**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Suscetibilidade diferencial de biótipos de *Conyza sumatrensis* ao herbicida
chlorimuron-ethyl e resistência ao herbicida glyphosate**

Fernando Machado dos Santos

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia**

**Piracicaba
2013**

Fernando Machado dos Santos
Engenheiro Agrônomo

Suscetibilidade diferencial de biótipos de *Conyza sumatrensis* ao herbicida chlorimuron-ethyl e resistência ao herbicida glyphosate

Orientador:
Prof. Dr. **PEDRO JACOB CHRISTOFFOLETI**

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia**

**Piracicaba
2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP

Santos, Fernando Machado dos

Suscetibilidade diferencial de biótipos de *Conyza sumatrensis* ao herbicida chlorimuron-ethyl e resistência ao herbicida glyphosate / Fernando Machado dos Santos.- - Piracicaba, 2013.

89 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Dose-resposta 2. Atividade in vitro da enzima ALS 3. Resistência nível baixo
4. Estádio fenológico de controle 5. Resistência EPSPs 5. Acúmulo de ácido
chiquímico 6. Alterações no processo fotossintético 7. Controle alternativo I. Título

CDD 632.58
S237s

DEDICATÓRIA

À Deus, por tudo que colocou na minha vida.

À minha esposa Carla Eliane Dalbem pelo amor, apoio e
compreensão durante essa caminhada.

À minha filha Laís Dalbem Vieira dos Santos,
concebida durante o doutorado.

Aos meus pais Antônio Vieira dos Santos (*in memoriam*) e
Fátima Nara Machado dos Santos pela
dedicação e exemplo de vida.

Aos meus irmãos Alexandre Machado dos Santos e
Antônio Vieira dos Santos Junior por
fazerem parte da minha vida.

Aos demais familiares: tios, tias, sogro, sogra e
cunhadas, por sempre torcerem por mim.

AGRADECIMENTOS

Ao bom Deus, pela vida, saúde e oportunidades concedidas;

À minha família, que é à base da minha vida;

À Universidade de São Paulo (USP) e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), pela realização do curso de doutorado interinstitucional em parceria Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha;

À CAPES/SETEC/MEC pelo apoio financeiro ao curso de doutorado interinstitucional;

À professora Viviane Silva Ramos, diretora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul - Câmpus Sertão em 2010, por permitir participar da seleção do doutorado interinstitucional;

À Jean Karlo Acosta Mendonça, muito obrigado pelo apoio;

Ao professor Dr. Pedro Jacob Christoffoleti, pela orientação, confiança, amizade e pelo incentivo durante a realização do curso;

Ao pesquisador Dr. Leandro Vargas, pela orientação pelo auxílio nos experimentos, por disponibilizar as instalações da Embrapa Trigo pela amizade e pelo incentivo durante o curso;

Aos funcionários da Embrapa Trigo, Felipe Haubert Pilger, Airton Munz, Odirlei Dalla Costa e Everson Santana Flores pela amizade, convívio e auxílio na condução dos trabalhos;

À Embrapa Trigo por toda a infraestrutura oferecida para que esta pesquisa fosse realizada;

As profissionais das empresas: Cotrijal de Carazinho, Não-Me-Toque e Tio Hugo, Sementes Roos de Pontão e Rota Agrícola de Tapejara pela coleta das sementes de buva avaliadas;

Aos professores Thomas Newton Martin, Taísa Dal Magro, Sylvio Bidel Dornelles, Thais Scotti do Canto Dorow, Dileta Cecchetti, Dirceu Agostinetti, Geraldo Chavarria e Juliana Aparecida Fernando pelo auxílio, disponibilidade e incentivo;

A doutoranda, em Herbologia UFPel/Texas A&M University, Franciele Mariani, pela amizade, convívio e assessoramento na condução dos trabalhos;

Ao Dr. Marcus Barifouse Matallo do Laboratório de Plantas Daninhas do Instituto Biológico de Campinas pela colaboração na execução dos trabalhos laboratoriais.

Aos colegas e amigos Diecson Ruy Orsolin da Silva, Queli Ruchel, Edinalvo Rabaioli Camargo, Tiago Kaspary, Daiane Eva Panisson, Ariel Bergmann Piccoli e Fernanda Brum Martins pela ajuda na realização desta pesquisa.

ÀS laboratoristas Thaize Debatin Wehrmeister, da UFPel, e Denise Bilibio, do IFRS – Câmpus Sertão, pela assessoria no desenvolvimento dos trabalhos;

Aos Professores do programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da ESALQ/USP: Durval Dourado Neto, Francisco de Assis Alves Mourão Filho, João Alexio Scarpate Filho, José Laércio Favarin, Pedro Jacob Cristoffoleti, Ricardo Alfredo Kluge, Ricardo Victoria Filho, e Ana Dionísia da Luz Coelho Novembre pelo esforço e deslocamento ao Rio Grande do Sul;

Aos colegas do Curso de Pós-graduação, modalidade Dinter/ ESALQ/USP do Rio Grande do Sul: Adriano Michel, Cláudio Renato Schlessner Kelling, João Flávio Cogo Carvalho, Jorge Alex Willes, Lisandra Pinto Della Flora, Luís Alberto Cadoná, Marcelo Antonio Rodrigues, Paulo Artur Konzen Xavier de Mello e Silva, Rosemari Kerber Aire, Wolmar Trevisol, pela convivência e pelos debates frutíferos ao longo do curso;

À Luciane, secretária do PPG Fitotecnia da ESALQ-USP, pela grande ajuda e amizade;

A todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa e acreditaram em meu potencial.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
Referências.....	15
2 SUSCETIBILIDADE DIFERENCIAL DE BIÓTIPOS DE <i>Conyza sumatrensis</i> AO HERBICIDA CHLORIMURON-ETHYL	19
Resumo.....	19
Abstract.....	19
2.1 Introdução.....	20
2.2 Material e Métodos.....	21
2.3 Resultados e Discussão.....	24
2.4 Conclusões.....	30
Referências.....	31
3 ESTÁDIO DE DESENVOLVIMENTO E SUPERFÍCIE FOLIAR REDUZEM A EFICIÊNCIA DE CHLORIMURON-ETHYL E GLYPHOSATE EM <i>Conyza</i> <i>sumatrensis</i>	35
Resumo.....	35
Abstract.....	35
3.1 Introdução.....	36
3.2 Material e Métodos.....	37
3.3 Resultados e Discussão.....	40
3.4 Conclusões.....	53
Referências.....	53
4 EFEITO DO GLYPHOSATE SOBRE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE <i>Conyza</i> <i>sumatrensis</i>	57
Resumo.....	57
Abstract.....	57
4.1 Introdução.....	58
4.2 Material e Métodos.....	59
4.3 Resultados e Discussão.....	61
4.4 Conclusões.....	67

Referências.....	67
5 HERBICIDAS ALTERNATIVOS PARA O CONTROLE DE <i>Conyza sumatrensis</i> COM SUSCETIBILIDADE DIFERENCIAL AOS INIBIDORES DA ALS E/OU RESISTENTES AO GLYPHOSATE.....	71
Resumo.....	71
Abstract.....	71
5.1 Introdução.....	72
5.2 Material e Métodos.....	74
5.3 Resultados e Discussão.....	76
5.4 Conclusões.....	82
Referências.....	83
6 CONCLUSÕES GERAIS.....	87

RESUMO

Suscetibilidade diferencial de biótipos de *Conyza sumatrensis* ao herbicida chlorimuron-ethyl e resistência ao herbicida glyphosate

