INSTITUTO DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOTECNIA

MONIQUE MACEDO ALVES

CARACTERIZAÇÃO E MANEJO DE CAPIM-PÉ-DE-GALINHA (*Eleusine indica*)

SEROPÉDICA
2025

MONIQUE MACEDO ALVES

CARACTERIZAÇÃO E MANEJO DE CAPIM-PÉ-DE-GALINHA (*Eleusine indica*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Fitotecnia, Área de concentração: Produção Vegetal.

Orientador(a): Prof. Dr. Camila Ferreira de Pinho

Coorientador(a): Dr. Claudia de Oliveira

SEROPÉDICA
2025

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central/Central de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A474c Alves, Monique Macedo, 1996-
Caracterização e manejo de capim-pé-de-galinha (Eleusine indica) / Monique Macedo Alves. Serópedica, 2025.
118 f.: il.

Orientadora: Camila Ferreira De Pinho.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA, 2025.

1. Herbicida. 2. Plantas daninhas. I. De Pinho, Camila Ferreira, 1986-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA III. Título.

É permitida a cópia parcial ou total desta TFC/Dissertação/Tese, desde que seja citada a fonte

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

MONIQUE MACEDO ALVES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Fitotecnia, no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de Concentração em Produção Vegetal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 25/02/2025

gov.br Documento assinado digitalmente
CAMILA FERREIRA DE PINHO
Data: 22/06/2026 18:24:41-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Camila Ferreira de Pinho. Drª. UFRRJ
(Orientadora)

gov.br Documento assinado digitalmente
ANDERSON LUIS NUNES GABARDO
Data: 09/07/2026 10:17:43-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Anderson Luís Nunes Gabardo Dr. IFRS
(Membro)

gov.br Documento assinado digitalmente
GABRIELA DE SOUZA DA SILVA
Data: 26/06/2026 11:47:06-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Gabriela de Souza da Silva Drª. UFRRJ
(Membro)

AGRADECIMENTOS

À minha família, minha “mamãe”, Simone Macedo e “mãe” Maria da Conceição, pela dedicação em todas as etapas da minha vida, por acreditarem e sempre me apoiarem em todas as minhas decisões. À minha falecida tia Mônica, que mesmo não estando mais conosco me apoiou e me protegeu até o seu último dia. Ao meu primo Tiago, meu irmão Fabrício, meu tio Edson e meu padrasto Marcelo, que ajudam a manter o nosso elo familiar e sempre estão presentes quando preciso.

À minha amiga do coração Iandra Terra pela paciência e sempre estar do meu lado, me ouvindo, apoiando e aconselhando quando eu me sentia perdida. Ao meu amigo José que vivenciou toda a minha história na Rural e sempre me ofereceu consolo com sua paz e tranquilidade. Aos meus amigos Suamyr, Thairine, Paulo, Érica, Andressa e Gabriella pelos momentos de alegria, por serem um ponto forte e de conforto ao longo dessa trajetória.

A todos os integrantes do grupo PDPA, cujo apoio em cada etapa deste trabalho foi fundamental para sua conclusão, meus sinceros agradecimentos. Sem a colaboração de cada um, este trabalho não teria sido possível.

Aos amigos que a Rural me deu: Amanda, Lucas Marinho, Lucas Soares, Rita, Milena, Eduardo, Ana Beatriz, Evellyn. Anthony e Natália. Que os nossos caminhos se cruzem ao longo das nossas vidas. Foi um prazer enorme trabalhar com vocês.

À minha orientadora, professora Dra. Camila Pinho, minha eterna gratidão por ter sido fundamental na minha formação profissional, por acreditar no meu trabalho e por me inspirar a manter sempre uma visão positiva, mostrando que, com dedicação e perseverança, tudo é possível de ser alcançado.

Ao professor Dr. Aroldo Machado por todas as contribuições técnicas e assistência.

Meus sinceros agradecimentos ao professor Dr. Ricardo Tozin, pelos direcionamentos, pela paciência e disponibilidade sempre que precisei.

Agradeço à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro por ter sido essencial na minha formação, ajudando a me tornar a profissional e cidadã consciente que sou hoje. Viva a universidade pública, gratuita e de qualidade! Meu reconhecimento ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pelo incentivo e assistência, ao CNPq pelo financiamento que tornou esta conquista possível e à Claudia de Oliveira e Eduardo Ozorio, que, junto à Syngenta, tornaram possível essa importante parceria.

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida e à FAPERJ pelo financiamento dos projetos.

Meus agradecimentos aos membros da banca pelas valiosas contribuições, sugestões e reflexões que enriqueceram este trabalho, me ajudando a aprimorar minha pesquisa e meu crescimento acadêmico.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001" (**PORTARIA Nº 206, DE 4 DE SETEMBRO DE 2018 DA CAPES)**

Muito obrigada a todos!

RESUMO GERAL

ALVES, Monique Macedo. **Caracterização e manejo de capim-pé-de-galinha (***Eleusine indica***)**. 2025. 118p. Dissertação (Mestrado em fitotecnia); Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

O capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) é uma planta daninha amplamente distribuída em sistemas agrícolas e com crescente casos de resistência a herbicidas no Brasil. O objetivo do trabalho foi caracterizar as diferenças morfológicas e fisiológicas de biótipos resistentes e suscetível aos herbicidas glifosato, cletodim e haloxifope-p-metilico, bem como avaliar estratégias químicas de manejo para o controle da espécie. Foram conduzidos experimentos com os seguintes objetivos específicos: Capítulo I - caracterizar e comparar as diferenças anatômicas e ultraestruturais de biótipos de *E. indica* resistentes e suscetíveis a herbicidas em diferentes estádios de desenvolvimento, visando compreender os fatores que influenciam a eficácia do manejo químico; Capítulo II – comparar fisiologicamente os mecanismos de resistência de dois biótipos resistentes ao herbicida glifosato (um com mutação P106S e outro sem a mesma mutação na enzima EPSPs) e um biótipo suscetível, por meio da análise proteômica e análise de fluorescencia transiente da clorofila a; Capítulo III - Avaliar a eficácia de herbicidas pós-emergentes e pré-emergentes no controle da espécie em campo e casa de vegetação. Os resultados da análise anatômica e ultraestrutural revelaram que estádio de desenvolvimento de *E. indica* influencia suas características anatômicas e ultraestruturais, com plantas adultas apresentando maior espessura da cutícula, do mesófilo e da bainha do feixe, além de variações na densidade de estômatos e tricomas. O biótipo suscetível possui maior densidade de tricomas, porém, devido ao seu formato curto e espaçado, sua eficiência na retenção de herbicidas pode ser limitada. Além disso, a maior densidade estomática e a presença de microcanais na parede periclinal externa das células-guardas podem favorecer a entrada dos herbicidas, tornando esse biótipo mais vulnerável ao controle químico (capítulo I). Os resultados da análise proteômica mostraram que a resistência ao glifosato em *E. indica* ocorre por múltiplos mecanismos adaptativos. O biótipo com a mutação P106S apresentou aumento do metabolismo energético, com ativação de vias glicolíticas e biossíntese de amido, além de ajustes fotossintéticos para melhor aproveitamento da energia luminosa. Já o biótipo sem a mutação P106S exibiu superexpressão da enzima EPSPs e aumento de proteínas ligadas ao reparo do PSII, defesa contra estresses e mitigação do estresse oxidativo. Ambos os biótipos mantiveram a etapa fotoquímica da fotossíntese estável, indicando um papel essencial das proteínas fotossintéticas na tolerância ao herbicida (capítulo II). Os melhores resultados referentes ao manejo químico no controle em pós-emergência de *E. indica* em pleno florescimento, entouceirado e em áreas sem histórico de resistência a herbicidas foram obtidos com glufosinato de amônio aplicado 14 dias após cletodim e com glifosato histórico de resistência. Em pré-emergência, s-metolacloro e piroxasulfona foram altamente eficazes no controle de biótipo resistentes ao glifosato, cletodim e haloxifope, mantendo efeito residual por até 90 dias (capítulo III).

Palavras-chave: cera epicuticular; fotossíntese; superexpressão; aplicação sequencial

ABSTRACT

ALVES, Monique Macedo. **Characterization and Management of Goosegrass** (*Eleusine indica*). 2025. 118p. Dissertation (Master's Degree in Agronomy); Institute of Agronomy, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2025.

Goosegrass (*Eleusine indica*) is a widely distributed weed in agricultural systems, with increasing cases of herbicide resistance in Brazil. This study aimed to characterize the morphological and physiological differences between herbicide-resistant and susceptible biotypes to glyphosate, clethodim, and haloxyfop-p-methyl, as well as to evaluate chemical management strategies for controlling this species. Experiments were conducted with the following specific objectives: Chapter I – Characterize and compare the anatomical and ultrastructural differences of *E. indica* biotypes resistant and susceptible to herbicides at different developmental stages, aiming to understand the factors influencing chemical management efficacy; Chapter II – Physiologically compare the resistance mechanisms of two glyphosate-resistant biotypes (one with the P106S mutation and another without it in the EPSPs enzyme) and one susceptible biotype through proteomic analysis and transient chlorophyll a fluorescence analysis. Chapter III – Evaluate the efficacy of post-emergence and pre-emergence herbicides in controlling the species in field and greenhouse conditions. The anatomical and ultrastructural analysis revealed that the developmental stage of *E. indica* significantly influences its anatomical characteristics, with adult plants exhibiting increased cuticle, mesophyll, and vascular bundle sheath thickness, as well as variations in stomatal and trichome density. The susceptible biotype had a higher trichome density; however, due to their short and spaced structure, their efficiency in herbicide retention may be limited. Additionally, the higher stomatal density and the presence of microchannels in the outer periclinal wall of guard cells may facilitate herbicide entry, making this biotype more vulnerable to chemical control (Chapter I). Proteomic analysis results showed that glyphosate resistance in *E. indica* occurs through multiple adaptive mechanisms. The biotype with the P106S mutation exhibited an increase in energy metabolism, including activation of glycolytic pathways and starch biosynthesis, along with photosynthetic adjustments to optimize light energy utilization. In contrast, the biotype without the P106S mutation showed EPSPs enzyme overexpression and an increase in proteins associated with PSII repair, stress defense, and oxidative stress mitigation. Both resistant biotypes maintained a stable photosynthetic photochemical stage, indicating an essential role of photosynthetic proteins in herbicide tolerance (Chapter II). The best chemical management results for post-emergence control of *E. indica* at full flowering, tillering, and in areas with no history of herbicide resistance were obtained with glufosinate-ammonium applied 14 days after clethodim and with glyphosate. In pre-emergence, S-metolachlor and pyroxasulfone were highly effective in controlling biotypes resistant to glyphosate, clethodim, and haloxyfop, maintaining a residual effect for up to 90 days (Chapter III).

Keywords: epicuticular wax; photosynthesis; overexpression; sequential application.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL 7

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 8

2.1 Planta daninha 8

2.2 Capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) 9

2.3 Métodos de controle de plantas daninhas e o manejo químico de capim-pé-de galinha 13

2.4 Resistência de plantas daninhas a herbicidas 16

2.5 Resistência de capim-pé-de-galinha a herbicidas 18

2.6 Abordagens metodológicas para caracterização morfológica e fisiológica do capim-pé-de-galinha 19

3 RESULTADOS PRELIMINARES 24

4 CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO DAS DIFERENÇAS ANATÔMICAS E ULTRAESTRUTURAIS DE BIÓTIPOS DE *Eleusine indica* 31

4.1 INTRODUÇÃO 34

4.2 MATERIAL E MÉTODOS 35

4.3 RESULTADOS 39

4.4 DISCUSSÃO 47

4.5 CONCLUSÃO 50

4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÀFICAS 51

5 CAPÍTULO II - PROTÊOMICA COMPARATIVA DE BIÓTIPOS DE *Eleusine indica* RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO HERBICIDA GLIFOSATO 53

5.1 INTRODUÇÃO 56

5.2 MATERIAL E MÈTODOS 57

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 64

5.4 CONCLUSÃO 80

5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 81

6 CAPÍTULO III - USO DE HERBICIDAS PÓS E PRÉ-EMERGENTES NO MANEJO DE *Eleusine indica* 84

6.1 INTRODUÇÃO 87

6.2 MATERIAL E MÉTODOS 88

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 91

6.4 CONCLUSÃO 111

6.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 112

7 CONCLUSÕES GERAIS 116

1 INTRODUÇÃO GERAL

Até 2080, a população global deverá atingir 10,3 bilhões de habitantes, intensificando a pressão sobre os sistemas alimentares (UNITED NATIONS, 2024). Esse crescimento aumentará a demanda por alimentos, tanto em quantidade quanto em qualidade, exigindo um aumento significativo na produtividade das culturas (KUMAR; YADAV; KAUSHIK, 2025). Entre as principais restrições ao aumento de produtividade, a presença de plantas daninhas nas áreas de cultivo pode causam perdas de produtividade as culturas, em média, de 15 a 66% na produção de arroz, 18 a 65% no milho, 50 a 76% na soja e 45 a 71% no amendoim (GHARDE et al., 2018).

O capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) é uma espécie vegetal considerada como planta daninha em diversos sistemas de produção agrícola. A tolerância da espécie a diferentes tipos de solo com variações de pH, inclusive em solos compactados e empobrecidos (JUNIOR et al., 2018), aliada às características da biologia da espécie, tem impulsionado a sua crescente relevância nos últimos anos. Além disso, a limitação na eficácia dos herbicidas, que é o método principal de controle dessas plantas, acentua ainda mais essa importância (STECKEL, 2010). As falhas de controle também estão associadas a limitada variedade de mecanismos de ação disponíveis para o controle de espécies gramíneas no campo, contribuindo para o aumento dos casos de resistência a herbicidas.

O impacto da resistência a herbicidas no custo do controle efetivo de plantas daninhas em culturas como soja, milho e feijão, pode duplicar ou até quintuplicar os custos de produção, dependendo das espécies de plantas daninhas presentes (KNISS et al., 2022). Isso acontece devido a necessidade de uso de misturas eficazes de herbicidas de diferentes mecanismos de ação e por isso, muitos produtores hesitam em adotar essas misturas devido ao impacto econômico imediato, apesar dos benefícios a longo prazo no manejo da resistência (KNISS et al., 2022).

No Brasil, durante os últimos 20 anos foram relatados quatro casos de biótipos de capim-pé-de-galinha com resistência a herbicidas, incluindo os principais mecanismos de ação utilizados para o controle de espécies gramíneas: herbicidas inibidores da enzima acetil-coenzima A carboxilase (ACCase) e da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs). O último caso ocorrido em 2023, envolveu biótipo com resistência cruzada e múltipla associada aos herbicidas inibidores da ACCase (cletodim e haloxifope), e aos herbicidas

inibidores da EPSPs (glifosato), demonstrando a evolução da resistência devido à pressão de seleção ao longo dos anos (HRAC-BR, 2023; HEAP, 2023).

Plantas daninhas têm a capacidade de evoluir desenvolvendo mecanismos cada vez mais sofisticados como uma estratégia de sobrevivência, diante da exposição a herbicidas. Esses mecanismos podem envolver modificações estruturais na enzima-alvo, evitando a ligação dos herbicidas, ou a amplificação/superexpressão gênica da enzima, resultando em maior produção na planta (SAMMONS & GAINES, 2014). Adicionalmente, a retenção e absorção de herbicidas pela planta também é influenciada por características morfológicas, como o estádio de desenvolvimento e a presença de estruturas especializadas na superfície foliar, como a cutícula e os tricomas , que podem reduzir a concentração dessas moléculas no sítio de ação (MENDES et al., 2022). Biótipos de capim-pé-de-galinha com resistência a herbicidas, apresentam diversos mecanismos de resistência associados ou não ao local de ação (LI et al., 2022; VAZQUEZ-GARCIA et al., 2021; YU et al., 2015; OSUNA et al.; 2012) e tais diferenças podem ou não estar associadas a variações morfológicas, fisiológicas e genéticas presentes nessa espécie que podem provocar mudanças substanciais na habilidade da planta em enfrentar a ação dos herbicidas.

Deste modo, o objetivo desta pesquisa foi contribuir com informações detalhadas a respeito de regiões anatômicas do limbo foliar e identificação de proteínas acumuladas ou reprimidas nos tecidos foliares de capim-pé-de-galinha submetidos a aplicação de herbicidas. O foco foi buscar por alterações que possam estar associadas aos mecanismos de resistência a herbicidas de alguns biótipos ou que dificultem o controle de biótipos de plantas de capim-pé-de-galinha no campo. Além disso, foram abordadas estratégias de controle químico mais eficazes para o manejo da espécie no cenário agrícola atual.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Planta daninha

O termo “planta daninha” é utilizado para classificar espécies vegetais indesejáveis em alguma atividade humana, sobretudo em áreas agrícolas devido ao impacto que causam na produtividade, aos custos de produção e a preservação das reservas ambientais, além de aumentar os riscos de acidentes em rodovias, ferrovias, hidrovias e afetar a integridade dos ecossistemas aquáticos e a geração de energia elétrica (SILVA et al., 2021; PITELLI, 2015).

Os prejuízos decorrentes das plantas consideradas daninhas podem manifestar-se de maneira direta ou indireta. Diretamente, os prejuízos estão relacionados a pressões ambientais como, a competição por recursos do meio, incluindo água, luz, nutrientes e espaço, bem como efeitos alelopáticos, resultando na diminuição da produtividade tanto vegetal quanto animal. Ademais, esses prejuízos refletem-se na não certificação de sementes, na exigência de maior quantidade de água e na redução da qualidade dos produtos colhidos (SILVA et al., 2010). Indiretamente, essas plantas podem atuar como hospedeiras de pragas, doenças e nematoides, inviabilizar práticas agrícolas e colheitas, causar ferimentos em trabalhadores, levar a casos de intoxicação, abrigar animais peçonhentos, obstruir equipamentos e canais de irrigação, prejudicar a eficiência na utilização do terreno e elevar os custos relacionados ao controle de pragas e doenças (SILVA et al., 2010).

As espécies de plantas daninhas desenvolveram características ao longo do tempo para sobreviver em ambientes com diversas limitações ao crescimento das plantas. Essas características, conhecidas como características de agressividade, dificultam o controle eficaz dessas espécies (BRIGHENTI & OLIVEIRA, 2011). Algumas características relevantes incluem a habilidade das plantas daninhas de recrutar recursos do ambiente; alta e variada produção de propágulos, tais como, sementes, bulbos, estolões, rizomas; desuniformidade germinativa, dificultando o controle em um único período; capacidade de germinar e emergir em diferentes profundidades no solo; eficiente disseminação de propágulos, dispersos através do vento, água, animais ou humanos; rápido crescimento e desenvolvimento inicial e maior eficiência em produzir biomassa seca com utilização de menores quantidades de água e melhor aproveitamento da energia luminosa, especialmente evidente em plantas com o metabolismo fotossintético C4 (BRIGHENTI & OLIVEIRA, 2011).

2.2 Capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*)

Apesar da origem incerta, o capim-pé-de-galinha é considerado uma planta originária da África e da Ásia temperada e tropical (RAHMAN & SULTANA, 2021). É uma planta de ciclo anual ou perene, pertencente à família Poaceae. No Brasil, é conhecida popularmente como capim-pé-de-galinha e apresenta algumas características marcantes das quais pode-se destacar, o ciclo fotossintético do tipo C4, formação densas touceiras, porte ereto ou semiprostrado com altura variando entre 30 a 70 cm, reprodução do tipo autógama e células diplóides (LORENZI, 2000; JUNIOR et al., 2018). É considerada uma das plantas daninhas mais problemáticas em todo o mundo e foi relatada como um problema para 46 diferentes culturas em mais de 60 países (NEVES, 2011).

Segundo BOLDRINI et al (2008), a planta possui folhas de aspecto glabro, exibindo pelos somente na região do colar, com lâminas lisas, planas e sustentadas por bainhas de aproximadamente 10 cm, que se encontram soltas ou parcialmente sobrepostas, acompanhadas por lígulas membranáceas, desprovidas de aurículas, e a inflorescência emerge do topo dos colmos, adotando a forma de ramos digitados, contendo de 2 a 12 unidades lineares. Um dos ramos se insere ligeiramente abaixo do vértice terminal. Diferentemente das demais espécies da família Poaceae, o capim-pé-de-galinha possui frutos do tipo aquênio, os quais são fixados à ráquis por apenas um ponto e têm formato ovalado (BOLDRINI et al., 2008). No campo, a espécie pode ser facilmente identificada através do seu caule achatado de coloração esbranquiçada e esbranquiçada próximo a base e por sua inflorescência característica devido a semelhança com artelhos dos pés de galinha (Figura 1) (MOREIRA & BRAGANÇA, 2011).

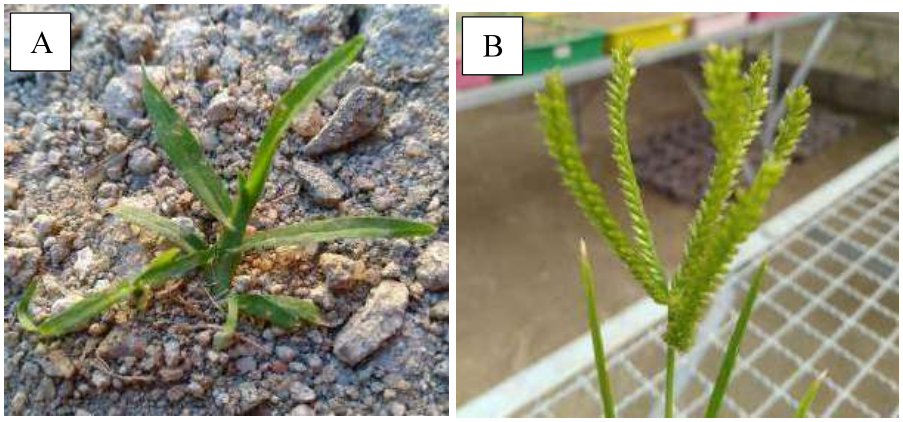


Figura 1. (A) Planta jovem de Eleusine indica. (B) Inflorescência de Eleusine indica. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ - 2023.

A reprodução ocorre apenas por meio de sementes, que por sua vez, desenvolvem-se de forma contínua ao longo do ciclo da espécie podendo chegar à formação de até 120 mil sementes por planta. Essa característica gera falta de uniformidade na maturação das sementes e por isso representa uma importante estratégia de sobrevivência para a espécie (TAKANO et al., 2016). A estratégia de reprodução adotada pelas espécies desempenha um papel de grande relevância na determinação das variações entre as populações de distintas áreas geográficas, afetando como a diversidade genética é transmitida de geração em geração.

Quanto à anatomia da espécie, existem poucos trabalhos a respeito da caracterização da espécie, LUCHIAN et al (2019) descreveu a planta com folhas anfiestomáticas, ou seja, tem a presença estômatos na face adaxial e abaxial, e o lado adaxial apresenta nervuras largas e arredondadas, separadas por sulcos rasos em formato de 'V'. As células epidérmicas são

dispostas em linhas paralelas nas duas superfícies, com paredes anticlinais sinuosas, sendo curtas e longas, com as células curtas, localizadas entre as nervuras, contendo corpos de sílica, enquanto as longas, situadas entre as nervuras, são alongadas (LUCHIAN et al., 2019). Na face superior, estão presentes células buliformes nos sulcos, dispostas em grupos estreitos que penetram o mesofilo entre feixes vasculares, que são colaterais fechados, com o clorênquima disposto radialmente ao redor deles e apresentam feixes de esclerênquima tanto no lado abaxial quanto adaxial (LUCHIAN et al., 2019). O xilema está voltado para o lado superior e o floema para o lado inferior. O xilema é composto por elementos de vaso, fibras e parênquima de xilema. O floema é composto por elementos de tubo de crivo, células companheiras e parênquima de floema (LUCHIAN et al., 2019). Características específicas da epiderme da folha, indicativas de uma planta do tipo C4, também estão presentes nesta espécie, tais como, ocorrência de bainha do feixe clorofilada e a disposição das células do mesofilo em um padrão de anel, formando uma estrutura única denominada de anatomia Kranz (RAHMAN & SULTANA, 2021).

No colmo, uma fina camada de cutícula recobre células epidérmicas de camada única e retangulares, com o tecido fundamental consistindo de células esclerenquimáticas e parenquimáticas e os feixes vasculares estão dispersos no centro do colmo, com feixes menores próximos próximos à extremidade, a bainha do feixe é completa, esclerênquimatosa, ao redor de cada feixe (LUCHIAN et al., 2019). O xilema inclui elementos de vaso, fibras e parênquima, e o floema abarca elementos de tubo crivado, células companheiras e parênquima (LUCHIAN et al., 2019).

As raízes exibem uma estrutura de epiderme com pêlos radiculares numerosos, possui hipoderme espessa, constituída por uma camada, parenquimatosa, e as células têm forma poligonal; o tecido fundamental é de paredes finas, parenquimatoso, consistindo de córtex, endoderme, periciclo, feixe vascular e medula; o córtex é formado por 6-7 camadas de células parenquimatosas poligonais, com presença de espaços intercelulares; na camada mais interna do córtex está a presença da endoderme, formando um anel definido de uma camada, as células são parenquimatosas; a camada do periciclo é anelar, de uma camada; os feixes vasculares são do tipo radial, poliarquos, com feixes de xilema alternando com feixes de floema, sendo o xilema e o floema ovais a redondos, com o protoxilema ocorrendo próximo à periferia e o metaxilema voltado para o interior; as células parenquimatosas no centro formam a medula (LUCHIAN et al., 2019).

Além do mais, a complexidade para essa espécie não se limita apenas à anatomia da planta. Estudos científicos relatam a ausência de toxicidade a mamíferos em metabólitos secundários produzidos pela espécie, o que permite sua utilização dentro da medicina tradicional em diversas regiões do mundo para o tratamento de doenças inflamatórias e distúrbios associados ao sistema imunológico devido presença de propriedades antioxidante, antidiabéticas, antivirais, antimicrobiana e anti-inflamatória (ADOHO et al., 2021). Além do potencial medicinal, as raízes e plantas jovens de E. indica também desempenham um papel alimentar em diferentes regiões globais, incluindo a Índia (ZAKRI et al., 2021).

Além disso, a espécie está amplamente distribuída por todo o território nacional devido à sua notável adaptabilidade, evidenciada pela baixa exigência em relação ao tipo de solo, com grande tolerância a uma ampla faixa de pH, além de seu bom desenvolvimento mesmo em solos compactados e empobrecidos. Esses atributos conferem à espécie vantagens significativas para seu crescimento, permitindo uma notável capacidade competitiva com outras plantas, especialmente culturas de interesse econômico (JUNIOR et al., 2018; WANDSCHEER et al., 2013) resultando em prejuízos significativos para a produtividade de várias culturas, como observado por MA XIAO-YAN et al. (2015) no cultivo do algodão. Eles relataram uma redução na produção de algodão em caroço à medida que a densidade de capim-pé-de-galinha aumentava na área de cultivo, com uma diminuição de até 50% na produção quando 20 plantas de capim-pé-de-galinha estavam presentes por linha na cultura. WANDSCHEER et al. (2013) também constataram interferência negativa da presença de capim-pé-de-galinha no cultivo do milho, resultando em uma redução na massa seca da parte aérea e total das plantas de milho quando a densidade da planta daninha era três vezes maior do que a do milho.

Nos últimos anos, a importância do capim-pé-de-galinha tem crescido significativamente devido às infestações intensas em áreas de cultivo por conta das falhas na eficácia de controle com herbicidas, principal método de controle da espécie. As falhas de controle das plantas daninhas podem ser causadas por fatores inerentes ao manejo e muitas vezes a biologia da própria espécie. A exemplo disto, podemos citar o uso de doses inadequadas, equipamentos de aplicação incorretos ou mal calibrados, condições ambientais desfavoráveis no momento da aplicação e estádio de desenvolvimento da planta inapropriado (ALVES, 2014). A eficácia no controle do capim-pé-de-galinha por meio de herbicidas é diretamente influenciada pelo estádio de desenvolvimento em que as plantas se encontram (TAKANO et al., 2016). A camada de cera sobre a cutícula das folhas de capim-pé-de-galinha tende a se tornar mais espessa em plantas com três perfilhos quando comparadas a plantas com um

perfilho. Uma vez que o herbicida precisa ultrapassar esta camada de cera para ser absorvido pela planta, a aplicação destes produtos em plantas de estádio com mais de três perfilhos torna a sua absorção bastante restrita (TAKANO et al., 2016).

Além disso, estudos científicos relatam que para essa espécie, a absorção reduzida de herbicidas está associada à menor proporção da massa seca das folhas em relação à massa seca total ao longo do tempo, uma vez que esses produtos são absorvidos através das folhas (TAKANO et al., 2016). Assim, quanto mais precoce for o estágio de desenvolvimento da planta no momento da aplicação, maior será a eficácia dos herbicidas no controle do capim-pé-de-galinha (TAKANO et al., 2016). Dessa forma, é preciso conhecer intimamente toda a biologia da planta daninha antes de associar problemas de escapes de controle com resistência a herbicidas.

2.3 Métodos de controle de plantas daninhas e o manejo químico de capim-pé-de-galinha

O manejo integrado de plantas daninhas (MIPD) envolve estratégias para reduzir a infestação e minimizar a competição com as culturas. Essas abordagens buscam equilibrar custos de controle e perdas de produtividade (WOYESSA, 2022). Existem diferentes métodos de controle de plantas daninhas (preventivo, cultural, físico, mecânico, biológico e químico) e a combinação de mais de um deles é de extrema importância para tornar os sistemas de cultivo desfavoráveis às plantas daninhas, minimizando seus efeitos negativos (NUNES; TREZZI; DEBASTIANI, 2010).

A escolha do método de controle dependerá de características das plantas, do ambiente e das práticas agrícolas e, de forma geral, o manejo deve ser iniciado antes mesmo da presença das espécies na área (método preventivo), como por exemplo, com o uso de sementes de culturas certificadas, limpeza de máquinas e implementos agrícolas, controle das espécies em canais, margens de lavouras e caminhos (MARTINS; JUNIOR, 2023).

As espécies também podem ser eliminadas com o uso de ferramentas manuais (método mecânico), como o uso de enxadas, foice e implementos tracionados por animais ou tratores (ALBRECHT et al., 2021). O método mecânico é uma maneira rápida de lidar com plantas daninhas e pode ter alta eficiência, mas a dependência do clima, a erosão do solo e os danos à cultura tornam sua adoção limitada (MAQSOOD et al., 2020). O emprego de outros artifícios como como uso de cobertura morta, solarização, fogo, inundação, dragagem, drenagem e

eletricidade, compõem o método físico e, também são estratégias importante que pode ser combinada com as demais (BRIGHENTI; DE OLIVEIRA, 2011).

O uso de organismos vivos ou seus metabólitos (método biológico) também é uma estratégia para o controle de plantas daninhas, embora ainda pouco adotado, vem atraindo a atenção da comunidade científica, com pesquisas focadas principalmente no uso de fungos e insetos como agentes de controle (MARTINS; JUNIOR, 2023). O controle biológico de plantas daninhas é uma estratégia sustentável e de longo prazo, oferecendo menor impacto ambiental. No entanto, sua aplicação enfrenta desafios, como a alta especificidade dos agentes biológicos e a variabilidade nos resultados, o que limita sua ampla adoção (MAQSOOD et al., 2020).

O método químico, por sua vez, constitui-se na aplicação de herbicidas para o controle plantas daninhas, sendo o método mais empregado, principalmente devido a eficiência, praticidade e rapidez na operação (AGOSTINETTO et al., 2015). Além disso, muitos produtores relutam em usar métodos não químicos em razão da maior complexidade, demanda de tempo, custos, níveis de controle variáveis e menos previsíveis, necessidade de mão de obra intensiva, ausência de resultados imediatos entre outros fatores (MOSS, 2019). Entretanto. o uso indiscriminado sem a combinação de mais métodos pode acarretar em impactos ambientais, problema residual para a cultura subsequente e seleção de biótipos resistentes (MAQSOOD et al., 2020).

O manejo das plantas daninhas de folhas estreitas em pós-emergência, como o capim-pé-de-galinha, é realizado em culturas de folhas largas, como a soja, por exemplo, através do emprego de herbicidas que atuam inibindo a enzima acetil-CoA carboxilase (ACCase), que muitas vezes estão associados a herbicidas de amplo espectro de ação, como o glifosato (VIDAL et al., 2006).

A ACCase, desempenha um papel essencial na síntese de ácidos graxos nas células dos organismos vivos. A reação catalisada pela ACCase é a carboxilação do acetil-CoA, uma molécula que atua como um importante intermediário no metabolismo celular, para formar o malonil-CoA (KUKORELLI et al., 2013). O malonil-CoA é uma molécula importante, pois é o primeiro bloco de construção na síntese dos ácidos graxos, que são fundamentais para a produção de lipídios utilizados como componentes estruturais das membranas celulares/organelas e para armazenar energia (KUKORELLI et al., 2013).

As plantas possuem duas isoformas de ACCase: uma nos plastídios e outra no citoplasma. A isoforma plastídica é responsável pela maior parte da atividade de ACCase nas folhas. Nas gramíneas, essa forma é homomérica, composta por uma única cadeia polipeptídica com três domínios essenciais (BCCP, BC e CT) (TAKANO et al., 2020). Nas eudicodiledôneas, a ACCase nos plastídios é heteromérica, com os três domínios codificados por genes diferentes. Ambas as isoformas se tornam ativas ao formarem homodímeros, unindo duas cópias da enzima. Isso explica a seletividade dos herbicidas inibidores da ACCase as plantas de folha larga, pois os mesmos que atuam especificamente sobre a ACCase plastídica homomérica. (TAKANO et al., 2020)

Os herbicidas classificados como inibidores da enzima acetil-coenzima A carboxilase (ACCase), compõem o Grupo 1 e são subdivididos em três grupos químicos: os ariloxifenoxypropionatos (FOPs), cicloexanedionas (DIMs) e fenilpirazóis (DENs) (HRAC, 2023). Esses herbicidas são aplicados em pós emergência das plantas daninhas para controlar gramíneas em culturas eudicotiledôneas e também podem ser utilizados na silvicultura para controlar plantas daninhas monocotiledôneas (KUKORELLI et al., 2013). Os herbicidas que inibem a enzima ACCase têm uma atividade residual limitada no solo, pois suas moléculas têm uma forte tendência de se ligarem às partículas do solo devido aos seus elevados valores de partição sólido-líquido (Kd) e potencial de adsorção (Koc). Contudo, após a aplicação no solo, esses herbicidas podem ser transformados em sua forma ácida e serem absorvidos pelas raízes das plantas (TAKANO et al., 2021).

Os herbicidas que atuam na inibição da enzima Enolpiruvil Shikimato Fosfato Sintase (EPSPs) são de amplo espectro e ação total, responsáveis por controlar tanto plantas monocotiledôneas quanto eudicotiledôneas anuais e perenes. (PATTERSON et al., 2018). A EPSPs participa da via de síntese dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano. Quando inibida pelo herbicida, a síntese desses aminoácidos nas plantas é bloqueada, resultando no acúmulo de um composto intermediário chamado shiquimato (PATTERSON et al., 2018).

