Sciences*, 46(6), 561-569. 2003.

## CAPÍTULO 1

### 1. INTRODUÇÃO

Segundo a organização internacional do Café (2022), a produção global de 2022/2023 mantém a projeção de 171,1 milhões de sacas de 60 kg. A vista disso, o café é um importante commodity e alavanca a economia de muitos países. Entre os estados brasileiros, Minas Gerais é o maior produtor, representando 52,3% do café produzido, seguido por Espírito Santo e São Paulo, com produção de 10,1 milhões (21,3%) e 4,6 milhões de sacas (9,7%), respectivamente. Contudo, o Espírito Santo se destaca ocupando a primeira posição na produção de café conilon (*Coffea canephora*) (PEDEAG 3, 2016; SILVA *et al.*, 2017). O *Coffea* L., pertence à família Rubiaceae e é originário do continente africano. Também, o gênero compreende mais de cem espécies, destacando se economicamente *Coffea arábica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex Froehner (KALSCHNE *et al.*, 2018; LEMES, 2005), sendo as duas espécies estudadas no presente estudo.

Para aprimorar a produção de café, o controle das plantas daninhas é considerado um dos requisitos cruciais para o sucesso na produção (GEROWITT, 2003). O capim-amargoso atualmente é considerado uma das principais plantas daninhas do país principalmente devido sua distribuição, a espécie se encontra presente em praticamente todas as regiões produtoras do Brasil (LOPEZ-OVEJERO *et al.* 2017). A *D. insularis* possui folhas estreitas, colmos e panículas características da família *poaceae*. São plantas perenes que formam touceiras de 0,5m a 1,5m, acumulando perfilhos emitidos em diferentes épocas, que tendem a produzir flores. Cada planta pode produzir, em média, entre 6,5 a 50 mil sementes, que podem germinar o ano todo, sendo o período mais favorável de fevereiro a maio (LACERDA, 2003).

Existem alguns mecanismos que conferem resistência a essa planta, esses mecanismos estão associados a absorção lenta do glifosato pelo biótipo resistente, assim como com a rápida metabolização do glifosato (DA SILVA *et al.*, 2013). A resistência é um evento natural que ocorre espontaneamente nas populações, assim, é potencializada a presença de indivíduos resistentes que antes eram encontrados em baixas frequências. Além disso, a resistência é um fenômeno que pode interferir nas práticas agronômicas de manejo de plantas daninhas (CHRISTOFFOLETI; LOPEZ-OVEJERO, 2008). A associação de característica da planta unido a utilização sucessiva do herbicida glifosato foram os responsáveis pelo aparecimento de biótipos de *D. insularis* resistentes a glifosato.

O glifosato é um potente herbicida de pós-emergência, não seletivo, possui vasto espectro de ação, em que é capaz de controlar plantas daninhas anuais ou perenes, sendo essas folhas largas ou estreitas (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005). O modo de ação do herbicida ocorre diretamente com a inibição da enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintase (EPSPs), sendo essa responsável pela síntese dos aminoácidos triptofano, fenilalanina e tirosina, hormônios e flavonoides, que são essenciais para todo o crescimento e sobrevivência das plantas (DALAZEN et al., 2015). Após aplicado, o glifosato se move através do floema e segue a rota dos produtos provenientes da fotossíntese (RODRIGUES e ALMEIDA, 2011).

Além da fotossíntese, os metabolitos secundários também são produzidos pelas folhas. Os flavonoides são considerados um dos mais importantes, cuja função principal é proteger as plantas contra agentes oxidantes (SILVA et al., 2015). Além desses, a clorofila possui grande importância na eficiência fotossintética, influenciando o crescimento e adaptabilidade da planta, sendo esses pigmentos cloroplastídicos responsáveis pela captura de luz solar que é usada na fotossíntese, sendo as clorofilas essenciais na conversão da radiação luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH (SILVA, 2014). A fotossíntese também pode causar modificações consideráveis de mudanças significativas no conteúdo de clorofila, na taxa fotossintética, na taxa de transpiração e eficiência de fixação do CO<sub>2</sub>.

Nesse contexto, diversos estudos têm se dedicado a investigar as variações fisiológicas em biótipos de plantas daninhas resistentes ao glifosato. Segundo Smith et al. (2018), as diferenças na taxa de fotossíntese, medida pelos índices de clorofila, podem estar associadas à resistência ao herbicida. Além disso, a presença de antocianinas, pigmentos relacionados à resposta de estresse em plantas, tem sido observada em biótipos resistentes (JONES et al., 2019). Outro parâmetro importante a ser considerado é o balanço de nitrogênio nas plantas. De segundo Liu et al. (2020), biótipos resistentes ao glifosato podem apresentar diferenças no metabolismo do nitrogênio, resultando em um desequilíbrio nutricional, afetando o crescimento e desenvolvimento. Além disso, estudos recentes têm destacado a importância dos flavonoides na resistência de plantas daninhas a herbicidas. Segundo Silva et al. (2021), a presença de flavonoides em biótipos resistentes de *D. insularis* pode conferir proteção contra os efeitos tóxicos do herbicida.

Além disso, a compreensão das diferenças estomáticas entre biótipos resistentes e suscetíveis também pode ser crucial para o entendimento dos mecanismos envolvidos na resistência, segundo Barroso e colaboradores (2015) foram verificadas alterações nas folhas resistentes, que atuam impedindo a absorvência do herbicida. Entre as modificações verificadas observaram a variação na distância dos feixes vasculares e a quantidade de estomas e tricomas



presentes nas folhas. Além disso, foi constatado que as plantas de *D. insularis*, originadas de rizomas, apresentam maior índice estomático (MACHADO *et al.* 2008). Essas diferenças morfológicas só são evidenciadas nos maiores estádios vegetativos da planta e as características foliares podem se alterar dentro da mesma espécie, em relação a idade e habitat da planta ou em relação a sua resistência. Ademais, de acordo com Santos *et al.* (2017), biótipos resistentes de *Digitaria insularis* apresentam diferenças significativas nas características estomáticas em comparação com os biótipos suscetíveis. A pesquisa mostrou que os biótipos resistentes exibiam menor densidade estomática em suas folhas, o que pode limitar a absorção e translocação do glifosato.

De acordo com o exposto, objetivou-se avaliar a influência do herbicida glifosato em biótipos de *Digitaria insularis*, suscetíveis e resistentes, de acordo com os componentes fisiológicos a partir dos índices de clorofila, antocianina, flavonoide e de balanço de nitrogênio. Além disso, entender as relações entre os diferentes grupos de plantas e sua resistência ao glifosato, identificando possíveis padrões ou similaridades entre os biótipos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo usou brevemente como base o diagnóstico de resistência realizado através do experimento de curva de dose-resposta de *Digitaria insularis*, em que foram utilizadas as mesmas doses de herbicida glifosato e os mesmos biótipos. O resultado a priori caracterizou o biótipo B6 como suscetível as doses do herbicida e os demais biótipos (B1, B2, B3, B4 e B5) como resistentes as doses de glifosato aplicadas.

A condução do experimento se deu através da coleta de propágulos das plantas suspeitas de resistência em lavouras de café situadas no Sul do Espírito Santo. O experimento foi conduzido na casa de vegetação no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, município de Alegre, durante os meses de setembro de 2022 a janeiro de 2023. As populações são provenientes de diferentes cidades do Estado do Espírito Santo, sendo elas Alegre e Vargem Alta. Em que os lotes L1, L2, L3, L4 foram coletados em diferentes localidades da cidade de Alegre. E os lotes L5 e L6 foram coletados de diferentes localidades da cidade de Vargem Alta.

Foram coletados biótipos com indício de resistência (R) ao glifosato e biótipos suscetíveis (S) a este herbicida. Da população de capim-amargoso (*Digitaria insularis*), foram selecionadas seis populações da espécie, sendo uma suscetível e cinco resistentes. As populações dos biótipos com suspeita de resistentes ao glifosato foram determinadas a partir da metodologia do Guia Manejo de Resistência a Herbicidas (HRAC, 1998).

A aplicação do glifosato foi realizada aos 37 dias após a semeadura (DAS), quando as plantas apresentaram de duas a três folhas, completamente expandidas, apresentavam de três a quatro perfilhos e 20 cm de altura, no dia quatro de novembro de 2022. Para aplicação dos tratamentos herbicidas foi utilizado um pulverizador costal pressurizado a CO<sub>2</sub> (2 kgf.cm<sup>-2</sup>), equipado com barra de ponta tipo jato leque XR 110.02, a uma altura de 0,5 m do alvo, e pulverizando o equivalente a 200 L.ha<sup>-1</sup> de calda. A aplicação foi realizada entre 8 e 10 horas. As condições climáticas registradas no momento da aplicação foram: temperatura atmosférica média de 28°C; umidade relativa do ar de 50% e céu sem nebulosidade.