A buva (*Conyza* spp.) é uma planta daninha anual, comum em lavouras de soja da região Sul do Brasil, onde os herbicidas chlorimuron-ethyl e glyphosate são os mais utilizados para o seu controle. No entanto, nas últimas safras de soja observou-se controle insatisfatório desta planta daninha com esses herbicidas. Esse fato gerou a suspeita de seleção de biótipos resistentes. Assim, o objetivo da pesquisa foi avaliar a ocorrência de resistência múltipla aos herbicidas chlorimuron-ethyl e glyphosate em biótipos de buva. Na primeira etapa do trabalho, foram feitas coletas de sementes de buva em áreas com controle insatisfatório, totalizando 25 biótipos. Esses biótipos foram avaliados com relação à suscetibilidade e resistência ao chlorimuron e glyphosate, aplicando-se a máxima dose de registro desses herbicidas. Para segunda etapa do trabalho, foram selecionados 5 biótipos de buva com grau de suscetibilidade contrastante. Esses biótipos foram avaliados com curvas de dose-resposta e com 5 doses do herbicida chlorimuron-ethyl, aplicadas no estágio fenológico de 3 a 4 folhas. Na terceira etapa do trabalho, foi avaliada a resposta de 4 biótipos de buva aos herbicidas chlorimuron-ethyl, glyphosate e associação de chlorimuron-ethyl e glyphosate. Os herbicidas foram empregados em oito doses: 0,0; 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200 e 400, representadas em porcentagem da dose de 20 g ha⁻¹ chlorimuron-ethyl, e de 720 g e.a. ha⁻¹ glyphosate, aplicadas em três estádios de desenvolvimento (altura 0,5 a 1 cm e/ou 3 a 4 folhas; altura 1 a 2 cm e/ou 6 a 7 folhas e; altura 10 a 12 cm e/ou 12 a 14 folhas) dos biótipos de buva. Na última etapa do trabalho, avaliaram-se 15 herbicidas para controle alternativo da buva no estágio de desenvolvimento de 5 a 7 cm de altura e/ou 7 a 8 folhas. O trabalho foi conduzido na casa de vegetação, da Estação Experimental da Embrapa Trigo, em Passo Fundo/RS. Os resultados evidenciam que todos os biótipos são controlados com a dose de 20 g ha⁻¹ de chlorimuron-ethyl, no estágio de desenvolvimento de 3 a 4 folhas. Contudo, observou-se susceptibilidade diferencial entre os biótipos em doses menores que 20 g ha⁻¹ indicando resistência de nível baixo. Também, ficou evidente que os estádios de desenvolvimento dos biótipos de buva afetam significativamente a resposta destes aos herbicidas, sendo que quanto mais avançado o estágio menor a sensibilidade. A exceção foi o biótipo 5 que demonstrou resistência ao glyphosate, independentemente do estágio de desenvolvimento. Por fim, os tratamentos alternativos 2,4-D (1.042 g ha⁻¹); amoníum glufosinate (400 g ha⁻¹); glyphosate (900 g e.a. ha⁻¹) + 2,4-D (1.042 g ha⁻¹); glyphosate (900 g e.a. ha⁻¹) + amoníum glufosinate (400 g ha⁻¹); paraquat (600 g ha⁻¹) + diuron (300 g ha⁻¹); tembotrione (84 g ha⁻¹) e tembotrione (84 g ha⁻¹) + atrazine (1.000 g ha⁻¹) controlaram, eficientemente, os biótipos de buva avaliados. Como conclusão, indica-se a aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl nas doses máximas registradas, em estádios de desenvolvimentos da buva inferiores a cinco folhas, e que a prática de rotação de mecanismos de ação seja usada no manejo químico dessas áreas.

Palavras-chave: Dose-resposta; Atividade *in vitro* da enzima ALS; Resistência nível baixo; Estádio fenológico de controle; Resistência EPSPs; Acúmulo de ácido chiquímico; Alterações no processo fotossintético; Controle alternativo

ABSTRACT

Differential susceptibility of biotypes of *Conyza sumatrensis* to the herbicide chlorimuron-ethyl and glyphosate resistance

The horseweed (*Conyza* spp.) is an annual weed, common in soybean crops in southern Brazil, where the herbicide chlorimuron-ethyl and glyphosate are the most commonly used for its control. However, in recent soybean harvests it was observed unsatisfactory control of this weed with these herbicides. This fact originated suspicion of selection of resistant biotypes. The objective of the research was to evaluate the occurrence of multiple resistances to herbicides chlorimuron-ethyl and glyphosate in horseweed biotypes. In the first stage of the research, were collected horseweed seeds in areas with unsatisfactory control, totaling 25 biotypes. These biotypes were assessed for susceptibility and resistance to chlorimuron and glyphosate, applying the maximum dose of herbicide registration. In the second stage, were selected 5 horseweed biotypes with contrasting degree of susceptibility and evaluated dose-response curves, with 5 doses of the herbicide chlorimuron-ethyl applied at growth stage 3 - 4 leaves. In the third stage, we evaluated the response of four biotypes of horseweed to the herbicide chlorimuron-ethyl, glyphosate and association of chlorimuron-ethyl and glyphosate. Herbicides were applied in eight doses: 0.0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 and 400, represented as a percentage of the dose of 20 g ha⁻¹ chlorimuron-ethyl, and 720 g a.e. ha⁻¹ glyphosate applied at three stages of development (height 0.5 - 1 cm and / or 3 - 4 leaves, height 1 - 2 cm, and / or 6 - 7 and leaves, height 10 - 12 cm and / or 12 - 14 leaves) biotypes of horseweed. In the last stage of the study, evaluated 15 alternative herbicides to control horseweed at stage 5 - 7 cm high and / or 7 - 8 leaves. The study was conducted in a greenhouse, at the Experimental Station of Embrapa Trigo, Passo Fundo / RS. The results show that all biotypes can be controlled with the dose of 20 g ha⁻¹ chlorimuron-ethyl, at stage 3 - 4 leaves. However, it was observed differential susceptibility among biotypes at doses under than 20 g ha⁻¹ indicating low resistance. It was also evident that the developmental stages of the biotypes of horseweed, significantly affect the response to these herbicides, whereas the more advanced the stage the lower sensitivity. The exception was the biotype 5 that show resistance to glyphosate, regardless of the stage of development. Finally, alternative treatments 2,4-D (1.042 g ha⁻¹); ammonium glufosinate (400 g ha⁻¹), glyphosate (900 g a.e. ha⁻¹) + 2,4-D (1.042 g ha⁻¹), glyphosate (900 g a.e. ha⁻¹) + ammonium glufosinate (400 g ha⁻¹), paraquat (600 g ha⁻¹) + diuron (300 g ha⁻¹); tembotrione (84 g ha⁻¹) and tembotrione (84 g ha⁻¹) + atrazine (1,000 g ha⁻¹), effectively controlled the biotypes of horseweed evaluated. Conclusion indicates the application of herbicide chlorimuron-ethyl in maximum doses recorded in stadiums horseweed developments less than five leaves, and that the practice of rotating mechanisms of action are used in the chemical management of these areas.

Keywords: Dose response; In vitro activity of ALS enzyme; Low resistance; Stadium phenological control; Resistance EPSPs; Accumulation of shikimic acid; Changes in the photosynthetic process; Alternative control

1 INTRODUÇÃO

Uma espécie é considerada planta daninha quando cresce espontaneamente em local e/ou momento indesejado, interferindo negativamente na produção agrícola (BURNSIDE, 1992).

As plantas daninhas possuem grande habilidade competitiva explorando, eficientemente, os recursos do ambiente como água, luz, nutriente e espaço físico, pois estão adaptadas ao local, evidenciando, assim, a intensa competição que ocorre nas áreas cultivadas (PITELLI, 1981). Existem várias espécies de plantas daninhas intervindo em diferentes culturas agrícolas no mundo. No Brasil, a buva (*Conyza* spp.) é considerada uma das principais espécies daninhas, e encontra-se amplamente disseminada.

A região Sul (Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná) é a segunda maior produtora de soja no Brasil, com 18,55 milhões de toneladas do grão numa área de 9,1 milhões de hectares (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2013). A competição de plantas daninhas com a cultura da soja pode refletir em perdas significativas de produtividade de grãos, quanto maior for o período de convivência da cultura com as plantas daninhas. Esse conceito está associado ao período crítico de prevenção à interferência, estabelecido por Pitelli (1985). As interferências causadas pelas plantas daninhas reduzem a produção agrícola de 30 a 40% (LORENZI, 2000). Segundo Fornarolli et al. (2010), uma planta de *C. bonariensis* por m² reduz o rendimento de grãos na cultura da soja em 29,5%.