Atualmente, este mecanismo de ação é composto apenas pela molécula glyphosate. É um herbicida não seletivo utilizado em operações de manejo como dessecação de plantas daninhas após a emergência e também antes da semeadura ou emergência das culturas, principalmente no sistema de plantio direto (CHRISTOFFOLETI & LÓPEZ-OVEJERO, 2003). Apresenta coeficiente de partição octanol/água (Log Kow) de -5,4, ou seja, alta solubilidade em água e baixa afinidade por lipídios e apesar dessa característica, a substância

demonstra uma capacidade limitada de lixiviação no perfil do solo devido à sua forte adsorção aos colóides do solo, bem como à sua rápida degradação mediada por microorganismos e por esses motivos, não apresenta ação residual (YAMASHITA & GUIMARÃES, 2013).

2.4 Resistência de plantas daninhas a herbicidas

Dentro da ciência das plantas daninhas, entende-se como resistência a capacidade natural e hereditária que certos biótipos de plantas dentro de uma espécie possuem em resistir à ação de herbicidas aplicados em quantidades que normalmente controlariam as demais plantas da espécie (CHRISTOFFOLETI & LÓPEZ-OVEJERO, 2003). A resistência ocorre por um processo de mutação que faz parte da evolução dos seres vivos, e os fatores que influenciam na seleção de biótipos resistentes envolvem características ligadas ao manejo, à planta daninha e às moléculas utilizadas. (CHRISTOFFOLETI & LÓPEZ-OVEJERO, 2003).

Certas práticas de manejo podem acelerar o processo de seleção de biótipos resistentes. A utilização excessiva do mesmo mecanismo de ação herbicida, juntamente com a dependência exclusiva do controle químico e a não erradicação de plantas que sobrevivem ao controle químico, são fatores que contribuem para essa aceleração (CHRISTOFFOLETI & LÓPEZ-OVEJERO, 2003). Além disso, aspectos inerentes à própria espécie, como o ciclo de vida anual, a produção abundante de sementes, uma variabilidade genética considerável e sua ocorrência em áreas de infestação intensa, somados às múltiplas gerações reprodutivas ao longo do ano, também podem favorecer a seleção de biótipos resistentes (YAMASHITA & GUIMARÃES, 2013).

A pressão de seleção pode alcançar um ponto em que biótipos de plantas daninhas consigam sobreviver mesmo após a aplicação de diferentes moléculas herbicidas. Quando um biótipo exibe resistência a um único ingrediente ativo, damos o nome de resistência simples, enquanto a resistência cruzada abrange a capacidade de resistir a múltiplos ingredientes ativos de diferentes grupos químicos, mas com base no mesmo mecanismo de ação (SALOMÃO et al., 2019). Em um cenário mais preocupante, a resistência se agrava quando um biótipo demonstra resistência a herbicidas de diversos mecanismos de ação distintos, sendo classificada como resistência múltipla (SALOMÃO et al., 2019).

As plantas apresentam mecanismos de resistência a herbicidas que são categorizados como "relacionados ao local de ação - RELA" ou "não relacionados ao local de ação - NRELA"(SAMMONS & GAINES, 2014). Os mecanismos de resistência relacionados ao local de ação podem implicar em modificações estruturais da enzima-alvo, que impedem a ligação

dos herbicidas ao local de ação ou em amplificação/superexpressão gênica da enzima alvo, resultando na produção abundante da mesma pela planta (MURPHY; TRANEL, 2019). Esse tipo de resistência é frequentemente resultante de mutações em um único gene (ou seja, monogênica) e geralmente é restrita a classes específicas de herbicidas, caracterizando uma resistência especializada (RENTON et al., 2024).

Já os mecanismos de resistência não relacionados ao local de ação, são todos aqueles que reduzem ou impedem a chegada de moléculas de herbicida ao sítio de ação, e podem envolver a redução da absorção e translocação dos herbicidas, o aumento do seu metabolismo, a diminuição da taxa de ativação dos mesmos e/ou o sequestro dessas substâncias. (SAMMONS & GAINES, 2014; GHANIZADEH & HARRINGTON, 2017). Para os mecanismos NRELA, a resistência se dá por um conjunto de adaptações complexas que ocorrem em diferentes fases e envolvem a ativação e modificação das moléculas tóxicas para torná-las mais fáceis de serem eliminadas da planta (YUAN; TRANEL; STEWART, 2007). Esse processo ocorre em quatro fases, na fase I, o herbicida é ativado por enzimas, tornando-se mais reativo. Na fase II, ele é conjugado a uma substância hidrofílica, facilitando seu transporte. Na fase III, a molécula conjugada é transportada para o vacúolo ou espaço extracelular. Por fim, na fase IV, a molécula é degradada ainda mais, completando sua eliminação da planta (YUAN; TRANEL; STEWART, 2007). A resistência a herbicidas NRELA associada ao metabolismo envolve o aumento da atividade de enzimas como esterases, citocromo P450 (CYP450), glutationa S-transferases (GSTs) e/ou uridina 5'-difosfo (UDP)-glicosil transferases (POWLES; YU, 2010). A desintoxicação dos herbicidas por essas enzimas, é normalmente controlada por múltiplos genes (poligênica) e pode proporcionar resistência a herbicidas com diferentes modos de ação (JUGULAM; SHYAM, 2019).

Diferenças morfológicas e fisiológicas podem alterar significativamente a capacidade da planta em resistir a ação dos herbicidas, por isso as análises aprofundadas a respeito de tais mecanismos que regem à resistência a herbicidas em espécies de plantas daninhas desempenham um papel crucial na definição de melhores abordagens para mitigar a evolução da resistência em plantas daninhas. Por meio da investigação detalhada desses mecanismos, é possível esclarecer os processos intrincados que conferem vantagens adaptativas às plantas daninhas em seus processos metabólicos e bioquímicos. A partir dessas informações, é possível criar novos métodos de manejo, os quais podem ser direcionados de forma mais precisa para as vulnerabilidades específicas das plantas daninhas resistentes. À medida que avançamos nesse campo, estamos mais bem equipados para desenvolver estratégias integradas que combinam

abordagens químicas, culturais e biológicas, visando não apenas a supressão eficaz das populações de plantas daninhas, mas também a prevenção da disseminação e da evolução da resistência, garantindo sustentabilidade dos sistemas agrícolas em escala global.

2.5 Resistência de capim-pé-de-galinha a herbicidas

Segundo o *International Herbicide-Resistant Weed Database* – HEAP (2025), atualmente existem 37 casos de biótipos de plantas de capim-pé-de-galinha comprovadamente resistentes a herbicidas no mundo. Desse número, quase um terço foi registrado nos Estados Unidos, contudo, os países asiáticos, Indonésia e Malásia, concentram grande parte dos casos de biótipos com resistência múltipla, chegando a apresentar até quatro mecanismos de ação. No Brasil, por sua vez, foram relatados quatro casos nos últimos 20 anos.

O primeiro caso foi relatado no ano de 2003 em lavouras de soja, com a presença de biótipos resistentes aos herbicidas cialofope-butílico, fenoxaprope-p-etílico e setoxidim, todos classificados como inibidores da enzima ACCase. Já em 2016, pesquisadores da Universidade de Maringá, no Paraná, relataram o segundo caso de biótipos de plantas resistentes ao herbicida glifosato, que atua na inibição da enzima EPSPs, em lavouras de soja, milho e trigo. Em 2017 foi relatado a presença de biótipos com resistência múltipla a dois mecanismos de ação herbicida: EPSPs (glifosato) e ACCase (fenoxiprope e haloxifope). As plantas foram localizadas em cultivos de feijão, algodão, milho e soja no estado do Mato Grosso. O último caso ocorreu na região de Luís Eduardo Magalhães, na Bahia em 2023 e o biótipo em questão apresentou resistência múltipla e cruzada aos herbicidas glifosato, cletodim e haloxifope-p-metílico (HRAC-BR, 2023). A limitada variedade de mecanismos de ação disponíveis para o controle de espécies gramíneas é um dos fatores que tem contribuído para o aumento dos casos de resistência.

No mundo, existem diferentes biótipos de capim-pé-de-galinha resistentes a herbicidas inibidores da enzima ACCase e EPSPs apresentando diferenças quanto ao mecanismo de resistência desenvolvido por tais populações. Já foram identificados biótipos com resistência ao herbicida glifosato associado a superexpressão da enzima EPSPs (LI et al., 2022; CHEN et al., 2015); alteração no local de ação (mutação na posição 106 do gene EPSPs, com substituição do aminoácido prolina por um aminoácido serina) (VAZQUEZ-GARCIA et al., 2021; TAKANO et al., 2016); mutação do tipo“TIPS”, que consiste da mutação na posição 102, com substituição de uma treonina para um isoleucina, juntamente com a mutação na posição 106 (YU et al., 2015) e biótipos com resistência a herbicidas inibidores da ACCase com mutação pontual detectada na posição do aminoácido 2078 do gene ACCase, com substituição no tripleto

do aspartato pelo tripleto da glicina (OSUNA et al.; 2012). Estes são alguns casos que demonstram a variabilidade genética presente na espécie pela capacidade dos biótipos em apresentar diferentes mecanismos de resistência aos herbicidas.

Com o avanço da resistência do capim-pé-de-galinha a herbicidas no Brasil, torna-se cada vez mais importante realizar estudos robustos para entender os mecanismos de resistência e as características específicas da espécie. O aumento da resistência, aliado à limitada variedade de herbicidas disponíveis para o controle dessas gramíneas, destaca a necessidade de estratégias de manejo mais eficazes.

2.6 Abordagens metodológicas para caracterização morfológica e fisiológica do capim-pé-de-galinha

Existem diferentes metodologias empregadas como ferramenta para estudar as caracteristicas que contribuem para o desenvolvimento do mecanismos de resistência NRELA gerados pelas plantas. Algumas delas combinam o estudo da morfologia de partes das plantas (orgãos), como o uso da Microscopia de Luz (ML), Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Microscopia Eletronica de Varredura (MEV), buscando entender se existem barreiras físicas que possam limitar a absorção ou translocação de herbicida pelas plantas.

A microscopia é uma técnica utilizada para investigar anatomia vegetal em nível tecidual ou celular (LEGLAND; DEVAUX; GUILLON, 2018). Entre os diversos tipos de microscopia, a ML é a técnica mais simples e antiga utilizada no campo de pesquisas científicas (CISEK et al., 2009). Através dela é possível visualizar as características dos órgãos vegetativos aéreos e/ou subterrâneos, permitindo criar correlações que expliquem a tolerância ou resistência de plantas daninhas a herbicidas, bem como sua capacidade competitiva sobre outras espécies (CARBONE et al., 2021).

A técnica de MEV é uma ferramenta que permite a caracterização detalhada de materiais, oferecendo dados sobre a topologia da superfície, rugosidade, morfologia, variações composicionais e, em alguns casos, características subsuperficiais, o que, em aplicações biológicas, se traduz na obtenção de informações sobre a organização dos tecidos, os contornos celulares, o perfil superficial das células e a identificação de estruturas subcelulares (WIGHTMAN, 2022). Esse método permite a caracterização e quantificação de estruturas superfícies, como ceras, estômatos e tricomas, que podem interferir diretamente na absorção ou retenção de herbicidas, bem como visualizar o efeito da aplicação desses produtos sobre a superfície foliar (ALVES et al., 2014).

A técnica de MET, por sua vez, permite a visualização a nível ultraestrutural ou até no nível atômico, com resolução de até 0,1 nm, que é mil vezes maior que o microscópio de luz (DUMANČIĆ; VOJTA; FULGOSI, 2023). Essa precisão nos permite estudar estruturas celulares como organelas e diferenças e divisão entre as camadas cuticulares nas plantas (HAJRI et al., 2016). Todas essas técnicas permitem o estudo aprofundado da morfologia das plantas daninhas, como o capim-pé-de-galinha, oferecendo uma visão detalhada das defesas físicas das plantas daninhas, como barreiras que podem restringir a penetração de herbicidas ou limitar sua absorção, contribuindo para o entendimento dos mecanismos de resistência.

Além da análise morfológica, os estudos sobre a fisiologia e o metabolismo das plantas desempenham um papel fundamental na compreensão dos mecanismos de resistência aos herbicidas NRELA. A fisiologia vegetal é um ramo da botânica que investiga os processos que regulam a absorção e o transporte de água e nutrientes, a formação e o metabolismo de reservas, a germinação das sementes e o desenvolvimento das plantas, sempre considerando sua adaptação ao ambiente em que se desenvolvem (TAIZ; ZEIGER, 2007). Através da análise desses processos, é possível identificar como as plantas daninhas adaptam suas vias metabólicas para superar os efeitos dos herbicidas e se manterem competitivas.

As técnicas "ômicas" (como genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica) têm se mostrado ferramentas poderosas na investigação dos mecanismos moleculares subjacentes aos NRELA (PATTERSON et al., 2019). Essas abordagens permitem a análise em larga escala de genes, proteínas e metabólitos envolvidos nas respostas das plantas daninhas ao estresse causado pelos herbicidas. A proteômica vegetal dedica-se ao estudo das proteínas em termos de composição, expressão, estrutura, função, redes de interação e regulação (KELLNER, 2000) e incialmente, foi empregada principalmente para compreender as respostas das plantas daninhas aos estresses causados por herbicidas. Contudo, com o progresso das tecnologias de proteômica, um número crescente de estudos tem se voltado para a utilização dessa abordagem no entendimento da classificação das plantas daninhas e na análise de sua capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais (CHEN et al., 2024).

Portanto, conhecer os mecanismos envolvidos na resistência a herbicidas, além de mutações genéticas, é fundamental para o desenvolvimento de abordagens mais sustentáveis e para a elaboração de programas de controle que considerem a diversidade genética e os diferentes modos de ação dos herbicidas, minimizando os impactos da resistência e garantindo a eficácia no longo prazo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVSIAN-KRETCHMER, O. et al. Regulation of stress-induced phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in citrus. **Planta**, v. 209, n. 4, p. 469–477, 1 out. 1999.

BARJA, M. V.; RODRÍGUEZ CONCEPCIÓN, M.; TOLRÀ PÉREZ, R. **Exploring the diversity of geranylgeranyl diphosphate synthases in Arabidopsis thaliana and Solanum lycopersicum**. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona, 2019.

BRIGHENTI, A. M.; OLIVEIRA, M. F. Biologia de plantas daninhas. Capítulo1. In: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. (ed.). Biologia e manejo de plantas daninhas. Curitiba: Omnipax,2011.

CHARRON, J.-B. F. et al. The plant Apolipoprotein D ortholog protects Arabidopsis against oxidative stress. **BMC plant biology**, v. 8, p. 86, 31 jul. 2008.

CZARNECKI, O. et al. An Arabidopsis GluTR binding protein mediates spatial separation of 5-aminolevulinic acid synthesis in chloroplasts. **The Plant Cell**, v. 23, n. 12, p. 4476–4491, dez. 2011.

DATTA, K. et al. Enhanced resistance to sheath blight by constitutive expression of infection-related rice chitinase in transgenic elite indica rice cultivars. **Plant Science**, v. 160, n. 3, p. 405–414, 5 fev. 2001.

FANG, C. et al. Serine hydroxymethyltransferase localised in the endoplasmic reticulum plays a role in scavenging H2O2 to enhance rice chilling tolerance. **BMC Plant Biology**, v. 20, n. 1, p. 236, 26 maio 2020.

GULLNER, G. et al. Glutathione S-Transferase Enzymes in Plant-Pathogen Interactions. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 21 dez. 2018.

HYUN, T. K. et al. The Arabidopsis PLAT Domain Protein1 Is Critically Involved in Abiotic Stress Tolerance. **PLOS ONE**, v. 9, n. 11, p. e112946, 14 nov. 2014.

JUGULAM, M.; SHYAM, C. Non-Target-Site Resistance to Herbicides: Recent Developments. **Plants**, v. 8, n. 10, p. 417, out. 2019.

MENDES, K.F., MIELKE, K.C., D'ANTONINO, L., ALBERTO DA SILVA, A. (2022). Retention, Absorption, Translocation, and Metabolism of Herbicides in Plants. In: Mendes, K.F., Alberto da Silva, A. (eds) **Applied Weed and Herbicide Science**. Springer, Cham.

MURPHY, B. P.; TRANEL, P. J. Target-Site Mutations Conferring Herbicide Resistance. **Plants**, v. 8, n. 10, p. 382, out. 2019.

PIROVICH, D. B.; DA'DARA, A. A.; SKELLY, P. J. Multifunctional Fructose 1,6-Bisphosphate Aldolase as a Therapeutic Target. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, 11 ago. 2021.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. Volume 61, 2010, p. 317–347, 11 mar. 2010.

RAMÍREZ, V. et al. An Extracellular Subtilase Switch for Immune Priming in Arabidopsis. **PLOS Pathogens**, v. 9, n. 6, p. e1003445, 20 jun. 2013.

RENTON, M. et al. Simulated herbicide mixtures delay both specialist monogenic and generalist polygenic resistance evolution in weeds. **Pest Management Science**, v. 80, n. 11, p. 5983–5994, 2024.

RISSLER, H. M. et al. Chlorophyll biosynthesis. Expression of a second chl I gene of magnesium chelatase in Arabidopsis supports only limited chlorophyll synthesis. **Plant Physiology**, v. 128, n. 2, p. 770–779, fev. 2002.

SEO, Y.-W.; HONG, B.-H.; HA, Y.-W. Identification of Granule Bound Starch Synthase (GBSS) Isoforms in Wheat. **KOREAN JOURNAL OF CROP SCIENCE**, v. 43, n. 2, p. 89–94, 1998.

TAKANO, H. K. et al. ACCase-inhibiting herbicides: mechanism of action, resistance evolution and stewardship. **Scientia Agricola**, v. 78, p. e20190102, 13 mar. 2020.

UNITED NATIONS. (2024). World Population Prospects 2024. New York.

WANG, D.; PORTIS, A. R. A novel nucleus-encoded chloroplast protein, PIFI, is involved in NAD(P)H dehydrogenase complex-mediated chlororespiratory electron transport in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 144, n. 4, p. 1742–1752, ago. 2007.

YUAN, J. S.; TRANEL, P. J.; STEWART, C. N. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 1, p. 6–13, 1 jan. 2007.

ZHANG, Q.; SONG, X.; BARTELS, D. Enzymes and Metabolites in Carbohydrate Metabolism of Desiccation Tolerant Plants. **Proteomes**, v. 4, n. 4, p. 40, dez. 2016.

AGOSTINETTO, D. et al. Manejo de plantas daninhas. 2015.

ALBRECHT, L. P. et al. Métodos de controle de plantas daninhas. **BARROSO, AAM; MURATA, A. T. Matologia: Estudos sobre plantas daninhas. Jaboticabal. Editora Fábrica da Palavra**, p. 145–169, 2021.

ALVES, R. M. et al. Leaf-surface characterization and the effects of the herbicide saflufenacil on the leaves of weeds. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 4, p. 550–555, 31 dez. 2014.

BRIGHENTI, A. M.; DE OLIVEIRA, M. F. Biologia de plantas daninhas. 2017.

CARBONE, A. V. et al. Morpho-anatomical features of the leaves and stems of *Baccharis notosergila* (Asteraceae) and their relationship with the environment and chemical control. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 56, nº 4, 9 dez. 2021.

CHEN, K. et al. Weed biology and management in the multi-omics era: Progress and perspectives. **Plant Communications**, v. 5, n. 4, 8 abr. 2024.

CISEK, R. et al. Optical microscopy in photosynthesis. **Photosynthesis Research**, v. 102, n. 2, p. 111–141, 1 dez. 2009.

DUMANČIĆ, E.; VOJTA, L.; FULGOSI, H. Beginners guide to sample preparation techniques for transmission electron microscopy. **Periodicum Biologorum**, v. 125, n. 1–2, p. 123–131, 14 nov. 2023.

GHARDE, Y. et al. Assessment of yield and economic losses in agriculture due to weeds in India. **Crop Protection**, v. 107, p. 12–18, 1 maio 2018.

HAJRI, H. et al. Características fisiológicas e ultraestruturais foliares de biótipos de azevém perene (*Lolium perenne* L.) da Tunísia sob aplicação de herbicida sulfonilureia. **Scientia Horticulturae**, v. 207, p. 28–32, 5 ago. 2016.

KELLNER, R. Proteomics. Concepts and perspectives. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 366, n. 6, p. 517–524, 1 mar. 2000.

KNISS, A. R. et al. The cost of implementing effective herbicide mixtures for resistance management. **Advances in Weed Science**, v. 40, p. e0202200119, 18 maio 2022.

KUMAR, S.; YADAV, M.; KAUSHIK, R. Ensuring Global Food Security Amidst Climate Change and Rapid Population Growth. 2025.

LEGLAND, D.; DEVAUX, M.-F.; GUILLON, F. Quantitative imaging of plants: multi-scale data for better plant anatomy. **Journal of experimental botany**, v. 69, n. 3, p. 343–347, 2018.

MAQSOOD, Q. et al. Overviewing of weed management practices to reduce weed seed bank and to increase maize yield. **Planta Daninha**, v. 38, p. e020199716, 16 out. 2020.

MARTINS, J. M. DE M.; JUNIOR, R. A. Impactos das plantas daninhas nas culturas agrícolas e seus métodos de controle. **Revista VIDA: Exatas e Ciências da Terra (VIECIT)**, v. 1, n. 2, p. 34–54, 15 dez. 2023.

MOSS, S. Integrated weed management (IWM): why are farmers reluctant to adopt non-chemical alternatives to herbicides? **Pest Management Science**, v. 75, n. 5, p. 1205–1211, maio 2019.

NUNES, A. L.; TREZZI, M. M.; DEBASTIANI, C. Manejo integrado de plantas daninhas na cultura do milho. **Bragantia**, v. 69, p. 299–304, 2010.

PATTERSON, E. L. et al. Omics Potential in Herbicide-Resistant Weed Management. **Plants**, v. 8, n. 12, p. 607, dez. 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. [s.l.] Universitat Jaume I, 2007. v. 10

WIGHTMAN, R. An Overview of Cryo-Scanning Electron Microscopy Techniques for Plant Imaging. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1113, jan. 2022.

WOYESSA, D. Weed control methods used in agriculture. **American Journal of Life Science and Innovation**, v. 1, n. 1, p. 19–26, 2022.

3 RESULTADOS PRELIMINARES

Screening de biótipos de plantas coletadas do campo

O ensaio foi conduzido em área experimental pertencente ao grupo PDPA no Setor de Grandes Culturas da UFRRJ, localizada no município de Seropédica, RJ. As sementes são oriundas de áreas de "escape", das quais algumas plantas sobreviveram a aplicação dos herbicidas glifosato e herbicidas inibidores da enzima ACCase pertencente aos grupos químicos ariloxifenoxypropionatos (FOPs) e cicloexanedionas (DIMs). As amostras foram colocadas em papel pardo, identificadas e enviadas ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). As amostras foram coletadas pela empresa Syngenta, oriundas de cinco estados do Brasil, sendo cinco do Mato Grosso (MT), duas da Bahia (BA), uma do Mato Grosso do Sul (MS), uma de São Paulo (SP) e uma do Paraná (PR) (Tabela 1). Para a semeadura foi utilizado vasos de polietileno com capacidade de 1,0 L preenchidos com mistura contendo solo do tipo planossolo háplico proveniente de áreas agrícolas da UFRRJ (Tabela 2) e substrato comercial da marca Natus Solos do Brasil, composto por turfa, vermiculita, casca de pinus, carvão vegetal e matéria orgânica. A mistura foi realizada em uma proporção contendo 2/3 de solo e 1/3 de substrato comercial. Foram utilizados 20 vasos para cada biótipo, totalizando 220 vasos. Os vasos foram mantidos em estufa durante toda a execução do ensaio e sob irrigação constante. Após a germinação e emissão do primeiro perfilho as plantas foram desbastadas mantendo-se apenas uma planta por vaso, selecionando a mais sadia e livre do ataque de pragas e doenças.

Tabela 1. Biótipos de *Eleusine indica* com suspeita de resistência a herbicidas coletadas em campo de áreas agrícolas do Brasil. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ - 2023.

Amostras	Estado	Município
BR-20-Ein-100-02	MT	Primavera do Leste
BR-22-Ein-144-02	MT	Sinop
BR-22-Ein-049-02	MT	Sapezal
BR-22-Ein-019-02	MT	Nova Mutum
BR-22-Ein-156-02	MT	Querência
BR-22-Ein-151-02	BA	Correntina
BR-18-Ein-033-02	BA	Luís Eduardo Magalhães
BR-21-Ein-010-02	MS	Rio Brilhante

BR-18-Ein-000-02	SP	Cosmópolis
BR-22-Ein-056-02	PR	Astorga

Tabela 2. Análise físico-química do solo em área sem histórico de utilização de herbicidas. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ - 2023.

---------- Granulometria (g Kg $^{-1}$ TFSA[a]) ----------									
Areia			**Silte**				**Argila**		
83,9			9,2				6,9		
pH	**--------- Complexo sortivo (Cmol$_c$/dm^3) --------**								**Corg[d]**
(H2O)	**Ca**	**Mg**	**K**	**Na**	**S[b]**	**Al**	**H+AL**	**CTC[c]**	**%**
5,19	1,2	1	0,01	0	2,7	0,05	0,6	3	1,85

[a] TFSA: terra seca fina ao ar.
[b] S: soma de bases trocáveis (Ca + Mg + Na + K)
[c] CTC: (S + H + Al)
[d] Corg: carbono orgânico

O ensaio teve como objetivo selecionar as plantas que sobrevivessem a aplicação dos seguintes herbicidas: glifosato (Zapp Qi 620), na dose de 750 g e.a.ha^{-1}; cletodim (Select 240 EC) na dose de 1,0 L. ha^{-1} + óleo mineral (Joint Oil) 0,5% v/v e haloxifope-p-metilico (Verdict Max), na dose de 230 mL. ha^{-1} e + óleo mineral (Joint Oil) 0,5% v/v). A aplicação dos herbicidas foi realizada quando as plantas apresentavam 2 a 3 perfilhos utilizando-se 5 repetições para cada tratamento e foi realizada com auxílio de pulverizador costal pressurizado a CO_2 operando na pressão de 40 psi dotado de uma barra com duas pontas de pulverização do tipo XR11002, espaçadas em 50 cm, aplicando o volume de calda de 200 L ha^{-1}. De acordo com os dados do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET, no momento da aplicação as condições climáticas registradas foram 24,2°C de temperatura, umidade relativa de 42% e velocidade do vento de 3,7 m/s.

Para o *screening*, de forma geral, os biótipos que foram submetidos a aplicação do herbicida glifosato apresentaram sintomas visuais de injúria típicos desse mecanismo de ação como, redução de porte, folhas cloróticas e necrose. Entretanto, foi possível observar sintomas atípicos de superbrotamento e redução da inflorescência nos biótipos BR-22-Ein-049-02, BR-21-Ein-010-02, BR-18-Ein-000-02 e BR-22-Ein-056-02 (Figura 1).

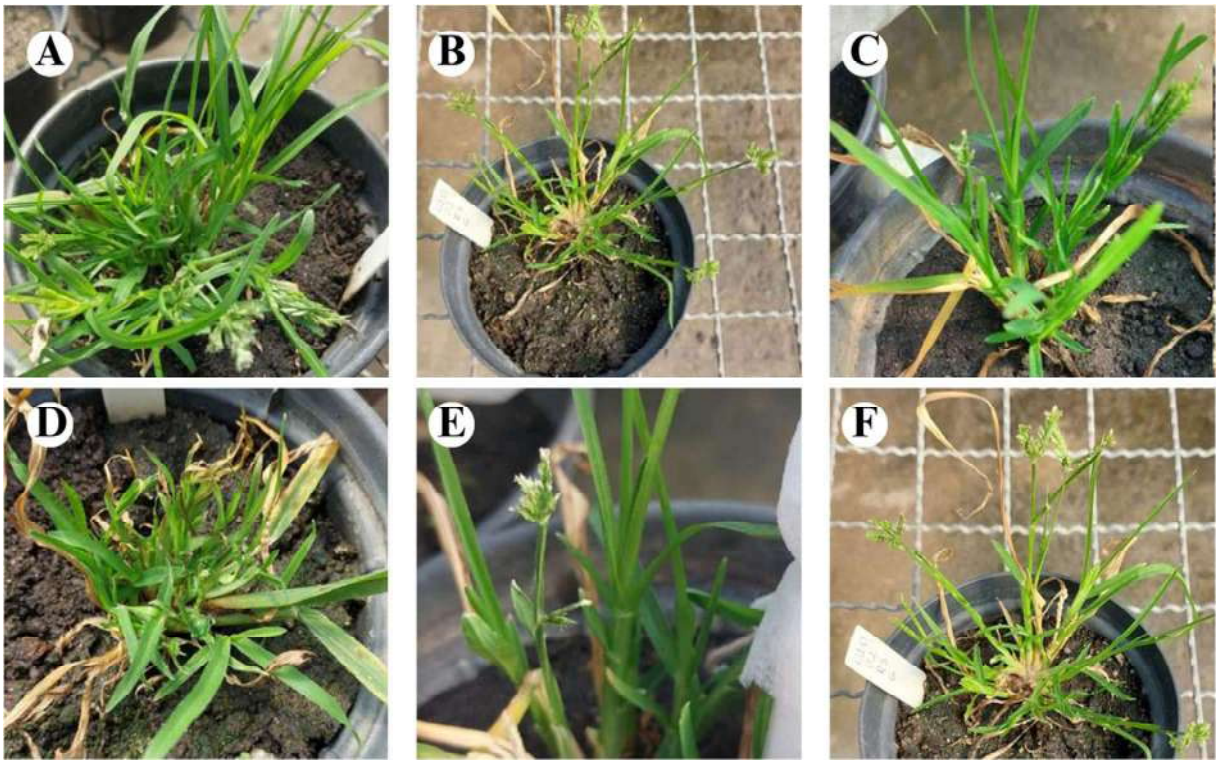


Figura 1. Sintomas de surperbrotamento observados nos biótipos de *Eleusine indica* BR-22-Ein-056-02 (A), BR-21-Ein-010-02 (B), BR-18-Ein-000-02 (C) e BR-22-Ein-049-02 (D) e com inflorescência reduzida nos biótipos BR-18-Ein-000-02 (E) e BR-21-Ein-010-02 (F) 35 DAA de glifosato. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ – 2023.

Os biótipos BR-20-Ein-100-02, BR-22-Ein-049-02, BR-22-Ein-019-02, BR-22-Ein-156-02, BR-22-Ein-151-02, BR-18-Ein-033-02 e BR-18-Ein-000-02 que receberam aplicação do herbicida haloxifope apresentaram sintomas em geral de folhas cloróticas, caule arroxeado, redução de porte e necrose. Além disso, também foram visíveis sintomas de engruvinhamento de folhas e inflorescência nos biótipos BR-22-Ein-144-02, BR-21-Ein-010-02 e BR-22-Ein-056-02 (Figura 2).



Figura 2. Folhas e inflorescência de biótipos de *Eleusine indica* BR-22-Ein-156-02 (A) e BR-21-Ein-010-02 (B) 35 DAA de haloxifope . Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ - 2023.

Em relação a aplicação do herbicida cletodim, todos biótipos apresentaram sintomas típicos de herbicidas inibidores da ACCase, tais como, necrose e morte do meristema apical ("coração morto") e apenas plantas dos biótipos BR-22-Ein-144-02 e BR-22-Ein-049-02 sobreviveram a aplicação e foram separadas para a coleta de sementes (Figura 3).



Figura 3. Amostras de biótipos de Eleusine indica com suspeita de resistência 35 DAA de Cletodim. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ - 2023.

Suscetibilidade de populações de capim-pé-de-galinha a herbicidas inibidores de ACCase

Foi conduzido um ensaio com o objetivo de verificar a suscetibilidade dos biótipos descritos na Tabela 1, aos herbicidas cletodim, haloxifop, fluazifop, quizalofop, clodinafop e pinoxaden e investigar os mecanismos de resistência ao ACCase e EPSPS. O ensaio foi realizdo

pela empresa Syngenta, conduzido um experimento em casa de vegetação, em fatorial triplo, em que o fator A foi composto pelas 10 populações (1 suscetível 9 suspeitas de resistência) o fator B, os 6 herbicidas descritos anteriormente e o fator C as 8 doses (0; 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200 e 400 g de i.a ha^{-1}). Foi adicionadao Ochima 0,5% v/v em todos tratamentos (exceto Pinoxaden). As unidades experimentais foram constituídas de vasos de 0,3 L, preenchidos de substrato comercial Basaplant Hortaliça. As plantas foram mantidas em casa de vegetação com fotoperíodo de 12 h e temperatura entre 25 a 30º C. A aplicação foi realizada quando as plantas apresentavam 4 folhas a 1 perfilho. O controle foi avaliado visualmente até os 28 dias após a aplicação. Os dados foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$), e em caso de diferença significativa entre população e doses foram plotadas as regressões não linear logística: $y = a / [1 + (x / b)^{c}]$.

Os resultados referentes a dose necessária, para cada biótipo, capaz de causar 90% de mortalidade (DL90) e o fator de resistência (FR), que leva em consideração a relação entre o DL90 de cada biótipo sobre o DL90 do biótipo suscetível, encontram-se na Tabela 3. O DL90 indica quantas vezes a dose do herbicida necessária para causar 90% de letalidade do biótipo resistente é maior do que aquela necessária para produzir o mesmo efeito sobre o biótipo suscetível. As cores em vermelho destacam os biótipos que apresentaram maior grau de resistência aos herbicidas inibidores da ACCase e as cores em verde, os biótipos mais suscetíveis aos mesmos herbicidas. Os biótipos BR-18-Ein-033, BR-22-Ein-019 e BR-22-Ein-049 e BR-22-Ein-156 apresentaram alto fator de resistência a todos os herbicidas inibidores da ACCase testados. Os biótipos BR-21-Ein-010, BR-22-Ein-151 apresentaram alto fator de resistência para os herbicidas cletodim, pinoxaden, haloxifope e fluziafope e suscetibilidade aos herbicidas clodinafope e quizalofope. Já os biótipos BR-22-Ein-056, BR-20-Ein-100 e BR-22-Ein-144 apresentaram alto fator de resistência para todos os herbicidas exceto o herbicida quizalofope.

Quadro 1. Valores de DL90 (dose de herbicida necessária para causar 90% de mortalidade ou inibição do crescimento da população) e FR (Fator de Resistência) para cada biótipo após aplicação dos herbicidas cletodim, pinoxaden, haloxifope, fluazifope, clodinafope e quizalofope. Syngenta, 2023.