Para cada população, os tratamentos herbicidas foram cinco doses de glifosato, descritas a seguir, em gramas de equivalente ácido por hectare: 0, 50, 100, 200 e 400% da dose recomendada. O herbicida usado foi o produto comercial Roundup® original de formulação contendo 480 g.L<sup>-1</sup> de sal de isopropilamina de N-(fosfometil) glicina, 360 g.L<sup>-1</sup> do equivalente ácido (e.a.) de N-(fosfometil) glicina (GLYPHOSATE) e 648 g.L<sup>-1</sup> de ingredientes inertes.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x6, com cinco doses de glifosato (0, 50, 100, 200 e 4005) e seis biótipos (B1, B2, B3, B4, B5 e B6), com cinco repetições, totalizando 150 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi representada por um vaso com capacidade de 1,0 L preenchido com substrato comercial Plantmax, onde a semeadura das sementes coletadas a campo foi realizada, com posterior desbaste para cinco plantas por vaso.

O comportamento fisiológico foi medido através do medidor Multipigmento de ADC BioScientific® MPM-100. As avaliações foram feitas 30 dias após aplicação (DAA) do herbicida. A medição foi feita no folíolo terminal da primeira folha totalmente expandida a partir do ápice da planta, evitando leituras na nervura central da folha, as leituras aconteceram no período entre 8 e 11 h. Em cada folha, foram realizadas duas leituras, a partir das quais foram calculadas a média. A média das leituras representou o valor do tratamento.

O comportamento estomático avaliado aos 14 dias DAA do herbicida. Sendo selecionadas cinco plantas de cada lote e utilizadas duas folhas totalmente expandidas, para confecção do laminário. Foi retirada uma amostra de aproximadamente 100 mm<sup>2</sup> da bainha, na região mediana do limbo foliar de cada folha.

As lâminas foram preparadas com a aplicação de cola cianoacrilato (“Super Bonder®”) sobre a superfície adaxial e abaxial das folhas selecionadas. Após breve secagem da folha sobre a lâmina, o material vegetal foi retirado permanecendo apenas as marcas da estrutura da epiderme sobre a lâmina. Foram avaliadas a densidade estomática (estômatos/cm<sup>2</sup>), condutância estomática e o tamanho médio dos estômatos (µm<sup>2</sup>) da parte abaxial das folhas.

Para a observação, foi utilizado o microscópio óptico equipado com uma câmera fotográfica (Moticam® Pro 282A), onde com o auxílio do software Image-Pro Plus foi possível a visualização e avaliação dos estômatos. A contagem foi realizada em cinco diferentes regiões de cada folha, bem como a medição do tamanho dos estômatos, densidade e comprimento do da célula guarda, sendo cada contagem realizada em uma área média de 8 mm<sup>2</sup>.

As variáveis analisadas foram: densidade estomática e condutância estomática. Para estimação das variáveis, duas fórmulas foram utilizadas. Para densidade estomática DE (DE mm<sup>2</sup>) a fórmula utilizada foi:

$$DE \text{ mm}^2 = S / \text{área total (mm}^2)$$

Em que DE/área analisada, onde NE = S, é o número de estômatos e a área analisada foi de 0,27 mm<sup>2</sup> (Cutter 1986). E para calcular a condutância estomática máxima (gwmax mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) foi usado a fórmula:

$$D_{max} g_{wmax} \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} = l \frac{\pi}{2} \sqrt{\left(\frac{a_{max}}{\pi}\right)}$$

Em que, D é a densidade estomática; a<sub>max</sub>: área máxima do poro ( $a = \pi(p/2)^2$ , p = comprimento do poro; I: profundidade do poro, sendo  $l = W/2$  ( $\mu\text{m}$ ), onde W é largura média do par de células-guarda). O cálculo foi realizado diretamente na matriz de dados, com modificações:  $g_{wmax} = (SD \times a_{max}) / (I + \pi/2 \times \sqrt{(a_{max}/\pi)})$ , (Franks e Farquhar 2001).

Os dados foram submetidos à ANOVA. Posteriormente, realizada a análise de variância seguida pelo teste de F a 5% de probabilidade. As médias dos biótipos, para componente fisiológico, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as doses foi realizada a análise de regressão, com os modelos matemáticos selecionados com base na sua significância e maior coeficiente de determinação, para melhor explicação biológica para a característica. As análises foram realizadas no software R (R CORE TEAM, 2021).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado efeito significativo da interação entre os fatores para todas as características. Outrossim, pode ser observado que o coeficiente de variação (CV) para todos os componentes fisiológicos avaliados foi considerado alto (PIMENTEL GOMES, 1985).

Tabela 1 - Resumo da análise de variância e coeficientes de variação dos componentes fisiológicos avaliados: Clorofila, Antocianina, Flavonoides e Balanço de Nitrogênio (NFI) aos 30 dias após aplicação (DAA). Espírito Santo – ES. UFES, 2023.

FV	GL	Quadrados médios			
		Clorofila	Antocianina	Flavonoides	Balanço de Nitrogênio
Doses de Glifosato	4	1,063**	0,227**	0,910**	4,344**
Lotes	5	0,252**	0,074**	0,193**	33,226**
D*L	20	0,035**	0,021**	0,035**	1,114**
Resíduos	120	0,005	0,0005	0,002	0,032
<b>CV (%)</b>		25,99	27,76	22,51	16,23

\*\*Significativo pelo teste F a 1% de probabilidade.

O capim-amargoso é uma planta daninha com o maior número de casos de resistência ao glifosato no Brasil. Doses de 720 e 1440 g.ha<sup>-1</sup> não proporcionam controle adequada para a *Digitaria sp.*, sendo avaliadas aos 7, 14 e 21 DAA (SILVEIRA, 2017).

No presente estudo as avaliações foram realizadas aos 30 DAA, pois o capim-amargoso pode apresentar hábitos de crescimento anual e perene. A depender da dose de glifosato e das condições ambientais, os sintomas são visíveis dentro de 2 a 4 DAA na maioria das plantas daninhas anuais e após 7 dias em perenes (FRANZ et al., 1997). Para todas as características relacionadas as análises fisiológicas houve diferença significativa indicando que os biótipos produziram quantidades diferentes para os fatores relacionados a fotossíntese a depender da dose de glifosato aplicada.

Analisando o fator biótipos para cada dose do Glifosato apresentado na Figura 1, para todas as características, foi verificado redução em seus valores com o aumento da dosagem doses de glifosato, sendo os modelos ajustados os polinomiais de primeiro e segundo grau. O biótipo B2 ajustou-se ao modelo quadrático decrescente com pico máximo de 3,57 na dose 0,0 g e.a. ha<sup>-1</sup> de glifosato. Assim também foi observado para o biótipo B5 e para o biótipo B6, uma tendência quadrática decrescente para NFI, com valores de 2,84 para B5 e 1,62 para B6 na dose 0,0 g e.a. ha<sup>-1</sup>. Para todas as subdoses de glifosato houve redução no índice de balanço de

nitrogênio. Esse resultado mostra que, com aumento da dose de glifosato o índice de balanço de nitrogênio diminui, visto que os melhores desempenhos foram nas testemunhas.

Para o biótipo B6 após a aplicação da concentração de 100% de glifosato o valor para o índice de balanço de nitrogênio atinge zero de resposta. Para B5 e B2 o índice de NFI atinge zero após a aplicação de 200% da dose do herbicida. Isso indica uma menor tolerância às doses utilizadas para esses biótipos. Ademais, o NBI é uma variável que considera a relação entre o índice de clorofila e flavonoides, dando uma estimativa do estado nutricional de nitrogênio na planta (COELHO et al., 2012). Por conseguinte. O B6 apresentou menores valores para os índices de clorofila e flavonoides. Conforme relatado por Rossi et al. (1997) ao submeter a planta a uma condição de estresse, remete a deficiência de nitrogênio onde ela direciona a elevação da produção de compostos fenólicos, pelo metabolismo secundário, na camada epidérmica.

Os biótipos B1, B3 e B4 foram ajustadas ao modelo linear decrescente. Com valores de 2,19 para B1, 1,96 para B3 e 2,06 para B4 na dose de 0% de herbicida para o índice de balanço de nitrogênio. Para as outras subdoses desses biótipos também houve baixa no índice de NFI. Fato que elucida a redução do balanço de nitrogênio em elevadas doses de glifosato. Em B1 é observado que o índice de balanço de nitrogênio atinge o valor zero de resposta na concentração de 400% da dose de glifosato, o que indica uma possível tolerância às doses utilizadas para o este biótipo. Para os biótipos B3 e B4, o NFI atinge o valor de zero pouco antes a dose de 400%. Logo, B1, B3 e B4 sobreviveram em altas doses de glifosato durante um período prolongado, demonstrando o elevado nível de resistência destes biótipos.