O controle das plantas daninhas, em áreas cultivadas, ocorre por meio da aplicação de herbicidas, que são produtos utilizados para matar ou controlar o crescimento dessas espécies. O uso indiscriminado de herbicidas propiciou o desenvolvimento de muitos casos de resistência a tais compostos por diversas espécies de plantas daninhas (BURNSIDE, 1992). A resistência vem aumentando e causando prejuízos à agricultura mundial. Os registros apontam, atualmente, a existência de 397 biótipos resistentes a herbicidas, distribuídos entre 217 espécies, sendo 129 magnoliopsidas e 88 liliopsidas (HEAP, 2013). No Brasil, segundo Christoffoleti; López-Ovejero (2003) existiam 11 biótipos resistentes a herbicidas, mas após dez anos esse número subiu para 27 (HEAP, 2013). Assim, a resistência de plantas daninhas aos herbicidas assume grande importância, principalmente, em razão do limitado, ou inexistente, número de herbicidas alternativos que podem ser usados no controle de algumas espécies com biótipos resistentes.

Entre as plantas daninhas de difícil controle no Rio Grande do Sul estão a *Conyza bonariensis* e a *Conyza canadensis*, que são espécies da família Asteraceae, originadas das

Américas do Sul e do Norte, respectivamente. No Brasil, as duas espécies são denominadas popularmente de buva ou voadeira e têm distribuição comum entre as regiões Centro-Oeste e Sul (KISSMANN; GROTH, 1999). As plantas dessa espécie são herbáceas, eretas e a estatura depende das condições em que se desenvolvem, pois podem chegar a 2 m de altura. As folhas de *C. bonariensis* apresentam as margens não-serrilhadas (LORENZI, 2006), característica usada para diferenciá-la da *C. canadensis*. A *C. bonariensis* forma infestação densa devido à elevada produção de sementes, que pode chegar até 110 mil por planta (WU; WALKER, 2006), sendo que 80% das sementes germinam próximo à planta-mãe (LOUX et al., 2006). Também, pertencendo à família Asteraceae foi classificada recentemente a *C. sumatrensis* como planta daninha de difícil controle na região nordeste do estado do Paraná (SANTOS, 2012).

O controle químico de *C. bonariensis* e *C. canadensis*, em áreas de cultivos do Rio Grande do Sul, é praticado usando-se, principalmente, herbicidas cujo mecanismo de ação é a inibição da enzima ALS. Esses herbicidas inibem a síntese dos aminoácidos essenciais que são a valina, a leucina e a isoleucina e, em consequência, interrompem a síntese proteica, interferindo na síntese do DNA e no crescimento celular. Outro herbicida muito utilizado é a molécula do glyphosate, que atua na rota do ácido chiquímico competindo pelo mesmo sítio de ação da enolpiruvil-chiquimato-fosfato sintase (EPSPs). Porém, Vargas et al. (2007) e Moreira et al. (2007) identificaram biótipos de *C. bonariensis* e *C. canadensis* resistentes ao glyphosate em áreas agrícolas do Rio Grande do Sul e em pomares de citros no Estado de São Paulo, respectivamente. Recentemente, no estado do Paraná, Santos (2012) identificou biótopos de *C. sumatrensis* com resistência múltipla aos herbicidas chlorimuron-ethyl (um inibidor da enzima ALS) e glyphosate. A resistência de buva aos inibidores da ALS e ao glyphosate está associada à pressão de seleção devido ao uso repetido de glyphosate, que aumentou desde a liberação da soja RR (Roundup Ready) e do herbicida chlorimuron, que aumentou o uso após o surgimento de biótipos resistentes ao glyphosate.

A resistência das plantas daninhas aos herbicidas é um fenômeno natural em resposta ao uso repetido de um mesmo herbicida, sendo definida pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) como a ocorrência de biótipo com habilidade de sobreviver à aplicação de composto químico para o qual a população original era suscetível (LEBARON; GRESSEL, 1982). Essas espécies podem apresentar dois tipos de resistência, a cruzada e a múltipla. A resistência cruzada ocorre quando um biótipo é resistente a dois ou mais herbicidas que possuem o mesmo mecanismo de ação; e a resistência múltipla ocorre nas

plantas quando sobrevivem aos herbicidas com diferentes mecanismos de ação (VARGAS; ROMAN, 2006).

Para avaliar e confirmar a resistência de uma espécie a herbicidas, o método mais adequado é através de curvas de dose-resposta (CARVALHO et al., 2005; CHRISTOFFOLETI et al., 2006). Contudo, o controle insatisfatório pode estar relacionado a causas diversas que não a resistência, tais como: doses sub-letais, estádios de desenvolvimento da planta daninha, época de aplicação inadequada e tecnologia de aplicação ineficiente, dentre outras (KOGER et al., 2004). Dessa forma, estes fatores também devem ser avaliados.

Diante do exposto, os objetivos da pesquisa desenvolvida foram avaliar a ocorrência de resistência múltipla, aos herbicidas chlorimuron-ethyl e glyphosate, em biótipos de *Conyza* spp. coletados na região Norte do Rio Grande do Sul; verificar a suscetibilidade, por meio de ensaios *in vivo* e *in vitro*, de biótipos de buva ao herbicida chlorimuron-ethyl; medir a sensibilidade dos biótipos *C. sumatrensis* aos herbicidas chlorimuron-ethyl, glyphosate e a associação deles, em diferentes estádios fenológicos de desenvolvimento; determinar alterações fisiológicas e a inibição da 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), por meio do acúmulo de ácido chiquímico, após a aplicação do herbicida glyphosate; e identificar herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *C. sumatrensis* com diferentes níveis suscetibilidades ao herbicida chlorimuron-ethyl e resistentes ao herbicida glyphosate.

Referências

BURNSIDE, O.C. Rationale for developing herbicide-resistant crops. **Weed Technology**, Champaign, v. 6, n. 3, p. 621-25, 1992.

CARVALHO, S.J.P.; LOMBARDI, B.P.; NICOLAI, M.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; MEDEIROS, D. Curvas de dose-resposta para avaliação do controle de fluxos de emergência de plantas daninhas pelo herbicida imazapic. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 3, p. 535-542, 2005.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 3, p. 507-515, 2003.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; BORGES, A.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; MONQUERO, P.A. Carfentrazone-ethyl aplicado em pós-emergência para o controle de *Ipomoea* spp. e *C. benghalensis* na cultura da cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 1, p. 83-90, 2006.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos 2012/13 – quinto levantamento – fevereiro/2013** Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_02_08_17_24_51_bole_tim_fevereiro_2013.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2013.

FORNAROLLI, D.A.; RIBEIRO, C.A.; SANTOS, B.C.S.; GAZZIEIRO, D.L.P. Interferência da espécie *Conyza bonariensis* no rendimento de grãos da cultura da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., 2010. Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: FUNEP, 2010. p. 1475-1478.

HEAP, I. **Criteria for confirmation of Herbicide-Resistant weeds** – with specific emphasis on confirming low level resistance. 2005. Disponível em: <<http://www.weedscience.com>>. Acesso em: 21 fev. 2013.

HEAP, I. **International survey of resistant weeds**. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>. Acesso em: 20 fev. de 2013.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Paulo: BASF, 1999. v. 2. 978p.

KOGER, C.H.; POSTON, D.H.; HAYES, R.M.; MONTGOMERY, R.F. Glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) in Mississippi. **Weed Technology**, Champaign, v. 18, n. 1, p. 820-825, 2004.

LEBARON, H.M.; GRESSEL, J. **Herbicide resistance in plants**. New York: Wiley-Interscience Publications, 1982. 401p.

LORENZI, H. **Plantas daninhas no Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 3.ed. Nova Odessa, 2000. 608p.

_____. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2006. 339p.

LOUX, M.; STACHLER, J.; JOHNSON, B.; NICE, G.; DAVIS, V.; NORDBY, D. **Biology and management of horseweed**. Disponível em: <<http://www.ipm.uiuc.edu/pubs/horseweed.pdf>>. Acesso em: 21 fev. 2013.

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

PITELLI, R.A. Competição e manejo em culturas anuais. **A Granja**, Porto Alegre, n. 37, p. 111-113, 1981.

_____. Interferência de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 129, p. 19-27, 1985.

SANTOS, G. **Resistência múltipla ao glyphosate e ao chlorimuron-ethyl em biótipos de *Conyza sumatrensis***. 2012. 87p. Dissertação (Mestrado em Produção de Plantas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.