ID	Clethodim		Pinoxaden		Haloxyfop		Fluazifop		Clodinafop		Quizalofop	
	DL_{90}	FR	DL_{90}	FR	DL_{90}	FR	DL_{90}	FR	DL_{90}	FR	DL_{90}	FR
BR-18-Ein-000 - Suscetível	4,415	-	85,7	-	5,128	-	5,5	-	5,1	-	3	-
BR-22-Ein-056	173,3	39	>400	5	>400	>78	>400	>72	277	55	34,42	11
BR-21-Ein-010	107,75	31	>400	5	>400	>78	161,4	29	25,81	5	17,9	6
BR-18-Ein-033	136,7	31	>400	5	>400	>78	>400	>72	331	65	>400	131
BR-22-Ein-151	162,45	37	>400	5	>400	>78	>400	>72	37,31	7	36,8	12
BR-20-Ein-100	290	85	>400	5	>400	>78	>400	>72	122	24	30,4	10
BR-22-Ein-019	316,3	72	>400	5	>400	>78	>400	>72	>400	79	>400	131
BR-22-Ein-049	225	51	>400	5	>400	>78	>400	>72	>400	79	>400	131
BR-22-Ein-144	173,3	39	>400	5	>400	>78	>400	>72	276,4	32	34,4	11
BR-22-Ein-156	245,9	56	>400	5	281,25	55	>400	>72	102,7	20	112,4	37

Os resultados referentes as mutações encontradas para os herbicidas inibidores da EPSPs e da ACCase em cada biótipo estudo estão apresentados na Tabela 4. Para todos os biótipos, exceto o biótipo suscetível e o BR-18-Ein-033, foram identificadas duas mutações na enzima ACCase para os herbicidas cletodim e haloxifope, do tipo D2078 Asp-Gly, ou seja, alteração no gene que codifica a enzima ACCase, com substituição do aminoácido aspartato (Asp) na posição 2078 pela glicina (Gly). O biótipo BR-18-Ein-033 apresentou a G2096/S Gly/Ser, nesse caso, ocorre uma troca no aminoácido glicina (Gly) na posição 2096 por serina (Ser). Além disso, também foi identificada a mutação P106S, na enzima EPSPs, que ocorre na posição 106, onde a prolina (P) é substituída por serina (S), para os biótipos BR-22-Ein-056-02, BR-21-Ein-010-02, BR-22-Ein-151-02 e BR-18-Ein-033.

Quadro 2. Mutações identificadas na enzima ACCase (cletodim e haloxifope) e EPSPs (glifosato) para os biótipos com suspeita de resistência a herbicidas. Syngenta, 2023.

ID	I1781L	H1987Q	P1995A	W1999	W2027C	I2041N/V	D2078	C2088R	G2096A/S	EPSPS
	Ile-Leu	His-Gln	Pro-Ala	Trp-Cys	Trp-Cys	Ile-Asn/Val	Asp-Gly	Cys-Arg	Gly/Ser	P106S
BR-18-Ein-000 - Suscetível	não	não	não	não	não	não	não	não	não	não
BR-22-Ein-056	não	não	não	não	não	não	sim	não	não	sim
BR-21-Ein-010	não	não	não	não	não	não	sim	não	não	sim
BR-18-Ein-033	não	não	não	não	não	não	não	não	sim	sim
BR-22-Ein-151	não	não	não	não	não	não	sim	não	não	sim
BR-20-Ein-100	não	não	não	não	não	não	sim	não	não	não
BR-22-Ein-019	não	não	não	não	não	não	sim	não	não	não
BR-22-Ein-049	não	não	não	não	não	não	sim	não	não	não
BR-22-Ein-144	não	não	não	não	não	não	sim	não	não	não
BR-22-Ein-156	não	não	não	não	não	não	sim	não	não	não

Para os próximos ensaio, foi realizada a escolha de dois biótipos resistentes com características contrastantes entre si, mais o biótipo suscetível. Foram escolhidos: 1) biótipo BR-18-Ein-033-02, único com a mutação em posição diferente para a enzima ACCase em comparação aos demais, além de apresentar resistência a todos os herbicidas testados (Tabela 3); 2) biótipo BR-20-Ein-100-02 (Tabela 3), sem mutação identificada para a enzima EPSPs com menor FR para o herbicida quizalofope (Tabela 4); e 3) biótipo suscetível (BR-18-Ein-000-02). Nos ensaios posteriores, o biótipo BR-18-Ein-033-02 recebeu o nome de RESMUT, o BR-20-Ein-100-02 recebeu o nome de RESSEM e o biótipo suscetível BR-18-Ein-000-02, foi identificado como SUSC.

4 CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO DAS DIFERENÇAS ANATÔMICAS E ULTRAESTRUTURAIS DE BIÓTIPOS DE *Eleusine indica*

RESUMO

O capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) é uma das principais plantas daninhas em lavouras brasileiras. Dentro da espécie, existem biótipos que apresentam variações morfológicas, anatômicas e ultraestruturais que podem influenciar a resistência aos herbicidas. Este estudo teve como objetivo analisar e comparar essas características em diferentes estádios de desenvolvimento de biótipos resistentes e suscetíveis a herbicidas. Para isso, sementes de dois biótipos resistentes e um biótipo suscetível foram cultivadas em casa de vegetação, e amostras foliares foram coletadas em dois estádios de desenvolvimento: plantas jovens (2 a 4 perfilhos) e adultas (pleno florescimento e perfilhamento). A caracterização anatômica foi realizada por microscopia de luz (ML) em cortes transversais das folhas, enquanto a análise micromorfológica e ultraestrutural foi conduzida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). Foram avaliadas a espessura da cutícula + parede periclinal externa, mesófilo, bainha do feixe e epiderme adaxial e abaxial, além da densidade de estômatos e tricomas e caracterização dos componentes e da superfície do limbo foliar. Os resultados indicaram que a espessura da cutícula + parede periclinal externa de ambas as faces e a densidade de tricomas na face adaxial, foi maior em plantas adultas, independentemente do biótipo. Além disso, plantas jovens e adultas do biótipo suscetível apresentaram maior densidade de tricomas que são predominantemente curtos e espaçados, o que pode limitar sua influência na retenção de herbicidas, entretanto, em plantas jovens, os tricomas não são recobertos por cera epicuticular em estádios inicias de desenvolvimento. Em relação aos estômatos, os biótipos resistentes apresentaram menor densidade estomática, especialmente na face adaxial, quando comparados ao biótipo suscetível, o que pode reduzir a absorção de herbicidas foliares, uma vez que a cutícula das células-guarda tende a ser menos espessa, além de estar associada a presença de microcanais na parede periclinal externa, que podem influenciar na translocação do herbicida. Esses resultados indicam que tanto o estádio de desenvolvimento quanto as diferenças estruturais entre os biótipos podem afetar a absorção e a eficácia dos herbicidas, reforçando a importância da integração de características anatômicas no manejo químico da espécie.

Palavras-chave: anatomia foliar; capim-pé-de-galinha; cutícula; cera epicuticular

ABSTRACT

Goosegrass (*Eleusine indica*) is one of the main weed species in Brazilian croplands. Within this species, biotypes exhibit morphological, anatomical, and ultrastructural variations that may influence herbicide resistance. This study aimed to analyze and compare these characteristics at different developmental stages of herbicide-resistant and susceptible biotypes. For this purpose, seeds from two resistant biotypes and one susceptible biotype were cultivated in a greenhouse, and leaf samples were collected at two developmental stages: young plants (2 to 4 tillers) and adult plants (full flowering and tillering). Anatomical characterization was performed using light microscopy (LM) on transverse leaf sections, while micromorphological and ultrastructural analyses were conducted using scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). The following parameters were evaluated: cuticle + outer periclinal wall thickness, mesophyll, vascular bundle sheath, adaxial and abaxial epidermis thickness, stomatal and trichome density, and characterization of leaf blade components and surface. The results indicated that the cuticle + outer periclinal wall thickness on both surfaces and the trichome density on the adaxial surface were higher in adult plants, regardless of the biotype. Additionally, both young and adult plants of the susceptible biotype exhibited higher trichome density, with trichomes being predominantly short and spaced, which may limit their influence on herbicide retention. However, in young plants, trichomes were not covered by epicuticular wax in early developmental stages. Regarding stomata, resistant biotypes had lower stomatal density, especially on the adaxial surface, compared to the susceptible biotype. This lower density may reduce foliar herbicide absorption, as the guard cell cuticle tends to be thinner and is associated with the presence of microchannels in the outer periclinal wall, which may influence herbicide translocation. These findings indicate that both developmental stage and structural differences between biotypes can affect herbicide absorption and efficacy, reinforcing the importance of integrating anatomical characteristics into the chemical management of this species.

Keywords: leaf anatomy; goosegrass; cuticle; epicuticular wax.

4.1 INTRODUÇÃO

As plantas daninhas são reconhecidas como um dos principais fatores limitantes à produtividade agrícola, sendo responsáveis por perdas significativas no rendimento das culturas ao competirem por luz, água e nutrientes, podendo ser potencializas por efeitos alelopáticos (SALOMÃO; FERRO; RUAS, 2020). Esse cenário foi evidenciado por (DE FREITAS SOUZA et al., 2024), que relatou reduções de até 45% na produtividade da cultura do milho em áreas com densidade superior a 16 plantas de *Eleusine indica* por metro quadrado, além de prejuízos à altura e ao diâmetro do caule do milho.

Nesse contexto, o capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) tem se destacado como uma das principais plantas daninhas nas lavouras brasileiras, especialmente devido ao surgimento de biótipos com respostas distintas ao manejo químico (VÁZQUEZ-GARCÍA et al., 2021; DENG et al., 2020). A variabilidade na resposta dos biótipos de *Eleusine indica* aos herbicidas, pode estar relacionada a fatores ligados ou não ao local de ação dos herbicidas. Quando não relacionado ao local de ação, fatores morfológicos, como diferenças anatômicas e ultraestruturais das plantas podem afetar a quantidade de herbicidas que conseguem chegar ao local de ação. Nesse sentido, algumas características, como a espessura da cutícula, epiderme, densidade estomática e de tricomas, podem atuar como características físicas que irão interferir diretamente na penetração e consequentemente eficácia dos herbicidas (SCHNEIDER; FAVARETTO; RIZZARDI, 2020).

A cutícula, por exemplo, é uma camada lipídica extracelular composta por ceras epicuticulares, uma camada intermediária de cutina embebida em ceras (cutícula propriamente dita) e uma camada inferior que combina cutina, ceras e componentes da parede celular (pectinas, celulose e outros carboidratos) (TAFOLLA-ARELLANO et al., 2013). A estrutura, espessura e a composição da cutícula das plantas variam conforme fatores como ambiente, órgãos e estádios de desenvolvimento (DOMÍNGUEZ; CUARTERO; HEREDIA, 2011). Essa estrutura recobre as folhas e desempenha funções essenciais, como a retenção de água e o controle da entrada de substâncias externas, como os herbicidas aplicados em pós-emergência, atuando, portanto, como a principal barreira estrutural contra sua penetração (LALLANA et al., 2006).

Diante desse cenário, este estudo tem como objetivo caracterizar e comparar as diferenças anatômicas e ultraestruturais de biótipos de *Eleusine indica* resistentes e suscetíveis a herbicidas em diferentes estádios de desenvolvimento, visando compreender os fatores que influenciam a eficácia do manejo químico. Parte-se da hipótese de que essas variações estão

relacionadas tanto ao estágio de desenvolvimento da planta quanto ao seu grau de resistência ou suscetibilidade aos herbicidas, impactando a resposta ao controle químico.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Materiais vegetais e condições de crescimento

Foram utilizadas sementes de três biótipos distintos, selecionados a partir de *screening* realizado em etapa preliminar. Dois desses biótipos, identificados como RESMUT e RESSEM, foram comprovadamente resistentes aos herbicidas glifosato, cletodim e haloxifope-P-metílico. O terceiro biótipo, identificado como SUSC, é suscetível aos mesmos herbicidas. A semeadura ocorreu em vasos de polietileno com capacidade para 1 L preenchidos com uma mistura contendo 1/3 de substrato para planta constituído de turfa, vermiculita, casca de pinus, carvão vegetal e matéria orgânica e 2/3 de solo coletado no campus do Seropédica, da UFRRJ, em área sem histórico de utilização de herbicidas. As amostras foram removidas da camada superficial do solo (0 - 20 cm). A análise química do solo (Tabela 1) foi conduzida conforme o procedimento descrito no Manual de Métodos de Análise de Solo (Embrapa, 2017). Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, sob irrigação constante. Após a germinação e emissão do primeiro perfilho, as plantas foram desbastadas mantendo-se apenas uma planta por vaso, optando-se sempre pela planta mais saudável visualmente e livre do ataque de pragas e doenças.

Tabela 1. Análise química do solo em área sem histórico de utilização de herbicidas em Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ - 2024.

---------- Granulometria (g Kg $^{-1}$ TFSA[a]) ----------									
Areia			Silte				Argila		
83,9			9,2				6,9		
pH	--------- Complexo sortivo (Cmol$_c$/dm^3) --------								Corg[d]
(H2O)	Ca	Mg	K	Na	S[b]	Al	H+AL	CTC[c]	%
5,19	1,2	1	0,01	0	2,7	0,05	0,6	3	1,85

[a] TFSA: terra seca fina ao ar.
[b] S: soma de bases trocáveis (Ca + Mg + Na + K)
[c] CTC: (S + H + Al)
[d] Corg: carbono orgânico

Análise anatômica e micromorfológica

Estrutura da folha - Microscopia de luz (ML)

Foram coletadas amostras das folhas mais expandidas do terço médio das plantas em dois estádios: plantas jovens com 2 a 4 perfilhos e plantas em pleno florescimento, dos 3 biótipos estudados. A amostragem foi conduzida em delineamento inteiramente casualizado, com 6 repetições (n = 36). As amostras foram fixadas em FAA 50 (formaldeído, ácido acético e etanol 50%; 1:1:18 vol/vol) (Johansen, 1940), desidratadas em série alcoólica e emblocadas em historesina Leica. Cortes transversais do material (5 µm de espessura) foram obtidos com um micrótomo rotatório e coradas com azul de toluidina O 0,05%, pH 4,7 (O'Brien et al., 1964). As lâminas foram montadas com água deionizada. O material foi examinado e os resultados relevantes documentados usando um fotomicroscópio Olympus BX 41 equipado com um sistema digital. Análises morfométricas para comparar biótipos suscetíveis e resistentes foram realizadas usando o ImageJ Software for Life Science Microscopy e os seguintes parâmetros morfométricos foram mensurados: (a) espessura da cutícula + parede periclinal externa da face adaxial e abaxial, (b) espessura da epiderme abaxial e adaxial, (c) espessura do mesofilo, (d) espessura da bainha do feixe, como destacado na Figura 1. Para obter a densidade de tricomas e densidade estomática presente na face adaxial e abaxial das folhas em ambos os estádios avaliados, foram recortados fragmentos de folha fresca do terço médio com 1 cm de comprimento e colados em suporte do tipo stub. O material foi examinado em Microscópio Eletrônico de Varredura Phenom ProX e as análises comparando os biótipos e os estádios foram realizadas com auxílio do ImageJ Software for Life Science Microscopy.

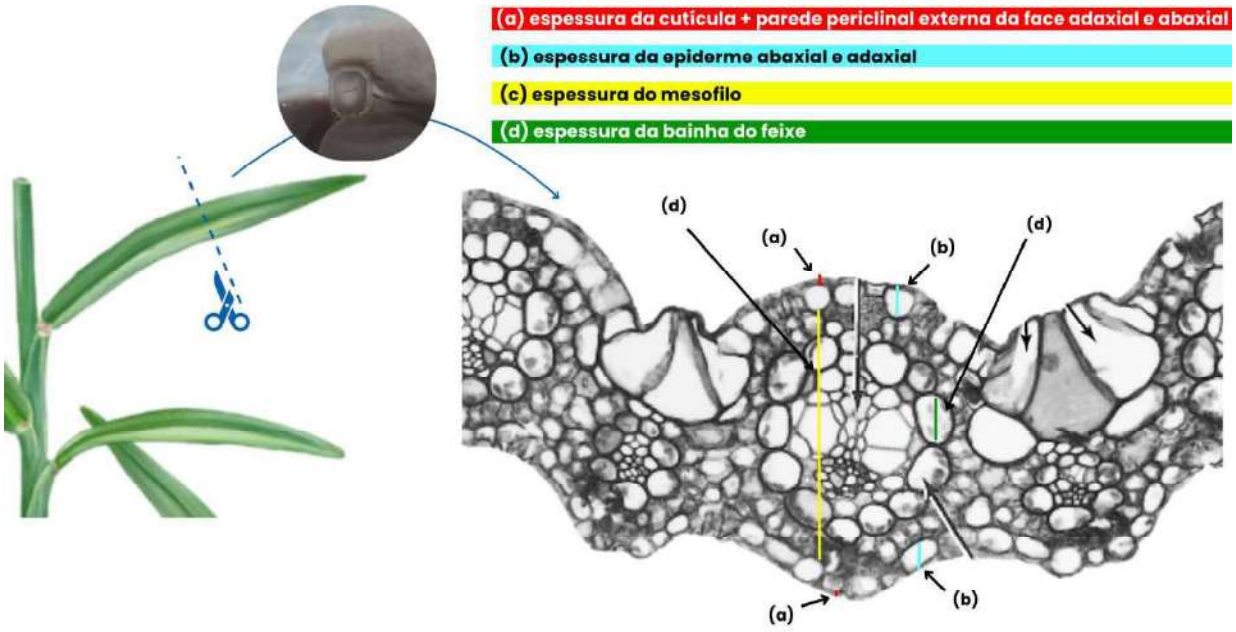


Figura 1. Modelo esquemático da representação de corte transversal de folha de graminea. Com destaque dos paramentros mensurados do limbo foliar com auxilio de microscopia de luz. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ – 2025. Fonte: Adaptado de ESAU, 2006.

Os resultados foram submetidos a análise de variância ANOVA ($p \leq 0,05$), sendo F significativo, submetidos ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, usando o software Rbio (BHERING, 2017).

Caracterização micromorfológica – Microscópio eletrônico de varredura (MEV)

Para analise das estruturas superficiais presentes na limbo foliar da espécie, foram coletadas amostras das folhas mais expandidas do terço médio das plantas em dois estádios: plantas jovens com 2 a 4 perfilhos e plantas em pleno florescimento dos 3 biótipos estudados. A amostragem foi conduzida em delineamento inteiramente casualizado, com uma repetição (n = 6). Amostras foram processadas convencionalmente de acordo com o protocolo de rotina do Centro de Microscopia Eletrônica do IBB – UNESP (CME, 2018). As amostras foram fixadas em glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,3 por pelo menos 24 horas. Após três lavagens em água destilada, os fragmentos foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 0,5% em água destilada por 30 a 40 minutos. A seguir, as amostras foram lavadas em água destilada por três vezes de 10 minutos e desidratadas em série crescente de álcool. Em seguida, a amostra foi submetida ao ponto crítico de CO_2, colada em suporte do tipo stub e metalizada

com ouro. O material foi examinado em Microscópio Eletrônico de Varredura Quanta 200 (FEI Company), lotado no Centro de Microscopia Eletrônica do IBB, UNESP - Botucatu.

Caracterização ultraestrutural – Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET)

Foram coletadas amostras das folhas mais expandidas do terço médio das plantas em dois estádios: plantas jovens com 2 a 4 perfilhos e plantas em pleno florescimento dos 3 biótipos estudados. A amostragem foi conduzida em delineamento inteiramente casualizado, com uma repetição (n = 6). Amostras foram processadas convencionalmente de acordo com o protocolo de rotina do Centro de Microscopia Eletrônica do IBB – UNESP (CME, 2018). Os tecidos foram fragmentados e fixados em solução de Karnovsky (Karnovsky 1965) por 24 horas. Após três lavagens em tampão fosfato 0,1M (pH 7,3), os fragmentos foram pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato 0,1M (pH 7,3) por 2 horas, lavados por 3 vezes em água destilada e submetidos à contrastação in bloco em acetato de uranila 0,5% em água destilada por 2 horas. A seguir, foram desidratados em solução de acetona, embebidos em solução de acetona e resina Araldite® por 24 horas e emblocados em Araldite®. Secções ultrafinas foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo (Reynolds 1963). O material foi examinado em Microscópio Eletrônico de Transmissão Tecnai Spirit (FEI Company) a 80kV, lotado no Centro de Microscopia Eletrônica do IBB, UNESP - Botucatu.

4.3 RESULTADOS

Estrutura da folha - Microscopia de luz (ML)

Todos os biótipos, em ambos os estádios analisados, apresentaram anatomia da lâmina foliar em corte transversal com presença de uma camada uniestratificada de células da epiderme com células buliformes na face adaxial (Figura 1A). Em ambas as faces há presença de cutícula, sendo a espessura na face adaxial mais espessa em relação a face abaxial (Figura 1A). Além disso, em ambas as faces também há presença de estômatos, classificando a folha como anfiestomática (Figura 1B). O mesofilo é homogêneo radiado, composto por um pequeno aglomerado de células de esclerênquima (fibras do esclerênquima) na face adaxial e abaxial, seguido de tecido de clorênquima radiado envolvendo uma camada de células circulares em forma de anel, que formam a bainha vascular, e ambos os tecidos celulares contém cloroplastos (Figura 1C). Em seu interior está o feixe vascular, composto por dois tecidos condutores: o xilema, na parte superior e o floema, na parte inferior (Figura 1D). O xilema é composto por elementos de vasos (metaxilema e protoxilema), fibras e parênquima do xilema, enquanto o floema é composto por elementos de tubo crivado, células companheiras e parênquima do floema. Os feixes vasculares estão distribuídos em toda extensão do limbo foliar e circundados pelas grandes células circulares (bainha do feixe vascular), essa característica constitui uma organização celular típica em gramíneas que recebe o nome de anatomia Kranz e que estão intimamente associadas a plantas de metabolismos fotossintético do tipo C4 (Figura 1E). Ao comparar os parâmetros morfométricos individualmente para cada biótipos analisados, foi possível observar diferenças estatisticamente significativas entre os estádios de desenvolvimento. O biótipo resistente RESMUT apresentou menor espessura da cutícula + parede periclinal externa da face adaxial e abaxial, do mesófilo e da bainha do feixe em plantas jovens, com valores 64%, 32%, 26% e 26% menores, respectivamente, quando comparados às plantas adultas (Figura 2A). Já para o biótipo resistente RESSEM, apenas os parâmetros de espessura da cutícula somada à parede periclinal externa de ambas as faces mostraram diferenças estatisticamente significativas, com reduções de 36% na face adaxial e 22% na face abaxial nas plantas jovens em relação às plantas adultas (Figura 2B). O biótipo suscetível SUSC, por sua vez, apresentou diferenças estatisticamente significativas na espessura da cutícula + parede periclinal externa da face adaxial e abaxial, do mesófilo e da bainha do feixe entre plantas jovens e adultas, com 26%, 19%, 19% e 15%, menos espessas respectivamente, nas plantas jovens (Figura 3B).

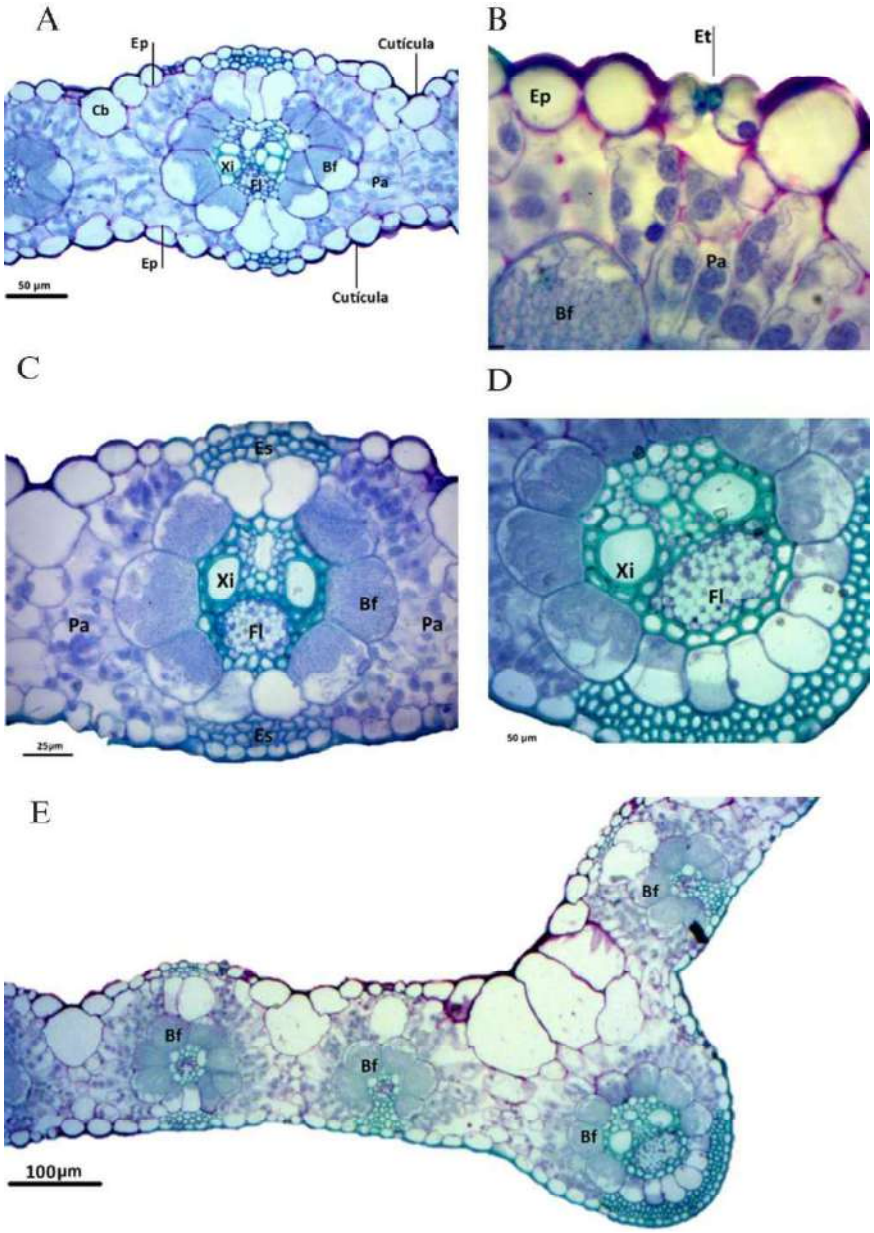


Figura 2. Fotomicrografias de lâminas foliares dos biótipos de *Eleusine indica* em corte transversal. Biótipo RESMUT, planta jovem com 2 a 4 perfilhos (A) e em pleno florescimento e perfilhamento (B); biótipo RESSEM, planta jovem com 2 a 4 perfilhos (C) e em pleno florescimento e perfilhamento (D) e biótipo SUSC, planta jovem com 2 a 4 perfilhos com detalhe da nervura central mostrando feixe vascular e vista geral da lâmina foliar mostrando a distribuição dos feixes vasculares circundados pelo clorenquima radiado (E). Legenda: Cb – células buliformes, Xi – xilema, Fl – floema, Pa – parênquima paliçádico, Bf – bainha do feixe. Es – esclerênquima, Et – estomato. Escalas: 100 µm = E; 50 µm = A e D; 25 µm = C; 10 µm = B. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ – 2024.

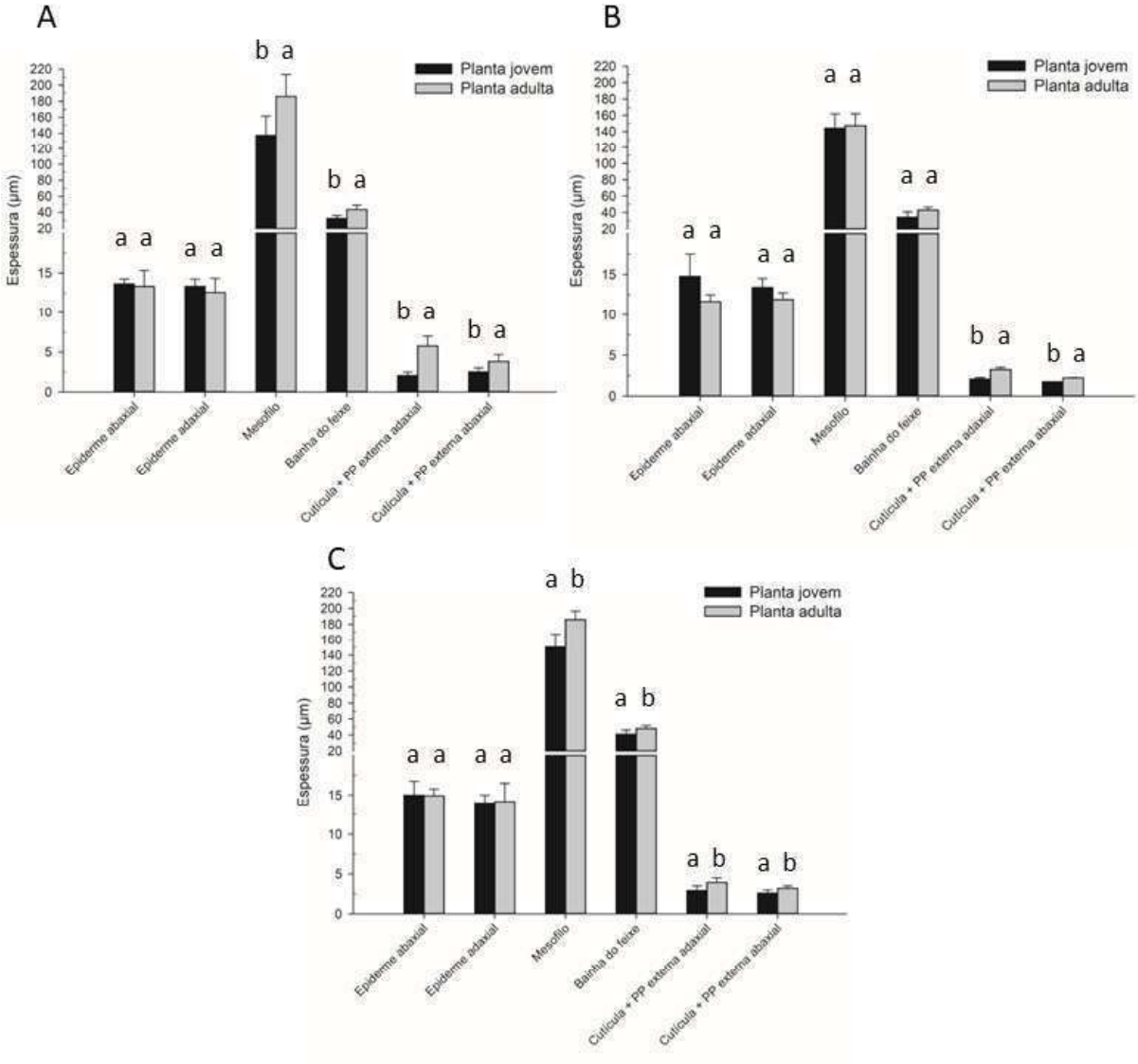


Figura 3. Parâmetros morfométricos anotômicos do limbo foliar de *Eleusine indica.* Biótipo RESMUT (A), RESSEM (B) e SUSC (C), em pleno florescimento e perfilhamento e planta jovem com 2 a 4 perfilhos. Médias seguidas pela mesma letra, para cada parametro isoladamente, não diferem estatisticamente entre si a $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey.Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ – 2024.

Os resultados da análise da densidade de tricomas e estômatos no limbo foliar de *Eleusine indica* descritos na Tabela 2, demonstraram variações estatisticamente distintas entre os diferentes biotipos e idades das plantas. Para a densidade de tricomas, observou-se que ambos os biótipos resistentes apresentaram maior número de tricomas nas faces adaxial e abaxial das folhas por 0,2 mm² em plantas adultas, quando comparadas às plantas jovens. Já o biótipo suscetível apresentou diferença estatisticamente significativa apenas na face adaxial, com maior densidade de tricomas em plantas adultas em relação às jovens. Quanto à densidade estomática, cada biótipo apresentou um padrão distinto: o biótipo RESMUT mostrou maior

densidade na face adaxial em plantas adultas, enquanto no biótipo RESSEM a maior densidade foi observada na face abaxial. Por outro lado, o biótipo suscetível SUSC não apresentou diferenças significativas na densidade estomática entre plantas jovens e adultas, independentemente da face foliar analisada. Na Tabela 3 estão apresentados os resultados da comparação entre os biótipos em cada estádio de desenvolvimento das plantas. Para a densidade de tricomas, os resultados foram semelhantes nos dois estádios analisados: o biótipo suscetível apresentou maior densidade de tricomas na face adaxial em relação aos biótipos resistentes, independentemente do estádio da planta, enquanto na face abaxial não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os biótipos. Quanto à densidade estomática em plantas jovens, o biótipo suscetível mostrou maior número de estômatos por área na face adaxial em comparação aos biótipos resistentes, enquanto na face abaxial não houve diferença significativa. Em plantas adultas, observou-se um comportamento inverso: na face adaxial, não foi registrada diferença estatística entre os biótipos, mas na face abaxial, tanto o biótipo suscetível quanto o resistente BR-20-Ein-100-02 apresentaram maior número de estômatos por área em relação ao biótipo resistente RESMUT.

Tabela 2. Densidade de tricomas e estomática no limbo foliar de *Eleusine indica.* Biótipo RESMUT, RESSEM e SUSC, em pleno florescimento e perfilhamento e planta jovem com 2 a 4 perfilhos. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ – 2024.

Caracteristicas (nº/0,20 mm²)	RESMUT		RESSEM		SUSC	
	Jovem	Adulto	Jovem	Adulto	Jovem	Adulto
Densidade de tricomas – adaxial	1 b	15 a	5 b	18 a	14 b	26 a
Densidade de tricomas – abaxial	5 b	8 a	6 b	8 a	7 ns	8 ns
Densidade estomatica – adaxial	28 b	41 a	35 ns	41 ns	45 ns	48 ns
Densidade estomática – abaxial	23 ns	25 ns	26 b	36 a	31 ns	31 ns

ns = não significativo. Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha para cada biótipo não diferem estatisticamente entre si a $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey.

Tabela 3. Densidade de tricomas e estomática no limbo foliar de *Eleusine indica.* Biótipo RESMUT (033), RESSEM (100) e SUSC (000), com comparação entre plantas adultas em pleno florescimento e perfilhamento e planta jovem com 2 a 4 perfilhos. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ – 2024.

Caracteristicas (nº/0,20 mm²)	Jovem	Adulta

	033	100	000	033	100	000
Densidade de tricomas - Adaxial	1 b	5 b	14 a	15 b	18 b	26 a
Densidade de tricomas – Abaxial	5 ns	6 ns	7 ns	8 ns	8 ns	8 ns
Densidade estomática – Adaxial	28 b	35 ab	45 a	41 ns	43 ns	48 ns
Densidade estomática – Abaxial	25 ns	26 ns	31 ns	23 b	36 a	33 a

ns = não significativo. Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha para cada estádio não diferem estatisticamente entre si a $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey.

Caracterização micromorfológica – Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As eletromicrografias revelaram diversos componentes micromorfológicos característicos. Entre esses, destacaram-se as células epidérmicas, organizadas de maneira regular, intercaladas com estômatos do tipo paracítico e em formato de halter, distribuídos ao longo de toda a superfície foliar (Figura 3D e 3H). Além das células epidérmicas, foram identificados tricomas, predominantemente do tipo tector unicelular, mais desenvolvidos e em formato de espinho nas plantas em estádio adulto (Figura 3A, 3B, 3D e 3H). Para todos os biótipos analisados, em ambos os estádios de desenvolvimento, foi observada uma camada de cera epicuticular em forma de placas e/ou pequenos filamentos, cobrindo completamente a superfície do limbo foliar (Figura 3B, 3E e 3F), incluindo as células-guarda dos estômatos (Figura 3A e 3F). No entanto, a presença de cera epicuticular não foi detectada sobre a superfície dos tricomas nas fases iniciais de desenvolvimento (Figura 3A e 3C).