Em oliveiras na Espanha, áreas com histórico de 5 anos de aplicação de glifosato, as populações de *Eleusine indica* e *Paspalum distichum* com suspeita de resistência exibiram níveis de controle na dose de 720 g ha<sup>-1</sup> de glifosato, que corresponde a 50% da dose recomendada (ALCANTARA, FERNANDEZ, SMEDA, ALVES e PRADO, 2016). Não corroborando aos resultados do presente estudo, que os biótipos resistiram até a dose de 2880 g ha<sup>-1</sup>. Isto explica que para as doses de glifosato são suficientes para o controle de plantas daninhas apenas quando a resistência não se desenvolveu.

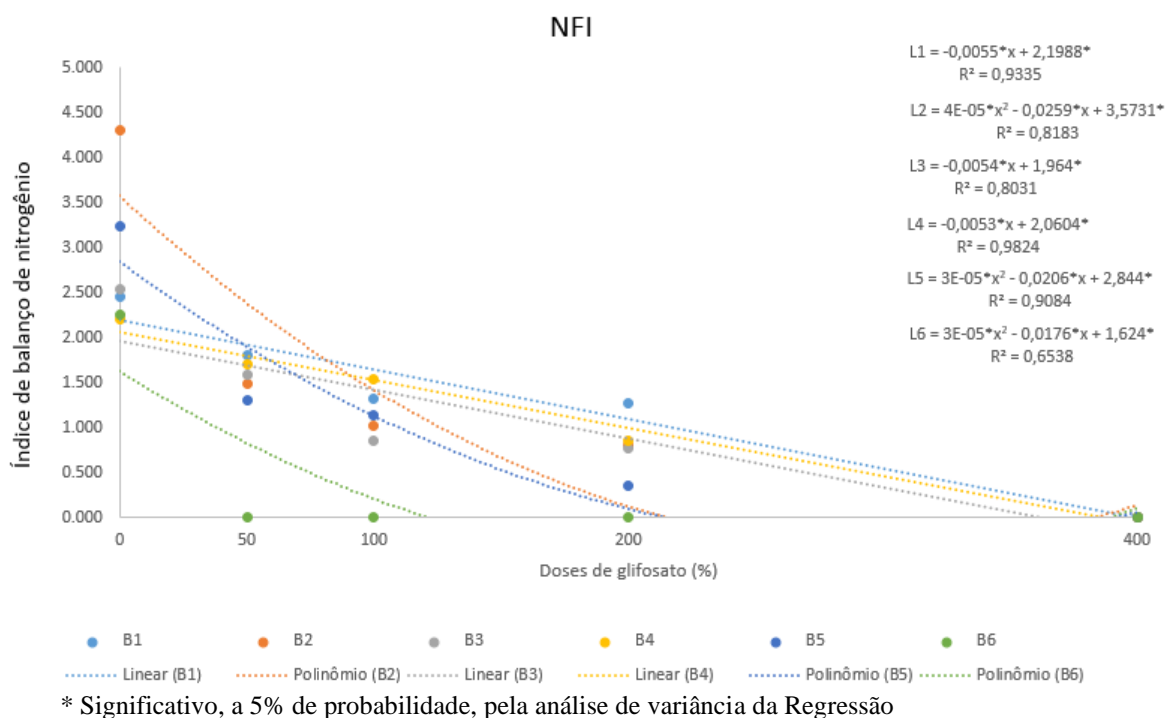


Figura 1 - Estimativa do índice do balanço de nitrogênio de seis biótipos de *Digitaria insularis* submetidas a diferentes concentrações de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

As médias para o índice de balanço de nitrogênio em diferentes doses de glifosato (%) aos 30 DAA para cada biótipo de *Digitaria insularis* encontram-se na Tabela 2. Verificou-se, na dose 0,0 g e.a ha<sup>-1</sup> de glifosato (testemunha), o biótipo B2 obteve o maior valor para o índice de balanço de nitrogênio em relação aos demais biótipos. Nas doses de 50% e 200% do herbicida o destaque foi para o biótipo B1, apresentando maior valor para NFI.

Enquanto para a concentração de 100% o B4 obteve desempenho superior aos demais biótipos para o índice de balanço de nitrogênio. Esses resultados mostram que as doses de glifosato promoveram efeitos diferenciados nos biótipos de capim-amargoso para o componente fisiológico índice de balanço de nitrogênio. De acordo com Gomes et al., (2016) avaliaram a resposta de diferentes biótipos de *Digitaria insularis* ao glifosato e encontraram diferenças significativas no índice de balanço de nitrogênio entre os biótipos, confirmando os resultados obtidos que o índice de balanço de nitrogênio diminuiu após doses elevadas de glifosato.

Tabela 2 - Índice de balanço de nitrogênio para de seis biótipos de *Digitaria insularis* submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

Lotes	Doses de glifosato (%)				
	0	50	100	200	400 <sup>ns</sup>
B1	2,460 cd	1,803 a	1,323 ab	1,267 a	0,000
B2	4,305 a	1,492 ab	1,026 bc	0,803 b	0,000
B3	2,542 c	1,582 ab	0,853 c	0,763 b	0,000
B4	2,196 d	1,703 a	1,542 a	0,856 b	0,000
B5	3,233 b	1,301 b	1,141 bc	0,344 c	0,000
B6	2,246 cd	0,000 c	0,000 d	0,000 c	0,000

\*Médias seguidas por uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade.

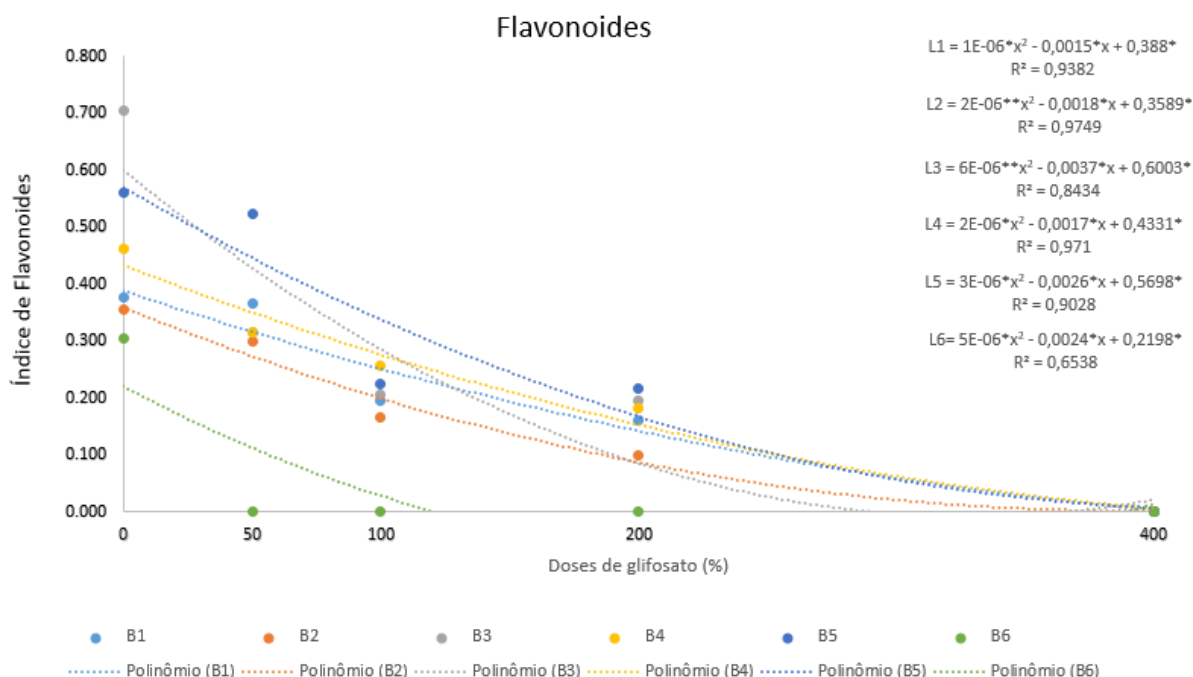
Para os índices de flavonoides (Figura 2) foi observado que todos os biótipos estudados se ajustam ao modelo quadrático decrescente. O biótipo B6 para esse índice apresenta menor tolerância às doses de glifosato, pois atinge o valor zero de resposta logo após aplicação de 100% da dose recomendada do herbicida. Para o B3, é observado maior valor em 0% com 0,600 e tem redução constante até 200%, depois atinge o valor zero de resposta. Para B5 é correto afirmar uma possível tolerância às doses utilizadas, visto que ele atinge valor zero na concentração de 400% e seu maior valor de resposta ocorre na dose zero ocorre em 0,569.

Para os biótipos B1, B2 e B4 é observado redução nas curvas de forma gradual, B1 e B4 atingem zero de resposta na concentração de 400% e B2 pouco antes da aplicação dessa mesma dose. O maior valor observado ocorre na dose 0% em B1 0,388, para B2 é 0,358 e para B4 0,433. Pelo exposto acima, mostra-se que, com aumento da concentração do herbicida glifosato o índice de flavonoides diminui e assim a curva diminui com o aumento da dose, foram observados na dose de 0% (dose controle). Corroborando aos estudos de Benedetti (2015), após aplicação combinada de glyphosate+s-metolachlor gerando maior síntese de flavonoides quando comparado aos tratamentos controle.