VARGAS, L.; ROMAN, E.S. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**: conceitos, origem e evolução. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 22p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 58). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do58.htm>. Acesso em: 21 fev. 2013.

VARGAS, L.; BIANCHI, M.A.; RIZZARDI, M.A.; AGOSTINETTO, D.; DAL MAGRO, T. Buva (*C. bonariensis*) Resistente ao Glyphosate na Região Sul do Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 3, p. 573-578, 2007.

WU, H.; WALKER, S. **Fleabane**: fleabane biology and control. 2006. Disponível em: <<http://www.weeds.crc.org.au/documents/fleabane.pdf>>. Acesso em: 06 ago. 2010.

2 SUSCETIBILIDADE DIFERENCIAL DE BIÓTIPOS DE *Conyza sumatrensis* AO HERBICIDA CHLORIMURON-ETHYL

Resumo

A buva (*Conyza* spp.) é uma planta daninha anual que infesta lavouras de soja na região Sul do Brasil, onde o chlorimuron-ethyl é um dos herbicidas mais utilizados para o seu controle. Porém, nas últimas safras de soja observou-se controle insatisfatório desta planta daninha, gerando a suspeita de seleção de biótipos resistentes. Assim, o objetivo da pesquisa foi avaliar a suscetibilidade de biótipos de buva ao herbicida chlorimuron-ethyl. O experimento foi realizado em casa de vegetação no esquema fatorial 5x5, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos utilizados na elaboração das curvas de dose resposta foram cinco doses do herbicida chlorimuron-ethyl (0,0; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5 g ha⁻¹), aplicadas sobre cinco biótipos de buva, no estágio fenológico de 3 a 4 folhas. As variáveis avaliadas foram porcentagem visual de controle e fitomassa seca da parte aérea em relação à testemunha sem aplicação de herbicida, e acúmulo de acetolactato na planta. Observou-se que há susceptibilidade diferencial entre os biótipos nas doses menores que 20 g ha⁻¹ (curvas de dose resposta), e este fato indica resistência de nível baixo. As consequências práticas são a indicação da aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl em doses máximas registradas é que a prática de rotação de mecanismos de ação seja usada no manejo químico dessas áreas.

Palavras-chave: Controle químico; Buva; Resistência nível baixo; ALS

Abstract

The horseweed (*Conyza* spp.) is an annual weed, infesting soybean crops in southern Brazil, where the chlorimuron-ethyl is one of the most commonly used herbicides for its control. However, in recent soybean harvests observed unsatisfactory control of this weed. This fact originated suspicion selection of resistant biotypes. The objective of the study was to evaluate the susceptibility of horseweed biotypes to the herbicide chlorimuron-ethyl. The experiment was conducted in a greenhouse in 5x5 factorial in completely randomized design with four replications. The treatments used in the preparation of dose response curves were five doses of the herbicide chlorimuron-ethyl (0.0, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5 g ha⁻¹), applied on five biotypes of horseweed at growth stage 3-4 leaves. The variables evaluated were: visual percentage control and dry weight of shoots compared to the control without herbicide application, and plant acetolactate accumulation. It was observed, that there is differential susceptibility among biotypes at doses under than 20 g ha⁻¹ (dose response curves), and this fact indicates low-level resistance. The practical consequences are the hallmark of the application of the herbicide chlorimuron-ethyl in maximum doses recorded and that the practice of rotating mechanisms of action to be used in chemical management of these areas.

Keywords: Chemical control; Horseweed; Low level resistance; ALS

2.1 Introdução

O gênero *Conyza* inclui, aproximadamente, 50 espécies, as quais se distribuem em quase todo mundo (KISSMANN; GROTH, 1999). Com frequência, elas infestam pomares, vinhedos e outras culturas como trigo, milho, soja e algodão e, também, culturas forrageiras, pastagens e áreas não cultivadas. As espécies *Conyza bonariensis* e *C. sumatrensis* são nativas da América do Sul, com ocorrência na Argentina, no Uruguai, no Paraguai e no Brasil. A buva (*Conyza* spp.) é uma planta, anual, que germina no outono/inverno encerrando seu ciclo no verão. Portanto, é classificada como ciclo de vida de inverno e verão (KISSMANN; GROTH, 1999).

As espécies *C. sumatrensis* e *C. canadenses* são consideradas as mais difundidas em todo o mundo (THEBAUD; ABBOTT, 1995). Isso ocorre devido à propagação por meio de sementes, que são produzidas em grande quantidade e facilmente dispersas pelo vento e pela água, em função do pappus presentes em seus aquênios (HAO et al., 2009). A buva compete com as culturas pelos recursos ambientais (água, luz, nutrientes), sendo que uma população de 150 plantas m⁻² de *C. canadensis* reduz em até 83% a produtividade de grãos de soja (BRUCE; KELLS, 1990).

Os herbicidas são a principal ferramenta utilizada para manejar as plantas daninhas em áreas cultivadas com culturas anuais. Porém, tem ocorrido a seleção de biótipos resistentes devido à aplicação repetida de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação. Os fatores que mais influenciam a seleção são a intensidade de uso do herbicida, a eficácia e a persistência do herbicida, a especificidade do herbicida, com respeito ao mecanismo de ação, o padrão de emergência da planta daninha e a eficácia dos métodos de controle alternativos aos métodos químicos utilizados na área (RUBIM, 1991). Por isso, o uso correto dos herbicidas está associado ao uso de diferentes métodos de controle e, no caso do controle químico, na aplicação de produtos com diferentes mecanismos de ação para diminuir a seleção de plantas daninhas resistentes.

Na região sul do Brasil, a soja é uma das principais culturas e a buva é a planta daninha mais importante. A seleção da buva na cultura da soja ocorreu devido ao uso recorrente do glyphosate após a introdução da soja resistente a esse herbicida, como constatado para *C. bonariensis* (VARGAS et al., 2007; MOREIRA et al., 2007), *C. canadenses* (MOREIRA et al., 2007) e *C. sumatrensis* (SANTOS, 2012).

Com a identificação da resistência ao glyphosate em biótipos de *C. bonariensis* e *C. canadenses*, no Rio Grande do Sul, outros herbicidas passaram a serem associados ao

glyphosate para obter o controle dessas espécies. Dentre eles o chlorimuron-ethyl, que atua nas plantas inibindo a acetolactato sintase (ALS) impedindo a síntese dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina e, assim, interrompe a síntese de proteínas, que por sua vez, interferem na síntese do DNA e no crescimento da planta (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Mundialmente, já foram identificadas 129 espécies de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ALS. Dessas plantas 80 são da classe das magnoliopsidas e 49 da classe das liliopsidas (HEAP, 2013). No Brasil, foram identificados 12 biótipos resistentes aos inibidores da ALS, desses casos houve cinco ocorrências de resistência múltipla de inibidores de ALS com outros mecanismos de ação de herbicidas (HEAP, 2013). Para a buva resistente aos inibidores de ALS, foi identificado até o momento um caso de *C. bonariensis* em Israel. Já para a *C. canadensis* constatarem-se sete casos, um de resistência múltipla em Israel; quatro nos Estados Unidos, com dois casos de resistência múltipla; um na Polônia; e um no Canadá, com resistência múltipla. Para a *C. sumatrensis* foram confirmados dois casos de resistência à ALS no Brasil, um deles de resistência múltipla (HEAP, 2013).

Após a identificação de buva resistente ao glyphosate no Rio Grande do Sul, o controle dessa espécie em lavouras de soja, milho e cereais de inverno passou a ser realizado com herbicidas inibidores da ALS, especialmente o herbicida chlorimuron-ethyl. O uso contínuo desse herbicida pode ter selecionado biótipos resistentes aos inibidores da ALS, uma vez que observa-se falhas no controle e na redução da eficácia desse produto sobre a buva. Diante desse cenário, o objetivo do trabalho foi avaliar a suscetibilidade de biótipos de buva ao herbicida chlorimuron-ethyl.