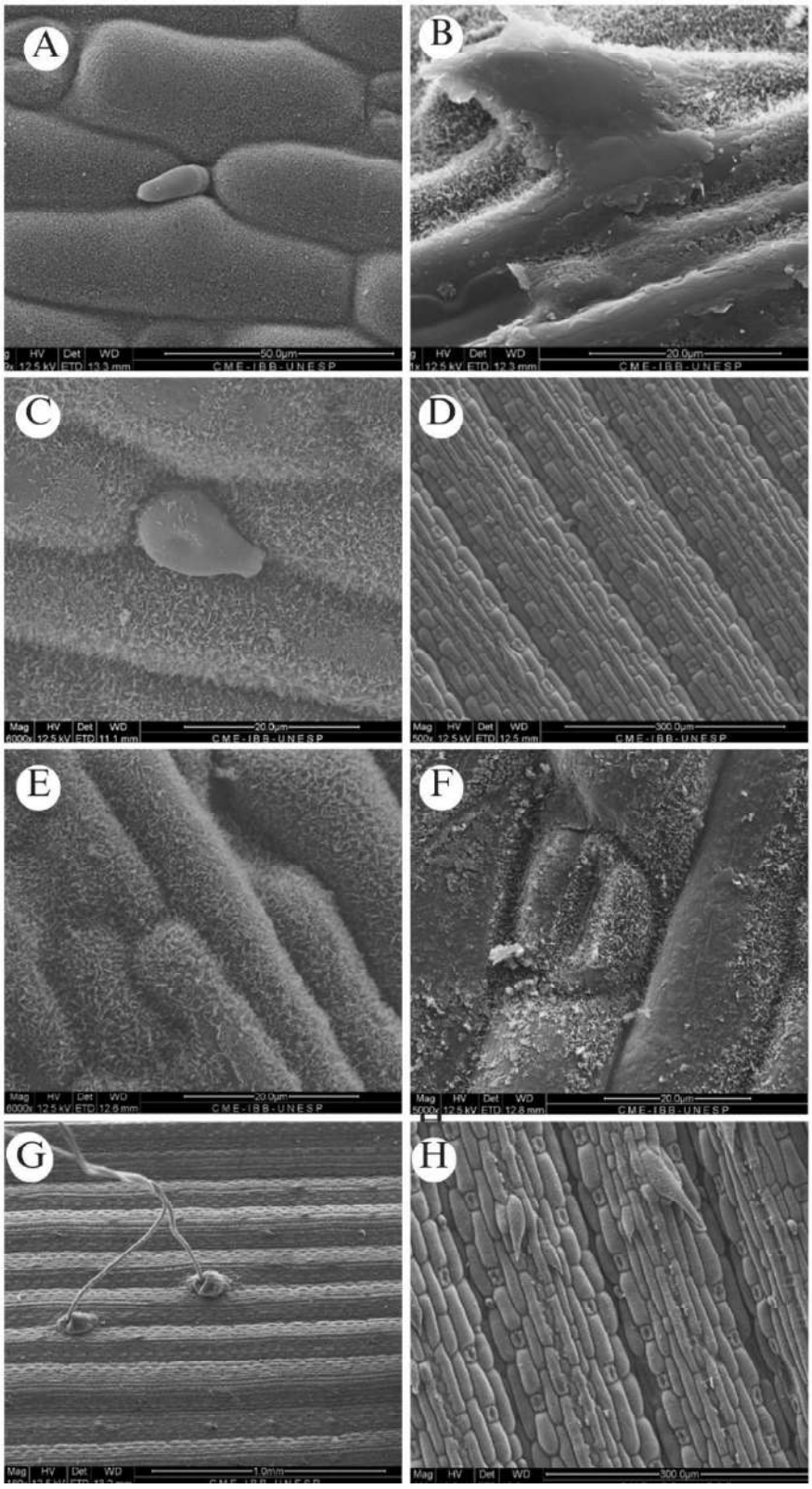


Figura 4. Eletromicrografias de superfícies foliares dos biótipos de *Eleusine indica*. Biótipo RESMUT, planta jovem com 2 a 4 perfilhos (A) e em pleno florescimento e perfilhamento (B); biótipo RESSEM, planta jovem com 2 a 4 perfilhos (C) e em pleno florescimento e perfilhamento (D e E) e biótipo SUSC, planta jovem com 2 a 4 perfilhos (F e G) e em pleno florescimento e perfilhamento (H). Escalas: 1 mm = G; 300 µm = H e D; 50 µm = A; 20 µm = B, C, E e F. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ – 2024.

Caracterização ultraestrutural - Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

As micrografias de cortes ultrafinos revelaram a estrutura detalhada da superfície foliar de cada biótipo estudado. Foi identificada uma camada de cutícula recobrindo a superfície do limbo foliar em todos os biótipos analisados, destacada por setas vermelhas (Figura 4A a 4F), cuja espessura variou de 88 nm a 139 nm. Logo abaixo da cutícula, de tonalidade mais escura, observou-se a parede periclinal externa, cuja espessura apresentou variações entre 542 nm e 3095 nm. Adicionalmente, foram detectados canais, conhecidos como teicoides ou ectodesmos, localizados entre a camada de cutícula e a parede celular, em regiões próximas às células-guarda dos estômatos (Figura 4A). Esses canais desempenham um papel potencialmente importante ao facilitar a exsudação de cera para a superfície foliar, além de promover a entrada de substâncias externas.

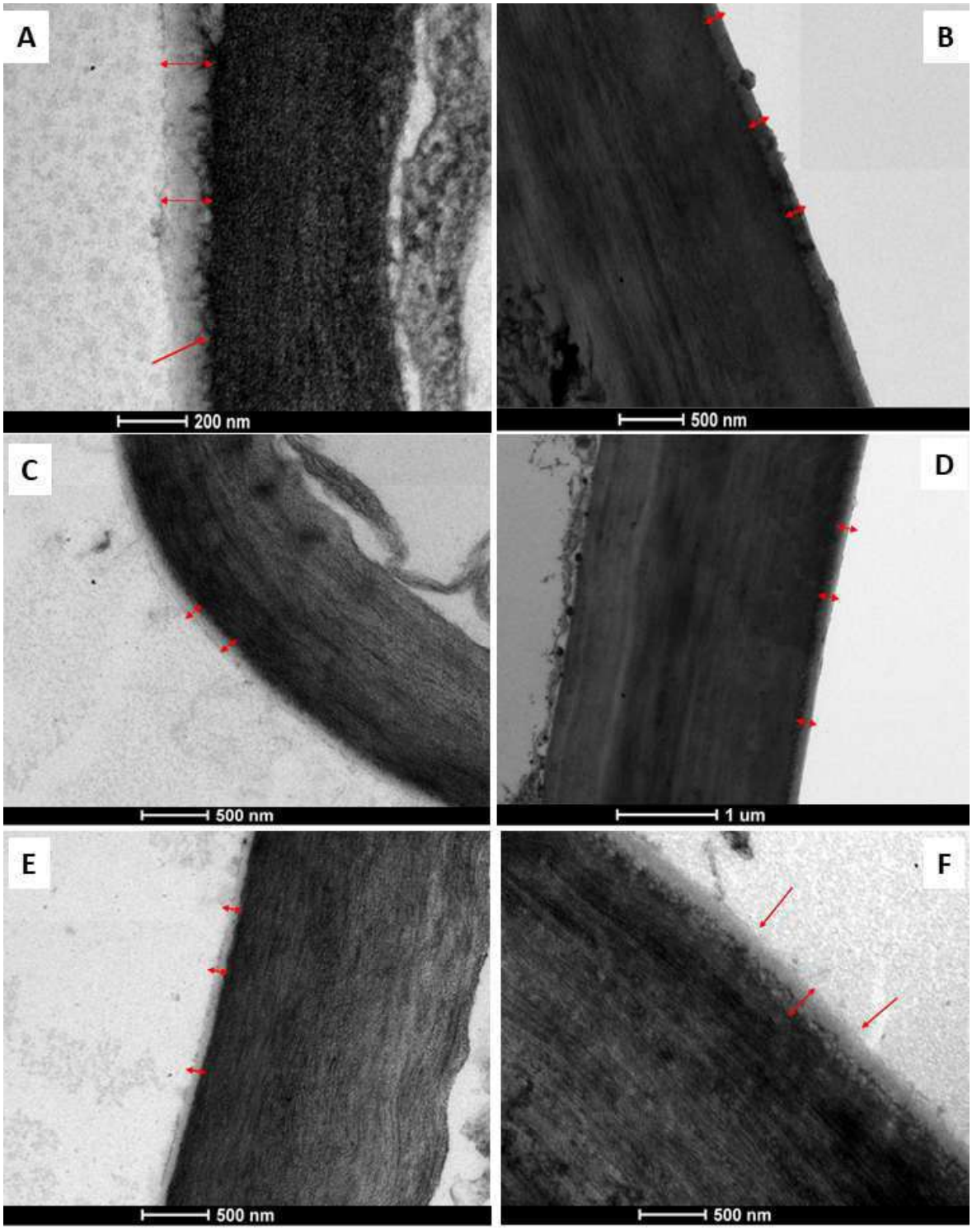


Figura 5. Micrografias de seção ultrafina de do limbo foliar de *Eleusine indica*. Biótipo RESMUT, planta jovem com 2 a 4 perfilhos (A) e em pleno florescimento e perfilhamento (B); RESSEM, planta jovem com 2 a 4 perfilhos (C) e em pleno florescimento e perfilhamento (D) e biótipo SUSC, planta jovem com 2 a 4 perfilhos (E) e em pleno florescimento e perfilhamento (F). Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ – 2024.

4.4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que as características anatômicas e micromorfológicas de *Eleusine indica* apresentam variações significativas em função dos estádios de desenvolvimento e entre os biótipos resistentes e suscetíveis aos herbicidas. Essas diferenças desempenham um papel fundamental na eficácia do manejo químico da espécie.

Observou-se que plantas jovens, com 2 a 4 perfilhos, apresentam uma cutícula + parede periclinal externa mais fina em comparação às plantas adultas. Essa mudança cuticular ao longo do ciclo de vida da planta pode afetar sua permeabilidade e, portanto, sua eficiência como uma cobertura protetora (FLORE; BUKOVAC, 1974). Moléculas hidrofílicas, como o glifosato, podem ter maior dificuldade de penetração e movimento na superfície foliar devido ao maior espessamento dessa camada que é altamente lipídica (YILMAZ; DANE, 2012).

Por outro lado, no caso dos herbicidas inibidores da ACCase, as moléculas pertencentes aos três principais grupos químicos compartilham uma estrutura básica formada por um esqueleto de carbono ligado a radicais polares. Contudo, cada grupo apresenta particularidades estruturais que os diferenciam funcionalmente. No caso dos herbicidas do grupo dos FOPs, é comum a formulação na forma de ésteres metílicos, butílicos ou outros derivados, o que confere maior lipofilicidade às moléculas, facilitando sua penetração nas membranas celulares por mecanismos relacionados ao aprisionamento do ácido (TAKANO et al., 2020). A relação entre a espessura de cutícula em diferentes estádios de desenvolvimento e sua influência na eficácia de herbicidas não é bem explorada na literatura e mais trabalhos são necessários para avaliar esse aspecto.

Além disso, também foi observado uma estrutura anatômica mais robusta, como maior espessura de mesofilo e da bainha do feixe em plantas adultas do biótipo suscetível e um biótipo resistente quando comparadas as plantas jovens. Essas características atuam como barreiras adicionais, dificultando a translocação dos compostos químicos, visto que as principais moléculas aplicadas sobre o tecido foliar destas plantas, como o glifosato e alguns graminicidas, são sistêmicos, ou seja, precisam ser transportadas em todos os tecidos da planta para exercerem seu papel fitotóxico (AMARANTE JUNIOR et al., 2002; MACIEL et al., 2013). Tais variações reforçam a importância de considerar os estádios fenológicos na definição do momento de aplicação dos herbicidas.

Em plantas em estádio jovem, também foi encontrada menor densidade de tricomas quando comparadas as plantas adultas na face adaxial da folha. Os tricomas encontrados em plantas jovens, em sua maioria, não apresentam cera epicuticular em sua superfície (Figura 3A e 3C). Além disso, o biótipo suscetível apresentou maior densidade de tricomas na face adaxial em plantas jovens do que os biótipos resistentes. Essas estruturas atuam como defesa das plantas contra estresses bióticos e abióticos, como repelir insetos, refletir luz excessiva e regular a transpiração (DAVID MARKS, 2014), e as ceras associadas à cutícula impedem a penetração de produtos químicos aplicados foliarmente (FLORE; BUKOVAC, 1974), o que pode favorecer o controle das plantas suscetíveis quando ainda estão em estádio jovem, em comparação com as plantas adultas.

Por outro lado, o biótipo suscetível também apresentou maior densidade de tricomas em plantas adultas comparado a ambos os biótipos resistentes. Entretanto, grande parte dos tricomas observados, representa apenas um dos tipos desta estrutura que podem recobrir a superfície de plantas da família Poaceae, diferindo dos demais em relação ao tamanho e espaçamento entre si (KHAN et al., 2017). Os tricomas encontrados no presente trabalho são, em sua maioria, muito curtos e dispostos longe um do outro, essas características podem ter pouca influência na retenção dos herbicidas aplicados. Além disso, estudos complementares sobre a deposição de cera e espessura da cutícula na base desses tricomas são fundamentais para fornecer mais informações sobre a interferência na penetração dos herbicidas.

Em relação aos estômatos, seu papel na absorção de herbicidas ainda é controverso. A maioria dos estudos relata que a absorção de herbicidas ocorre majoritariamente pela cutícula, mas também existem estudos que propõem que os estômatos podem ser ativados hidraulicamente por sais higroscópicos, facilitando a entrada de compostos (BASI et al., 2014). Além disso, estudos relatam que a cutícula nas células-guarda é geralmente mais fina e mais permeável devido a substâncias polares e provavelmente é uma rota para herbicidas (BARROSO et al., 2015). Esse fato ajuda a explicar a maior densidade estomática observada em plantas jovens do biótipo suscetível, em comparação com o biótipo resistente (Tabela 2). De forma semelhante, PLACIDO et al (2022), encontraram uma redução de 18% na densidade estomática do biotipo resistente de *Chloris elata*, em comparação ao biotipo suscetível, corroborando a relação entre maior densidade estomática e maior susceptibilidade a herbicidas.

Além disso, neste trabalho foi observado a presença de teicoides, que são microcanais da parede periclinal externa, compostos principalmente por substâncias pécticas, que regulam

a porosidade e a retenção de água. Além das pectinas, podem conter celulose e cutina, desempenhando um papel importante na absorção foliar e excreção de substâncias (RODRIGUES; MACHADO, 2013). Vale destacar que é importante considerar também propriedades dos químicos, fatores e condições ambientais, além de todas as características anatômicas e micromorfológicas discutidas neste trabalho para o sucesso na aplicação de herbicidas (WANG; LIU, 2007).

4.5 CONCLUSÃO

Os resultados indicam que o estádio de desenvolvimento de *Eleusine indica* exerce influência significativa sobre suas características anatômicas e ultraestruturais. Em plantas adultas, observou-se aumento na espessura da cutícula, do mesófilo e da bainha do feixe, além de alterações na densidade de estômatos e tricomas em comparação às plantas jovens, independentemente do biótipo.

Embora o biótipo suscetível apresente maior densidade de tricomas em plantas adultas, suas características (curtos e espaçados) podem limitar a retenção dos herbicidas. Por outro lado, a maior densidade estomática em plantas suscetíveis aliada a identificação dos microcanais na parede periclinal externa em direção a cutícula sobre as células-guardas, pode favorecer a entrada dos herbicidas, contribuindo para a maior susceptibilidade e reforça a importância de considerar as barreiras anatômicas na avaliação da absorção foliar dos herbicidas.

4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÀFICAS

AMARANTE JUNIOR, O. P. DE et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, v. 25, p. 589–593, jul. 2002.

BARROSO, A. A. M. et al. Does Sourgrass leaf anatomy influence glyphosate resistance? **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 4, p. 445–453, 29 dez. 2015.

BASI, S. et al. Hygroscopic salts support the stomatal penetration of glyphosate and influence its biological efficacy. **Weed Biology and Management**, v. 14, n. 3, p. 186–197, 2014.

BHERING, L.L. Rbio: A Tool for Biometric and Statistical Analysis Using the R Platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, p. 187-190, 2017.

DAVID MARKS, M. Arabidopsis Trichome Morphogenesis and the Role of Microtubules in Controlling Trichome Branch Formation. Em: **Plant Cell Wall Patterning and Cell Shape**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2014. p. 269–285.

DE FREITAS SOUZA, M. et al. Competitive response of maize against glyphosate-resistant Digitaria insularis and Eleusine indica. **Crop Protection**, p. 106760, 2024.

DENG, W. et al. Cyhalofop-butyl and Glyphosate Multiple-Herbicide Resistance Evolved in an Eleusine indica Population Collected in Chinese Direct-Seeding Rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 9, p. 2623–2630, 4 mar. 2020.

DOMÍNGUEZ, E.; CUARTERO, J.; HEREDIA, A. An overview on plant cuticle biomechanics. **Plant Science**, v. 181, n. 2, p. 77–84, 1 ago. 2011.

FLORE, J. A.; BUKOVAC, M. J. Pesticide Effects on the Plant Cuticle: I. Response of Brassica oleracea L. to EPTC as Indexed by Epicuticular Wax Production1. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 99, n. 1, p. 34–37, 1974.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique** New York: Mcgraw-Hill Book, 1940. 523 p.

KHAN, R. et al. Scanning electron and light microscopy of foliar epidermal characters: A tool for plant taxonomists in the identification of grasses. **Microscopy Research and Technique**, v. 80, n. 10, p. 1123–1140, 2017.

LALLANA, M. DEL C. et al. Breve revisión sobre características de la cutícula vegetal y penetración de herbicidas. **Ciencia, docencia y tecnología**, n. 33, p. 229–241, nov. 2006.

MACIEL, C. D. DE G. et al. EficÃ¡cia do Herbicida Haloxyfop R (GR-142) Isolado e Associado ao 2,4-D no Controle de HÃ-bridos de Milho RRÂ® VoluntÃ¡rio. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 12, n. 2, p. 112–123, 10 ago. 2013.

O'BRIEN, TP, FEDER, N. & MCCULLY, ME Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368–373, 1964

PLACIDO, H. F. et al. Morphological characterization of the foliar surface in glyphosate-resistant tall windmill grass. **Agronomy Journal**, v. 114, n. 1, p. 641–650, 2022.

RODRIGUES, T. M.; MACHADO, S. R. CAPÍTULO NOVE. **Anatomia das plantas de Esau: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento**, p. 267, 2013.

SALOMÃO, P. E. A.; FERRO, A. M. S.; RUAS, W. F. Herbicidas no Brasil: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 2, p. e32921990–e32921990, 2020.

SCHNEIDER, T.; FAVARETTO, A.; RIZZARDI, M. A. Anatomia foliar de biótipos de Conyza sumatrensis suscetível e resistente ao glifosato. **Agrarian**, v. 13, n. 49, p. 330–338, 27 jul. 2020.

TAFOLLA-ARELLANO, J. C. et al. Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. **Revista fitotecnia mexicana**, v. 36, n. 1, p. 3–12, mar. 2013.

VÁZQUEZ-GARCÍA, J. G. et al. Multiple Herbicide Resistance Evolution: The Case of Eleusine indica in Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 4, p. 1197–1205, 3 fev. 2021.

WANG, C. J.; LIU, Z. Q. Foliar uptake of pesticides—Present status and future challenge. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 87, n. 1, p. 1–8, 1 jan. 2007.

YILMAZ, G.; DANE, F. Phytotoxicity induced by herbicide and surfactant on stomata and epicuticular wax of wheat. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 17, n. 6, p. 7757–7765, 2012.

TAKANO, H. K. et al. ACCase-inhibiting herbicides: mechanism of action, resistance evolution and stewardship. **Scientia Agricola**, v. 78, p. e20190102, 13 mar. 2020.

5 CAPÍTULO II - PROTÊOMICA COMPARATIVA DE BIÓTIPOS DE *Eleusine indica* RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO HERBICIDA GLIFOSATO

RESUMO

O capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) é uma planta daninha cosmopolita, comum em regiões agrícolas, e possui biótipos resistentes a herbicidas, incluindo o glifosato. O objetivo deste estudo foi caracterizar, por meio de análise proteômica e análise da fluorescência transiente da clorofila *a*, os mecanismos de defesa em dois biótipos de *E. indica* resistentes ao herbicida glifosato. Foram avaliados dois biótipos resistentes ao glifosato: um com mutação na enzima EPSPs e outro sem mutação na enzima alvo, além de um biótipo suscetível ao herbicida. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos: aplicação do herbicida glifosato na dose de 750 g e.a. ha^{-1} e testemunha sem aplicação, com plantas com 2 a 4 perfilhos. Foi utilizado análise proteômica *label-free* e as proteínas identificadas foram analisadas pelo teste t de Student (bicaudal). Proteínas com um valor de $p < 0,05$ foram consideradas "up-acumuladas" se o Log_2 da mudança de dobra (FC) > 0,6 e "down-acumuladas" se o Log_2 da FC fosse menor que < -0,6. Foram identificadas 411 proteínas diferencialmente acumuladas, associadas a processos metabólicos de metabolismo de carboidrato, aminoácidos, nitrogênio, carbono, lipídeos, biossíntese de metabólitos secundários, fotossíntese, respiração celular, transporte, resposta a estresses bióticos e abióticos, resposta a estresse oxidativo e homeostase. O biótipo com mutação da enzima EPSPs exibiu um perfil metabólico caracterizado pelo aumento na biossíntese de clorofila e carotenoides, além de mecanismos de proteção fotossintética. Também foi observado aumento na via glicolítica e na produção de amido, o que sugere um aumento da capacidade de armazenamento energético. O biótipo resistente sem mutação, por sua vez, apresentou um acúmulo significativo da enzima EPSPs, caracterizando um mecanismo RELA baseado na superexpressão da enzima alvo. Além disso, foi observada a ativação de proteínas associadas ao reparo do PSII e à mitigação do estresse oxidativo, permitindo maior estabilidade fisiológica frente ao glifosato. Também foi identificado um aumento expressivo no acúmulo de proteínas de defesa contra patógenos, possivelmente associado a uma resposta cruzada entre estresses abióticos e bióticos. A análise da fluorescência transiente da clorofila *a* confirmou que os biótipos resistentes mantiveram a estabilidade fotossintética ao longo do tempo, enquanto o biótipo suscetível sofreu significativo impacto negativo, resultando em menor eficiência na captação e utilização da energia luminosa. Os resultados evidenciam que a resistência em *Eleusine indica* pode ocorrer por múltiplos mecanismos, exigindo estratégias de manejo diversificadas e especificas para cada população resistente.

Palavras-chaves: superexpressão; EPSPS; estresse oxidativo; fotossíntese

ABSTRACT

Goosegrass (Eleusine indica) is a cosmopolitan weed commonly found in agricultural regions, with biotypes resistant to herbicides, including glyphosate, which remains one of the most important herbicides in production systems in Brazil and worldwide.The objective of this study was to characterize the defense mechanisms in two glyphosate-resistant E. indica biotypes through proteomic analysis and chlorophyll a transient fluorescence analysis. Two glyphosate-resistant biotypes were evaluated: one with a mutation in the EPSPS enzyme and another without a mutation in the target enzyme, in addition to a glyphosate-susceptible biotype. The experiment was conducted in a completely randomized design with two treatments: glyphosate herbicide application at a dose of 750 g a.e. ha^{-1} and a control without application, using plants with 2 to 4 tillers. A label-free proteomic analysis was performed, and the identified proteins were analyzed using Student's t-test (two-tailed). Proteins with a p-value < 0.05 were considered "up-accumulated" if the Log_2 fold change (FC) > 0.6 and "down-accumulated" if the Log_2 FC was < -0.6. A total of 411 differentially accumulated proteins were identified, associated with metabolic processes such as carbohydrate, amino acid, nitrogen, carbon, and lipid metabolism, biosynthesis of secondary metabolites, photosynthesis, cellular respiration, transport, response to biotic and abiotic stresses, oxidative stress response, and homeostasis. The biotype with the EPSPS enzyme mutation exhibited a metabolic profile characterized by increased chlorophyll and carotenoid biosynthesis, as well as photoprotective mechanisms. An increase in the glycolytic pathway and starch production was also observed, suggesting an enhanced energy storage capacity. On the other hand, the resistant biotype without mutation showed a significant accumulation of the EPSPS enzyme, indicating a NTSR (Non-Target-Site Resistance) mechanism based on the overexpression of the target enzyme. Additionally, the activation of proteins associated with PSII repair and oxidative stress mitigation was observed, allowing for greater physiological stability under glyphosate exposure. A notable increase in the accumulation of pathogen defense-related proteins was also identified, possibly associated with cross-resistance between abiotic and biotic stresses. The chlorophyll a transient fluorescence analysis confirmed that the resistant biotypes maintained photosynthetic stability over time, whereas the susceptible biotype exhibited a significant negative impact, resulting in lower efficiency in capturing and utilizing light energy. These results highlight that resistance in Eleusine indica can occur through multiple mechanisms, requiring diverse and specific management strategies for each resistant population.

Keywords: overexpression; EPSPS; pathogen; oxidative stress; photosynthesis

5.1 INTRODUÇÃO

A agricultura desempenha um papel fundamental na segurança alimentar, mas enfrenta desafios constantes devido às plantas daninhas, que competem com as culturas por recursos essenciais, prejudicando a produtividade (SILVA et al., 2021). Entre essas plantas, a *Eleusine indica*, popularmente conhecida como capim-pé-de-galinha, é uma planta amplamente distribuída nas áreas agrícolas tropicais e subtropicais (RAHMAN; SULTANA, 2021). O principal método de controle da espécie é feito com o uso de herbicidas, mas o uso repetitivo das mesmas moléculas sem a adoção de estratégias alternativas de controle, levou a seleção de biótipos resistentes a herbicidas no Brasil e no mundo (VARGAS, 2016).

O glifosato é um herbicida sistêmico amplamente utilizado na agricultura com controle eficiente de plantas daninhas, como o capim-pé-de-galinha, que atua por meio da inibição da enzima 5-enolipiruvil-shiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) na via de biossíntese de aminoácidos o controle e aromáticos (AMRHEIN et al., 1980). A soja foi a primeira cultura geneticamente modificada resistente ao glifosato, o que possibilitou o uso dessa molécula como herbicida seletivo pós-emergente. Desde então, o número de culturas geneticamente modificadas tem aumentado, ampliando o uso do herbicida para o controle de uma ampla variedade de plantas daninhas após o plantio das culturas (HEAP; DUKE, 2018). Consequentemente, o massivo de glifosato nas últimas duas décadas resultou no surgimento de diversos casos de resistência, tanto isolada quanto associada a outros mecanismos de ação, sendo amplamente reportado no Brasil (HEAP, 2025).

A resistência de *Eleusine indica* é um fenômeno complexo, envolvendo alterações genéticas e fisiológicas. As plantas desenvolvem dois tipos principais de mecanismos de resistência aos herbicidas: os relacionados ao local de ação (RELA) e os não relacionados ao local de ação (NRELA). Os RELA envolvem alterações na enzima-alvo do herbicida, dificultando sua ligação ao local de ação, ou aumento da produção dessa enzima pela planta. Já os NRELA impedem a chegada do herbicida ao local de ação, seja por maior metabolização, convertendo o herbicida em metabólitos inativos, ou pelo aprisionamento do herbicida em outras estruturas celulares, como os vacúolos (DÉLYE; JASIENIUK; CORRE, 2013). Isso implica na expressão aumentada de diversas classes de enzimas desintoxicantes, destacando-se os citocromos P450 (CYPs), as glutationa transferases (GSTs) e as proteínas transportadoras de membrana (TÉTARD-JONES et al., 2018)

Os mecanismos de resistência conhecidos nos biótipos de *Eleusine indica* ao redor do mundo para o herbicida glifosato incluem alterações RELA, como mutações pontuais simples e duplas, superexpressão da enzima EPSPs, além da coexistência de ambos os mecanismos na

mesma população (GHEREKHLOO et al., 2017; HE et al., 2024; LI et al., 2022; ZHANG et al., 2021). No Brasil, existem relatos apenas para biótipos com a mutação do tipo P106S (TAKANO et al., 2019) e estudos adicionais a respeito de resistência NRELA precisam ser melhor investigados.

Nesse contexto, o uso das tecnologias "ômicas" (genômica, metabolômica, proteômica e transcriptômica) tem sido cada vez mais explorado como ferramentas essenciais para o desenvolvimento de estratégias integradas, que combinam abordagens bioquímicas, moleculares e computacionais, incluindo modelagem de proteínas e cristalografia, permitindo uma detecção precoce da resistência (SCHNEIDER et al., 2018). A proteômica vegetal foca na análise da composição e abundancia de proteínas, além de investigar sua estrutura, função, redes de interação, modificações e regulação funcional. Com essas informações é possível fazer comparações entre plantas resistentes e suscetíveis e entender por que e como as plantas daninhas podem desenvolver rapidamente resistência aos herbicidas (CHEN et al., 2024).

Diante dos impactos da evolução da resistência e da crescente dificuldade de controle do *Eleusine indica* na agricultura brasileira, somados à grande relevância do glifosato na produção agrícola global, têm sido realizados esforços significativos em pesquisas para compreender os mecanismos de resistência dessa espécie a esse herbicida. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi utilizar a análise proteômica, somada a analise de fluorescencia transiente da clorofila *a* para investigar os mecanismos de resistência em biótipos de *Eleusine indica* resistente e suscetível ao glifosato.

5.2 MATERIAL E MÈTODOS

Materiais vegetais e condições de crescimento

Foram avaliados três biótipos distintos, selecionados a partir de *screening* realizado em etapa preliminar. Dois desses biótipos, identificados como RESMUT e RESSEM, foram comprovadamente resistentes aos herbicidas glifosato, cletodim e haloxifope-P-metílico, sendo o primeiro com resistência do tipo RELA, devido a mutação P106S na enzima EPSPs e o segundo sem mutação identificada nesta mesma posição. O terceiro biótipo, identificado como SUSC, é suscetível aos mesmos herbicidas. A semeadura ocorreu em vasos de polietileno com capacidade para 1 L preenchidos com uma mistura contendo 1/3 de substrato para planta constituído de turfa, vermiculita, casca de pinus, carvão vegetal e matéria orgânica e 2/3 de solo coletado no campus do Seropédica, da UFRRJ, em área sem histórico de utilização de

herbicidas. As amostras foram removidas da camada superficial do solo (0 - 20 cm). A análise química do solo (Tabela 1) foi conduzida conforme o procedimento descrito no Manual de Métodos de Análise de Solo (Embrapa, 2017).

Tabela 1. Resultado da análise físico-química do solo em área sem histórico de utilização de herbicidas em Seropédica, RJ.

---------- Granulometria (g Kg $^{-1}$ TFSA[a]) ----------									
Areia			**Silte**				**Argila**		
83,9			9,2				6,9		
pH	**-------- Complexo sortivo (Cmol$_c$/dm^3) --------**								**Corg[d]**
(H2O)	**Ca**	**Mg**	**K**	**Na**	**S[b]**	**Al**	**H+AL**	**CTC[c]**	**%**
5,19	1,2	1	0,01	0	2,7	0,05	0,6	3	1,85

[a] TFSA: terra seca fina ao ar.
[b] S: soma de bases trocáveis (Ca + Mg + Na + K)
[c] CTC: (S + H + Al)
[d] Corg: carbono orgânico

Condições de aplicação

O delineamento experimental foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 4 repetições para cada tratamento. Os tratamento foram constituídos por glifosato (Zapp Qi® 620), na dose de 750 g e.a. ha^{-1} e testemunha sem aplicação. A aplicação do herbicida foi realizada quando as plantas apresentavam 2 a 4 perfilhos com auxílio de pulverizador costal pressurizado a CO_2 operando na pressão de 40 psi dotado de uma barra com duas pontas de pulverização do tipo XR11002, espaçadas em 50 cm, aplicando o volume de calda de 200 L. ha^{-1}. No momento da aplicação as condições meteorológicas registravam temperatura de 21,1º C, umidade relativa de 68% e velocidade do vento de 2,0 m/s. Após 48h da aplicação dos tratamentos, cada repetição biológica, constituída a partir de um "*pool*" de material vegetal de duas plantas por vaso, foi coletada individualmente, retirando- se aproximadamente 0,4 g das folhas. Posteriormente, as folhas foram embaladas em papel alumínio, embebidas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultrafreezer a -80 ºC até o momento das análises.

Análise proteômica (*Gel-free*)

A analise proteômica foi realizada no laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, localizada no Campos dos Goytacazes, RJ.

A primeira etapa consistiu na extração e quantificação de proteínas. Para essa etapa, utilizou-se o método descrito por LERIN et al (2021) com modificações. Três replicatas biológicas (300 mg de matéria fresca cada) foram homogeneizadas em nitrogênio líquido usando um almofariz e pistilo (Figura 1).



Figura 1. Amostra de folha biotipo de *Eleusine indica* após maceração com de nitrogênio líquido. Campos dos Goytacazes, RJ, PDPA/UFRRJ, 2024.

O pó resultante foi colocado em microtubo de 1,5 mL, e adicionou-se 1 mL de tampão de extração [10% ácido tricloroacético (TCA; Sigma-Aldrich) em acetona]. As amostras foram agitadas por 60 minutos à 4°C para solubilização do material e depois centrifugadas a 16.000 g por 20 minutos à 4 °C. O sobrenadante foi descartado, o pellet foi lavado quatro vezes em acetona fria contendo 20 mM de ditiotreitol (DTT; Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA) e após está etapa, seco ao ar para posterior ressuspensão.

Os pellets foram ressuspendidos em 1 mL de tampão contendo 7 M de ureia (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA), 2 M de tioureia (GE Healthcare), 1% de DTT (Bio- Rad Laboratories), 2% de Triton-100 (GE Healthcare) e 1 mM de fenilmetanosulfonilfluoridato (PMSF; Sigma-Aldrich) e agitados por 30 minutos à 4°C até que as amostras estivessem completamente ressuspendidas. As amostras foram centrifugadas a 16.000 g por 20 minutos à 4°C. Os sobrenadantes foram coletados para determinar o conteúdo de proteínas na etapa posterior. A concentração de proteína de cada amostra foi quantificada usando um kit de ensaio de proteína Bradford (Bradford 1976). Antes da etapa de digestão com tripsina, amostras de proteína foram precipitadas usando a metodologia metanol/clorofórmio para remover qualquer detergente das amostras de acordo com NANJO Y et al (2012).

A digestão de proteínas foi realizada usando o método de preparação de amostra auxiliada por filtro (FASP), conforme descrito por WIŚNIEWSKI et al. (2009). Para isso, 100 µg de amostras de proteínas foram adicionadas às unidades de filtro Microcon-30 kDa (Millipore) (LIPECKA et al., 2016), lavadas com 200 µL de bicarbonato de amônio 50 mM (solução A) e, em seguida, centrifugadas a 10.000 × g por 15 min a 25 °C. Todas as etapas de centrifugação foram realizadas nessas condições, a menos que indicado de outra forma. Esta etapa foi repetida uma vez para remoção completa da ureia antes da redução das proteínas. Em seguida, 100 µL de DTT 50 mM (GE Healthcare) recém-preparado na solução A foram adicionados, agitados suavemente e incubados por 20 min a 60 °C (1 min de agitação e 4 min de parada, 650 rpm). Em seguida, 200 µL de ureia 8 M em bicarbonato de amônio 50 mM (solução B) foram adicionados e centrifugados por 15 min.