Em contrapartida, alguns estudos apreciaram que a aplicação de herbicidas pode acentuar a produção de compostos fenólicos, incluindo os flavonoides. Por exemplo, Matern e Grimmig (1994) reforçaram que o estresse hídrico induzido em plantas de tabaco resultou em um aumento significativo na síntese de compostos fenólicos, incluindo os flavonoides. Além disso, quando as plantas foram tratadas com o herbicida glifosato, esse efeito foi ainda mais pronunciado. De forma semelhante, Bortolo et al., (2009) observaram que a aplicação de um herbicida à base de imazethapyr em plantas de soja mantiveram o estresse hídrico aumentado a produção de compostos fenólicos. Portanto, parece que o estresse hídrico pode aumentar a síntese de compostos fenólicos em plantas, e a aplicação de herbicidas acentuar esse efeito.



Esse resultado é inversamente proporcional ao obtido pelo índice de flavonoides, pois à medida que diminui o teor de flavonoides, aumenta-se o balanço de nitrogênio da planta. Decréscimos nos teores de flavonóis também foram verificados para a cultura de batata, trigo, milho e brócolis à medida que os teores de nitrogênio das culturas aumentaram após aplicação de doses de glifosato (COELHO et al., 2012).



\* Significativo, a 5% de probabilidade, pela análise de variância da Regressão

Figura 2 - Estimativa do índice de flavonoides de seis biótipos de *Digitaria insularis* submetidas a diferentes concentrações de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

Na Tabela 3 é observado as médias para o índice de flavonoides para as diferentes doses de glifosato (%) aos 30 DAA para seis biótipo de *Digitaria insularis*. Verificou-se que para a dose 0,0 g e.a. ha<sup>-1</sup> de glifosato B3 obteve o maior valor para o índice de flavonoides comparado aos demais biótipos. Em 50% e 200% B5 apresenta as maiores médias, obtendo desempenho superior aos demais biótipos para o índice de flavonoides. Uma vez que para o B6 é observado o menor desempenho, o biótipo atinge o valor de zero em 50% e se mantém zero para as demais concentrações. Em 100% o biótipo B4 se destaca com maior média.

Esses resultados evidenciam que as doses promovem efeitos diferentes para os biótipos de capim-amargoso em relação ao componente fisiológico índice de flavonoides. A resistência ao glifosato em *D. insularis* pode estar associada a uma redução nos níveis de flavonoides, ou

pode estar relacionada à maior atividade das enzimas envolvidas na degradação desses compostos (AMARAL et al., 2019).

Tabela 3 - Índice de flavonoides para de seis biótipos de *Digitaria insularis* submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

Lotes	Doses de glifosato (%)				
	0	50	100	200	400 <sup>ns</sup>
B1	0,376 cd	0,366 b	0,196 ab	0,161 ab	0,000
B2	0,354 d	0,300 b	0,165 b	0,100 b	0,000
B3	0,705 a	0,315 b	0,206 ab	0,194 a	0,000
B4	0,463 c	0,316 b	0,256 a	0,182 ab	0,000
B5	0,561 b	0,524 a	0,225 ab	0,217 a	0,000
B6	0,304 d	0,000 d	0,000 c	0,000 c	0,000

\*Médias seguidas por uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade.

No presente estudo, para o índice de antocianina (Figura 3) foi observada tendência linear de redução para os biótipos B1 e B2. Enquanto para os biótipos B3, B4 e B5 é notório que se ajustam ao modelo quadrático decrescente. Para todas as subdoses dos biótipos B1, B2, B3, B4 e B5 houve baixa no índice de antocianinas. E para B6 é observado que não se ajusta a nenhum dos modelos, visto que para todas as concentrações de glifosato atingem o valor zero de resposta.

Para o biótipo B3 é observado 0,393 maior valor de resposta para 0% de herbicida e ele atinge zero de resposta na concentração de 200%. Assim ocorre para os biótipos B5 e B4, apresentam maiores valores em 0,331 e 0,192 para a dose 0 (%), respectivamente e atingem valor zero de resposta na dose de 200%. Para esses biótipos é observado o menor desempenho às doses aplicadas. Para os biótipos B1 e B2, é observado uma maior tolerância as doses, visto que os biótipos citados atingem o valor zero de resposta após a aplicação da concentração de de 200%. Porém seus valores para a dose 0 de glifosato se encontram abaixo dos demais biótipos, sendo para B1 o valor de 0,158 e para B2 0,090.

As antocianinas são pigmentos vegetais que conferem cor às folhas, flores e frutos. A produção de antocianinas também está associada ao controle de defesa contra estresse bióticos e abióticos. Cruz e colaboradores (2020) avaliaram o efeito do glifosato na produção de antocianinas em *Digitaria insularis* resistente. Os resultados se confirmam aos analisados para o presente estudo, indicando que a aplicação de glifosato leva a uma redução significativa no teor de antocianinas em comparação com o controle.

Isso sugere que a resistência ao glifosato do capim-amargoso pode estar associada a uma diminuição na produção de antocianinas e, conseqüentemente, na capacidade das plantas de se

defenderem contra estresses ambientais. Em conjunto, esses estudos sugerem que a resistência ao glifosato em *D. insularis* está associada a alterações fisiológicas, incluindo uma redução na produção de antocianinas.

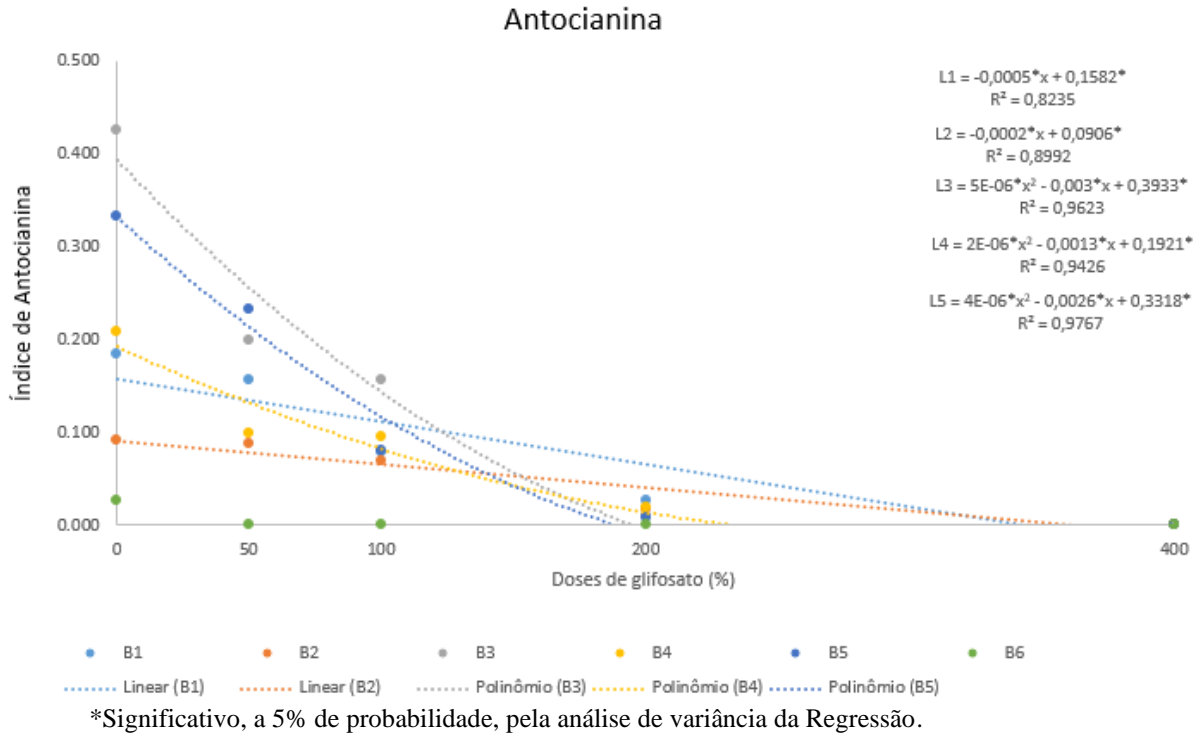


Figura 3 - Estimativa do índice de antocianina de seis biótipos de *Digitaria insularis* submetidas a diferentes concentrações de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

A Tabela 4 evidencia os índices de antocianina para cada biótipo de *Digitaria insularis* em diferentes doses de glifosato aos 30 dias após a aplicação (DAA). De acordo com os resultados, os maiores valores de índice de antocianina ocorreram no biótipo B3 nas doses de 0% e 100%, enquanto o biótipo B5 apresentou o maior valor na concentração de 50%.