2.2 Material e Métodos

Foram conduzidos dois experimentos na casa-de-vegetação, da estação experimental da Embrapa Trigo, localizada no município de Passo Fundo/RS (S 28°15'46" e W 52°24'24", a 684m de altitude). Para o primeiro experimento, foram coletadas sementes de biótipos de buva (*Conyza* spp.) nos municípios de Almirante Tamandaré do Sul (dois biótipos), Carazinho (três biótipos), Coqueiros do Sul (três biótipos), Não-Me-Toque (um biótipo), Passo Fundo (dois biótipos), Pontão (quatro biótipos), Tapejara (três biótipos), Tio Hugo (quatro biótipos) e Vila Lângaro (três biótipos). Os municípios que forneceram amostras dos biótipos localizam-se no planalto médio do Rio Grande do Sul, em áreas onde o controle da buva foi insatisfatório com a aplicação de chlorimuron-ethyl na safra de soja 2010/11. Após a

coleta, as sementes foram limpas e armazenadas em refrigerador e mantidas numa temperatura entre 3 e 5°C.

A semeadura dos biótipos ocorreu no dia 07/05/2011, em copos plásticos (unidades experimentais), com capacidade para 250 mL, contendo substrato composto por solo, corrigido conforme análise química, classificado como Latossolo Vermelho distrófico húmico, com textura argilosa (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2013). As análises com as propriedades físicas e químicas do solo utilizado nos experimentos podem ser visualizadas na tabela 2.1. Após a emergência, ocorrida aos sete dias após a semeadura (DAS), foi realizado desbaste, deixando-se duas plantas por copo.

Tabela 2.1 - Propriedades físicas e químicas do solo utilizado no experimento. Passo Fundo, RS

Areia	Silte	Argila	Classe	pH	MO	P	K	Ca	Mg	SB	CTC	V
(%)			Textural	Água	g dm ⁻³	mg dm ⁻³		Mmolc dm ⁻³				%
28	19	53	Argiloso	7,3	23	50,6	496	82,8	49,4	145	160,4	90,3

O delineamento experimental foi, inteiramente, casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos avaliados, no primeiro experimento, foram: glyphosate (720 g e.a. ha⁻¹), chlorimuron-ethyl (0,0; 6,25; 12,5; 25 g ha⁻¹) e a associação de glyphosate (720 g e.a. ha⁻¹) + chlorimuron-ethyl (6,25; 12,5; 25 g ha⁻¹), totalizando oito tratamentos. Estas doses foram consideradas discriminatórias para a seleção dos biótipos de suscetibilidade contrastantes para a etapa seguinte do trabalho, que caracterizou os biótipos através de curvas de dose resposta. A aplicação dos tratamentos foi realizada em 15/06/2011, quando as plantas de buva atingiram estágio de 3 a 4 folhas, com uso de pulverizador costal pressurizado por CO₂, equipado com pontas do tipo leque Teejet XR 115.02, espaçadas em 0,5 m, e volume de calda de 150 L ha⁻¹, pressão de trabalho de 1,62 kgf cm⁻². Realizaram-se três avaliações visuais de controle (%) aos 15, 30 e 45 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), contudo, estes dados não são apresentados neste trabalho.

No segundo experimento, foram avaliados os cinco biótipos de buva, selecionados do primeiro experimento, em esquema fatorial 5x5. Os biótipos considerados com menor nível de sensibilidade foram denominados de 1, 17 e 20, e os biótipos 2 e 8 foram considerados os de maior sensibilidade ao herbicida chlorimuron-ethyl, cuja localização geográfica, de onde foram coletados, encontra-se na tabela 2.2. Manteve-se a mesma metodologia de semeadura e aplicação dos tratamentos adotada no primeiro experimento. Os tratamentos avaliados, neste

experimento, foram as doses de chlorimuron-ethyl (0,0; 1,56; 3,13; 6,25 e 12,5 g ha⁻¹). Avaliou-se as seguintes variáveis: controle visual (%) e fitomassa seca (g ha⁻¹) da parte aérea da planta, em relação às plantas não tratadas, respectivamente. Para os biótipos 2, 17 e 20 mediram-se as propriedades enzimáticas da ALS, seguindo a metodologia utilizada por Dal Magro et al. (2010).

Tabela 2.2 - Identificação dos locais de coleta dos biótipos de *Conyza* spp. utilizados nas curvas de dose-resposta ao herbicida chlorimuron-ethyl. Passo Fundo, RS, 2011

Código	Município	Coordenadas
Biótipo 1	Pontão	Lat: 28°01'30.10" N Lon: 52°46'22.20" E
Biótipo 2	Pontão	Lat: 28°00'20.40" N Lon: 52°45'12.40" E
Biótipo 8	Coqueiros do Sul	Lat: 28°11'45.50" N Lon: 52°34'44.12" E
Biótipo 17	Coqueiros do Sul	Lat: 28°07'28.00" N Lon: 52°42'47.90" E
Biótipo 20	Tio Hugo	Lat: 28°18'06.51" N Lon: 52°53'41.31" E

As avaliações efetuaram-se visualmente, por dois avaliadores, aos 7, 14 e 21 DAT (dias após a aplicação dos tratamentos), utilizando escala percentual, em que zero representou ausência de sintomas e cem a morte das plantas (FRANS et al., 1986). Após a última avaliação, aos 21 DAT, realizou-se a colheita das plantas a fim de determinar a produção de fitomassa seca da parte aérea. Para isso, submeteu-se o material vegetal à secagem em estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura de 60°C, até se obter a massa constante, quando foi pesado. Os valores de massa foram transformados em valores percentuais. Comparou-se a fitomassa seca, obtida nos tratamentos que receberam herbicida, com a matéria seca média obtida na testemunha, considerada 100%.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro Wilk) e, posteriormente, sucedeu a análise de variância ($p \leq 0,05$) desses dados. No caso de ser constatada significância estatística, foi realizada a análise de regressão para o fator dose e para o fator biótipo, obtendo-se as equações. A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa Scientific Graphing Software, Version 10.0 - Sigmaplot, 2007 -, ajustando-se os dados à equação de regressão sigmoidal do tipo logístico proposto por Streibig (1988):

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

(2.1)

onde: y = porcentagem de controle ou matéria seca da parte aérea ou atividade da enzima ALS; x = dose do herbicida; e a , b e c são parâmetros da curva, de modo que a é a diferença entre o ponto máximo e mínimo da curva, b é a dose que proporciona a porcentagem de 50% de resposta da variável e c a declividade da curva. A partir das equações, determinou-se o C_{50} , GR_{50} e I_{50} (dose necessária para obter 50 % de controle ou para reduzir 50% da matéria da parte aérea da planta ou inibição de 50% da atividade da enzima ALS, em relação às plantas não tratadas, respectivamente) e os intervalos de confiança. Por fim, obteve-se o fator de resistência (FR), dividindo-se o C_{50} , GR_{50} e I_{50} dos biótipos pelo referido valor do biótipo mais sensível.

Para os biótipos 2 (suscetível), 17 e 20 (menos sensíveis ao chlorimuron-ethyl) foram confeccionadas exsiccatas e enviadas ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, onde foram catalogadas e classificadas pela Dr^a. Thais Scotti do Canto Dorow como *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker (TELES; BORGES; HEIDEN, 2013) e, posteriormente, depositadas no herbário, sob os números SMDM 13950, SMDM 13952 e SMDM 13953.

2.3 Resultados e Discussão

No primeiro ensaio, observou-se que todos os biótipos de buva foram controlados eficientemente (100%) com a dose de 20 g ha⁻¹ de chlorimuron-ethyl (dados não apresentados). No entanto, foram observados diferentes níveis de sensibilidade entre os biótipos e em resposta às doses discriminatórias de chlorimuron-ethyl testadas, sendo que, nas menores doses avaliadas, os biótipos 1, 17 e 20 evidenciaram mínima sensibilidade, enquanto os biótipos 2 e 8 foram controlados.

As diferenças de sensibilidade podem caracterizar resistência de nível baixo, que ocorre quando existe diferença no controle entre biótipos resistentes e suscetíveis em dosagens abaixo da dose registrada, mas na dose de registro do herbicida os biótipos são controlados. O que ocorre, na prática, é uma redução da sensibilidade dos biótipos aos herbicidas, mas eles continuam sendo controlados com a dose registrada (indicada na bula), não sendo assim classificados como resistentes. Nestes casos pode-se considerar a

possibilidade de que os biótipos estão evoluindo para resistência, caso a pressão de seleção imposta pelo herbicida continue sendo praticada na área. Além disso, não foi observado incremento no controle dos biótipos quando se associou o glyphosate ao chlorimuron. Isso, possivelmente, deve-se ao fato de que esses biótipos são resistentes ao glyphosate.