Para alquilação de proteínas, 100 µL de iodoacetamida 50 mM (GE Healthcare) recém-preparada na solução B foram adicionados, agitados suavemente e incubados por 20 min a 25 °C no escuro (1 min de agitação e 4 min de parada, 650 rpm). Em seguida, 200 µL da solução B foram adicionados e centrifugados por 15 min. Esta etapa foi repetida uma vez. Em seguida, 200 µL da solução A foram adicionados e centrifugados por 15 min. Esta etapa foi repetida duas vezes. Na última lavagem, aproximadamente 50 µL de amostra devem ser deixados. Para a digestão de proteínas, 25 µL de surfactante RapiGest® 0,2% (v/v) (Waters, Milford, EUA) foram adicionados a cada amostra. As misturas resultantes foram brevemente agitadas e incubadas em um Thermomixer® por 15 min a 80 °C, seguido pela adição de 2,5 µL de 100 mM DTT (Bio-Rad Laboratories, Hercules, EUA).

Após as amostras serem agitadas e incubadas a 60 °C por 30 min sob agitação a 350 rpm, 2,5 µL de 300 mM iodoacetamida (GE Healthcare, Piscataway, EUA) foram adicionados, e as amostras foram agitadas e incubadas no escuro por 30 min em temperatura ambiente. Depois, a iodoacetamida foi extinta pela adição de 2,5 µL de 100 mM DTT (Bio-Rad Laboratories) a cada amostra, seguido de incubação a 37°C por 30 min. A digestão foi realizada pela adição de 20 µL de solução de tripsina (50 ng µL−1 ; V5111; Promega, Madison, EUA) preparada em 50 mM de bicarbonato de amônio a cada amostra, seguido de incubação durante a noite a 37 °C. Para precipitação com RapiGest®, 10 µL de ácido trifluoroacético (TFA; Sigma-Aldrich) a 5% (v/v) foram adicionados, e as amostras foram incubadas a 37 °C por 90 min, seguida de centrifugação a 16.000× g por 30 min.

As amostras foram posteriormente transferidas para frascos de recuperação total (Waters) para análise por espectrometria de massa. Os peptídeos resultantes foram

quantificados com o método de proteína e peptídeo A 205 nm usando um espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific). As amostras foram transferidas para Total Recovery Vials (Waters; Manchester, Reino Unido) para análise por espectrometria de massa.

A espectrometria de massa foi realizada usando um cromatógrafo líquido de ultra desempenho nano ACQUITY (UPLC) acoplado a um instrumento Q-TOF SYNAPT G2-Si (Waters), e o processamento espectral e as buscas em banco de dados foram realizados usando o software ProteinLynx Global SERVER (PLGS) (versão 3.0.2; Waters), de acordo com CARRARI-SANTOS et al (2023). Para o processamento dos dados e identificação das proteínas, foi utilizado o banco de *Eleusine coracana subsp. coracana* (Indian finger millet) do NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCA_032690845.1). A análise de quantificação sem rótulo foi realizada usando ISOQuant 1.7 DISTLER et al (2014) com os parâmetros de busca de acordo com CARRARI-SANTOS et al (2023).

Após o processamento dos dados, apenas as proteínas presentes nas três réplicas biológicas ou ausentes nas três réplicas biológicas (para proteínas únicas) foram consideradas para análise de acúmulo diferencial para as seguintes comparações: RESMUT/SUSC; RESSEM/SUSC e RESMUT/RESSEM, com e sem aplicação do herbicida glifosato.

Os dados foram analisados pelo teste t de Student (bicaudal). Proteínas com um valor de $p < 0,05$ foram consideradas up-acumuladas "up-acumuladas" se o Log_2 da mudança de dobra (FC) > 0,6 e "down-acumuladas" se o Log_2 da FC fosse menor que < -0,6.

Análise de fluorescência transiente da clorofila *a*

As avaliações da fluorescência transiente da clorofila *a* foram realizadas aos 7, 14, 21 e 28 DAA utilizando um fluorômetro portátil Handy-PEA. Para essas medições foram utilizados dois clipes por planta colocados no terço médio de folhas jovens completamente expandidas (área de 4 mm de diâmetro da folha) durante 20 min, totalizando 8 repetições. Após esse período a amostra foi submetida a um pulso de luz saturante numa intensidade de 3.000 μmol m^{-2} s^{-1} e a partir da curva de emissão de fluorescência transiente obtida após o pulso, procedeu o cálculo dos parâmetros estabelecidos pelo Teste JIP (STRASSER et al., 2004 e adaptado de YUSUF et al., 2010). Os valores de fluorescência plotados foram a média de oito medições de cada tratamento, totalizando quatro médias. Os dados foram submetidos a ANOVA ($p \leq 0,05$) e quando significativos ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Principais parâmetros do Teste JIP (STRASSER et al., 2004 e adaptado de YUSUF et al., 2010). Seropédica-RJ, 2024

Parâmetros de fluorescência calculados a partir dos dados primários obtidos	
F_V/F_M	Rendimento quântico máximo do FSII
F_V/F_M	Rendimento quântico máximo do FSII
V_t	Fluorescência variável relativa em um tempo "t"
V_j	Fluorescência variável relativa em relação ao nível J
V_i	Fluorescência variável relativa em relação ao nível I
$M_0 = 4(F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0)$	Declive inicial aproximado (em ms^{-1}) dafluorescênciatransiente V = f (t)
$S_s = V_J/M_0$	Área totalnormalizadacomplementarcorrespondenteapenas a fase OJ(refleteum únicovolume de eventosde reduçãode Q_A)
$S_m = (Area)/(F_M - F_0)$	Área totalnormalizadacomplementaracima da curva OJIP(refletemúltiplos eventos de reduçãoQ_A)
$N = S_m/S_s$	Número total de elétrons transferidos para a cadeia de transporte de elétrons entre o tempode 0 et (necessário para atingir F_M)
Atividade específica por centro de reação (RC)	
$ABS/RC = M_0 (1/V_J) (1/\varphi Po)$	Medida do tamanho aparente do sistema antena ou o fluxo de absorção por RC
$TR_0/RC = M_0 (1/V_J)$	Máxima taxa pela qual um éxciton é capturado pelo RC resultando em uma redução da plastoquinona (Q_A^-)
$ET_0/RC = M_0 (1/V_J) \Psi_0$	Reoxidação da Q_A^- via transporte de elétrons em um RC ativo
$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$	Razão de dissipação total de energia de excitação não capturada do total de RC, sendo a dissipação neste caso à perda de energia na forma de calor
RE_0/RC	Redução do aceptor final de elétrons no lado do aceptor de elétrons do FSI por RC
Rendimentos energéticos ou taxas de fluxo	
$\varphi P_0 = TR_0/ABS = F_V/F_M$	Rendimento quântico máximo fotoquímico
$\varphi E_0 = ET_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para o intersistema de aceptores de elétrons
$\varphi R_0 = RE_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para o aceptor final de elétrons do FSI
$\varphi R_0 = RE_0/ABS$	Rendimento quântico de transporte de elétrons de Q_A^- para o aceptor final de elétrons do FSI
Eficiências	
$\psi E_0 = ET_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron de Q_A^- para o intersistema de aceptores de elétrons
$\psi R_0 = RE_0/TR_0$	Eficiência com que um éxciton capturado no RC pode mover um elétron dentro da cadeia de transporte de elétrons de Q_A^- para os aceptores finais de elétrons do FSI
$\delta R_0 = RE_0/ET_0$	Eficiência com que um elétron pode mover o intersistema de aceptores de elétrons reduzidos no intersistema para o aceptor final de elétrons do FSI
Índices de desempenho	
$PI_{ABS} = \frac{RC}{ABS} \times \left(\frac{\varphi_{P0}}{1-\varphi_{P0}}\right) \times \left(\frac{\Psi_0}{1-\Psi_0}\right) = \frac{RC}{ABS} \times \frac{TR_0}{DI_0} \times \frac{ET_0}{1-ET_0}$	Índice de desempenho fotossintético (conservação de energiaa partir do éxcitonpara a redução dos aceptores de elétrons do intersistema)

$PI_{total} = PI_{ABS} \times (\frac{\delta_0}{1-\delta_0})$	Índice de desempenho fotossintético total (conservação de energiaa partir deéxcitonpara a reduçãode aceptoresfinais do FSI)

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise proteômica

No total foram identificadas 411 proteínas classificadas como diferencialmente acumuladas. Foram realizadas análises comparativas de cada biótipo resistente em relação ao biótipo suscetível e dos biótipos resistentes entre si, todos submetidos a aplicação do herbicida glifosato. De forma geral, as proteínas diferencialmente acumuladas foram associadas a 12 processos biológicos: metabolismo de carboidratos, metabolismo de aminoácidos, metabolismo de nitrogênio, metabolismo de carbono, metabolismo de lipídeos, biossíntese de metabólitos secundários, fotossíntese, respiração celular, transporte, resposta a estresses bióticos e abióticos, resposta a estresse oxidativo e homeostase celular. A seguir, para cada comparação, estão destacadas as proteínas up-acumuladas exclusivas em cada comparação, para os três processos biológicos que apresentaram o maior número de proteínas e, em cada um deles, as proteínas que apresentaram maior porcentagem de acúmulo. Para a descrição das comparações, o biótipo BR-18-Ein-033-02, recebeu o nome de RESMUT, o biótipo BR-20-Ein-100-02 o nome de RESSEM e o biótipo suscetível BR-18-Ein-000-02 o nome de SUSC.

Tabela 3. Proteínas diferencialmente acumuladas com o seu respectivo número de cópias formadas, detectadas pelo método *gel-free*. Seropédica/RJ, PDPA/UFRRJ, 2024.

Processo biológico	Rota metabólica	Identificação	Número de cópias		
			RESMUT	RESSEM	SUSC
Metabolismo de carboidrato	Glicólise	fructose-bisphosphate aldolase	9.386	0	4.555
	Biossíntese de amído	granule-bound starch synthase1b	60.780	42.033	14.206
		glucose-1-phosphate adenylyltransferase large subunit 1 isoform X	7.753	3.236	5.240
	Biossíntese de sacarose	probable sucrose-phosphate synthase 5	31.982	19.197	11.686
	Via das pentoses fosfatos	transketolase, chloroplastic	15.118	7.043	8.668
Metabolismo de aminoácidos	Ciclo do folato	serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial	109.231	73.350	40.666
		glycine dehydrogenase (decarboxylating) 2, mitochondrial-like	85.623	41.457	70.322

	Sintase de asparagina	asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing] 1-like	5.084	1.805	12.736
	Via do shikimato	5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase	9.078	25.071	12.304
Fotossíntese	Biossíntese de clorofila	magnesium-chelatase subunit ChlI-1 chloroplastic	66.905	43.797	42.702
		glutamyl-tRNA reductase-binding protein chloroplastic	19.402	15.453	8.913
		4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase	14.008	5.843	11.094
		protochlorophyllide reductase B	89.395	41.396	42.992
	Biossíntese de carotenoides	chlorophyll a-b binding protein of LHCII type 1-like	141.047	62.560	169.663
		: geranylgeranyl diphosphate reductase, chloroplastic	48.990	32.602	29.498
	Transporte de elétrons	POST-ILLUMINATION CHLOROPHYLL FLUORESCENCE INCREASE, chloroplastic-like	48.989	0	23.282
		photosynthetic NDH subunit of lumenal location 2, chloroplastic-like	52.494	113.554	67.436
		photosystem I reaction center subunit III, chloroplastic-like	78.081	90.265	59.454
	Reparo do PSII	protein MET1, chloroplastic-like	144.541	191.831	101.019
		oxygen-evolving enhancer protein 3-1	23.164	33.232	21.576
Resposta estresses bióticos e abióticos	Ataque de patógenos	subtilisin-like protease SBT3.3	0	13.010	4.102
		thaumatin-like protein	8.356	48.424	7.635
		chitinase	14.489	69.542	22.241
	Salinidade seca e frio	PLAT domain-containing protein 3-like	5.899	13.581	4.144
	Altas temperaturas	Temperature-induced lipocalin-1	3.032	5.759	2.356
Resposta a estresse oxidativo	Eliminação de espécies reativas de oxigênio	putative glutathione S-transferase GSTU1	37.122	80.938	16.678
		probable glutathione S-transferase DHAR1, cytosolic	168.788	230.996	51.334

phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase 1, chloroplastic	71.498	65.615	26.582
superoxide dismutase	23.000	38.161	8.673
peroxidase 4-like	2.252	6.444	5.944
ascorbate peroxidase 1	11.630	37.324	23.847

Análise proteômica comparativa: RESMUT vs SUSC

Ao total, foram identificadas 168 proteínas diferencialmente acumuladas, sendo, 90 classificadas como up-acumuladas, 30 down-acumuladas, 27 únicas no biótipo RESMUT e 21 únicas no biótipo SUSC. Entre essas proteínas, foram destacadas as proteínas associadas ao metabolismo de carboidrato, metabolismo de aminoácidos e a fotossíntese.

Para proteínas envolvidas no metabolismo de carboidrato, foram identificadas proteínas presentes na rota da glicólise, como a "fructose-bisphosphate aldolase", com 51% de aumento do número de cópias acumuladas no biótipo resistente (9.386 cópias) em relação ao suscetível (4.555 cópias). Esta enzima está presente na quarta etapa da glicólise, responsável por catalisar a reação reversível da frutose 1,6-bisfosfato (F1,6BP) de seis carbonos, gerando dois intermediários de três carbonos: gliceraldeído 3-fosfato (GAP) e di-hidroxiacetona fosfato (DHAP) (PIROVICH; DA'DARA; SKELLY, 2021). Também foi identificada proteína associada a síntese de amido: a "granule-bound starch synthase1b", que é responsável pela formação de amilose a partir da UDP-glucose (SEO; HONG; HA, 1998), com aumento de 77% no número de cópias na planta resistente (60.780 cópias) em relação ao suscetível (14.206 cópias). Foi ainda identificada a "transketolase, chloroplastic", enzima responsável pela formação de açúcares na via das pentoses fosfato, com aumento de 43% no número de cópias na planta resistente (15.118 cópias) em relação ao suscetível (8.668 cópias). Essa enzima catalisa a transferência de grupos cetol entre açúcares fosfatados, como frutose-6-fosfato e sedo-heptulose-7-fosfato, gerando intermediários importantes como xilulose-5-fosfato e ribose-5-fosfato. Essas reações são fundamentais para a regeneração de açúcares necessários à fixação de carbono e para o direcionamento do fluxo de carbono à biossíntese de amido (ZHANG; SONG; BARTELS, 2016).

Em relação ao metabolismo de aminoácidos, foi identificada a proteína "serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial" (SHMT) com aumento de 63% no número de cópias da planta resistente (109.231 cópias em relação ao suscetível (40.666 cópias). Ela é responsável por catalisar a conversão da serina em glicina, um processo essencial para a biossíntese de nucleotídeos e a regulação do equilíbrio redox celular, além de estar envolvida na eliminação

de espécies reativas de oxigênio (ROS), como descrito em um estudo conduzido por FANG et al (2020) com arroz, que apresentou uma variante da SHMT no retículo endoplasmático capaz de reduzir os níveis de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a partir da interação com proteínas antioxidantes e de transporte de ATP, facilitando a detoxificação do H_2O_2. Essa função confere maior tolerância ao frio e pode explicar seu alto acúmulo em plantas tratadas com herbicidas, que frequentemente induzem estresse oxidativo, exigindo mecanismos de proteção celular.

Quanto as proteínas envolvidas na fotossíntese, houve aumento de proteínas relacionadas a biossíntese de clorofila, como a "magnesium-chelatase subunit ChlI-1 chloroplastic", que catalisa a primeira etapa da síntese, com a inserção do íon magnésio na protoporfirina IX para produzir Mg-protoporfirina IX (RISSLER et al., 2002), onde essa enzima apresentou aumento de 36% de cópias do no biótipo resistente (66.905 cópias) em relação ao suscetível (42.702 cópias) e da "glutamyl-tRNA reductase-binding protein chloroplastic", que está envolvida na regulação da glutamil-tRNA redutase (GluTR), que é importante para a síntese e distribuição de 5-aminolevulinato, um precursor na biossíntese de heme e clorofila (CZARNECKI et al., 2011), com aumento de 54% do biótipos resistente (19.402 cópias) em relação ao suscetível (8.913 cópias); Biossíntese de carotenoides: "geranylgeranyl diphosphate reductase, chloroplastic", presente na via biossintética dos isoprenoides, o geranilgeranil difosfato é um intermediário e está relacionado a produção de carotenoides (BARJA; RODRÍGUEZ CONCEPCIÓN; TOLRÀ PÉREZ, 2019), com aumento de 40% do resistente (48.990 cópias) em relação ao suscetívele (29.498 cópias). Além de uma proteína associada diretamente a redução não fotoquímica (NPQ), chamada "protein post-illumination chlorophyll fluorescence increase, chloroplastic-like", com aumento de 52% nas plantas resistentes (48.989 cópias) em relação ao suscetível (23.282 cópias), responsável por facilitar o transporte de elétrons através do complexo NDH, que transfere elétrons do NADH para o pool de plastoquinona (PQ). Esse processo ajuda a dissipar a energia excedente da luz absorvida durante a fotossíntese. O papel da proteína nesse processo foi demonstrado por WANG & PORTIS (2007) em um estudo com o mutante de *Arabidopsis thaliana*, que não apresentava a proteína funcional. Embora o complexo NDH estivesse presente e intacto, o mutante não conseguiu gerar o aumento da fluorescência de clorofila pós-iluminação, um processo dependente da ação dessa proteína. Isso indicou que o mutante falhou na redução não fotoquímica do pool de PQ, comprometendo a capacidade de dissipar a energia luminosa excessiva e tornando-o mais suscetível a danos por fotoinibição.

Análise proteômica comparativa: RESSEM vs SUSC

Foram identificadas 272 proteínas diferencialmente acumuladas, sendo 148 up-acumuladas, 76 down-acumuladas, 17 únicas para RESSEM e 31 únicas para SUSC. Entre up-acumuladas, foi possível destacar proteínas associadas a defesa contra estresses bióticos e abióticos, resposta a estresse oxidativo e a fotossíntese.

Entre as proteínas relacionadas a estresses bióticos e abióticos, foram identificadas proteínas diretamente relacionadas a proteção contra patógenos, como a "subtilisin-like protease SBT3.3", que regula a preparação imunológica e a resistência sistêmica induzida, ou seja, ajuda a planta a se preparar para ataques futuros e a ativar defesas em todo o organismo, garantindo uma resposta mais eficiente e duradoura contra patógenos. A SBT3.3 desempenha um papel central na preparação da resposta imune da planta, ajudando a modular genes de defesa de maneira epigenética e regulando vias de sinalização associadas ao ácido salicílico e às quinases (RAMÍREZ et al., 2013) e nesta comparação, ocorreu aumento de 68% do número de cópias em plantas resistentes (13.010 cópias em relação ao suscetível (4.102 cópias).

Também foi identificada a "thaumatin-like protein", com aumento de 84% de cópias em plantas resistentes (48.424 cópias) em relação ao suscetível (7.635 cópias). Essa proteína pode atuar degradando componentes da parede celular de patógenos, como quitina e β-glucanos, enfraquecendo sua estrutura e impedindo a infecção. De acordo com estudo Léon-Kloosterziel et al. (2005), as thaumatin-like proteins 1 (TLP1) estão associadas à defesa das plantas contra patógenos por meio da sua expressão induzida na raiz em resposta à colonização por *Pseudomonas* fluorescentes. O estudo mostrou que a presença dessas bactérias na rizosfera de *Arabidopsis thaliana* ativou a expressão de um gene que codifica a TLP1, especificamente nos tecidos vasculares da raiz. De forma similar, a proteína "chitinase", com aumento de 68% do número de cópias em plantas resistentes (69.542 cópias) em relação ao suscetível e (22.241 cópias), é descrita como capaz de hidrolisar quitina, enfraquecendo a integridade da parede celular dos fungos, inibindo seu crescimento e propagação (DATTA et al., 2001).

A "plat domain-containing protein 3-like", por sua vez, está envolvida com a tolerância ao estresse abiótico e um alvo direto de proteínas que regulam a expressão de genes ligados à resposta ao ácido abscísico (ABA) e nesta comparação, as plantas resistentes submetidas ao glifosato apresentaram aumento de 69% do número de cópias no biótipo resistente (13.581 cópias em relação ao suscetível (4.144 cópias). De acordo com o estudo de HYUN et al (2014), a proteína "PLAT Domain-Containing Protein 1" (PLAT1) em *Arabidopsis thaliana* tem alta importância na tolerância a estresses abióticos. A pesquisa demonstrou que a expressão do gene

PLAT1 é induzida por condições de estresse, como alta salinidade, seca e frio. Plantas mutantes com deficiência em PLAT1 exibiram sensibilidade aumentada a esses estresses, enquanto aquelas com superexpressão de PLAT1 mostraram maior resistência. Esses resultados sugerem que a PLAT1 atua como um regulador positivo na resposta da planta a condições ambientais adversas, possivelmente modulando vias de sinalização relacionadas ao estresse e contribuindo para a adaptação e sobrevivência da planta em ambientes estressantes.

Em relação aos demais tipos de estresse, foi identificada a proteína "Temperature-Induced Lipocalin 1" (TIL1), com aumento de 59% em plantas resistentes (5.759 cópias) em relação ao suscetível (2.356 cópias) e está associada na termotolerância basal e adquirida, ajudando a prevenir danos às membranas celulares causados por altas temperaturas. Além disso, confere proteção contra o estresse oxidativo induzido por calor, congelamento, paraquat e luz intensa, atuando como um antioxidante que neutraliza radicais livres prejudiciais e segundo CHARRON et al (2008), em um estudo com mutantes sem o gene responsável pela expressão dessa proteína, houve maior sensibilidade a baixas temperaturas, paraquat e luz intensa, acumulando espécies reativas de oxigênio (ROS), enquanto a superexpressão aumentou a resistência ao estresse e retardou o florescimento, sugerindo seu papel na defesa contra ROS e na regulação do balanço energético da planta.

Para as proteínas associadas a resposta a estresse oxidativo, por sua vez, foram identificadas duas isoformas da enzima glutationa S-transferase (GST): a "putative glutathione S-transferase" (GSTU1), com aumento de 79% em biótipo resistente (80.938 cópias) em relação ao suscetível (16.678 cópias) e "probable glutathione S-transferase DHAR1, cytosolic", com aumento de 77% para a mesma comparação (230.996 cópias no resistente) e (51.334 cópias no suscetível). A atuação das GSTs na proteção contra danos oxidativos ocorre por dois mecanismos principais: (1) a conjugação da glutationa (GSH) a espécies reativas tóxicas geradas pelo estresse oxidativo, promovendo sua detoxificação e excreção, e (2) a atividade de algumas isoformas com função de glutationa peroxidase (GPX), que catalisam a redução direta de peróxidos lipídicos, minimizando a peroxidação de membranas celulares. Esses processos contribuem para a manutenção da homeostase redox e aumentam a resiliência das plantas a condições ambientais adversas (GULLNER et al., 2018). Além destas, também foi observada a proteína "phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase 1, chloroplastic", com aumento de 59% no número de cópias dessa proteína em plantas resistentes (65.615 cópias) em relação ao suscetível (26.582 cópias), em que a principal função é reduzir hidroperóxidos lipídicos, compostos altamente reativos que podem comprometer a integridade das membranas celulares.

Essa enzima é ativada em resposta ao estresse salino e ao ácido abscísico (ABA) (AVSIAN-KRETCHMER et al., 1999). E por fim, a enzima superoxide dismutase, com aumento de 77% no número de cópias no biótipo resistente (38.161 cópias) em relação ao suscetível (8.673 cópias). Esta por sua vez, catalisa a conversão do radical superóxido (O_2^-) em oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), reduzindo assim os danos causados por espécies reativas de oxigênio (EROs), constituindo a primeira linha de defesa contra as ROS (BARBOSA et al., 2014).

Para as proteínas relacionadas a fotossíntese, foi possível observar um acúmulo de proteínas associadas ao reparo do PSII, como a protein "MET1, chloroplastic-like", com aumento de 47% no número de cópias do biótipo resistente (191.831 cópias) em relação ao suscetível (101.019 cópias). A proteína MET1 interage com os componentes CP43 e CP47 do núcleo do PSII, demostrado segundo estudo conduzido por BHUIYAN et al (2015), onde os autores observaram que mutantes de milho que não expressavam a proteína, sob alta intensidade luminosas, obtiveram na perda dos supercomplexos do PSII e na degradação acelerada da proteína D1, um dos principais alvos de danos foto-oxidativos; A "oxygen-evolving enhancer protein 3-1", essencial para a formação e estabilidade do fotossistema II, além de ser importante para o crescimento fotoautotrófico em ambientes com pouca luz (YI et al., 2006) e com aumento de 35% em plantas resistentes (33.232 cópias) em relação ao suscetível (21.576 cópias); e a proteína "photosystem I reaction center subunit III, chloroplastic-like", que contribui para a eficiência na transferência de elétrons da plastocianina para o P700, com acréscimo de 34% no número de cópias na planta resistente (90.265 cópias) em relação ao suscetível (59.454 cópias).

Análise proteômica comparativa: RESMUT vs RESSEM

Comparando os dois biótipos resistentes, observou-se 228 proteínas diferencialmente acumuladas, destas, 109 up-acumuladas, 69 down-acumuladas, 34 únicas para RESMUT e 16 únicas para RESSEM. Esta comparação é fundamental para compreender as diferenças entre os biótipos resistentes, visto que um apresenta mutação na enzima alvo e o outro não.

Entre as proteínas up-acumuladas, pode-se destacar as proteínas associadas a fotossíntese, metabolismo de aminoácidos e carboidrato. Já em relação as proteínas down acumuladas, as proteínas estavam divididas de forma similar para cada processo biológico, desta forma, foi feito o destaque daquelas que se apresentaram com maior porcentagem em down-acumulada, que foram aquelas ligadas a resposta ao estresse oxidativo e fotossíntese.

As proteínas up-acumuladas para o processo fotossintético, também foram associada a formação da clorofila, como a "4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase", com aumento de 58% para o biótipo RESMUT (11.094 cópias) em relação ao biótipo RESSEM (5.843 cópias), essa enzima é responsável por catalisar o passo final da conversão de 1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-butenyl 4-diphosphate (HMBPP) em isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP), na via não-mavalonata, formando precursores fundamentais para a biossíntese de isoprenóides, que por sua vez pode fornecer o esqueleto molecular para a biossíntese do fitol, uma cadeia lateral hidrofóbica que se liga ao anel tetrapirrólico da clorofila (HSIEH; GOODMAN, 2005); e a "protochlorophyllide reductase B", que catalisa a conversão da protochlorophyllide em chlorophyllide, intermediários da síntese de clorofila (SU et al., 2001), com aumento de 53% do número de cópias no biótipo RESMUT (89.395 cópias) em comparação ao biótipo RESSEM (41.396). Além de uma proteína chamada "chlorophyll a-b binding protein of LHCII type 1-like", que se liga às moléculas de clorofila a e b, além de outros pigmentos como carotenoides, ajudando a maximizar a absorção de luz, com aumento de 56% do número de cópias do biótipo RESMUT (141.047 cópias) em comparação ao biótipo RESSEM (62.560 cópias).

Para a síntese de aminoácidos, pode-se destacar as proteínas, "asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing] 1-like", responsável pela assimilação, distribuição e remobilização de nitrogênio dentro da planta através do floema (GAUFICHON et al., 2013), com aumento de 64% do número de cópias no biótipo RESMUT (5.084 cópias) em comparação ao biótipo RESSEM (1.805 cópias). A "glycine dehydrogenase (decarboxylating) 2, mitochondrial-like", com aumento de 51% de cópias no biótipo RESMUT (85.623 cópias) em relação ao RESSEM (41.457 cópias), que faz parte de um complexo, sendo essencial na fotorrespiração, pois catalisa junto com a serina hidroximetiltransferase, já cita anteriormente, a conversão de duas moléculas de glicina em serina, liberando CO_2 que pode ser utilizado Ciclo de Calvin-Benson (SCHULZE; WESTHOFF; GOWIK, 2016).

Por fim, em relação as up-acumuladas ligadas ao processo metabólico de carboidrato, foram identificadas as proteínas "probable sucrose-phosphate synthase 5", relacionada a formação de sacarose apartir da UDP-glicose e frutose-6-fosfato, envolvida na regulação da formação de carbono nas folhas, com aumento de 40% do número de cópias no biótipo RESMUT (31.982 cópias) em comparação ao biótipo RESSEM (19.197 cópias). E a "glucose-1-phosphate adenylyltransferase large subunit 1 isoform X", também relacionada a biossíntesse

de amido, com aumento de 58% no biótipo RESMUT (7.753 cópias) em comparação ao biótipo RESSEM (3.236 cópias).

Para as down-acumuladas relacionadas a resposta ao estresse oxidativo, foram identificadas a “peroxidase 4-like” e a “ascorbate peroxidase 1”, ambas envolvidas na remoção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), estando a primeira, 65% menos acumulada no RESMUT (2.252 cópias) e em comparação ao biótipo RESSEM (6.444 cópias) e a segunda 68% menos acumulada na mesma comparação (11.630 cópias para o biótipo RESMUT e 37.324 cópias para o biótipo RESSEM).

E para a fotossíntese, a “photosynthetic NDH subunit of lumenal location 2, chloroplastic-like”, com 53% menos acumulo do número de cópias no RESMUT (52.494 cópias) em comparação ao biótipo RESSEM (113.554 cópias) e que faz parte do complexo NAD(P)H desidrogenase (NDH) no cloroplasto. Sua principal função é estabilizar e contribuir para a montagem desse complexo, que está envolvido no transporte cíclico de elétrons ao redor da fotossistema I (PSI). Isso ajuda a otimizar a fotossíntese em condições de estresse ambiental, regulando a produção de ATP e protegendo contra danos oxidativos (YABUTA et al., 2010)

Os biótipos resistentes parecem responder fisiologicamente de maneira diferenciada ao estresse causado pelo herbicida, ativando diferentes mecanismos de defesa, conforme indicado pelas proteínas e enzimas diferencialmente acumuladas neste estudo. No caso do biótipo RESMUT, observou-se um aumento na atividade da via glicolítica, que se configura como uma alternativa para promover uma maior geração de ATP e metabólitos intermediários. Além disso, a ativação da via das pentoses fosfato fornece um poder redutor essencial para a síntese de lipídios, incluindo ácidos graxos, esteróis e pigmentos fotossintéticos. Essa via também desempenha um papel fundamental na assimilação do nitrogênio e na biossíntese de aminoácidos (SHARKEY, 2021). Paralelamente, a maior disponibilidade de intermediários metabólicos pode resultar no desvio do fluxo de carbono para a síntese de amido, promovendo o acúmulo de reservas energéticas. Esse mecanismo pode servir como um reservatório de energia, permitindo que a planta tenha energia para futuras demandas, como a reparação celular e a intensificação da detoxificação de compostos tóxicos. Dessa forma, a modulação dessas vias metabólicas contribui para a resiliência da planta em situações estressantes, como aplicação de herbicidas.

Somado a isso, o biótipo RESMUT também apresentou incremento na fotossíntese, com aumento na síntese de clorofila e carotenoides quando comparado aos demais biótipos estudados, que pode estar relacionada à necessidade de manter a integridade dos complexos

fotossintéticos e otimizar a captação de luz. Enquanto a clorofila é essencial para a absorção de fótons e a conversão de energia luminosa em energia química, os carotenoides atuam como fotoprotetores, prevenindo a foto-oxidação e dissipando o excesso de energia absorvida (SZABÓ; BERGANTINO; GIACOMETTI, 2005). O aumento no acumulo de proteínas associadas ao transporte de elétrons via complexo NDH sugere uma intensificação do fluxo cíclico de elétrons em torno do fotossistema I (PSI). O complexo NDH transfere elétrons do NADH para o pool de plastoquinona (PQ), contribuindo para a formação de um gradiente de prótons através da membrana do tilacoide, que impulsiona a síntese de ATP. Esse mecanismo auxilia na dissipação do excesso de energia absorvida, protegendo os fotossistemas contra danos foto-oxidativos e mantendo o balanço entre a produção e o consumo de energia na célula (NAWROCKI et al., 2019). Dessa forma, o aumento coordenado dessas vias garante que a planta resistente continue a realizar fotossíntese de maneira eficiente mesmo sob estresse.

O biótipo RESSEM apresentou aumento significativo de proteínas associadas a fotossíntese, porém, de forma diferente RESMUT, são proteínas mais associadas ao reparo do PSII, que indica uma tentativa do biótipo na recuperação do fotossistema, essencial para manter a eficiência da conversão de energia luminosa. Esse processo envolve a rápida substituição da proteína D1, que sofre degradação sob estresse oxidativo (EDELMAN; MATTOO, 2008). Além disso, a elevação de proteínas associadas à transferência de elétrons da plastocianina para o P700 (centro de reação do PSI) sugere uma otimização do transporte de elétrons, garantindo um fluxo energético eficiente e contínuo. Esse ajuste contribui para a estabilidade da fotossíntese, mesmo sob condições de estresse, permitindo que a planta mantenha seu crescimento apesar da aplicação do glifosato. Além disso, o aumento das proteínas associadas ao estresse oxidativo, pode ser explicado porque embora o glifosato não atue diretamente na fotossíntese, ele interfere na via do chiquimato, que é essencial para a biossíntese de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano). A deficiência desses aminoácidos gera um efeito cascata que afeta várias vias metabólicas, resultando em estresse oxidativo (TRAXLER et al., 2023).

O acúmulo de proteínas de defesa contra patógenos neste biótipo pode estar ligada a um fenômeno conhecido como resposta cruzada entre estresses abióticos e bióticos. Esse fenômeno ocorre porque a exposição a um certo estresse pode induzir uma memória de estresse, que é persistente e prepara a planta para uma resposta melhor e mais rápida em eventos de estresse posteriores, levando a planta a utilizar os mesmos mecanismos de sinalização para lidar com

diferentes tipos de estresses, tanto ambientais (como seca, herbicidas e temperatura extrema) quanto bióticos (como infecções por patógenos) (LLORENS et al., 2020).

Além disso, esse estresse ativa vias hormonais reguladas pelo ácido salicílico (AS) e pelo jasmonato (JA), dois hormônios essenciais para respostas a patógenos e estresses ambientais. O ácido salicílico está principalmente associado à defesa contra patógenos biotróficos (aqueles que se alimentam de tecidos vivos), enquanto o jasmonato é mais envolvido na resposta contra patógenos necrotróficos (que matam células para se alimentar) e herbivoria. Como esses hormônios também participam da regulação de respostas ao estresse oxidativo e outros desafios ambientais, sua ativação pode ser uma resposta generalizada da planta ao dano metabólico causado pelo glifosato (HYUN et al., 2014; LLORENS et al., 2020).