Tabela 4 - Índice de antocianina para seis biótipos de *Digitaria insularis* submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

Lotes	Doses de glifosato (%)				
	0	50	100	200 <sup>ns</sup>	400 <sup>ns</sup>
B1	0,185 c	0,156 b	0,079 b	0,026	0,000
B2	0,091 d	0,087 c	0,070 b	0,018	0,000
B3	0,425 a	0,200 a	0,157 a	0,010	0,000
B4	0,209 c	0,099 c	0,095 b	0,019	0,000
B5	0,333 b	0,232 a	0,081 b	0,009	0,000
B6	0,026 e	0,000 e	0,000 c	0,000	0,000

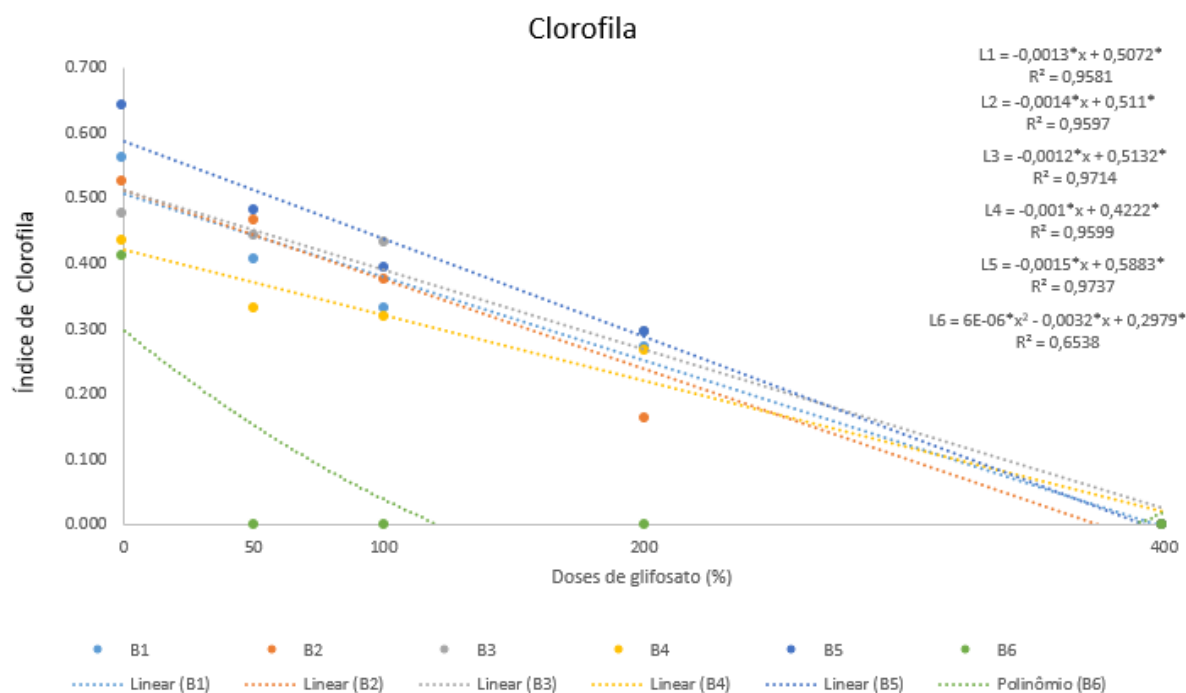
\*Médias seguidas por uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade.

A clorofila e o carotenoide são os pigmentos responsáveis e essenciais pela captura de luz usada na fotossíntese, são indispensáveis para a conversão da radiação luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH. Isso posto, as clorofilas estão intimamente relacionadas à eficiência fotossintética das plantas e, conseqüentemente com seu crescimento e adaptação aos mais variados ambientes (RÊGO e POSSAMAI, 2004).

Desta forma, um herbicida ao afetar o teor destes pigmentos na planta contribuirá para um menor crescimento e desenvolvimento, como é observado no biótipo B6, que apresentou suscetibilidade as doses de glifosato aplicadas. Verificou-se para a Figura 4 o índice de clorofila para o biótipo B6 se ajusta ao modelo quadrático decrescente apresentando valor maior para a dose 0 (testemunha) de 0,297. O biótipo B6 atinge valor zero de resposta após a concentração de 100%, fato esse que evidencia menor tolerância as doses de glifosato para esse biótipo.

Em contrapartida para os demais biótipos (B1, B2, B3, B4 e B5) ajustam-se ao modelo linear de redução. O modelo linear de redução mencionado sugere que a resposta diminui de forma linear à medida que a dose aumenta. Os biótipos B1, B2 e B3 têm valores máximos de resposta semelhantes, de cerca de 0,5, enquanto o biótipo B5 apresenta menor valor de 0,588, que ocorre na dose de 0%.

Os biótipos B1, B2, B3, B4 e B5 têm maior tolerância a doses mais elevadas, mas apenas o biótipo B5 leva mais tempo para atingir o valor zero de resposta. Segundo Balbinot Junior et al. (2019) foi avaliado o efeito do glifosato sobre o índice de clorofila em *D. insularis* resistente. Os resultados mostraram que a aplicação do herbicida levou a uma diminuição significativa do índice de clorofila em comparação com o controle. Os autores concluíram que o glifosato pode levar à redução da fotossíntese e ao crescimento da *D. insularis* resistente. Em resumo, o glifosato pode afetar significativamente o índice de clorofila no capim-amargoso, levando a uma redução da concentração desta substância nas folhas da planta.



\*Significativo, a 5% de probabilidade, pela análise de variância da Regressão.

Figura 4 - Estimativa do índice de clorofila de seis biótipos de *Digitaria insularis* submetidas a diferentes concentrações de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

De acordo com Torres-Netto et al., (2005), leituras observadas para índice de clorofila em folhas de *Coffea canephora*, menores de 40%, mostraram comprometimento no processo fotossintético da espécie. Esse valor corresponde ao teor de verde das folhas, que está relacionado à clorofila das plantas. A perda da clorofila está associada ao estresse ambiental e a variação na relação clorofila / carotenoides, que pode ser um bom indicador do estresse em plantas (Torres-Netto et al., 2005). Logo, para os biótipos que resistiram a dose de 400%, as folhas apresentaram características de estresse, como clorose e afilamento das folhas, como é observado na Figura 5. Esses sintomas podem aparecer em poucas horas após a aplicação, podendo ser mais acentuados a depender da sensibilidade da planta e da dose recebida (SCHRUBBERS et al., 2016).



Figura 5 - Biótipo B5 de *Digitaria insularis* submetida a 400% da concentração de glifosato, aos 15 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

Encontram-se na Tabela 5. o índice de clorofila em diferentes doses de glifosato (%) aos 30 DAA para cada biótipo de *Digitaria insularis*. Observou-se que para as doses de 0% e 50%, o biótipo B5 apresenta os maiores valores de clorofila em relação aos demais biótipos. E para as doses de 100% e 200%, o biótipo B3 apresentou os maiores valores, mostrando tolerância às doses aplicadas em relação aos demais biótipos.

Segundo Alves et al. (2014) que avaliaram o efeito do glifosato sobre o índice de clorofila em *D. insularis* resistente. Os resultados atestam que o herbicida afetou significativamente o índice de clorofila, levando a uma diminuição da sua concentração nas folhas da planta. Os autores concluíram que o glifosato pode reduzir a capacidade fotossintética do capim-amargoso.

Tabela 5 - Índice de clorofila para de seis biótipos de *Digitaria insularis* submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 30 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

Lotes	Doses de glifosato (%)				
	0	50	100	200	400 <sup>ns</sup>
B1	0,563 ab	0,408 ab	0,331 a	0,273 ab	0,000
B2	0,527 abc	0,466 a	0,377 a	0,162 b	0,000
B3	0,477 bc	0,442 ab	0,432 a	0,296 a	0,000
B4	0,435 bc	0,332 b	0,319 a	0,267 ab	0,000
B5	0,644 a	0,483 a	0,395 a	0,295 a	0,000
B6	0,412 c	0,000 c	0,000 b	0,000 c	0,000

\*Médias seguidas por uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade.

Ocorreu aumento significativo na resistência do *Digitaria insularis* ao glifosato entre 2004 e 2010, conforme demonstrado por Adegas et al. (2010) e Correia et al. (2010). Esses estudos relataram que doses muito maiores eram necessárias para alcançar a mesma redução de 50% de plantas em comparação ao estudo anterior de Lacerda e Victoria Filho (2004). Essa maior dose foi confirmada pelos valores obtidos neste experimento.

Anteriormente era preciso 93,6 g e.a. ha<sup>-1</sup> para reduzir em 50% a massa seca de *Digitaria insularis*. Em 2010, eram necessários 1.724,4 g e.a. ha<sup>-1</sup> para a mesma eficácia. No presente estudo mostra que o capim-amargoso pode sobreviver a até 400% da dose de herbicida, equivalente a 5760 g ha<sup>-1</sup>. Além disso, Reinert et al., (2008), afirmaram que a resistência continua a se disseminar em todo o país, sugerindo que as doses necessárias para controlar a planta podem continuar a aumentar no futuro.