Para testar a hipótese de resistência de nível baixo realizou-se o segundo experimento, buscando caracterizar, por meio de curvas de dose-resposta, o comportamento dos biótipos quando tratados com doses de chlorimuron-ethyl abaixo da maior dose registrada, que é de 20 g ha⁻¹ (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Os resultados indicaram que os biótipos de *Conyza* spp. apresentam respostas diferenciadas e com o mesmo padrão, para doses do herbicida chlorimuron-ethyl avaliadas aos 7, 14 e 21 DAT (Figura 2.1).

Na avaliação realizada aos 7 DAT, considerando-se a maior dose aplicada 12,5 g ha⁻¹, observou-se que o maior nível de controle foi evidenciado pelo biótipo 2 (65%), enquanto os biótipos 1 e 8 evidenciaram aproximadamente 55% de controle. Já os biótipos 17 e 20 apresentaram nível de controle entre de 40 e 50%, respectivamente (Figura 2.1). Na avaliação realizada aos 14 DAT, o maior controle foi observado novamente no biótipo 2 (80%), enquanto os biótipos 1, 8 e 20 evidenciaram controle entre 55 e 75%. O biótipo 17 evidenciou novamente o menor controle, aproximadamente 40% (Figura 2.1). Na última avaliação, realizada aos 21 DAT, o maior controle foi observado nos biótipos 2 e 8, acima de 80%, enquanto os biótipos 1 e 20 evidenciaram controle entre 70 e 80%. O biótipo 17 acusou, novamente, o menor controle, aproximadamente de 50% (Figura 2.1).

Os valores do coeficiente de determinação (r^2) variaram de 0,97 a 0,99, demonstrando ajuste ao modelo (Tabela 2.3). A partir das equações de regressão foram calculados os valores de C₅₀ para os biótipos selecionados e, a partir desses, os fatores de resistência (FR). Com a falta da sobreposição do intervalo de confiança (IC) do biótipo de maior sensibilidade (biótipo 2) em relação ao IC dos demais biótipos, foi possível estabelecer o fator de resistência para todas as épocas de avaliação do controle, mas não para todos os biótipos.

Figura 2.1 - Percentual visual de controle (Controle %) e percentual da fitomassa seca (FMS) da parte aérea em relação a dose 0,0 de chlorimuron-ethyl, em cinco biótipos de *Conyza* spp., em função da aplicação de diferentes doses de chlorimuron-ethyl, avaliados aos 7, 14 e 21 dias após o tratamento (DAT). As barras verticais representam 95% de intervalo de confiança. Passo Fundo, RS, 2011, DAT = dias após o tratamento herbicida

Considerando a avaliação realizada aos 7 DAT, observa-se que, para os biótipos 17 e 20, a dose necessária para controlar 50% dos biótipos foi acima de 12,5 g ha⁻¹ de chlorimuron-ethyl e, assim, não foi possível determinar o C₅₀ e, consequentemente, o intervalo de confiança. Para o biótipo 8 houve sobreposição do IC deste biótipo com o do biótipo 2 (o mais sensível), ou seja, o C₅₀ desses biótipos foi semelhante (Tabela 2.3). O biótipo 1 evidenciou FR de 1,54, ou seja, a dose necessária para controlar 50% do biótipo 1 é 1,54 vezes maior do que aquela necessária para controlar o biótipo 2 (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 - Equações de controle, valores de C_{50} com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência (FR) de cinco biótipos de *Conyza* spp., em resposta à aplicação de doses do herbicida chlorimuron-ethyl, aos 7, 14 e 21 dias após o tratamento (DAT). Passo Fundo, RS, 2011

Biótipo	Equação ^{1/}	r ²	C ₅₀ ^{2/}		FR ^{3/}
			g ha ⁻¹	95% IC	
Controle 7 DAT					
1	y = 84,59/[1+(x/ 8,03) ^{-1,23}]	0,99	10,84	8,0 - 13,7	1,54
2	y = 138,61/[1+(x/13,65) ^{-0,87}]	0,99	7,05	6,2 - 7,92	-
8	y = 68,16/[1+(x/4,11) ^{-1,42}]	0,99	8,41	7,9 - 8,96	NS
17	y = 61,23/[1+(x/9,2) ^{-1,01}]	0,98	IFG	-	-
20	y = 71,59/[1+(x/8,36) ^{-1,11}]	0,99	IFG	-	-
Controle 14 DAT					
1	y = 217,17/[1+(x/30,18) ^{-0,88}]	0,99	7,62	4,62 - 10,6	1,75
2	y = 125,15/[1+(x/6,44) ^{-1,04}]	0,99	4,36	4,14 - 4,58	-
8	y = 125,61/[1+(x/7,69) ^{-0,92}]	0,99	4,92	4,21 - 5,63	NS
17	y = 54,23/[1+(x/4,35) ^{-1,22}]	0,98	IFG	-	-
20	y = 281,39/[1+(x/69,74) ^{-0,78}]	0,99	9,74	7,27 - 12,2	2,23
Controle 21 DAT					
1	y = 90,94/[1+(x/3,55) ^{-1,6570}]	0,97	4,02	1,75 - 6,29	1,81
2	y = 97,58/[1+(x/2,16) ^{-2,1282}]	0,99	2,22	1,78 - 2,26	-
8	y = 132,64/[1+(x/6,01) ^{-0,88}]	0,99	3,4	0,44 - 6,36	NS
17	y = 125,01/[1+(x/20,85) ^{-0,68}]	0,99	11,51	8,46 - 14,6	5,18
20	y = 84,96/[1+(x/3,68) ^{-1,51}]	0,98	4,67	2,30 - 7,04	2,10

^{1/} $y = a / [1 + (x / b)^c]$; ^{2/} C_{50} = dose necessária para obter 50% de controle; ^{3/} Fator de resistência ao herbicida chlorimuron-ethyl dos biótipos de *Conyza* spp., obtido da divisão do C_{50} dos biótipos em relação ao biótipo de maior sensibilidade ao chlorimuron-ethyl (2); IFG = Valor fora do intervalo de doses utilizadas no experimento (>12,5 g i.a. ha⁻¹ de chlorimuron-ethyl); NS = Sobreposição do intervalo de confiança do biótipo de maior sensibilidade (2) em relação ao biótipo avaliado indica que não ocorreu diferença significativa entre C_{50} dos biótipos

Com base na avaliação realizada aos 7 DAT, observa-se que para os biótipos 17 e 20 a dose necessária para controlar 50% dos biótipos foi acima de 12,5 g ha⁻¹ de chlorimuron-ethyl e, assim, não foi possível determinar o C_{50} e, conseqüentemente, o intervalo de confiança. Para o biótipo 8 houve sobreposição do IC deste biótipo com o do biótipo 2 (o mais sensível), ou seja, o C_{50} desses biótipos foi semelhante (Tabela 2.3). O biótipo 1 evidenciou FR de 1,54, ou seja, a dose necessária para controlar 50% do biótipo 1 é 1,54 vezes maior do que aquela necessária para controlar o biótipo 2 (Tabela 2.3).

Na avaliação realizada aos 14 DAT, somente para o biótipo 17 a dose necessária para controlar 50% do biótipo foi acima de 12,5 g ha⁻¹ de chlorimuron-ethyl, não sendo possível

determinar o intervalo de confiança, enquanto o C_{50} dos biótipos 2 e 8 não diferiram. Para os biótipos 1 e 20 os FR foram 1,75 e 2,23, respectivamente (Tabela 2.3).

Na última avaliação, realizada aos 21 DAT, o C_{50} dos biótipos 2 e 8 não se diferiram novamente. Para os biótipos 1, 17, e 20 os FR foram 1,81; 5,18; e 2,10, respectivamente, evidenciando que a dose necessária para controlar 50% do biótipo 17 é 5,18 vezes maior do que a necessária para o biótipo 2 (Tabela 2.3).

A variável fitomassa seca permitiu determinar o GR_{50} (Tabela 2.4). Os valores do GR_{50} para os biótipos 1, 17 e 20 foram 0,9; 2,24; e 1,1 $g\ ha^{-1}$ de chlorimuron-ethyl, respectivamente. Levando em conta os valores de FR, igualmente ao observado na variável C_{50} , o biótipo 17 demonstrou a menor sensibilidade ao herbicida chlorimuron-ethyl e o biótipo 2 apresentou a maior sensibilidade (Tabela 2.3 e 2.4).