Superexpressão da enzima EPSPs

Além dessas proteínas, foi observada uma diferença significativa no acúmulo da enzima 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPs), alvo da inibição do herbicida glifosato. Neste estudo, a enzima, apresentou um aumento de 49% no número de cópias no biótipo resistente RESSEM (25.071 cópias) em comparação ao biótipo SUSC (12.304 cópias) (Figura 2A). Quando comparamos os biótipos sem aplicação do glifosato, observou-se que o biótipo resistente também apresenta um aumento na quantidade da enzima EPSPs, com 28% mais cópias (20.111 cópias) do que o biótipo suscetível (5.737 cópias). Esses dados indicam que, sob condições normais, o biótipo resistente RESSEM já possui um maior número de cópias da enzima EPSPS, e que seu acúmulo é ainda mais pronunciado com a aplicação do herbicida, o que pode justificar a resistência da planta ao glifosato.

Quando observamos o acúmulo da enzima EPSPs nos tecidos foliares dos biótipos RESMUT em comparação ao SUSC, não há acumulo diferencial com e sem a aplicação de glifosato, pois o número de cópias observadas foi semelhante para ambos os biótipos. Para o biótipo RESMUT, as cópias foram de 9.078 (com o herbicida) e 7.335 (sem o herbicida), enquanto para o biótipo SUSC, os valores foram de 12.304 (com o herbicida) e 5.737 (sem o herbicida) (Figura 2B).

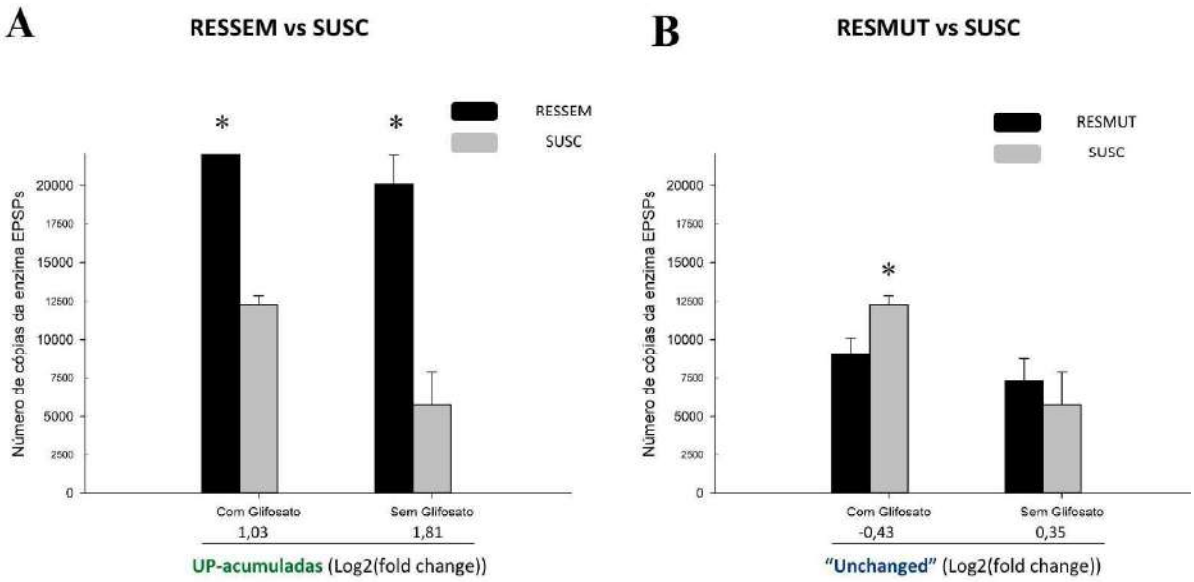


Figura 2. Número de cópias da enzima 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase acumulada em técido foliar de biótipos de *Eleusine indica* resistente e suscetível ao herbicida glifosato, em comparações com e sem aplicação do herbicida glifosato. * indica diferença significativa entre as médias de acordo com o Teste-t de Student (bicaudal) se p-value < 0,05. Proteinas com p-value < 0,05 seriam consideradas up-acumuladas se o Log_2 do Fold Change for maior ou igual a 0,6 e down-acumuladas se o Log_2 do Fold Change for menor ou igual a -0,6.

Além de apresentar um aparato fisiológico mais robusto, com proteínas associadas à diversos processos biológicos, o biótipo RESSEM exibiu um acúmulo de EPSPs, em relação ao biótipo suscetível caracterizando-o com um mecanismo RELA de superexpressão da enzima. Ademais, embora ambos os biótipos sejam comprovadamente resistentes ao herbicida glifosato, os resultados indicam que o biótipo RESSEM possui uma preparação fisiológica superior à do RESMUT para lidar com a exposição ao herbicida. Esse diferencial pode estar relacionado à ausência de mutação na enzima EPSPs no RESSEM, uma vez que a presença de mutações pode acarretar em custo adaptativo, conhecido como *fitness cost* (VILA-AIUB; NEVE; POWLES, 2009). O custo de aptidão refere-se à redução na capacidade de sobrevivência e reprodução de um organismo devido à presença de um alelo de resistência a herbicidas, podendo ocorrer, por exemplo, quando mutações no sítio-alvo comprometem a função normal da enzima, reduzindo sua eficiência catalítica e impactando o metabolismo da planta (VILA-AIUB; NEVE; POWLES, 2009).

Análise da fluorescência transiente da clorofila *a*

Em relação a análise da fluorescência transiente da clorofila *a*, os parâmetros fotossintéticos que apresentaram maior alteração para os biótipos estudados, foram as atividades específicas por centro de reação: ABS/RC, TR_0/RC, DI_0/RC e os índices de desempenho PI_{ABS} e PI_{total} (Figura 3).

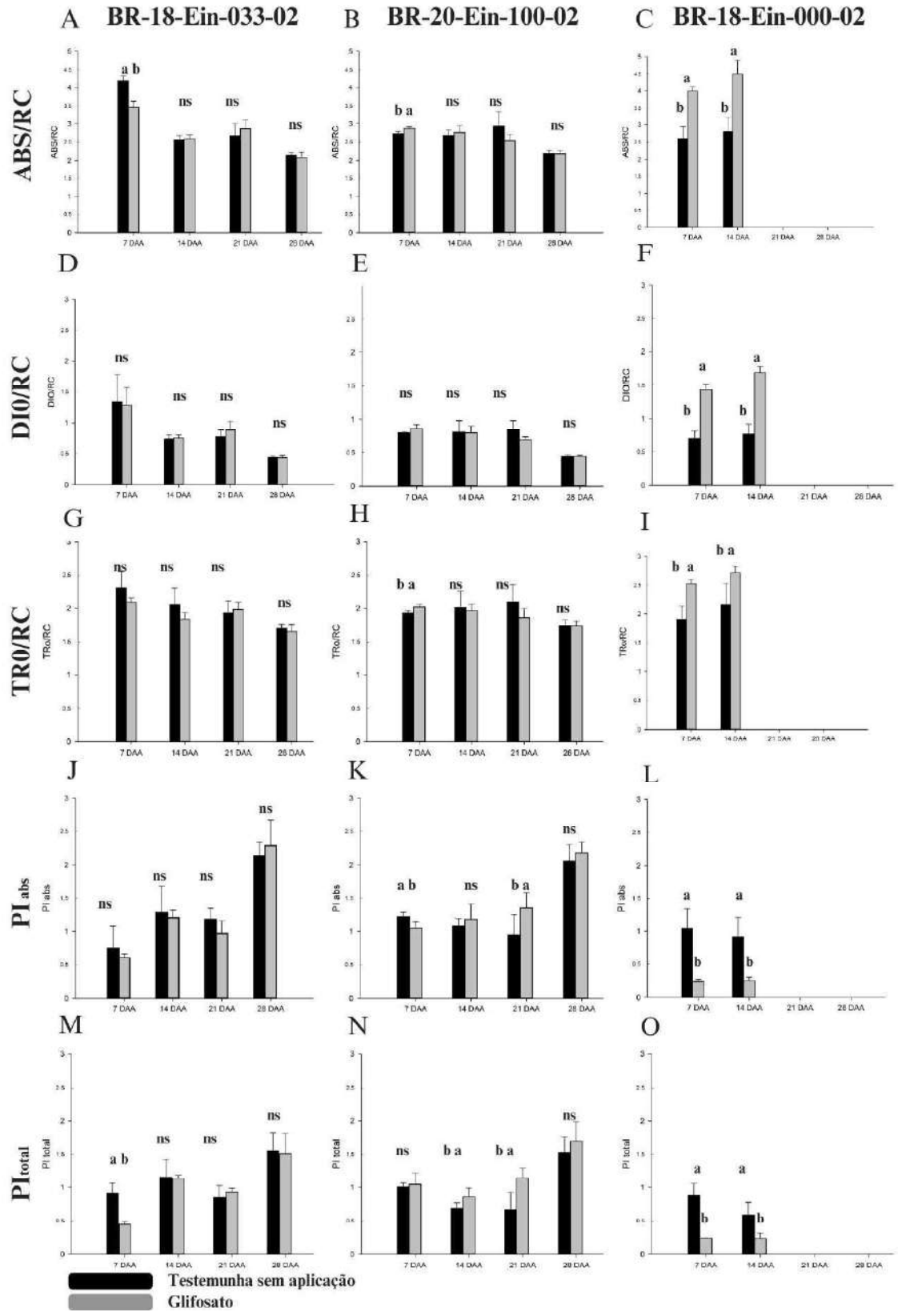


Figura 3. Parametros fotossinteticos de biótipos de *Eleusine indica* resistentes e suscetível a herbicidas aos 7, 14, 21 e 28 dias após aplicação do herbicida glifosato. Médias seguidas pela mesma letra em cada tempo de avaliação individualmente, não diferem estatisticamente entre si a $P \leq 0,05$ pelo teste de Tukey.

O biótipo suscetível apresentou diferença significativa entre planta tratada e planta sem aplicação, com maior tamanho aparente da antena no PSII por centro de reação (ABS/RC) nas plantas submetidas aplicação de glifosato aos 7 e 14 DAA (Figura 3C). Este fato, resultou em maior fluxo máximo de éxcitons por centro de reação capaz de gerar a redução de QA (TR_0/RC) (Figura 3I) e maior DI_0/RC (Figura 3F), indicando menor rendimento quântico. Isto acarreta em menor aproveitamento de todos os fótons que chegam até a planta e por isso a ação dos pigmentos de carotenoides envolvidos na extinção das clorofilas em estado tripleto (^{3}Chl), resultaram no aumento da dissipação de calor, mostrando que as plantas sob aplicação estavam sob estresse. Isto implicou na diminuição dos índices de desempenho para conservação de energia do éxciton para a redução dos aceptores de elétrons do interssistema (PI_{abs}) (Figura 3L) e dos aceptores finais PSI (PI_{total}) (Figura 3O). Este fato indica que as plantas suscetíveis, sob aplicação do herbicida glifosato, apresentaram baixa eficiência em captar e utilizar essa energia para reduzir receptores de elétrons e baixa capacidade da planta em realizar todo ciclo fotossintético.

As plantas resistentes, por sua vez, apresentaram pouca alteração destes parâmetros. As atividades por centro de reação não sofreram grandes alterações durantes as avaliações entre planta tratada e planta sem aplicação de glifosato. O biótipo RESSEM, apresentou maiores variações durante a avaliação de 7 DAA, com maior tamanho aparente da antena por centro de reação em plantas sem aplicação (Figura 3A). Entretanto, isso não levou ao aumento de (TR_0/RC) (Figura 3G), logo não houve aumento na taxa de captura de éxciton para a redução de Q_A e também não houve aumento da dissipação de calor (DI_0/RC) (Figura 3D). No entanto, nesta avaliação, a planta resistente deste biótipo mostrou menor eficiência na utilização de éxciton para a redução dos aceptores finais do FSI. Até os 28 DAA, houve diminuição dos parâmetros ABS/RC, DI_0/RC TR_0/RC e aumento do PIabs e PItotal (Figura 3J e 3M), nas plantas com e sem aplicação do glifosato, indicando que a planta resistente, mesmo sob aplicação do herbicida, não sofreu danos e perda de eficiência fotossintética.

O biótipo RESSEM, também apresentou poucas alterações significativas em todos os parâmetros, mas obteve resposta diferente do biótipo RESMUT. Houve aumento do parâmetro ABS/RC (Figura 3B) e consequentemente aumento de TR0/RC (Figura 3H) em plantas sob aplicação aos 7 DAA. Entretanto, neste mesmo tratamento, o índice fotossintético PIabs (Figura 3K) foi menor, ou seja, a planta teve menor eficiência na captação de energia para reduzir receptores de elétrons, mesmo com aumento dos parâmetros descritos anteriormente. Porém a partir das avaliações de 14 DAA, para os parâmetros relacionados ao centro de reação, não

houve diferença significativa entre os tratamentos e houve aumento de PIabs e PItotal (Figura 3K e 3N) em plantas aplicadas em relação a testemunha sem aplicação, indicando alta capacidade deste biótipo na utilização de energia para todo o processo fotossintético.

Ambos os biótipos resistentes demonstraram grande estabilidade nos parâmetros fotossintéticos ao longo das avaliações, indicando que seu aparato fotossintético foi pouco afetado pela aplicação do herbicida. Esses resultados ratificam os encontrados pela análise proteômica, que revelou um acúmulo de diversas proteínas associadas a diferentes componentes da fotossíntese nos dois biótipos resistentes em comparação ao biótipo suscetível.

5.4 CONCLUSÃO

A análise proteômica permitiu a identificação de proteínas diferencialmente acumuladas, associadas a processos como metabolismo de carboidratos, aminoácidos, fotossíntese e defesa contra estresses bióticos e abióticos. Essas diferenças metabólicas indicam que a resistência ao glifosato em *Eleusine indica* não se dá de maneira uniforme, mas sim por meio de múltiplos mecanismos adaptativos.

O biótipo RESMUT apresentou respostas associadas ao aumento do metabolismo energético, incluindo vias glicolíticas e biossíntese de amido, além de ajustes fotossintéticos que favorecem a absorção e utilização da energia luminosa. Já o biótipo RESSEM exibiu uma estratégia de resistência baseada na superexpressão da enzima EPSPs e no aumento de proteínas associadas ao reparo do PSII, à mitigação de estresse oxidativo e defesa contra estresses bióticos e abióticos. Além disso, ambos os biótipos resistentes apresentaram pouca alteração na etapa fotoquímica da fotossíntese, após a aplicação dos herbicidas, o que pode estar relacionado à presença de uma ampla diversidade de proteínas envolvidas na fotossíntese como mecanismo mitigador do estresse causado pelo herbicida.

5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMRHEIN, N. et al. The Site of the Inhibition of the Shikimate Pathway by Glyphosate: II. INTERFERENCE OF GLYPHOSATE WITH CHORISMATE FORMATION IN VIVO AND IN VITRO 1. **Plant Physiology**, v. 66, n. 5, p. 830–834, 1 nov. 1980.

ALVES, M. V. P. Controle químico de Eleusine indica (L.) Gaertn. em soja Roundup Ready® e resposta de biótipo ao herbicida glifosato. 28 mar. 2014.

AVSIAN-KRETCHMER, O. et al. Regulation of stress-induced phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in citrus. **Planta**, v. 209, n. 4, p. 469–477, 1 out. 1999.

BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, p. 453–460, mar. 2014.

BHUIYAN, N. H. et al. MET1 Is a Thylakoid-Associated TPR Protein Involved in Photosystem II Supercomplex Formation and Repair in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 27, n. 1, p. 262–285, 1 jan. 2015.

BRITO, I. P. et al. Hormetic effects of glyphosate on plants. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1064–1070, 2018.

CARRARI-SANTOS, R. et al. Microporous membrane and culture medium affect in vitro seedling development of Dalbergia nigra (Vell.) Ex Benth. (Fabaceae) by modulation of the protein profile and accumulation of ethylene and CO2. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 153, n. 3, p. 559–576, 1 jun. 2023.

COLEMAN, N. V. et al. Biodegradation and Abiotic Degradation of Trifluralin: A Commonly Used Herbicide with a Poorly Understood Environmental Fate. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 17, p. 10399–10410, 1 set. 2020.

DISTLER, U. et al. Drift time-specific collision energies enable deep-coverage data-independent acquisition proteomics. **Nature Methods**, v. 11, n. 2, p. 167–170, fev. 2014.

EDELMAN, M.; MATTOO, A. K. D1-protein dynamics in photosystem II: the lingering enigma. **Photosynthesis Research**, v. 98, n. 1, p. 609–620, 1 out. 2008.

GAUFICHON, L. et al. Arabidopsis thaliana ASN2 encoding asparagine synthetase is involved in the control of nitrogen assimilation and export during vegetative growth. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 2, p. 328–342, 2013.

GREEN, J. M. Herbicide Antagonism at the Whole Plant Level. **Weed Technology**, v. 3, n. 2, p. 217–226, jun. 1989.

GULLNER, G. et al. Glutathione S-Transferase Enzymes in Plant-Pathogen Interactions. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 21 dez. 2018.

GUNASEKARA, A. S. et al. The behavior of clomazone in the soil environment. **Pest Management Science**, v. 65, n. 6, p. 711–716, 2009.

HSIEH, M.-H.; GOODMAN, H. M. The Arabidopsis IspH Homolog Is Involved in the Plastid Nonmevalonate Pathway of Isoprenoid Biosynthesis. **Plant Physiology**, v. 138, n. 2, p. 641–653, 1 jun. 2005.

HYUN, T. K. et al. The Arabidopsis PLAT Domain Protein1 Is Critically Involved in Abiotic Stress Tolerance. **PLOS ONE**, v. 9, n. 11, p. e112946, 14 nov. 2014.

JUGULAM, M.; SHYAM, C. Non-Target-Site Resistance to Herbicides: Recent Developments. **Plants**, v. 8, n. 10, p. 417, out. 2019.

LLORENS, E. et al. Chapter 1 - Priming mediated stress and cross-stress tolerance in plants: Concepts and opportunities. Em: HOSSAIN, M. A. et al. (Eds.). **Priming-Mediated Stress and Cross-Stress Tolerance in Crop Plants**. [s.l.] Academic Press, 2020. p. 1–20.

MURPHY, B. P.; TRANEL, P. J. Target-Site Mutations Conferring Herbicide Resistance. **Plants**, v. 8, n. 10, p. 382, out. 2019.

NAWROCKI, W. J. et al. The mechanism of cyclic electron flow. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1860, n. 5, p. 433–438, 1 maio 2019.

PEREIRA, W. J. HERBICIDAS ACCASE NO CONTROLE DE CAPIM-CORACANA, CAPIM-AMARGOSO E CAPIM-PÉ-DE-GALINHA E EFEITO RESIDUAL NA CULTURA DO MILHO. 2023.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. Volume 61, 2010, p. 317–347, 11 mar. 2010.

RENTON, M. et al. Simulated herbicide mixtures delay both specialist monogenic and generalist polygenic resistance evolution in weeds. **Pest Management Science**, v. 80, n. 11, p. 5983–5994, 2024.

RIBEIRO, D. F. et al. Alternativas de herbicidas para dessecação de áreas em pousio. **Brazilian Journal of Science**, v. 2, n. 2, p. 71–85, 1 fev. 2023.

SCHULZE, S.; WESTHOFF, P.; GOWIK, U. Glycine decarboxylase in C3, C4 and C3–C4 intermediate species. **Current Opinion in Plant Biology**, SI: 31: Physiology and metabolism 2016. v. 31, p. 29–35, 1 jun. 2016.

SHARKEY, T. D. Pentose Phosphate Pathway Reactions in Photosynthesizing Cells. **Cells**, v. 10, n. 6, p. 1547, jun. 2021.

SU, Q. et al. POR C of Arabidopsis thaliana: a third light- and NADPH-dependent protochlorophyllide oxidoreductase that is differentially regulated by light. **Plant Molecular Biology**, v. 47, n. 6, p. 805–813, 1 dez. 2001.

SZABÓ, I.; BERGANTINO, E.; GIACOMETTI, G. M. Light and oxygenic photosynthesis: energy dissipation as a protection mechanism against photo-oxidation. **EMBO reports**, v. 6, n. 7, p. 629–634, jul. 2005.

TAKANO, H. K. et al. ACCase-inhibiting herbicides: mechanism of action, resistance evolution and stewardship. **Scientia Agricola**, v. 78, p. e20190102, 13 mar. 2020.

TRAXLER, C. et al. The nexus between reactive oxygen species and the mechanism of action of herbicides. **Journal of Biological Chemistry**, v. 299, n. 11, p. 105267, 1 nov. 2023.

VILA-AIUB, M. M.; NEVE, P.; POWLES, S. B. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. **New Phytologist**, v. 184, n. 4, p. 751–767, 2009.

YABUTA, S. et al. Three PsbQ-Like Proteins are Required for the Function of the Chloroplast NAD(P)H Dehydrogenase Complex in Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology**, v. 51, n. 6, p. 866–876, 1 jun. 2010.

YI, X. et al. The PsbQ Protein Is Required in Arabidopsis for Photosystem II Assembly/Stability and Photoautotrophy under Low Light Conditions *. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 36, p. 26260–26267, 8 set. 2006.

YUAN, J. S.; TRANEL, P. J.; STEWART, C. N. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 1, p. 6–13, 1 jan. 2007.

CHEN, K. et al. Weed biology and management in the multi-omics era: Progress and perspectives. **Plant Communications**, v. 5, n. 4, 8 abr. 2024.

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

TÉTARD-JONES, C. et al. Changes in the proteome of the problem weed blackgrass correlating with multiple-herbicide resistance. **The Plant Journal**, v. 94, n. 4, p. 709–720, 2018.

6 CAPÍTULO III - USO DE HERBICIDAS PÓS E PRÉ-EMERGENTES NO MANEJO DE *Eleusine indica*

RESUMO

O capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) é uma planta daninha amplamente distribuída, com resistência crescente a herbicidas, exigindo novas estratégias de manejo. Este estudo avaliou a eficácia de herbicidas em pós e pré-emergência no controle da espécie. Foram conduzidos dois ensaios: (A) manejo químico em pós-emergência, realizado em campo, em área infestada por capim-pé-de-galinha em pleno florescimento e sem histórico de resistência. O delineamento foi em blocos ao acaso, incluindo testemunha capinada e não capinada, 8 herbicidas aplicados isoladamente e 2 em aplicação sequencial 14 dias após a primeira. O controle foi avaliado até 28 dias após a aplicação (DAA), atribuindo notas de 0 a 100% conforme as injúrias visuais. (B) Manejo químico em pré-emergência, realizado em casa de vegetação com sementes de um biótipo resistente ao glifosato, cletodim e haloxifope. O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8x2, testando 7 diferentes herbicidas mais a testemunha sem aplicação e dois intervalos de simulação de chuva (20 mm). Foram avaliados controle, efeito residual e porcentagem de germinação, em uma escala de 0% a 100%, até 42 dias após a germinação da testemunha sem aplicação. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao constatar significância estatística, as médias foram comparadas pelo teste de Snott-Knott a 5% ($p \leq 0,05$). No manejo químico em pós-emergência, a aplicação sequencial de cletodim seguida de glufosinato de amônio e a aplicação isolada de glifosato foram as estratégias mais eficazes, atingindo controle superior a 87%, enquanto o herbicida diquat não foi eficiente. No manejo químico em pré-emergência, s-metolacloro e piroxasulfona demonstraram alta eficácia, garantindo controle acima de 95% e efeito residual prolongado por aproximadamente 90 dias, independente do intervalo de simulação de chuva. Esses resultados evidenciam a importância do uso combinado de herbicidas com diferentes mecanismos de ação em pré e pós-emergência para o manejo eficiente da espécie.

Palavras-chave: controle químico; aplicação sequencial; efeito residual

ABSTRACT

The Goosegrass (*Eleusine indica*) is a widely distributed weed with increasing herbicide resistance, requiring new management strategies. This study evaluated the efficacy of post-emergence and pre-emergence herbicides in controlling the species. Two trials were conducted: (A) Post-emergence chemical management, performed in the field in an area infested with flowering *E. indica* with no history of herbicide resistance. The experiment was arranged in a randomized block design, including weeded and unweeded controls, eight herbicides applied individually, and two in sequential application 14 days after the first. Weed control was assessed up to 28 days after application (DAA), using a rating scale from 0 to 100% based on visual injury symptoms. (B) Pre-emergence chemical management, conducted in a greenhouse using seeds from a biotype resistant to glyphosate, clethodim, and haloxyfop. The experiment followed a completely randomized design in an 8×2 factorial scheme, testing seven different herbicides plus an untreated control and two rainfall simulation intervals (20 mm). Control efficacy, residual effect, and germination percentage were evaluated on a 0–100% scale up to 42 days after the germination of the untreated control. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA), and when statistical significance was detected, means were compared using the Scott-Knott test at a 5% significance level ($p \leq 0.05$). In post-emergence management, sequential application of clethodim followed by glufosinate-ammonium, as well as standalone glyphosate application, were the most effective strategies, achieving over 87% control, while diquat was ineffective. In pre-emergence management, S-metolachlor and pyroxasulfone demonstrated high efficacy, ensuring over 95% control and prolonged residual activity for approximately 90 days, regardless of the rainfall simulation interval. These findings highlight the importance of combining herbicides with different modes of action in both pre- and post-emergence applications for effective *E. indica* management.

Keywords: chemical control; sequential application; residual effect

6.1 INTRODUÇÃO

O capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) é uma planta de ciclo anual ou perene da família Poaceae, considerada originária da África e da Ásia temperada e tropical (RAHMAN; SULTANA, 2021). Adaptável a diversos ambientes, é frequentemente encontrada em áreas compactadas por tráfego intenso ou com drenagem deficiente (MCELROY et al., 2017). Com capacidade de produzir até 140 mil sementes por planta e metabolismo C4*, E. indica* utiliza recursos como luz, água e nutrientes com alta eficácia, especialmente em condições adversas (MA et al., 2019; DE FREITAS SOUZA et al., 2024).

Essas adaptações conferem à planta uma vantagem competitiva, tornando-a uma daninha agressiva, capaz de dominar áreas degradadas e impactar negativamente as culturas agrícolas. É considerada uma erva daninha problemática em mais de 60 países, afetando 46 espécies de cultivos diferentes (NEVES, 2011). Como resultado, o manejo químico com uso de herbicidas é método predominantemente utilizado para o controle do capim-pé-de-galinha, devido à sua alta eficiência, praticidade e menores custos (MOSS, 2019).

Devido ao uso intensivo e indiscriminado dessas moléculas, atualmente, existem biótipos resistentes a 8 diferentes locais de ação herbicida, totalizando 16 diferentes ingredientes ativos, em todo o mundo (HEAP, 2025). No Brasil, foram registrados até o momento quatro casos de resistência a herbicidas nesta espécie. O primeiro envolvendo biótipos resistentes aos herbicidas cialofop-butílico, fenoxaprope-p-etílico e setoxidim; o segundo, biótipos resistentes ao glifosato; o terceiro, biótipos com resistência múltipla a dois mecanismos de ação: EPSPs (glifosato) e ACCase (fenoxaprope e haloxifope); e o quarto, registrado em 2023, refere-se a biótipos com resistência múltipla e cruzada aos herbicidas glifosato, cletodim e haloxifope-p-metílico (HRAC - BR, 2023).

Considerando a problemática de resistência múltipla do capim-pé-de-galinha no Brasil, somada as limitadas opções de herbicidas e à diversidade natural de respostas dos biótipos ao manejo químico, é fundamental desenvolver estratégias de manejo mais eficazes, para minimizar o impacto da resistência ao longo dos anos. Assim, este estudo busca comparar a eficácia de diferentes herbicidas em pós e pré-emergência, considerando seu efeito residual e seu impacto na emergência de biótipos resistentes de *Eleusine indica*

.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio 1 - Manejo químico em pós-emergência da espécie

O ensaio foi conduzido no campo experimental do Rehagro Pesquisa (empresa credenciada pelo MAPA) em Nazareno – MG (-21.261744702285302, -44.51650917831322) durante o período de 06/12/2023 a 04/01/2024. Foi utilizado delineamento experimental em blocos ao acaso (DBC) com 4 repetições, sendo cada unidade experimental composta por uma parcela com 2x3m com infestação natural de capim-pé-de-galinha em estádio avançado de desenvolvimento, em florescimento, entouceiradas e sem histórico de resistência a herbicidas. A área estava em pousio a mais de um ano, sem plantio de culturas e sem realização de ensaios com aplicação de herbicidas.

O ensaio foi realizado com 12 tratamentos, contendo testemunha padrão e testemunha capinada, que foi mantida limpa durante toda a condução do ensaio (Tabela 1). As aplicações foram realizadas utilizando um pulverizador costal pressurizado a CO_2 com pressão de 40 psi, com barra equipada com quatro pontas XR 110.02 espaçadas a 0,5 m entre si, com faixa de aplicação de 2,0 m e volume de calda de 150 L ha^{-1}. A primeira aplicação foi realiza no dia 06/12/2023 em todas as parcelas destinadas a aplicação dos herbicidas e no dia 20/12/2023 foi realizada uma aplicação sequencial apenas nas parcelas dos tratamentos T11 e T12. As condições climáticas registradas durante a primeira aplicação indicaram temperatura de 29,1 °C, com umidade relativa do ar de 52,0% e velocidade do vento de 3,0 m/s. Já na aplicação sequencial, a temperatura foi de 22,7 °C, enquanto a umidade relativa e a velocidade do vento apresentaram 54,0% e 3,2 m/s, respectivamente.

Tabela 1. Herbicidas utilizados e suas respectivas doses. Nazareno, MG. PDPA/UFRRJ, 2023.

Trat.	Ingrediente ativo (Produto comercial)	Dose (L p.c. ha^{-1})	Dose (g i.a ou e.a. ha^{-1})	Adjuvante (% v/v ou mL)
T1	Testemunha sem capina	--	--	--
T2	Testemunha com capina	--	--	--
T3	Glifosato (Zapp Qi 620®)	1,40	700,0	--
T4	Glufosinato de amônio (Trunfo®)	2,50	700,0	0,50
T5	Cletodim (Select Force)	0,50	180,0	0,50
T6	Haloxifope-P-Metílico (Verdict® Max)	0,23	124,20	0,50
T7	Diquat (Reglone)	2,00	400,0	0,24
T8	Cletodim + Haloxifope-P-metílico (Kennox)	0,30	72,0	0,50
T9	Quizalofope-P-Etílico (Targa)	2,00	100,0	--
T10	Clodinafope-propargil (Topik® 240 EC)	0,40	96,0	0,50
T11	Glufosinato de amônio (Trunfo) > Cletodim (Select Force)	2,50 > 0,50	700,0 > 180,0	0,50 > 0,50

T12	Cletodim (Select Force) > Glufosinato de amônio (Trunfo)	0,50 > 2,50	180,0 > 700,0	0,50 > 0,50

> = aplicação sequencial 14 dias após a primeira aplicação

Foram realizadas avaliações visuais de controle aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos herbicidas (DAA). Durante as avaliações, foram atribuídas notas às injúrias visuais das plantas em uma escala que varia de 0 a 100% no qual, 0% indica ausência de sintomas, enquanto 100% representa a morte da planta, conforme descrito por ALAM (1974). Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Ao constatar significância estatística, as médias foram comparadas pelo teste de Snott-Knott a 5% ($p \leq 0,05$), por meio do software Rbio (BHERING, 2017).

Ensaio 2 - Manejo químico em pré-emergência da espécie

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação do grupo de Pesquisa em Plantas Daninhas e Pesticidas no Ambiente da UFRRJ. Foram utilizadas sementes de um biótipo de capim-pé-de-galinha resistente aos herbicidas glifosato, cletodim e haloxifope-p-metílico, denominado RESMUT, proveniente de *screening* realizado em etapa preliminar. Foram utilizadas 50 sementes por vaso com capacidade para 3 L preenchidos com mistura de solo arenoso e argiloso coletados nas áreas experimentais da universidade. A análise química do solo (Tabela 2) foi conduzida conforme o procedimento descrito no Manual de Métodos de Análise de Solo (Embrapa, 2017). Após a semeadura, as sementes foram cobertas com 1 cm da mesma mistura de solo.

Tabela 2. Análise química do solo em área sem histórico de utilização de herbicidas em Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ - 2024.

pH	--------- Complexo sortivo ($Cmol_c/dm^3$) --------								Corg[d]
(H2O)	Ca	Mg	K	Na	S[b]	Al	H+AL	CTC[c]	g.kg^{-1}
5,30	1,4	1,1	0,05	0,18	2,8	0,0	1,78	4,6	17,47

[a] TFSA: terra seca fina ao ar.
[b] S: soma de bases trocáveis (Ca + Mg + Na + K)
[c] CTC: (S + H + Al)
[d] Corg: carbono orgânico

O delineamento experimental foi do tipo delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial de 9x2, onde o fator A foi representado pelos herbicidas e testemunha sem aplicação (Tabela 2) e o fator B representado por uma lâmina de 20 mm de água aplicada como simulação de chuva aos 10 e 20 dias após aplicação dos herbicidas. A aplicação dos herbicidas

foi realizada com auxílio de pulverizador costal pressurizado a CO_2 operando na pressão de 40 psi dotado de uma barra com duas pontas de pulverização do tipo XR11002, espaçadas em 0,5 m, aplicando o volume de calda de 150 L. ha^{-1}.

Tabela 3. Herbicidas pré-emergentes utilizados e suas respectivas doses. Seropédica, RJ. PDPA/UFRRJ, 2024.

Trat.	Ingrediente ativo (Produto comercial)	Dose (L p.c ou g p.c. ha-1)	Dose (g i.a ou e.a. ha^{-1})	Adjuvante (% v/v ou mL)
T1	Testemunha	--	--	--
T2	Trifluralina (Trifluralina Nortox)	5,0	2250,0	--
T3	Fomesafem (Flex)	1,0	250,0	0,3
T4	S-metolacloro (Dual Gold)	2,0	1920,00	--
T5	Diclosulam + Halauxifeno-metílico (Paxeo)	55	94,8 + 478,3	--
T6	Clomazona (Reator 360 CS)	2,5	900,0	--
T7	Fomesafem + S-metolacloro (Eddus)	2,0	227,70 + 1035,66	--
T8	Piroxasulfona (Yamato)	0,2	900,0	--

Foram realizadas avaliações visuais de controle e de porcentagem de germinação aos 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a germinação da testemunha (DAGT) sem aplicação. As notas de controle variavam de 0% a 100% de acordo com o índice de germinação e desenvolvimento da testemunha sem aplicação e a % de germinação de acordo com o número de plantas germinadas nas testemunhas, também em uma escala de 0% a 100%. Aos 42 DAGT a parte aérea das plantas foram coletadas e secas em estufa a 65^{o}C, por 72 horas, e em seguida pesadas para mensurar a massa seca da parte aérea (MSPA). Além disso, após a coleta (42 DAA), foram semeadas novamente 50 sementes do mesmo biótipo a 1 cm de profundidade em cada vaso, para avaliação do efeito residual dos herbicidas testados. Nesta segunda bateria foram novamente avaliadas as variáveis nível de controle e % de germinação aos 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a germinação da testemunha (DAGT) sem aplicação. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Ao constatar significância estatística, as médias foram submetidas e comparadas pelo teste de Snott-Knott a 5% ($p \leq 0,05$), utilizando-se também o software Rbio (BHERING, 2017).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio 1 - Manejo químico em pós-emergência da espécie

Houve diferença significativa no nível injúria observado entre os tratamentos para cada período de avaliação (Tabela 5). Aos 7 dias após aplicação (DAA), todos os tratamentos demonstraram controle insatisfatório para o capim-pé-de-galinha. O herbicida glufosinato de amônio foi o tratamento que apresentou maior controle (40%), seguido pelo herbicida glifosato (30%) e os demais tratamentos com controle entre 10 e 23% (Figura 1). Em geral, após aproximadamente uma semana da aplicação de herbicidas inibidores da ACCase as plantas começam a apresentar os primeiros sintomas, caracterizados por um início de clorose, seguido de necrose nos tecidos em crescimento e por posteriormente, desintegração das folhas (BRITO et al., 2018; TAKANO et al., 2020). De forma similar, para o herbicida glifosato, os sintomas nas plantas se desenvolvem lentamente, começando com a inibição do crescimento, seguida por amarelecimento e clorose, com subsequente necrose e morte da planta (BRITO et al., 2018; TAKANO et al., 2020).