Quando uma população apresenta suspeita de resistência elevado, são necessários inúmeros estudos. Isso posto, é preciso analisar os critérios, pois, o que pode ser considerado suspeita de resistência para um herbicida pode ocorrer por inúmeros fatos, incluindo aspectos fisiológicos e morfológicos, além de moleculares (CARVALHO; CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2009).

A distribuição dos estômatos na placa foliar, assim como a ocorrência estomática foram semelhantes entre os biótipos suscetíveis e resistentes. As folhas de *D. insularis* apresentam estômatos organizados em linhas paralelas (Figura 6A), com as células-guarda na forma de halteres e as células interestomáticas com extremidades ligeiramente côncavas (Figura 6B). Essas características de estômatos e de célula guarda ocorrem naturalmente na família Poaceae (MACHADO et al. 2008). Destacamos também que as folhas dessa planta são anfiestomáticas, em que há presença de estômatos em ambas as faces epidérmicas, mas com predomínio na face abaxial. No presente estudo, apenas a face adaxial da folha foi analisada.

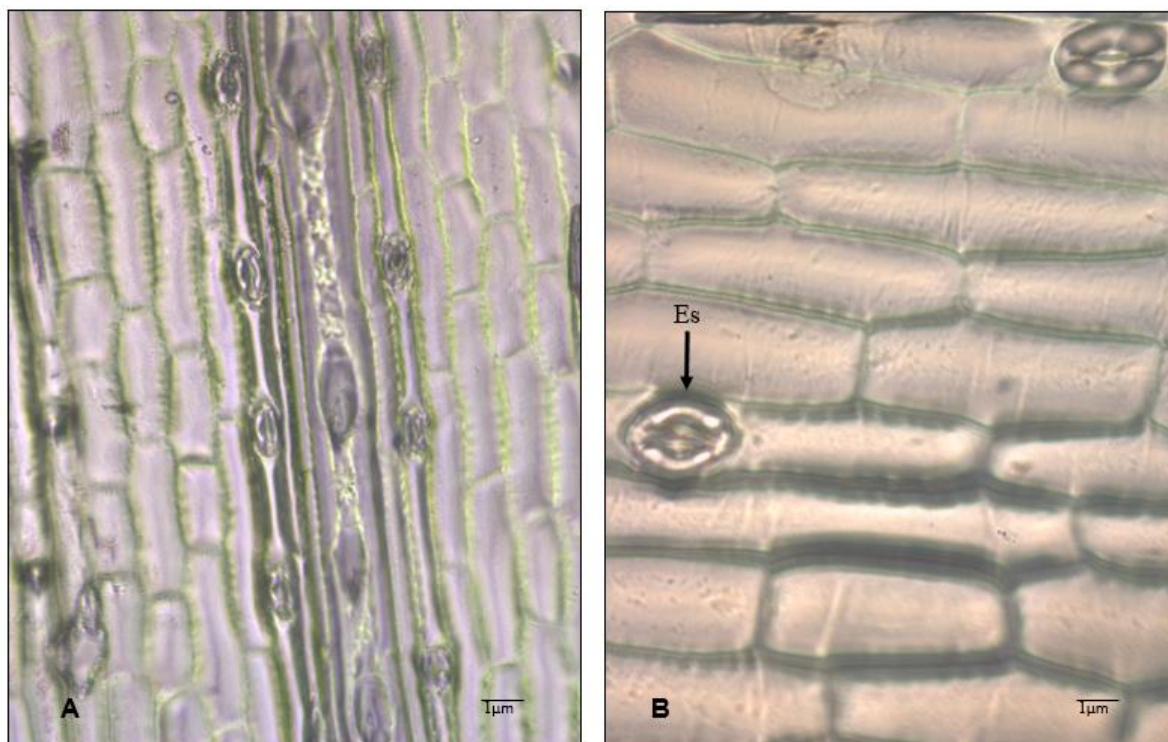


Figura 6 - Anatomia estomática da folha de *Digitaria insularis*. A - Detalhe da epiderme foliar, evidenciando os estômatos em fileiras ao longo das nervuras em vista frontal na objetiva de 20x – barra de 1 µm. B - Impressão foliar, destacando em vista frontal na objetiva de 20x – barra de 1 µm. B – Impressão foliar, destacando em vista frontal o estômato (Es) em forma de halteres na objetiva de 40x.

Para característica de condutância estomática é notável que existe uma maior concentração dos dados para todos os biótipos na dose 0%, por conta disso o violino se apresenta mais arredondado (Figura 6A). A condutância estomática é uma medida da facilidade com que gases como CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> se movem através dos estômatos, que são poros na superfície das folhas das plantas. Uma alta condutância estomática indica que as plantas estão se beneficiando da entrada de CO<sub>2</sub>, que é essencial para a fotossíntese, enquanto uma baixa condutância estomática pode limitar a taxa fotossintética e, portanto, a produção de biomassa (DRAKE et al, 2013). Desse modo, os biótipos com 0% (sem aplicação de glifosato) apresentam alta condutância estomática comparado com os biótipos que foram aplicadas doses do herbicida.

Para as doses de 50% e 100% como mostra a Tabela 6, as médias dos valores de condutância são maiores para o biótipo B6, assim como a locação dos dados representados nas Figuras 7B e 7C, que se mantem na mediana ou acima do primeiro quartil em 200% (Figura 7D) e 400% (Figura 7E) da dose recomendada. Junto com a condutância estomática, o biótipo B6 apresenta maior densidade de estômatos na lâmina foliar. Essa condição está atrelada, sendo



uma estratégia que auxilia nas trocas gasosas dos biótipos suscetíveis, favorecendo a maior entrada de CO<sub>2</sub> (DRAKE et al, 2013).

Tabela 6 - Médias para os seis biótipos de *Digitaria insularis* submetidas a diferentes subdoses de glifosato, aos 15 dias após a aplicação (DAA). Alegre – ES, UFES, 2023.

Média do Violino			
DOSES	BIÓTIPOS	DE	COND
0%	B1	0,098	0,7121
0%	B2	0,1228	0,4629
0%	B3	0,1105	0,4868
0%	B4	0,1194	0,1688
0%	B5	0,1276	0,2194
0%	B6	0,1813	1,567
50%	B1	0,058	0,0958
50%	B2	0,085	0,0261
50%	B3	0,074	0,0611
50%	B4	0,0951	0,0266
50%	B5	0,1105	0,0239
50%	B6	0,1719	0,8039
100%	B1	0,0492	0,084
100%	B2	0,0987	0,0272
100%	B3	0,0989	0,0529
100%	B4	0,0432	0,0484
100%	B5	0,0283	0,0109
100%	B6	0,1734	1,401
200%	B1	0,0284	0,0015
200%	B2	0,1105	0,0045
200%	B3	0,0733	0,0354
200%	B4	0,0856	0,0340
200%	B5	0,1118	0,0153
200%	B6	0,1228	1,087
400%	B1	0,0733	0,4867
400%	B2	0,0732	0,2274
400%	B3	0,1281	0,2010
400%	B4	0,1105	0,4260
400%	B5	0,1281	0,1822
400%	B6	0,1473	0,9373

Para os biótipos B1, B2, B3, B4 e B5 é possível observar uma redução na condutância estomática como é observado na Tabela 6. e devido a diminuição na variabilidade dos dados principalmente após aplicação de 50% da dose do herbicida (Figura 7B). Os biótipos citados

apresentaram certa resistência as doses de herbicida aplicado, devido a diminuição da condutância estomática após a aplicação do glifosato. Os estudos de Silva et al. (2020) corroboram com os resultados do presente estudo, em que foram avaliados a suscetibilidade de *D. insularis* ao glifosato e outros herbicidas e observaram que o glifosato reduziu significativamente a condutância estomática da planta, além de reduzir a taxa de fotossíntese.

Em 200% (Figura 7D) e 400% (Figura 7E) é notório redução na concentração dos dados e nos valores para essa característica, devido afinamento do corpo do violino. Em 400% a locação dos dados encontra-se abaixo da média e os valores abaixo de 0,48 para os biótipos B1, B2, B3, B4 e B5. Resultados semelhantes foram encontrados por Procópio et al. (2004), que avaliaram a condutância de três espécies de plantas daninhas *Euphorbia heterophylla*, *Bidens pilosa* e *Desmodium tortuosum*, observando valores semelhantes ao da *Digitaria insularis* no presente trabalho, com valores variando 1,0 a 0,5 mol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>.

Ademais, confirmando aos resultados citados, Zhang et al. (2019) estudaram a resposta fisiológica e bioquímica de *D. insularis* ao glifosato e constataram que a aplicação de glifosato afetou negativamente a condutância estomática e a taxa de fotossíntese da planta. Os resultados sugerem que o glifosato pode reduzir a condutância estomática em *Digitaria insularis*, afetando negativamente a taxa de fotossíntese e, conseqüentemente, o crescimento da planta. No entanto, é importante notar que os resultados podem variar dependendo das condições de cultivo e da dosagem do herbicida utilizado.