Tabela 2.4 - Equações de matéria seca da parte aérea, valores de GR_{50} com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência de cinco biótipos de *Conyza* spp., em resposta à aplicação de doses do herbicida chlorimuron-ethyl, aos 21 dias após o tratamento (DAT). Passo Fundo, RS, 2011

Biótipo	Equação ^{1/}	r^2	GR_{50} ^{2/}		FR ^{3/}
			$g\ ha^{-1}$	95% IC	
1	$y = 99,99/[1+(x/0,9)^{0,72}]$	0,99	0,9	0,78 - 1,02	2,81
2	$y = 99,99/[1+(x/0,33)^{0,68}]$	0,99	0,32	0,20 - 0,44	-
8	$y = 99,94/[1+(x/0,74)^{0,75}]$	0,99	0,73	0,35 - 1,11	NS
17	$y = 100,22/[1+(x/2,23)^{0,7824}]$	0,99	2,24	1,63 - 2,85	7,00
20	$y = 100,01/[1+(x/1,12)^{0,7073}]$	0,99	1,1	1,03 - 1,17	3,44

^{1/} $y = a / [1 + (x / b)^c]$; ^{2/} GR_{50} = dose necessária para obter 50% de redução da matéria seca da parte aérea; ^{3/} Fator de resistência ao herbicida chlorimuron-ethyl dos biótipos de *Conyza* spp., obtido da divisão do GR_{50} dos biótipos em relação ao biótipo de maior sensibilidade ao chlorimuron-ethyl (2); IFG = Valor fora do intervalo do gráfico estudado ($>12,5\ g\ i.a.\ ha^{-1}$ de chlorimuron-ethyl); NS = Sobreposição do intervalo de confiança do biótipo de maior sensibilidade (2) em relação ao biótipo avaliado indica que não ocorreu diferença significativa entre GR_{50} dos biótipos

Essa variação entre C_{50} dos biótipos 17 e 2 pode estar relacionada com as práticas de manejo ou com características genéticas, já que os biótipos diferem quanto ao local de origem (Tabela 2.2). Algumas práticas agrícolas tais como: a utilização de herbicidas como único método de controle, a aplicação repetida do mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação, sistemas de produção que não usam rotação de culturas e/ou de herbicidas e a não eliminação de plantas-escape ao controle tendem ao favorecimento e à seleção de plantas daninhas tolerantes ou resistentes (CHRISTOFFOLETI et al., 2008).

As características genéticas entre as espécies podem influenciar suas respostas aos herbicidas (VARGAS et al., 2011). A insensibilidade de plantas daninhas aos herbicidas pode

ser resultado da dificuldade de absorção do produto, em razão de características da lâmina folhar, como rugosidade, pilosidade e composição química da cera epicuticular (SANCHOTENE et al., 2008).

As principais barreiras folhares potenciais à penetração de herbicidas em *Conyza bonariensis* são: alta densidade tricômica, grande espessura da cutícula da face adaxial, baixa densidade estomática na face adaxial e a presença de cera epicuticular, principalmente, na face adaxial (PROCÓPIO et al., 2003). Assim, é provável que estas características presentes nas folhas de *Conyza* spp. possam interceptar as gotas e diminuir a absorção do herbicida. Fatores relacionados ao estágio vegetativo e as condições climáticas antes, durante e logo após a aplicação do herbicida podem afetar a resposta das plantas daninhas aos herbicidas (CHRISTOFFOLETI et al., 2008).

A atividade *in vitro* da enzima ALS, extraída dos biótipos 2, 17 e 20 indicou valores de I_{50} de 0,0002; 0,0027 e 0,0004 μM , respectivamente, resultando em FR de 13,5 para o biótipo 17 e de 2,0 para o biótipo 20 (Figura 2.2).

Os parâmetros cinéticos da enzima ALS não indicaram mudança significativa na afinidade da enzima pelo substrato (K_M) e nem na eficiência da enzima ($V_{\text{máx}}$) para os biótipos de 2, 17 e 20. Pesquisas realizadas com ALS de *E. heterophylla* (VARGAS et al., 1999), *Lactuca serriola* (EBERLEIN et al., 1997) e *Scirpus juncoides* (TANAKA, 2003) demonstraram resultados semelhantes, nos quais a cinética da enzima do biótipo resistente ao herbicida inibidor de ALS não foi alterada.

Na maioria dos casos de resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS, o mecanismo da resistência é decorrente de alteração da ALS no sítio de ação do herbicida, que a torna insensível (DAL MAGRO et al., 2010; YU et al., 2010; BOZIC et al., 2012). As alterações no local de ação do herbicida, geralmente, decorrem de mutações nos genes que codificam a enzima (DEVINE; SHUKLA, 2000), resultando em redução da afinidade da enzima com os inibidores (herbicidas), porém com ausência ou reduzida perda da função enzimática (TRANEL; WRIGHT, 2002). No caso do biótipo 17, verificou-se redução da inibição da ALS pelo herbicida chlorimuron sem nenhum efeito sobre as propriedades cinéticas da ALS. Já os biótipos 2 e 20 tiveram a atividade da ALS inibida igualmente pelo chlorimuron (Figura 2.2). É provável que tenha ocorrido alguma alteração na enzima ALS do biótipo 17, já que este apresentou a menor sensibilidade ao chlorimuron, conforme observado por Tranel e Wright (2002).

Figura 2.2 - Porcentagem de redução na atividade da enzima acetolactato sintase (ALS) *in vitro*, em função de doses do herbicida chlorimuron-ethyl, em três biótipos de *C. sumatrensis* (2, 17 e 20). Os pontos representam os valores médios das repetições e as barras verticais 95% de intervalo de confiança. Passo Fundo, RS, 2011. I_{50} = concentração chlorimuron-ethyl necessário para inibir 50% da atividade da enzima ALS. FR = Fator de resistência calculado pela divisão do I_{50} do biótipo resistente pelo correspondente ao do biótipo suscetível

Segundo os critérios para relatos oficiais estatísticos de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas, um alto nível de resistência é classificado quando o $FR \geq 10$ (GAZZIERO et al., 2009). O I_{50} do biótipo 17 foi 13,5 vezes superior ao do biótipo 2, atendendo o critério para ser considerado resistente, contudo a dose de controle do biótipo 17 está abaixo da dose registrada, conforme observado no primeiro estudo deste trabalho, classificando, assim, a resistência do biótipo 17 como sendo resistência de nível baixo. A buva sempre foi controlada de forma eficiente por diferentes herbicidas inibidores da ALS, não sendo considerada uma espécie originalmente tolerante a esses herbicidas.

2.4 Conclusões

Todos os biótipos avaliados de *Conyza* spp. foram controlados, eficientemente, com a dose de 20 g ha^{-1} de chlorimuron-ethyl, descartando a hipótese de resistência. Entretanto,

existe diferença nos níveis de sensibilidade entre os biótipos de buva em resposta a doses menores que 20 g ha⁻¹ de chlorimuron-ethyl. O I₅₀ dos biótipos 2, 17, e 20 foi de 0,0002; 0,0027 e 0,0004 µM de chlorimuron, respectivamente, não sendo observadas alterações nos parâmetros cinéticos (K_M e V_{máx}) da enzima ALS. O biótipo 17 apresentou FR de 13,5, evidenciando resistência de nível baixo ao chlorimuron. Assim sendo, as falhas de controle de *Conyza sumatrensis*, observadas nas lavouras do Rio Grande do Sul, podem ser resultado de práticas culturais inadequadas como: uso de doses do herbicida chlorimuron-ethyl abaixo da indicada na bula do produto e/ou aplicação em estágio vegetativo avançado e/ou falhas na tecnologia de aplicação.

Os resultados deste trabalho permitem sugerir que, em situações nas quais o chlorimuron-ethyl é usado em associação com o glyphosate, para controle de biótipos de buva resistentes ao glyphosate, sua dose deve ser a máxima recomendada (20 g ha⁻¹) e a aplicação deve se realizada quando a buva estiver em estágio vegetativo de 3 a 4 folhas. Caso contrário, estes biótipos serão selecionados com grande possibilidade de se tornarem resistentes no futuro devido à utilização intensiva de herbicidas inibidores da ALS para controle de buva resistente ao glyphosate.