Por outro lado, o baixo desempenho do herbicida glufosinato de amônio e do diquat na primeira avaliação pode estar relacionado tanto a características da planta quanto às propriedades dos próprios herbicidas (DOMÍNGUEZ; CUARTERO; HEREDIA, 2011). Fatores como a sensibilidade diferencial da espécie ao glufosinato, menor área foliar, localização interna do meristema apical na base dos colmos e a presença de ceras epicuticulares podem reduzir a eficácia de controle (RAHMAN; SULTANA, 2021). Além disso, por serem herbicidas de contato, ambos requerem uma boa cobertura foliar para um desempenho eficiente, tornando as monocotiledôneas menos sensíveis a esses compostos (RAHMAN; SULTANA, 2021).

Tabela 5. Controle (%) de capim-pé-de-galinha em pleno florescimento e em área sem histórico de resistência a herbicidas submetidos a aplicação de herbicidas pós- emergentes. PDPA/UFRRJ, Nazareno, MG. 2024.

Tratamentos	Controle (%)			
	7 DAA	14 DAA	21 DAA	28 DAA
T1 - Testemunha sem capina	0,0 f	0,0 f	0,0 f	0,0 d
T2- Testemunha com capina	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
T3 - Glifosato (Zapp Qi 620)	31,8 c	88,8 b	93,3 b	91,5 a
T4 – Glufosinato de amônio (Trunfo)	43,8 b	68,8 c	71,3 c	52,5 b
T5 - Cletodim (Select Force)	10,0 e	50,0 d	56,3 d	62,5 b
T6 - Haloxifope (Verdict® Max)	10,0 e	55,0 d	57,5 d	65,0 b

T7- Diquat (Reglone)	22,5 d	22,5 e	16,3 e	11,3 c
T8 – Cletodim + Haloxifope (Kennox)	21,8 d	51,8 d	53,0 d	58,8 b
T9 – Quizalofope – P-Etílico (Targa)	12,5 e	58,8 d	52,3 d	62,5 b
T10 – Clodinafope-propargil (Topik 240 EC)	15,0 d	50,0 d	45,0 d	62,5 b
T11 – Glufosinato de amônio > Cletodim	38,8 b	67,5 c	68,8 c	63,8 b
T12 – Cletodim > Glufosinato de amônio	10,0 e	46,3 d	87,5 b	87,0 a
CV (%)	22,6	10,3	11,0	12,4

Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna individualmente, não diferem estatisticamente entre si a P ≤ 0,05 pelo teste de Snott-Knott.

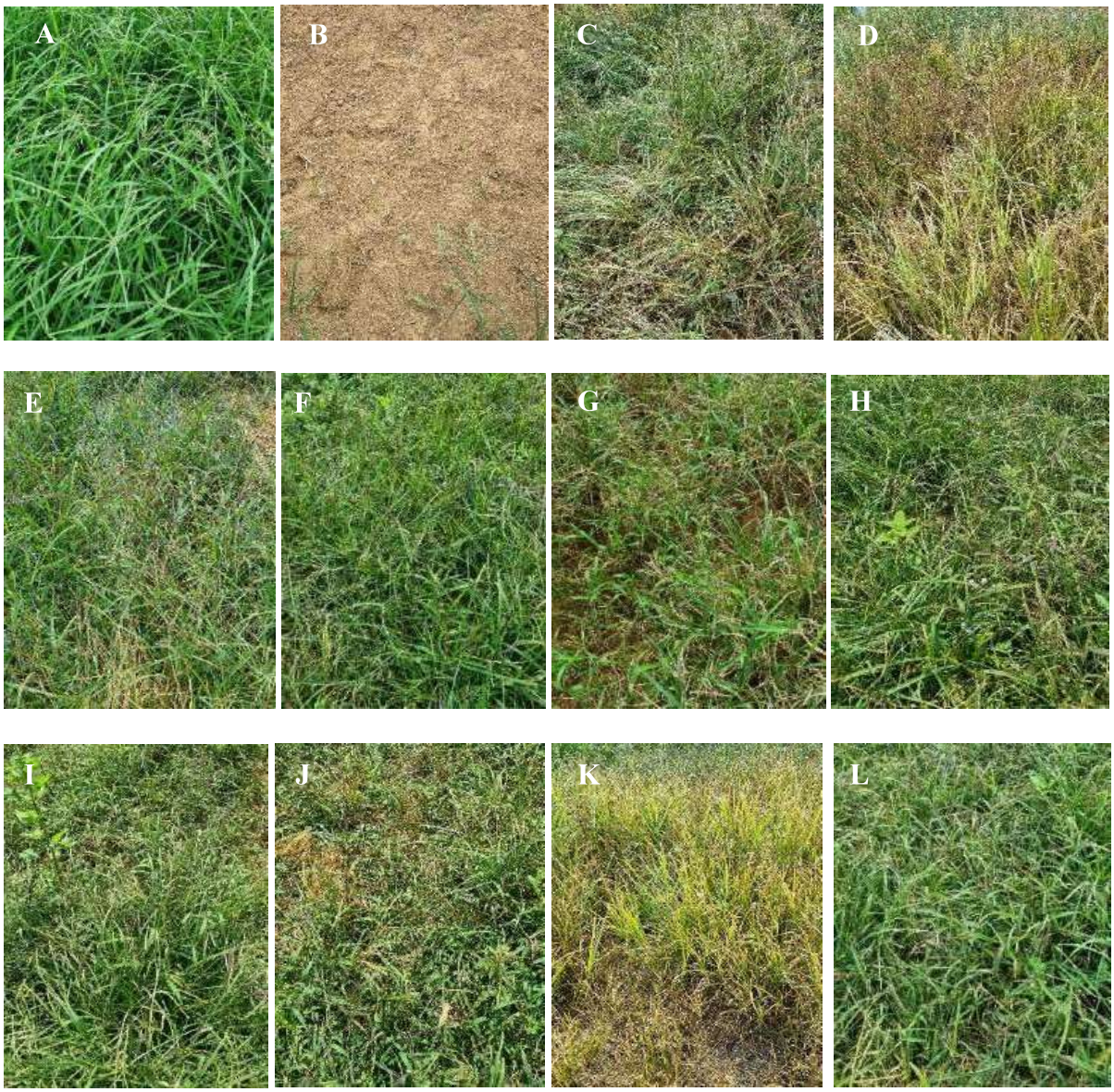


Figura 1. Parcelas experimentais de cada tratamento aos 7 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas. (A) Testemunha sem capina; (B) Testemuha capinada; (C) Glifosato (D) Glufosinato de amônio; (E) Cletodim; (F) Haloxifope; (G) Diquat; (H) Cletodim + Haloxifope;

(I) Quizalofope – P-Etílico; (J) Clodinafope-propargil; (K) Glufosinato de amônio > Cletodim; (L) Cletodim > Glufosinato de amônio. PDPA/UFRRJ, Nazareno, MG. 2024.

Aos 14 DAA, houve aumento significativo da porcentagem de controle para a maioria dos tratamentos. O herbicida glifosato atingiu aproximadamente 90% de controle e o herbicida glufosinato de amônio passou a ser o segundo tratamento com maior eficácia, atingindo 69% de controle. Além disso, todos os graminicidas aplicados, alcançaram até 55% de controle e o herbicida diquat obteve o pior desempenho em comparação as demais mantendo a mesma porcentagem de 23% em relação a avaliação anterior (Tabela 5 e Figura 2). Resultados semelhantes para herbicidas inibidores da ACCase foram observados por PEREIRA (2023) em experimento conduzido em condições de campo, no qual cletodim, haloxifope e quizalofope proporcionaram controle de *Eleusine indica* variando entre 50% e 54%.



Figura 2. Parcelas experimentais de cada tratamento aos 14 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas. (A) Testemunha sem capina; (B) Testemuha capinada; (C) Glifosato (D) Glufosinato de amônio; (E) Cletodim; (F) Haloxifope; (G) Diquat; (H) Cletodim + Haloxifope; (I) Quizalofope – P-Etílico; (J) Clodinafope-propargil; (K) Glufosinato de amônio > Cletodim; (L) Cletodim > Glufosinato de amônio. PDPA/UFRRJ, Nazareno, MG. 2024.

Aos 21 DAA, o herbicida glifosato e o tratamento contendo aplicação de cletodim > glufosinato de amônio, foram os tratamentos com melhores porcentagem de controle, com 93% e 88% respectivamente, em seguida, os tratamentos com graminicidas e o tratamento glufosinato de amônio > cletodim, se mantiveram com controle intermediário, variando entre 53% a 71%, enquanto o herbicida diquat teve diminuição na sua eficácia, atingindo 16% de controle (Tabela 5 e Figura 3). Nesta avaliação as aplicações sequencias completavam 7 dias e foi possível observar um aumento significativo no controle em relação à avaliação anterior,

nas parcelas onde a aplicação do herbicida cletodim foi realizada primeiro. Esse resultado pode ser explicado pela diferença na translocação dos herbicidas dentro da planta. A rápida destruição do material foliar pelo herbicida de contato (glufosinato de amônio) dificulta a absorção e translocação do herbicida sistêmico (cletodim) quando aplicado em seguida (GREEN, 1989). Por outro lado, esse efeito não é observado quando os herbicidas são aplicados na ordem inversa.



Figura 3. Parcelas experimentais de cada tratamento aos 21 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas. (A) Testemunha sem capina; (B) Testemuha capinada; (C) Glifosato (D) Glufosinato de amônio; (E) Cletodim; (F) Haloxifope; (G) Diquat; (H) Cletodim + Haloxifope; (I) Quizalofope – P-Etílico; (J) Clodinafope-propargil; (K) Glufosinato de amônio > Cletodim; (L) Cletodim > Glufosinato de amônio. PDPA/UFRRJ, Nazareno, MG. 2024.

Aos 28 DAA foi observado comportamento similar a avaliação de 21 DAA para todos tratamentos testados, portanto, glifosato e cletodim > glufosinato de amônio, continuaram como

os melhores tratamentos, com 91% e 87% respectivamente, e todos os herbicidas graminicidas e glufosinato de amônio > cletodim com controle intermediário, entre 59% a 65%. Para o herbicida glufosinato de amônio aplicado de forma isolada e o herbicida diquat, houve diminuição da eficácia, sendo observado 53% e 11% de controle, respectiviamente (Tabela 5 e Figura 4).

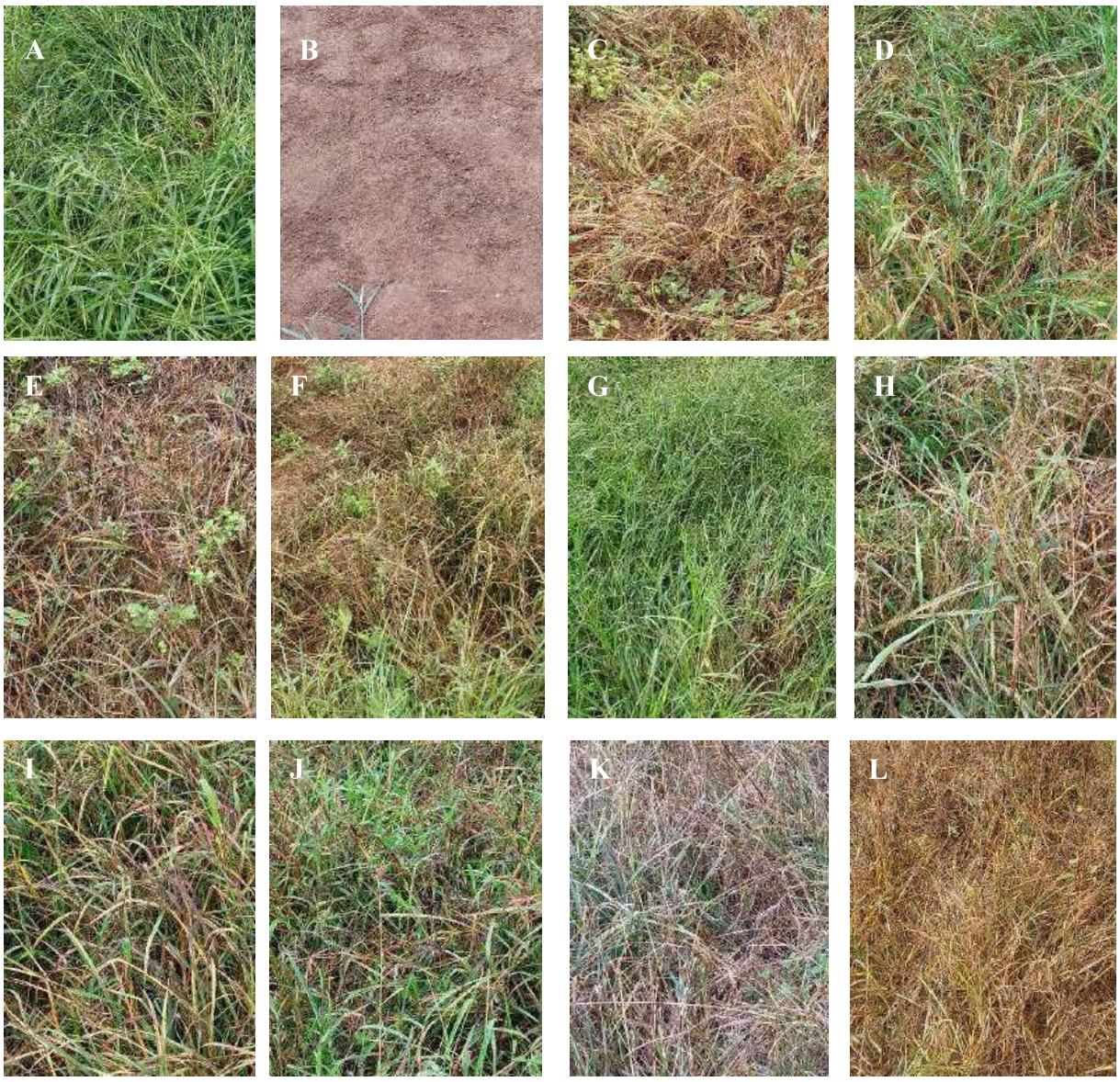


Figura 4. Parcelas experimentais de cada tratamento aos 28 dias após aplicação (DAA) dos herbicidas. (A) Testemunha sem capina; (B) Testemuha capinada; (C) Glifosato (D) Glufosinato de amônio; (E) Cletodim; (F) Haloxifope; (G) Diquat; (H) Cletodim + Haloxifope; (I) Quizalofope – P-Etílico; (J) Clodinafope-propargil; (K) Glufosinato de amônio > Cletodim; (L) Cletodim > Glufosinato de amônio. PDPA/UFRRJ, Nazareno, MG. 2024.

A aplicação de glufosinato de amônio seguida da aplicação de cletodim para o controle de capim-pé-de-galinha em condições de campo também foi estudada por ALVES, (2014), que

observou um controle inferior ao obtido neste estudo, com apenas 17% de eficácia aos 14 dias após a aplicação do herbicida cletodim. Este tempo de avaliação é equivalente aos 28 dias após a aplicação neste estudo. Apesar das plantas estarem em um estágio menos avançado, o controle reduzido pode ser atribuído à menor dose dos herbicidas (400 g i.a. ha^{-1} para glufosinato e 96 g i.a. ha^{-1} para cletodim) e ao maior intervalo entre as aplicações (cerca de 2 meses), além da translocação reduzida citada anteriormente, o que possivelmente comprometeu ainda mais a eficácia do controle.

Em relação ao herbicida glufosinato de amônio aplicado isoladamente, ULGUIM et al. (2013) obtiveram um controle superior a 90% aos 27 dias após a aplicação (DAA) em biótipo suscetível de capim-pé-de-galinha no estádio vegetativo. Este resultado difere daquele encontrado no presente estudo, o que pode ser explicado pelas diferenças no estádio de desenvolvimento das plantas e nas condições de aplicação. Por outro lado, nesse mesmo estudo, o herbicida glifosato, aplicado nas mesmas condições, proporcionou 100% de controle para um biótipo suscetível, corroborando os elevados índices de controle observados neste trabalho. Esses resultados ressaltam a alta eficácia do glifosato em diferentes condições, evidenciando sua importância no manejo químico mesmo com os crescentes relatos de resistência.

Apesar dos resultados obtidos, a busca por opções eficazes de controle com diferentes mecanismos de ação continua sendo importante. Nesse contexto, o herbicida diquat tem sido investigado como uma alternativa ao paraquat, também pertencente ao grupo dos herbicidas inibidores do fotossistema I, desde a proibição na safra 2020/2021 (ANVISA, 2017). No entanto, no presente estudo, o diquat apresentou o menor controle sobre o capim-pé-de-galinha, o que pode ser explicado pelas características do produto e da espécie, conforme mencionado anteriormente. Estudos similares em condições de campo também relataram baixa eficácia desse produto no controle de plantas daninhas. Um exemplo disso é o estudo de (RIBEIRO et al., 2023), no qual foi observado controle quase nulo (cerca de 0%) em infestação mista 21 dias após a aplicação do diquat na dose de 400 g i.a. ha^{-1}.

A aplicabilidade dos tratamentos avaliados para o controle do capim-pé-de-galinha nas culturas de milho e soja é bastante estratégica, considerando que essas são culturas agrícolas de maior produção no Brasil (CONAB, 2025) e estão frequentemente sujeitas à infestação de diferentes biótipos de capim-pé-de-galinha. Nas áreas de cultivo de soja e milho, o uso do herbicida glifosato continua sendo uma ferramenta importante, principalmente em sistemas com variedades geneticamente modificadas para tolerância a este herbicida (soja e milho RR),

possibilitando seu posicionamento tanto no manejo pré-plantio quanto em pós-emergência inicial (GAIARIN; PRIMIERI, 2020). A aplicação sequencial, como observada no presente estudo — especialmente cletodim seguido de glufosinato de amônio —, pode ser utilizada para reforçar o controle de plantas mais desenvolvidas ou de populações resistentes, sendo ideal que a primeira aplicação (cletodim) seja realizada ainda em estádios iniciais da planta daninha e a aplicação de glufosinato de amônio ocorra cerca de 14 dias depois, maximizando a eficácia sem prejudicar a absorção do herbicida sistêmico. Entretanto, para a cultura da soja, a aplicação do glufosinato de amônio em pós-emergência da cultura só deverá ser realizada em cultivares com tolerância a esse herbicida como, as cultivares Enlist® E3, que apresentam tolerância a três mecanismos de ação herbicida (glifosato, 2,4-D e glufosinato de amônio), garantindo assim que não haja danos a soja (FRENE et al., 2018).

No cultivo do milho, o uso de glufosinato de amônio ganha destaque, considerando seu perfil de herbicida de contato eficaz em pós-emergência para o manejo de escapes. Entretanto, devido à menor eficiência observada para monocotiledôneas como o capim-pé-de-galinha, a associação sequencial com graminicidas, como cletodim pode ser uma alternativa interessante no manejo de plantas daninhas antes da semeadura (no manejo de dessecação), destacando a importância de manter um período de 7 a 14 da aplicação do herbicida cletodim antes da semeadura da cultura do milho para evitar fitotoxicidade a mesma, visto que os híbridos apresentam diferentes níveis de sensibilidade a esse ingrediente ativo (BECKER et al., 2019). Além disso, o glufosinato aplicado isoladamente, sem associação sequencial com cletodim, também pode ser aplicado em cultivos de milho transgênico tolerante, como o milho LibertyLink®, que permite a aplicação de glufosinato de amônio em pôs-emergência da cultura (LATORRE et al., 2013). A correta escolha do momento de aplicação e a ordem dos herbicidas são essenciais para garantir máxima eficácia, reforçando a importância de práticas de manejo integradas para retardar a evolução de resistência e manter a sustentabilidade produtiva das lavouras.

Manejo químico em pré-emergência da espécie

Para os resultados referentes a primeira semeadura, não houve interação significativa entre os fatores tempo de simulação de chuvas e herbicidas para as avaliações aos 14, 21 e 28 dias após a germinação da testemunha. Ao comparar os herbicidas entre si, foi possível observar controle acima de 98% para todos os tratamentos dos 14 aos 28 DAGT (Tabela 6).

Tabela 6. Controle (%) de capim-pé-de-galinha submetidos a aplicação de herbicidas pré-emergentes, aos 14, 21 e 28 dias após a germinação da testemunha. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Produtos	Controle (%)		
	14 DAGT	21 DAGT	28 DAGT
Testemunha	0,0 d	0,0 c	0,0 c
Trifluralina	100,0 a	99,9 a	99,7 a
Fomesafem	100,0 a	99,8 a	99,7 a
S-metolacloro	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Diclosulam + Halauxifeno-metílico	98,5 c	98,5 b	98,1 b
Clomazona	99,0 b	98,5 b	98,5 b
Fomesafem + S-metolacloro	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Piroxasulfona	100,0 a	100,0 a	100,0 a
CV %	0,5	0,6	0,6

Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna individualmente, não diferem estatisticamente entre si a P ≤ 0,05 pelo teste de Snott-Knott.

Aos 35 e 42 dias após a germinação da testemunha (DAGT), observou-se interação entre os fatores tempo de simulação de chuva e herbicidas (Tabela 7). Aos 35 dias, o tempo para simulação da chuva influenciou o controle dos herbicidas diclosulam + halauxifeno-metílico e clomazona, com maior controle registrado quando a lâmina d'água foi aplicada 10 dias após a aplicação dos herbicidas. Além disso, os herbicidas fomesafem, s-metolacloro, fomesafem + s-metolacloro e piroxasulfona apresentaram alta porcentagem de controle, independentemente do tempo de simulação de chuva.

Tabela 7. Controle (%) de capim-pé-de-galinha submetidos a aplicação de herbicidas pré-emergentes, aos 35 e 42 dias após a germinação da testemunha. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Produtos	Controle (%)			
	35 DAGT		42 DAGT	
	Dias de simulação de chuva após aplicação			
	10	20	10	20
Testemunha	0,0 Dns	0,0 Dns	0,0 Cns	0,0 Dns
Trifluralina	99,3 Bns	100,0 Ans	99,3 Bns	100,0 Ans
Fomesafem	100, Ans	99,5 Ans	100 Aa	99,0 Bb
S-metolacloro	100,0 Ans	100, Ans	100 Ans	100,0 Ans
Diclosulam + Halauxifeno-metílico	98,5 Ca	97,5 Cb	98,5 Ba	96,5 Cb
Clomazona	99,3 Ba	98,3 Bb	99,3 Bns	100,0 Ans
Fomesafem + S-metolacloro	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans
Piroxasulfona	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans
CV %	0,5		0,6	

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula em cada coluna individualmente e minúscula em cada linha de cada tempo de avaliação individualmente, não diferem estatisticamente entre si a P ≤ 0,05 pelo teste de Snott-Knott.

Aos 42 dias, apenas o controle proporcionado pelo herbicida diclosulam + halauxifeno-metílico e fomesafem foram influenciados pelo tempo de aplicação da lâmina de água, com maior controle observado 10 dias após a aplicação. Analisando cada intervalo individualmente, em intervalo de 10 dias, os herbicidas fomesafem, s-metolacloro, fomesafem + s-metolacloro e piroxasulfona, obtiveram maior controle em comparação aos demais herbicidas, enquanto aos

20 dias de intervalo, foi observado maior controle para os herbicidas trifluralina, s-metolacloro, clomazona, fomesafem + s-metolacloro e piroxasulfona. Apesar das diferenças estatísticas, todos os tratamentos apresentaram controle elevado, superior a 95%, independentemente do tempo de simulação de chuva (Figura 5). Os resultados de controle obtidos foram corroborados pela análise da MSPA, que registrou valores apenas para a testemunha sem aplicação (Tabela 13). ROSA (2016) e Takano et al (2017) obtiveram resultados similares no controle de capim-pé-galinha resistente ao glifosato, com uso dos herbicidas trifluralina (1800 g i.a ha $^{-1}$), clomazona (800 g i.a ha $^{-1}$) e s-metolacloro (1728 g i.a ha $^{-1}$), no qual esses herbicidas atingiram controle acima de 90% para essa população.

Em relação ao índice de germinação, aos 14 e 21 DAGT não houve interação entre os fatores (Tabela 8), e a maior porcentagem de germinação foi observada para os herbicidas diclosulam + halauxifeno-metílico e clomazona em comparação aos demais herbicidas.

Tabela 8. Germinação (%) de capim-pé-de-galinha submetidos a aplicação de herbicidas pré-emergentes, aos 14 e 21 dias após a germinação da testemunha. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Produtos	Germinação (%)	
	14 DAGT	21 DAGT
Testemunha	100,0 a	100,0 a
Trifluralina	0,0 d	4,1 d
Fomesafem	0,0 d	7,9 d
S-metolacloro	0,0 d	0,0 d
Diclosulam + Halauxifeno-metílico	54,0 b	64,0 b
Clomazona	26,6 c	30,9 c
Fomesafem + S-metolacloro	0,0 d	0,0 d
Piroxasulfona	0,0 d	0,0 d
CV %	43,2	42,7

Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna individualmente, não diferem estatisticamente entre si a $P \leq 0,05$ pelo teste de Snott-Knott.

Aos 28, 35 e 42 dias após a germinação da testemunha (DAGT), observou-se interação entre os fatores tempo de simulação de chuva e herbicidas (Tabela 9). Aos 28 DAGT, a porcentagem de plantas de *E. indica* que germinaram após aplicação dos herbicidas diclosulam + halauxifeno-metílico e clomazona foram influenciados pelo intervalo de dias para a aplicação da lâmina d'água, ambos apresentaram maior índice de germinação quando a simulação ocorreu 10 dias após aplicação. Analisando cada tempo isoladamente, com 10 dias de intervalo, os mesmos herbicidas apresentaram maior porcentagem de germinação com 76 e 25% de germinação respectivamente. Já quando a simulação foi realizada aos 20 dias, apenas o diclosulam + halauxifeno-metílico apresentou maior %, com 61%. Nas avaliações de 35 e 42 dias, foi observado comportamento similar analisando cada tempo isoladamente e cada herbicida nos diferentes dias de simulação de chuva. A porcentagem de germinação de capim-

pé-de-galinha para os herbicidas diclosulam + halauxifeno-metílico e fomesafem foram afetadas pelo intervalo de tempo para aplicação da lâmina d'água. Os maiores valores foram observados aos 20 dias para o herbicida fomesafem, em ambas as avaliações e a maior porcentagem para o herbicida diclosulam + halauxifeno-metílico foi vista aos 20 dias na avaliação de 35 DAGT e 10 dias na avaliação de 42 DAGT. Ao analisar cada intervalo de chuva isoladamente, a maior porcentagem de germinação foi obtida para o herbicida diclosulam + halauxifeno-metílico em ambos os intervalos e avaliações em comparação aos demais herbicidas.

Tabela 9. Germinação (%) de capim-pé-de-galinha submetidos a aplicação de herbicidas pré-emergentes, aos 28, 35 e 42 dias após a germinação da testemunha. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Produtos	Germinação (%)					
	28 DAGT		35 DAGT		42 DAGT	
	Dias de simulação de chuva após aplicação					
	10	20	10	20	10	20
Testemunha	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans
Trifluralina	5,5 Dns	0,0 Cns	7,0 Cns	0,0 Dns	6,3 Cns	4,0 Dns
Fomesafem	0,0 Dns	8,60 Cns	0,0 Cb	20,3 Ca	0,0 Cb	18,3 Ca
S-metolacloro	0,0 Dns	0,0 Cns	0,0 Cns	0,0 Dns	0,0 Cns	0,0 Dns
Diclosulam + Halauxifeno-metílico	76,0 Ba	61,3 Bb	53,3 Bb	75,6 Ba	88,3 Ba	77,3 Bb
Clomazona	25,3 Ca	1,3 Cb	3,0 Cns	11,0 Cns	11,3 Cns	3,0 Dns
Fomesafem + S-metolacloro	0,0 Dns	0,0 Cns	0,0 Cns	0,0 Dns	0,0 Cns	2,0 Dns
Piroxasulfona	0,0 Dns	0,0 Cns	0,0 Cns	0,0 Dns	0,0 Cns	0,0 Dns
CV %	40,8		28,6		27,8	

Médias seguidas pela mesma letra maiuscula em cada coluna individualmente e minuscula em cada linha de cada tempo de avaliação individualmente, não diferem estatisticamente entre si a $P \leq 0,05$ pelo teste de Snott-Knott.

Apesar do índice de germinação de capim-pé-de-galinha observado para os herbicidas fomesafem, diclosulam + halauxifeno-metílico e clomazona, as plantas que emergiram não se desenvolveram ao longo das avaliações, como mostrado na Figura 5 e 6. Por esse motivo, os dados de massa coletada para a análise de MSPA registraram 0 g, e o nível de controle permaneceu elevado até o final das avaliações. O herbicida clomazona atua inibindo a síntese de pigmentos como as clorofilas e os carotenoides, o que leva ao sintoma clássico de branqueamento, com isso a planta consegue germinar, mas a ausência desses pigmentos compromete a fotossíntese e emergência da planta (GUNASEKARA et al., 2009).

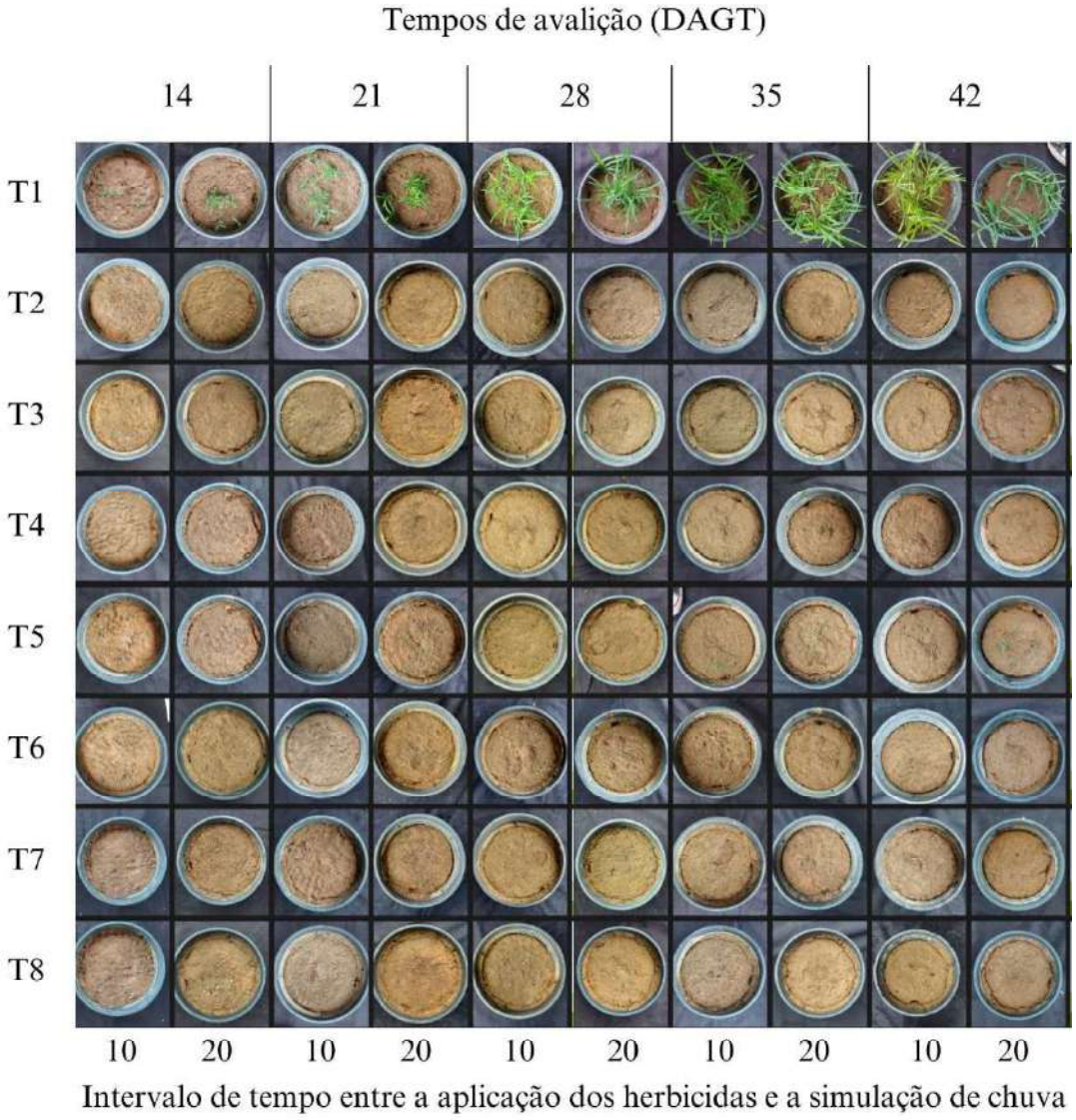


Figura 5. Controle de sementes de capim-pé-de-galinha, biótipo RESMUT. T1 – Testemunha; T2 – Trifluralina; T3 – Fomesafem; T4 - S-metolacloro; T5 - Diclosulam + Halauxifeno-metílico; T6 – Clomazona; T7 - Fomesafem + S-metolacloro e T8 – Piroxasulfona. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.



Figura 6. Germinação de plantas de capim-pé-de-galinha, biótipo RESMUT. (A) Fomesafem; (B) Diclosulam + Halauxifeno-metílico (C) Clomazona. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Após a segunda semeadura, os resultados referentes aos 14 e 21 DAGT não apresentaram interação entre o fator tempo de simulação de chuva e herbicidas (Tabela 10). Em ambos os períodos de avaliação, o controle se manteve acima de 80%, sendo o herbicida fomesafem com menor porcentagem de controle, sendo 90% e 84% respectivamente aos 14 e 21 DAGT.

Tabela 10. Controle (%) de capim-pé-de-galinha submetidos a aplicação de herbicidas pré-emergentes, aos 14 e 21 dias após a germinação da testemunha. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Produtos	Controle residual (%)	
	14 DAGT	21 DAGT
Testemunha	0,0 c	0,0 c
Trifluralina	97,9 a	96,5 a
Fomesafem	90,4 b	84,9 b
S-metolacloro	100,0 a	100,0 a
Diclosulam + Halauxifeno-metílico	97,4 a	94,9 a
Clomazona	97,7 a	93,4 a
Fomesafem + S-metolacloro	98,8 a	96,5 a
Piroxasulfona	100,0 a	99,8 a
CV %	5,0	8,7

Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna individualmente, não diferem estatisticamente entre si a $P \leq 0,05$ pelo teste de Snott-Knott.