Para densidade estomática (DE) é observado que para o biótipo B6 a variabilidade dos dados é maior para todas as doses de glifosato (Figura 2F, 2G, 2H, 2I, 2J) por isso os violinos são mais alongados. Os valores para essa característica são maiores, encontrando-se em torno e acima da média, como é observado na Tabela 6, confirmando que para o biótipo B6 a média da densidade estomática é maior em relação aos demais biótipos. Segundo Hess e Falk (1990) a grande quantidade de estômatos nas diferentes faces das folhas aumenta a absorção de herbicidas, associado a cutícula fina e mais permeável, para os biótipos suscetíveis.

O biótipo B6, sendo suscetível se destaca em relação a DE quando comparado aos biótipos resistentes. Corroborando as pesquisas realizadas que confirmaram a maior absorção de herbicidas por espécies suscetíveis tem sido associada à presença de estômatos na epiderme adaxial da folha (WYRILL e BURNSIDE, 1976). Logo, esse fato pode explicar a suscetibilidade do biótipo B6 neste trabalho. Em resumo, os resultados sugerem que a densidade estomática pode ser um fator importante a considerar quando se avalia a absorção de herbicidas pelas plantas e a suscetibilidade aos mesmos. O biótipo B6 apresentou uma maior densidade

estomática, o que pode ter contribuído para sua maior absorção de glifosato e sua suscetibilidade ao herbicida em relação aos biótipos resistentes testados.

Já, para os biótipos B1, B2, B3, B4 e B5 os valores de densidade estomática diminuem na dose de 50%. E a variabilidade dos dados é reduzida para todas as outras subdoses, causando afinamento no corpo do violino. Para as concentrações de 200 e 400%, os biótipos B1, B2, B3, B4 e B5 mantem-se com os valores de densidade estomática em torno da média como é observado na Tabela 6. De acordo com Procópio *et al.* (2004) relataram que o menor número de estômatos na face adaxial seria um dos principais obstáculos à penetração dos herbicidas. Isso posto, pode explicar a possível resistência desses biótipos, devido a redução da densidade de estômatos a partir da aplicação de doses elevadas do herbicida glifosato. Outra pesquisa realizada por Gomes *et al.* (2014) também avaliou o efeito do glifosato na densidade estomática de *Digitaria insularis*, em plantas adultas. Os resultados deste estudo foram semelhantes aos do presente estudo mostrando uma diminuição significativa na densidade estomática em resposta ao tratamento com glifosato para os biótipos resistentes.

Dessa forma, é fundamental que os estudos realizados considerem uma emergência representativa da população de suspeita de resistência, além de utilizar diferentes técnicas para a identificação dos possíveis mecanismos de resistência.

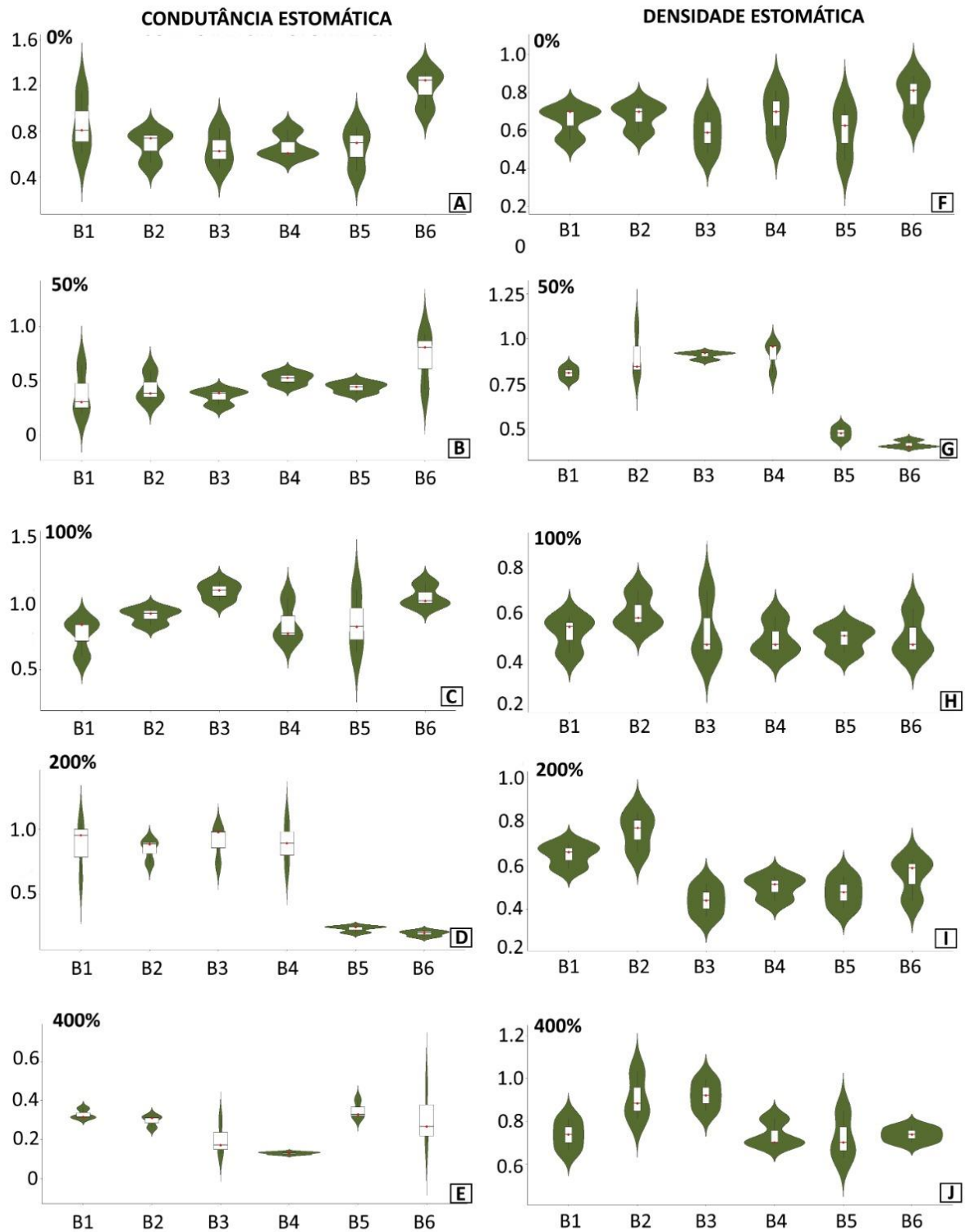


Tabela 7 - Gráficos de Violino. Variação das características estomáticas para cada biótipo em diferentes concentrações de glifosato. As características de densidade estomática e condutância estomática. Os biótipos são indicados por B1, B2, B3, B4, B5, B6. E as concentrações de glifosato indicadas por: 0%, 50%, 100%, 200% e 400%.

#### 4. CONCLUSÃO

Houve modificações quanto aos índices fisiológicos de balanço de nitrogênio, antocianina, flavonoides e clorofila. Os biótipos estudados mostraram-se resistentes as doses de glifosato aplicadas, exceto o biótipo B6 que não resistiu as doses elevadas do herbicida. Para os biótipos B1, B2, B3, B4 e B5 a ação do herbicida não refletiu na eficiência de controle. Visto que os biótipos resistiram a ação do herbicida na dose de 400% do recomendado.

É possível afirmar que as características fisiológicas e morfológicas estomáticas relacionadas à fotossíntese estão relacionadas à resistência de plantas daninhas ao herbicida glifosato, sendo necessário realizar mais estudos para compreender melhor os fatores que criaram para a resistência de plantas daninhas ao glifosato e desenvolver estratégias mais eficazes de controle dessas plantas indesejadas.