Aos 28, 35 e 42 dias após a aplicação (DAGT), observou-se interação entre os fatores tempo de simulação de chuva e herbicidas (Tabela 11). Aos 28 DAGT, os intervalos para a simulação da lâmina d'água influenciaram a eficácia dos herbicidas trifluralina, fomesafem + s-metolacloro e clomazona. Observou-se maior porcentagem de controle com intervalos de 10 dias para os dois primeiros herbicidas e de 20 dias para o herbicida clomazona. Além disso em ambos os intervalos de simulação, os herbicidas que apresentaram maior controle do capim-pé-de-galinha foram os herbicidas s-metolacloro, diclosulam + halauxifeno-metílico e piroxasulfona. Aos 35 DAGT, os herbicidas trifluralina e fomesafem + s-metolacloro tiveram sua eficácia reduzida quando a simulação de chuva ocorreu 20 dias após aplicação em comparação ao intervalo de 10 dias, obtendo 88% e 0% de controle para o herbicida trifluralina e 99% e 80% de controle para o herbicida fomesafem + s-metolacloro aos 10 e 20 dias, respectivamente. O controle com herbicida fomesafem e clomazona também foram influenciados pelo fator intervalo de tempo, com maior porcentagem quando a simulação ocorreu 20 dias após aplicação em comparação aos 10 dias: 0% e 22% para o herbicida fomesafem e 38% e 71% para o herbicida clomazona. Além disso, os herbicidas s-metolacloro, diclosulam + halauxifeno-metílico e piroxasulfona mantiveram maior eficácia de controle em ambos os intervalos de simulação em relação avaliação anterior, com controle acima de 81%.

Tabela 11. Controle (%) de capim-pé-de-galinha submetidos a aplicação de herbicidas pré-emergentes, aos 28, 35 e 42 dias após a germinação da testemunha. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Produtos	Controle residual (%)					
	28 DAGT		35 DAGT		42 DAGT	
	Dias de simulação de chuva após aplicação					
	10	20	10	20	10	20
Testemunha	0,0 Dns	0,0 Ens	0,0 Cns	0,0 Dns	0,0 Dns	0,0 Dns
Trifluralina	97,8 Aa	56,8 Cb	88,8 Aa	0,0 Db	81,0 Ba	0,0 Db
Fomesafem	43,8 Cns	32,5 Dns	0,0 Cb	22,5 Ca	0,0 Dns	0,0 Dns
S-metolacloro	98,8 Ans	100,0 Ans	98,8 Ans	96,8 Ans	97,3 Ans	86,8 Ans
Diclosulam + Halauxifeno-metílico	93,0 Ans	92,5 Ans	81,8 Ans	88,8 Ans	66,3 Bb	87,3 Aa
Clomazona	67,5 Bb	88,8 Ba	38,8 Bb	71,0 Ba	26,3 Cb	52,8 Ca
Fomesafem + S-metolacloro	99,3 Aa	80,0 Bb	99,0 Aa	80,0 Bb	91,3 Aa	73,3 Bb
Piroxasulfona	99,3 Ans	99,8 Ans	98,8 Ans	99,5 Ans	98,3 Ans	99,5 Ans
CV %	11,2		20,4		21,5	

Médias seguidas pela mesma letra maiuscula em cada coluna individualmente e minuscula em cada linha de cada tempo de avaliação individualmente, não diferem estatisticamente entre si a $P \leq 0,05$ pelo teste de Snott-Knott.

Os herbicidas possuem propriedades físico-químicas que vão interagir com o ambiente, afetando a eficácia de controle de plantas daninhas e do banco de sementes presentes no solo. Quando um herbicida é aplicado na planta ou no solo, ele estará sujeito aos processos de retenção, transformação e transporte (MENDES; DA SILVA, 2023). No presente estudo, os processos de volatilização, como principal forma de transporte, e a fotodecomposição (ou fotólise), como mecanismo de transformação das moléculas herbicidas, se mostraram particularmente relevantes para a análise da dinâmica dos herbicidas no ambiente submetidos a diferentes tempos de simulação de chuva após aplicação.

A volatilização ocorre quando o herbicida dissolvido na solução do solo se transforma em vapor, podendo escapar para a atmosfera por meio da evaporação (DE OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011). A umidade do solo, associada as características físico-químicas dos herbicidas como a pressão de vapor (PV) e a solubilidade (Sw) irão influenciar diretamente a volatilização destas moléculas (CARBONARI et al., 2022). A fotodecomposição, por outro lado, ocorre quando o herbicida absorve radiação luminosa, promovendo a excitação de seus elétrons. Esse processo pode resultar na clivagem de ligações químicas existentes, na reorganização estrutural das moléculas ou ainda na formação de novas ligações, o que pode levar à sua degradação ou inativação (MENDES; DA SILVA, 2023).

O herbicida trifluralina é facilmente perdido por processos de volatilização e fotodegradação, sendo necessário a incorporação do produto no solo (COLEMAN et al., 2020).

Possui alta pressão de pavor, como $1{,}1x10^{-4}$ mm Hg, 25°C e baixa solubilidade, com valores de 0,3 a 0,6 mg/L a 25 °C (FERNANDES et al., 2013). Isso ajudaria a explicar a diferença de controle residual ao final das avaliações para os diferentes períodos sem chuva, pois o efeito residual se manteve mais elevado até os 42 DAGT quando o intervalo entre a aplicação e chuva foi de 10 dias, enquanto quando esse intervalo foi de 20 dias, esse efeito foi nulo. Durante esse período, parte das moléculas do herbicida pode ter sido perdida para a atmosfera na forma de vapor, devido à volatilização, ou degradada pela ação da luz solar por meio da fotodecomposição. A fração remanescente permaneceu no solo, retida às partículas coloidais por meio do processo de sorção.

Na última avaliação, apenas os herbicidas s-metolacloro e piroxasulfona apresentaram controle elevado, superior a 85%, em ambos os intervalos de aplicação da lâmina d'água (10 e 20 dias), destacando-se como os mais eficazes. Com intervalo de 10 dias, os herbicidas com melhor desempenho foram s-metolacloro, fomesafem + s-metolacloro e piroxasulfona, todos com controle superior a 90%. Já aos 20 dias, os mais eficazes foram s-metolacloro, diclosulam + halauxifeno-metílico e piroxasulfona, com controle superior a 85% (Tabela 11 e Figura 7). SILVA (2020) também constatou alta eficácia de controle para capim-pé-galinha em condições de campo com uso do herbicida s-metolacloro, obtendo controle acima de 90% e ótimo efeito residual até os 35 DAA.

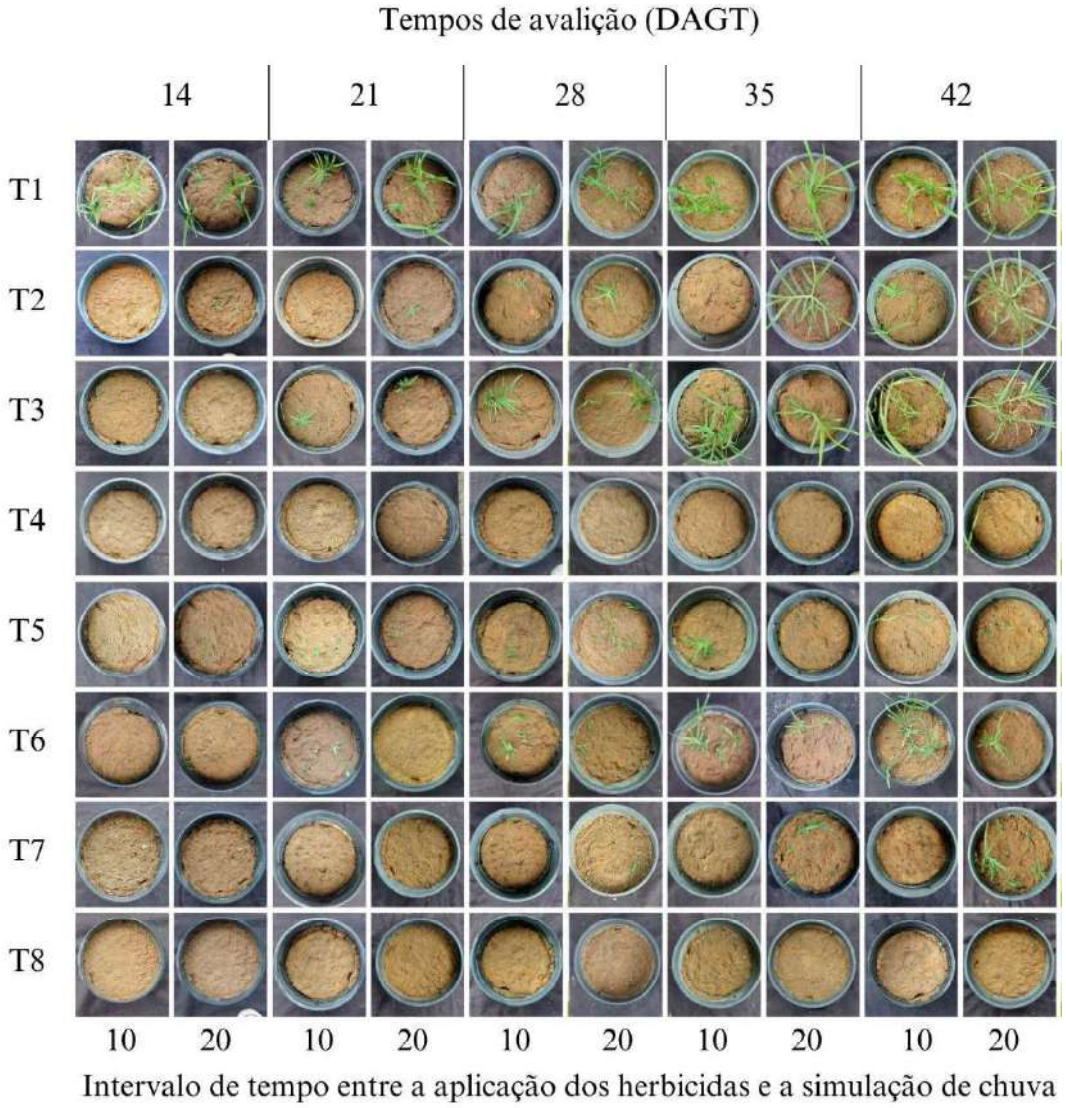


Figura 7. Controle residual de sementes de capim-pé-de-galinha, biótipo RESMUT.T1 – Testemunha; T2 – Trifluralina; T3 – Fomesafem; T4 - S-metolacloro; T5 - Diclosulam + Halauxifeno-metílico; T6 – Clomazona; T7 - Fomesafem + S-metolacloro e T8 – Piroxasulfona. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Para a porcentagem de germinação do capim-pé-de-galinha, não houve interação entre os fatores para avaliação aos 14 DAGT. Os herbicidas s-metolacloro, clomazona, fomesafem + s-metolacloro e piroxasulfona obtiveram germinação abaixo de 10% (Tabela 12). Para as avaliações dos 21 até os 42 DAGT, houve interação entre os fatores analisados (Tabela 12 e 13). Aos 21 DAGT, os intervalos de simulação exerceram influência sobre a germinação das plantas sob aplicação de s-metolacloro, diclosulam + halauxifeno-metílico e clomazona, sendo os dois primeiros com maior germinação quando a chuva foi simulada aos 20 dias após aplicação e clomazona com maior germinação no intervalo de 10 dias (Tabela 12). Além disso,

em ambos os períodos de simulação, os herbicidas s-metolacloro, fomesafem + s-metolacloro e piroxasulfona mantiveram a menor porcentagem de germinação.

Tabela 12. Germinação (%) de capim-pé-de-galinha submetidos a aplicação de herbicidas pré-emergentes, aos 14 e 21 dias após a germinação da testemunha. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Produtos	Germinação (%)		
	14 DAGT	21 DAGT	
	Dias de simulação de chuva após aplicação		
		10	20
Testemunha	100,0 A	100,0 Ans	100,0 Ans
Trifluralina	19,4 C	9,3 Cns	22,0 Bns
Fomesafem	23,5 C	21,0 Bns	30,5 Bns
S-metolacloro	1,4 D	0,0 Ca	2,8 Ca
Diclosulam + Halauxifeno-metílico	59,4 B	31,0 Ba	81,5 Ab
Clomazona	8,3 D	42,0 Ba	16,5 Bb
Fomesafem + S-metolacloro	1,9 D	0,0 Cns	7,75 Cns
Piroxasulfona	0,0 D	0,0 Cns	0,0 Cns
CV %	61,9	51,6	

Médias seguidas pela mesma letra maiuscula em cada coluna individualmente e minuscula em cada linha de cada tempo de avaliação individualmente, não diferem estatisticamente entre si a $P \leq 0,05$ pelo teste de Snott-Knott.

Durante as avaliações dos 28 aos 42 DAGT, a germinação em vasos onde foram aplicados os herbicidas s-metolacloro e fomesafem foi influenciada pelos períodos de simulação de chuva. Para ambos os herbicidas, a maior porcentagem de germinação ocorreu quando a simulação ocorreu 20 dias após aplicação, chegando a valores acima de 70% aos 42 DAGT. Por outro lado, para os herbicidas s-metolacloro e piroxasulfona, a germinação não sofreu influência dos intervalos, mantendo a porcentagem de germinação abaixo dos 16% para o durante o último período de avaliação. Já para os herbicidas diclosulam + halauxifeno-metílico e fomesafem + s-metolacloro, o percentual de germinação foi influenciado pelos intervalos de chuva aos 35 e 42 DAGT, com maiores percentuais quando a simulação de chuva ocorreu 20 dias após aplicação (Figura 8).

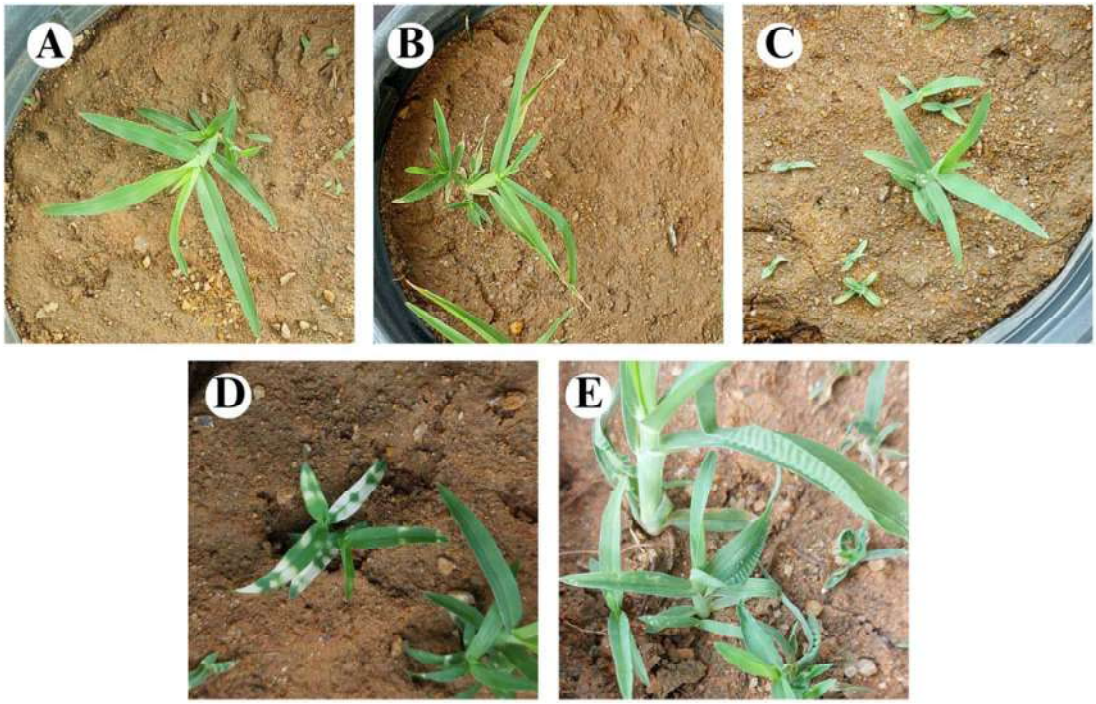


Figura 8. Germinação de plantas de capim-pé-de-galinha, biótipo RESMUT, após 2ª semeadura. (A) Fomesafem; (B) Trifluralina; (C) Diclosulam + Halauxifeno-metílico (D) Clomazona e (E) Fomesafem + S-metolacloro. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Aos 28 e 35 DAGT, para intervalo de 10 dias, os herbicidas com menores índices de germinação foram trifluralina, s-metolacloro, fomesafem + s-metolacloro e piroxasulfona. Já aos 42 DAGT, os resultados foram semelhantes, com exceção do herbicida trifluralina. Entretanto, quando a simulação ocorreu com intervalo de 20 dias, as menores porcentagens de germinação foram observadas para os herbicidas s-metolacloro, clomazona fomesafem + s-metolacloro e piroxasulfona aos 28 DAGT e apenas para os herbicidas s-metolacloro, fomesafem + s-metolacloro e piroxasulfona aos 35 e 42 DAGT (Tabela 13).

Tabela 13. Germinação (%) de capim-pé-de-galinha submetidos a aplicação de herbicidas pré-emergentes, aos 28, 35 e 42 dias após a germinação da testemunha. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Produtos	Germinação (%)					
	28 DAGT		35 DAGT		42 DAGT	
	Dias de simulação de chuva após aplicação					
	10	20	10	20	10	20
Testemunha	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans	100,0 Ans
Trifluralina	8,0 Db	51,0 Ba	12,8 Cb	74,3 Ba	30,5 Bb	74,3 Ba
Fomesafem	40,0 Ca	60,0 Ba	37,5 Bb	71,0 Ba	37,5 Bb	71,0 Ba
S-metolacloro	2,0 Dns	1,5 Cns	1,8 Cns	9,0 Dns	15,8 Cns	13,5 Dns
Diclosulam + Halauxifeno-metílico	32,0 Cns	50,0 Bns	42,8 Bb	74,0 Ba	42,8 Bb	74,0 Ba
Clomazona	56,0 Ba	16,5 Cb	47,5 Bns	26,8 Cns	47,5 Bns	26,8 Cns

Fomesafem + S-metolacloro	2,0 Dns	12,0 Cns	3,5 Cb	40,0 Ca	3,5 Cb	40,0 Ca
Piroxasulfona	2,0 Dns	1,5 Cns	3,5 Cns	2,3 Dns	3,5 Cns	2,3 Dns
CV %	42,1		41,6		39,9	

Médias seguidas pela mesma letra maiuscula em cada coluna individualmente e minuscula em cada linha de cada tempo de avaliação individualmente, não diferem estatisticamente entre si a P ≤ 0,05 pelo teste de Snott-Knott.

Para os valores de MSPA após a segunda semeadura, também houve interação entre os fatores (Tabela 14). Analisando cada herbicida dentro dos intervalos de simulação, os maiores valores de massa seca foram observado quando a simualçao ocorreu as 20 dias após aplicação para os herbicidas trifluralina, fomesafem e fomesafem + s-metolacloro. Além disso, analisando cada tempo de simulação de chuva, tanto aos 10 como aos 20 dias, o herbicida fomesafem apresentou maior massa seca de capim-pé-de-galinha em comparação aos demais, corroborando com os resultados de porcentagem de controle obtido para esse herbicida aos 42 DAGT observados na Tabela 11.

Tabela 14. Massa seca da parte aérea de capim-pé-de-galinha (MSPA) em grama coletados 42 dias após a germinação da testemunha. PDPA/UFRRJ, Seropédica, RJ. 2024.

Produtos	MSPA (g)		
	1º semeadura (42 DAGT)	2º semeadura (42 DAGT)	
	Dias de simulação de chuva após aplicação		
		10	20
Testemunha	2,1 A	0,6 Ab	1,1 Ba
Trifluralina	0,0 B	0,4 Bb	1,1 Ba
Fomesafem	0,0 B	0,8 Ab	1,5 Aa
S-metolacloro	0,0 B	0,0 Bns	0,0 Cns
Diclosulam + Halauxifeno-metílico	0,0 B	0,3 Bns	0,2 Cns
Clomazona	0,0 B	0,3 Bns	0,1 Cns
Fomesafem + S-metolacloro	0,0 B	0,0 Bb	0,9 Ba
Piroxasulfona	0,0 B	0,0 Bns	0,0 Cns
CV %	65,5	57,7	

Médias seguidas pela mesma letra maiuscula em cada coluna individualmente e minuscula em cada linha de cada tempo de avaliação individualmente, não diferem estatisticamente entre si a P ≤ 0,05 pelo teste de Snott-Knott.

A aplicação de herbicidas residuais no pré-plantio ou pré-emergência pode reduzir a pressão de seleção para o desenvolvimento de biótipos resistentes, alterando o espectro de plantas daninhas emergentes. Além disso, essa estratégia contribui para diminuir a necessidade de múltiplas aplicações de glifosato no pós-plantio (MAHONEY; SHROPSHIRE; SIKKEMA, 2014). Pensando nas culturas da soja e milho, o herbicida s-metolacloro pode ser utilizado em pós ou pré-emergência da cultura, com amplo espectro para folhas largas e estreitas (SILVA, 2020). Já o herbicida e piroxasulfona pode ser aplicado em pré-emergência da cultura e das plantas infestantes, com controle mais acentuado sobre as monocotiledôneas (CAMARGO, 2023).

Apesar da seletividade a cultura da soja, é necessário atenção as doses utilizadas dos herbicidas, pois o s-metolacloro pode causar sintomas leves a moderados de fitointoxicação na soja, como encarquilhamento das folhas e inibição temporária do crescimento, especialmente nas primeiras semanas após a emergência. No entanto, esses sintomas diminuíram com o tempo, desaparecendo por volta de 21 dias após a semeadura (SANTOS et al., 2012).

A associação entre herbicidas pré e pós-emergentes, com diferentes mecanismos de ação, é uma estratégica interessante no manejo de *Eleusine indica*, especialmente em áreas com histórico de resistência. O uso de pré-emergentes como s-metolacloro e piroxasulfona contribui para o controle inicial da infestação, reduzindo a pressão sobre os pós-emergentes e favorecendo o controle sequencial. Essa abordagem permite não só ampliar a eficácia sobre diferentes fluxos de emergência, mas também mitigar o risco de seleção de biótipos resistentes, garantindo maior longevidade das moléculas disponíveis no sistema.

6.4 CONCLUSÃO

A aplicação de glufosinato de amônio 14 dias após aplicação de cletodim, e o herbicida glifosato foram as estratégias mais eficazes no controle do capim-pé-de-galinha em pós-emergência, em pleno perfilhamento, entouceirado em área sem histórico de resistência a herbicidas.

Os herbicidas s-metolacloro e piroxasulfona foram altamente eficazes no controle em pré-emergência do biótipo de capim-pé-de-galinha com resistência múltipla ao glifosato, cletodim e haloxifope, além de apresentarem efeito residual até os 90 dias após aplicação, nas condições do estudo.

6.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M. V. P. Controle químico de Eleusine indica (L.) Gaertn. em soja Roundup Ready® e resposta de biótipo ao herbicida glifosato. 28 mar. 2014.

BRITO, I. P. et al. Hormetic effects of glyphosate on plants. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1064–1070, 2018.

COLEMAN, N. V. et al. Biodegradation and Abiotic Degradation of Trifluralin: A Commonly Used Herbicide with a Poorly Understood Environmental Fate. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 17, p. 10399–10410, 1 set. 2020.

DE FREITAS SOUZA, M. et al. Competitive response of maize against glyphosate-resistant Digitaria insularis and Eleusine indica. **Crop Protection**, p. 106760, 2024.

FERNANDES, T. C. C. et al. Characterization, Modes of Action and Effects of Trifluralin: A Review. Em: **Herbicides - Current Research and Case Studies in Use**. [s.l.] IntechOpen, 2013.

GREEN, J. M. Herbicide Antagonism at the Whole Plant Level. **Weed Technology**, v. 3, n. 2, p. 217–226, jun. 1989.

GUNASEKARA, A. S. et al. The behavior of clomazone in the soil environment. **Pest Management Science**, v. 65, n. 6, p. 711–716, 2009.

MA, X. et al. Emergence timing affects growth and reproduction of goosegrass (Eleusine indica). **Weed Technology**, v. 33, n. 6, p. 833–839, dez. 2019.

MCELROY, J. S. et al. Identification of Goosegrass (Eleusine indica) Biotypes Resistant to Preemergence-Applied Oxadiazon. **Weed Technology**, v. 31, n. 5, p. 675–681, out. 2017.

MOSS, S. Integrated weed management (IWM): why are farmers reluctant to adopt non-chemical alternatives to herbicides? **Pest Management Science**, v. 75, n. 5, p. 1205–1211, 2019.

NEVES, S. S. Eleusine. Em: KOLE, C. (Ed.). **Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Millets and Grasses**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011. p. 113–133.

PEREIRA, W. J. HERBICIDAS ACCASE NO CONTROLE DE CAPIM-CORACANA, CAPIM-AMARGOSO E CAPIM-PÉ-DE-GALINHA E EFEITO RESIDUAL NA CULTURA DO MILHO. 2023.

RAHMAN, M. M.; SULTANA, R. S. Anatomy on leaf blade of Eleusine indica L.(Gramineae): a Study on kranz grass. **EBAUB J**, v. 3, p. 1–8, 2021.

ALVES, M. V. P. Controle químico de Eleusine indica (L.) Gaertn. em soja Roundup Ready® e resposta de biótipo ao herbicida glifosato. 28 mar. 2014.

AVSIAN-KRETCHMER, O. et al. Regulation of stress-induced phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in citrus. **Planta**, v. 209, n. 4, p. 469–477, 1 out. 1999.

BARBOSA, M. R. et al. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v. 44, p. 453–460, mar. 2014.

BHUIYAN, N. H. et al. MET1 Is a Thylakoid-Associated TPR Protein Involved in Photosystem II Supercomplex Formation and Repair in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 27, n. 1, p. 262–285, 1 jan. 2015.

BRITO, I. P. et al. Hormetic effects of glyphosate on plants. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1064–1070, 2018.

CARRARI-SANTOS, R. et al. Microporous membrane and culture medium affect in vitro seedling development of Dalbergia nigra (Vell.) Ex Benth. (Fabaceae) by modulation of the protein profile and accumulation of ethylene and CO2. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 153, n. 3, p. 559–576, 1 jun. 2023.

COLEMAN, N. V. et al. Biodegradation and Abiotic Degradation of Trifluralin: A Commonly Used Herbicide with a Poorly Understood Environmental Fate. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 17, p. 10399–10410, 1 set. 2020.

DISTLER, U. et al. Drift time-specific collision energies enable deep-coverage data-independent acquisition proteomics. **Nature Methods**, v. 11, n. 2, p. 167–170, fev. 2014.

EDELMAN, M.; MATTOO, A. K. D1-protein dynamics in photosystem II: the lingering enigma. **Photosynthesis Research**, v. 98, n. 1, p. 609–620, 1 out. 2008.

GAUFICHON, L. et al. Arabidopsis thaliana ASN2 encoding asparagine synthetase is involved in the control of nitrogen assimilation and export during vegetative growth. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 2, p. 328–342, 2013.

GREEN, J. M. Herbicide Antagonism at the Whole Plant Level. **Weed Technology**, v. 3, n. 2, p. 217–226, jun. 1989.

GULLNER, G. et al. Glutathione S-Transferase Enzymes in Plant-Pathogen Interactions. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 21 dez. 2018.

GUNASEKARA, A. S. et al. The behavior of clomazone in the soil environment. **Pest Management Science**, v. 65, n. 6, p. 711–716, 2009.

HSIEH, M.-H.; GOODMAN, H. M. The Arabidopsis IspH Homolog Is Involved in the Plastid Nonmevalonate Pathway of Isoprenoid Biosynthesis. **Plant Physiology**, v. 138, n. 2, p. 641–653, 1 jun. 2005.

HYUN, T. K. et al. The Arabidopsis PLAT Domain Protein1 Is Critically Involved in Abiotic Stress Tolerance. **PLOS ONE**, v. 9, n. 11, p. e112946, 14 nov. 2014.

JUGULAM, M.; SHYAM, C. Non-Target-Site Resistance to Herbicides: Recent Developments. **Plants**, v. 8, n. 10, p. 417, out. 2019.

LLORENS, E. et al. Chapter 1 - Priming mediated stress and cross-stress tolerance in plants: Concepts and opportunities. Em: HOSSAIN, M. A. et al. (Eds.). **Priming-Mediated Stress and Cross-Stress Tolerance in Crop Plants**. [s.l.] Academic Press, 2020. p. 1–20.

MURPHY, B. P.; TRANEL, P. J. Target-Site Mutations Conferring Herbicide Resistance. **Plants**, v. 8, n. 10, p. 382, out. 2019.

NAWROCKI, W. J. et al. The mechanism of cyclic electron flow. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1860, n. 5, p. 433–438, 1 maio 2019.

PEREIRA, W. J. HERBICIDAS ACCASE NO CONTROLE DE CAPIM-CORACANA, CAPIM-AMARGOSO E CAPIM-PÉ-DE-GALINHA E EFEITO RESIDUAL NA CULTURA DO MILHO. 2023.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. Volume 61, 2010, p. 317–347, 11 mar. 2010.

RENTON, M. et al. Simulated herbicide mixtures delay both specialist monogenic and generalist polygenic resistance evolution in weeds. **Pest Management Science**, v. 80, n. 11, p. 5983–5994, 2024.

RIBEIRO, D. F. et al. Alternativas de herbicidas para dessecação de áreas em pousio. **Brazilian Journal of Science**, v. 2, n. 2, p. 71–85, 1 fev. 2023.

SCHULZE, S.; WESTHOFF, P.; GOWIK, U. Glycine decarboxylase in C3, C4 and C3–C4 intermediate species. **Current Opinion in Plant Biology**, SI: 31: Physiology and metabolism 2016. v. 31, p. 29–35, 1 jun. 2016.

SHARKEY, T. D. Pentose Phosphate Pathway Reactions in Photosynthesizing Cells. **Cells**, v. 10, n. 6, p. 1547, jun. 2021.

SU, Q. et al. POR C of Arabidopsis thaliana: a third light- and NADPH-dependent protochlorophyllide oxidoreductase that is differentially regulated by light. **Plant Molecular Biology**, v. 47, n. 6, p. 805–813, 1 dez. 2001.

SZABÓ, I.; BERGANTINO, E.; GIACOMETTI, G. M. Light and oxygenic photosynthesis: energy dissipation as a protection mechanism against photo-oxidation. **EMBO reports**, v. 6, n. 7, p. 629–634, jul. 2005.

TAKANO, H. K. et al. ACCase-inhibiting herbicides: mechanism of action, resistance evolution and stewardship. **Scientia Agricola**, v. 78, p. e20190102, 13 mar. 2020.

TRAXLER, C. et al. The nexus between reactive oxygen species and the mechanism of action of herbicides. **Journal of Biological Chemistry**, v. 299, n. 11, p. 105267, 1 nov. 2023.

VILA-AIUB, M. M.; NEVE, P.; POWLES, S. B. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. **New Phytologist**, v. 184, n. 4, p. 751–767, 2009.

YABUTA, S. et al. Three PsbQ-Like Proteins are Required for the Function of the Chloroplast NAD(P)H Dehydrogenase Complex in Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology**, v. 51, n. 6, p. 866–876, 1 jun. 2010.

YI, X. et al. The PsbQ Protein Is Required in Arabidopsis for Photosystem II Assembly/Stability and Photoautotrophy under Low Light Conditions *. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 36, p. 26260–26267, 8 set. 2006.

YUAN, J. S.; TRANEL, P. J.; STEWART, C. N. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 1, p. 6–13, 1 jan. 2007.

BECKER, A. DOS S. et al. Efeito residual de clethodim aplicado em pré-semeadura do milho. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 18, n. 1, p. 1–6, 10 mar. 2019.

CAMARGO, D. M. Eficácia de herbicidas pré-emergentes na cultura da soja. 2023.

CARBONARI, C. A. et al. Evaluating methods and factors that affect dicamba volatility. **Advances in Weed Science**, v. 40, p. e020220014, 30 set. 2022.

DE OLIVEIRA, M. F.; BRIGHENTI, A. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. 2011.

FERNANDES, T. C. C. et al. Characterization, Modes of Action and Effects of Trifluralin: A Review. Em: **Herbicides - Current Research and Case Studies in Use**. [s.l.] IntechOpen, 2013.

FRENE, R. L. et al. Enlist E3™ Soybean Sensitivity and Enlist™ Herbicide-Based Program Control of Sumatran Fleabane (Conyza sumatrensis). **Weed Technology**, v. 32, n. 4, p. 416–423, ago. 2018.

GAIARIN, V. A.; PRIMIERI, C. Interferência do milho voluntário tolerante ao glifosato na cultura da soja RR. **Revista Cultivando o Saber**, v. 13, n. 3, p. 14–20, 2020.

LATORRE, D. D. O. et al. HERBICIDAS INIBIDORES DA GLUTAMINA SINTETASE. **Revista Brasileira de Engenharia de Biossistemas**, v. 7, n. 3, p. 134–141, 9 dez. 2013.

MAHONEY, K. J.; SHROPSHIRE, C.; SIKKEMA, P. H. Weed Management in Conventional- and No-Till Soybean Using Flumioxazin/Pyroxasulfone. **Weed Technology**, v. 28, n. 2, p. 298–306, jun. 2014.

MENDES, K. F.; DA SILVA, A. A. **Plantas daninhas: herbicidas**. [s.l.] Oficina de Textos, 2023.

SANTOS, G. et al. Carryover proporcionado pelos herbicidas S-metolachlor e trifluralin nas culturas de feijão, milho e soja. **Planta Daninha**, v. 30, p. 827–834, dez. 2012.

SILVA, D. A. I. DA. Avaliação de diferentes doses de s-metolacloro na cultura da soja. 2020.

7 CONCLUSÕES GERAIS

O controle eficaz de *Eleusine indica* depende de uma compreensão integrada de sua biologia, mecanismos de resistência e estratégias de manejo. O estádio de desenvolvimento da planta influencia diretamente suas barreiras anatômicas, como a espessura da cutícula e a densidade de tricomas e estômatos, fatores que afetam a absorção foliar de herbicidas. Além disso, a resistência ao glifosato em diferentes biótipos está associada a múltiplos mecanismos adaptativos, incluindo mutações na enzima EPSPs, ativação de vias metabólicas alternativas e aumento de proteínas ligadas à fotossíntese e à defesa contra estresses, permitindo a manutenção da eficiência fotoquímica mesmo sob aplicação do herbicida. Diante disso, o manejo deve incluir o uso de herbicidas com diferentes mecanismos de ação, como aplicações sequenciais de glufosinato e cletodim em pós-emergência, e o uso de pré-emergentes como s-metolacloro e piroxasulfona, que apresentam eficácia prolongada, inclusive sobre biótipos resistentes, promovendo controle mais duradouro e reduzindo a seleção de resistência.