## 5. REFERÊNCIAS

- ALCANTARA, R.; FERNANDEZ, P.; SMEDA, R. J.; ALVES, P. L.; PRADO, R. Response of *Eleusine indica* and *Paspalum distichum* to glyphosate following repeated use in citrus groves. *Crop Protection*, v. 79, p. 1-7. 2016.
- ALVES, R. M., INACIO, E. M., MONQUERO, P. A., MENEGUIN, S. P., e HIRATA, A. Leaf surface characterization and the effects of the herbicide saflufenacil on the leaves of weeds. *Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 9(4). 2014.
- ALVEZ, P.L.C.A.; LEITE, J.L.B.; VICENTE, L.H.C.R.; SOUZA, G.A.; PEREIRA, F.F. (West Lafayette, Ind.)(USA), 1995.
- AMARAL, L.R, AZEVEDO, A.A, DAMATTA, F.M, e FERREIRA, E.A. Efeitos do glifosato em plantas resistentes de *Digitaria insularis* testadas em diferentes doses. *Ecotoxicologia e segurança ambiental*, 172, 75-80. 2019.
- BALBINOT JÚNIOR, A. A.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; WERNER, F. Plantio direto momento de dessecação das braquiárias em soja sob SPD. *A Granja*, p. 63-65, jan. 2019.
- BARROSO, A.A.M.; GALEANO, E.; ALBRECHT, A.J.P.; REIS, F.C.; e VICTORIA FILHO, R. A anatomia foliar do capim-azedo influencia a resistência ao glifosato? *Comunicata Scientiae* 6, 4: 445-453. 2015.
- BENEDETTI, Lariza. Seletividade de herbicidas na cultura da soja em função de diferentes umidades do solo. 75 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2015.
- BORTOLO, D.P.G.; MARQUES, P.A.A.; PACHECO, A.C. Teor e rendimento de flavonóides em calêndula (*Calendula officinalis* L.) cultivada com diferentes lâminas de irrigação. *Rev. bras. plantas med.* vol.11 no.4 Botucatu 2009.
- CHRISTOFFOLETI, Pedro Jacob e LÓPES OVEJERO, Ramiro Fernando. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. Aspectos de resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas. Tradução . Piracicaba: Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas - (HRAC-BR), 2008.
- COELHO, F.S.; FONTES, P.C.R.; PUIATTI, M.; NEVES, J.C.L.; SILVA, M.C. de. Dose de nitrogênio associada à produtividade de batata e índices do estado de nitrogênio na folha. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.34, p.1175-1183, 2010.
- CRUZ, G., SOUZA, V.C.; ANDRADE, F.F, e ALVES, P.L.C.A. Efeitos do glifosato na produção de antocianina em *Digitaria insularis* resistente ao glifosato. *Pest Management Science*, 76(10), 3468-3474, 2020.
- DA SILVA CARPEJANI, Meirielly; DE OLIVEIRA JÚNIOR, Rubem Silvério. Manejo químico de capim amargoso resistente a glyphosate na pré-semeadura da soja. *Campo Digital*, v. 8, n. 1, p. 26-33, 2013.

DALAZEN, G.; SANTOS, J. B.; AVILA, L. A.; MACHADO, S. L. O.; MARTINS, L. F.; SILVA, J. B.; CARVALHO, S. J. P. Efeito de inibidores de enzimas P450 sobre plantas de capim-arroz tratadas com imazethapyr. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 9, Pelotas. Anais... Pelotas: SOSBAI, p. 799-802. 2015.

DRAKE, P.L , FROEND, R.H , e FRANKS, P.J . Smaller and faster stomata: Sizing stomata size, response rate and stomatal conductance. *Journal of Experimental Botany*, 64 (2), 495 - 505. 2013.

GODOY, M.C. Efeito do glifosato em biótipo de *Digitaria insularis* resistente. *Revista Brasileira de Herbicidas*, 15(1), 43-49. 2016.

GOMES, M. P., SMEDBOL, E., CHALIFOUR, A., HÉNAULT-ETHIER, L., LABRECQUE, M., LEPAGE, L., e LUCOTTE, M. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: an overview. *Journal of Experimental Botany*, 65(17), 4691-4703. 2014.

HESS, F. D.; FALK, R. H. Herbicide deposition on leaf surfaces. *Wees Sci.*, v.38, n.3, p.280-288, 1990.

JONES, A. B., et al. Physiological and genetic characterization of glyphosate-resistant and -susceptible biotypes of *Digitaria insularis*. *Weed Science*, 67(1), 17-25. 2019.

LACERDA, André Luiz de Souza. Fluxos de emergência e banco de sementes de plantas daninhas em sistemas de semeadura direta e convencional e curvas dose-resposta ao Glyphosate. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2003.

LIU, Y., et al. Nitrogen metabolism alteration and detoxification mechanisms in glyphosate-resistant and -susceptible goosegrass (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(22), 6192-6203. 2020.

LOPES R. M.; OLIVEIRA T. D.; NAGEM T. J.; PINTO A. D. S. Flavonóides. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. v. 3, n. 14. 2010.

LOPEZ OVEJERO, Ramiro F.; CHRISTOFFOLETI, Pedro J.; CARVALHO, Saul J. P. de; NICOLAI, Marcelo; LIMA, Matheus; MARTINS, Bianca A.; MORAES, Rafaela M. Frequency and dispersal of glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis*) populations across brazilian agricultural production areas. *Weed Science*, v. 65, n. 2, p. 285-294, 2017.

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

MATERN, V.; GRIMMIG, B. Natural phenols as stress metabolites. *Acta Horticulturae*, n. 381, p. 448-462, 1994.

NUNES, A.L., DA SILVA, A.A., ROCHA, P.R.R., SANCHES, J.C., OLIVEIRA JUNIOR, R.S., YAMADA, T., e VICTORIA FILHO, R. Glyphosate resistance affects nitrogen use efficiency and nutrient uptake by *Digitaria insularis* biotypes under different water stress conditions. *Pest Management Science*, 76(9), 3000–3008, 2020.

PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J. B.; SILVA, A. A.; MARTINEZ, C. A.; WERLANG, R. C. Características fisiológicas das culturas de soja e feijão e de três espécies de plantas daninhas. *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v.22, n.2, p.211-216, 2004.

REINERT, D. J., REICHERT, J. M., BRAIDA, J. A., e HORN, R. Limites críticos de densidade do solo para o crescimento de raízes de plantas de cobertura em argissolo vermelho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(5), 1805–1816. 2008.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. Guia de herbicidas. 6. ed. Londrina: Ed. dos Autores, 2011.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. Guia de herbicidas. 5 ed. Londrina, 592p. 2005.

ROSS, M. A.; CHILDS, D. J. Herbicide mode-of-action summary. *Weed science Herbicide Mode-of-Action Summary*, 1996.

ROSSI, C.; FAQUIN, V.; CURI, N. Calagem e fontes de fósforo na produção do braquiarião e níveis críticos de fósforo em amostras de Latossolo dos Campos das Vertentes (MG). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.26, n.6, p.1083-1089, 1997.

SANTOS, A. S. FERREIRA, A. S. CARDOSO, V. R. and TEIXEIRA, F. S. "Modeling and simulation of a solar flat-plate collector for domestic water heating," *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 21, no. 8, pp. 577-582, 2017.

SCAPIM, C. A. et al Yield stability in maize (*Zea mays* L.) and correlations among the parameters of the Eberhart and Russell, Lin and Binns and Huehn models. *Genetics and Molecular Biology*, v. 23, n. 2, p. 387-393, 2000.

SCHRÜBBERS, L.C.; PERINA, F.J.; RODRIGUES, B.N.; CASTRO, E.M.; FRANCO, A.R.; NEVES, M.C.P.; CUNHA, G.R.; ZOBIOLE, L.H.S. Glyphosate accumulation, translocation, and biological effects in *Coffea arabica* after single and multiple exposures. *European Journal of Agronomy*, v. 80, p. 46-54, 2016.

SILVA, D. R., CARVALHO, L. B., FERREIRA, F. A., MIRANDA, E. S., e FERREIRA, F. A. Glyphosate and other herbicides affect the physiological and biochemical parameters of *Digitaria insularis*. *Planta Daninha*, 38. 2020.

SILVA, D. V. Métodos não destrutivos para estimativas de clorofilas como indicadores da qualidade de mudas de espécies florestais. 2014, 62p. Dissertação (Mestre em Produção Vegetal), Ilhéus, Universidade Estadual de Santa Cruz, 2014.

SILVA, M. L. S.; RESENDE, J. T. V.; TREVIZAM, A. R.; FIGUEIREDO, A. S. T.; SCHWARZ, K. Influência do silício na produção e na qualidade de frutos do morangueiro. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, n. 6Supl1, p. 3411-3424, 2013.

SILVA, R. B., et al. Flavonoid production and characterization in glyphosate-resistant and susceptible biotypes of *Digitaria insularis*. *Journal of Plant Interactions*, 16(1), 163-172. 2021.

SILVA, R. L.; MARTINS, L. D. V.; BANTIM FELICIO CALOU, I.; MEIRELES DE DEUS, M. D. S.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. *Acta toxicológica argentina*, v. 23, n. 1, 2015.



SILVEIRA, Hellen Martins da. Confirmação e caracterização fisiológica de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate. 39 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2017.

SMITH, J. K., et al. Photosynthetic rate, glyphosate susceptibility, and leaf anatomy of selected glyphosate-resistant biotypes of horseweed (*Conyza canadensis*) and giant ragweed (*Ambrosia trifida*). *Weed Science*, 66(6), 741-750. 2018.

TAIZ L., ZEIGER E. *Fisiologia Vegetal*. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 848p.  
TORRES NETTO, A.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, J.G.; SMITH, R.E.B.  
Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.104, p.199-209, 2005.

WYRILL, J.B.; BURNSIDE, O.C. Absorption, translocation and metabolism of 2,4-D and glyphosate in common milkweed and hemp dogbane. *Weed Science*., v. 24, n. 6, p. 557-566, 1976.

ZHANG, L., LI, Y., LU, Y., HU, Y., ANDERSON, C. W. N., e LIU, T. X. Physiological and biochemical response of *Digitaria insularis* to glyphosate. 2019