Referências

- BOZIC, D.; SARIC, M.; MALIDZA, G.; RITZ, C.; VRBNICANIN, S. Resistance of sunflower hybrids to imazamox and tribenuron-methyl. **Crop Protection**, Guildford, v. 39, p. 1-10, 2012.
- BRUCE, J.; KELLS, J. Horseweed (*C. canadensis*) control in no-tillage soybeans (*Glycine max*) with preplant and preemergence herbicides. **Weed Technology**, Champaign, v. 4, n. 3, p. 642-647, 1990.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ OVEJERO, R.F.; NOCLAI, M.; VARGAS, L. CARVALHO, S.J.P. do; CAETANEO, A.C.; CARVALHO, J.C.; MOREIRA, M.S. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3 ed. rev. Atual. – Piracicaba: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas – HARAC-BR, 2008. 120p.
- DAL MAGRO, T.; REZENDE, S.T. de; AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L.; SILVA, A.A. da; FALKOSKI, D.L. Propriedades enzimáticas da enzima ALS de *Cyperus difformis* e mecanismo de resistência da espécie ao herbicida pyrazosulfuron-ethyl. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 12, p. 2439-2445, 2010.

DEVINE, M.D.; SHUKLA, A. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. **Crop Protection**, Guildford, v. 19, p. 881-889, 2000.

EBERLEIN, C.V.; GUTTIERI, M.J.; MALLORY-SMITH, C.A.; THILL, D.C.; BAERG, R.J. Altered acetolactate synthase activity in ALS-inhibitor resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). **Weed Science**, Champaign, v. 45, p. 212-217, 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2013. 353p.

FRANS, R., TALBERT, R.; MARX, D.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. In: **Research methods in weed science**. CAMPER, N.D. 3rd ed. Champaign, IL: Southern Weed Science Society, 1986. p.29-46.

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

HAO, J.H.; QIANG, S.H.; LIU, Q-Q.; CAO, F. Reproductive traits associated with invasiveness in *Conyza sumatrensis*. **Journal of Systematics and Evolution**, Beijing, v. 47, n. 3, p. 245-254, 2009.

HEAP, I. **International survey of resistant weeds**. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>. Acesso em: 20 fev. 2013.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Paulo: BASF, 1999. v. 2. 978p.

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

PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, E.A.; SILVA, E.A.M.; SILVA, A.A.; RUFINO, R.J.N.; SANTOS, J.B. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III - *Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2003.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6.ed. Londrina, 2011. 696p.

RUBIM, B. **Herbicide resistance in weeds and crops, progress and prospects**. In: CASELEY, J. C.; CUSSANS, G. W.; ATKIN, R. K. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 387-414.

SANCHOTENE, D.M.; DORNELLES, S.B.; PERINI, F.L.; GONÇALVES, R.A.; ESTEVO, A.P. Manejo químico de plantas daninhas tolerantes ao glyphosate na cultura da soja. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia da PUCRS**, Uruguaiana, v. 15, n. 2, p. 77-84, 2008.

SANTOS, G. **Resistência múltipla ao glyphosate e ao chlorimuron-ethyl em biótipos de *Conyza sumatrensis***. 2012. 87p. Dissertação (Mestrado em Produção de Plantas) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.

STREIBIG, J.C. Herbicide bioassay. **Weed Research**, Oxford, v. 28, n. 1, p. 479-484, 1988.
TANAKA, Y. Properties of acetolactate synthase from sulfonylurea-resistant *Scirpus juncooides* Roxb. var. *ohwianus* T. Koyama. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 77, p. 147-153, 2003.

TELES, A.M.; BORGES, R.A.X.; HEIDEN, G. *Conyza* In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2013. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB5288>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

THEBAUD, C.; ABBOTT, R.J. Characterization of invasive *Conyza* species (Asteraceae) in Europe: quantitative trait and isozyme analysis. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 82, n. 1, p. 360-368, 1995.

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

VARGAS, L.; DA SILVA, A.A.; BORÉM, A.; REZENDE, S.T. DE; FERREIRA, F.A.; SEDIYAMA, T. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Viçosa: JARD Prod., 1999. 131p.

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

VARGAS, L.; NOHATTO, M.A.; AGOSTINETTO, D.; BIANCHI, M.A.; GONÇALVES, E.M.; TOLEDO, R.E. Resposta de biótipos de *Euphorbia heterophylla* a doses de glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n. spe, p. 1121-1128, 2011.

YU, Q.; HAN, H.; VILA-AIUB, M.M.; POWLES, S.B. AHAS herbicide resistance endowing mutations: effect on AHAS functionality and plant growth. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.61, n.14, p.3925-3934, 2010.

3 ESTÁDIO DE DESENVOLVIMENTO E SUPERFÍCIE FOLIAR REDUZEM A EFICIÊNCIA DE CHLORIMURON-ETHYL E GLYPHOSATE EM *Conyza sumatrensis*

Resumo

Nos Estados do Rio Grande do Sul e Paraná, há frequentes relatos de falhas de controle de *C. sumatrensis* com chlorimuron-ethyl em lavouras de soja. Assim, os objetivos deste trabalho são caracterizar morfológicamente as folhas de *C. sumatrensis* e avaliar o controle de biótipos em três estádios de desenvolvimento com diferentes doses de chlorimuron-ethyl, glyphosate ou sua associação. Realizou-se dois estudos com experimentos em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. No primeiro estudo, coletou-se e identificou-se os biótipos de buva. No segundo estudo, avaliou-se a respostas de biótipos ao herbicida, às doses e aos estádios de desenvolvimento. As doses herbicidas foram: 0,0; 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200 e 400, representadas em porcentagem da dose de registro dos herbicidas, aplicadas em três estádios de desenvolvimento dos quatro biótipos de *C. sumatrensis*. As variáveis analisadas foram controle, fitomassa seca da parte aérea e as densidades tricômica e estômática. Por fim, avaliou-se a superfície foliar dos biótipos nos diferentes estádios de desenvolvimento. Os resultados obtidos demonstram que os estádios de desenvolvimento afetam a eficácia dos herbicidas, sendo que, quanto mais avançado o estágio menor a eficácia de controle. A exceção foi o biótipo 5 de *C. sumatrensis* que apresentou resistência ao herbicida glyphosate, independentemente do estágio de desenvolvimento deste no momento da aplicação do herbicida. Houve variação no número de tricomas entre os biótipos em todos os estádios de desenvolvimento. Já, o número de estômatos diminuiu com o desenvolvimento em todos os biótipos.

Palavras-chave: Buva; ALS; EPSPs; Tricomas; Estômatos

Abstract

In the states of Rio Grande do Sul and Paraná, there are frequent reports of control failures of *C. sumatrensis* with chlorimuron-ethyl in soybean crops. The objectives of this study are to characterize, morphologically, the leaves of *C. sumatrensis* and evaluate biotypes control in three stages of development with different doses of chlorimuron-ethyl, glyphosate or its association. It was conducted two studies with experiments in a greenhouse in a completely randomized design with four replications. In the first study, the horseweed biotypes were collected and identified. In the second study, evaluated the responses of herbicide, doses and stages of development. The herbicide rates were 0.0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 and 400, represented as a percentage of the dose registration of herbicides applied at three stages of development of the four biotypes of *C. sumatrensis*. The variables analyzed were control, dry weight of shoot and trichome and stomatal densities. Finally, we evaluated the leaf surface of biotypes in different stages of development. The results show that the developmental stages affect the effectiveness of the herbicide, whereas the more advanced the stage the less effective is the control. The exception was the biotype 5 *C. sumatrensis* that presented resistance to glyphosate, regardless of the stage of development of this at the time of herbicide application. There was variation in the number of trichomes among biotypes at all stages of development. Already, the diminished number of stomata in all the development biotypes.

Keywords: Horseweed; ALS; EPSPs; Trichomes; Stomata

3.1 Introdução

A *C. sumatrensis* é, uma magnoliopsidas herbácea, identificada com planta daninha em lavouras de soja no Brasil, considerada, junto com a *C. canadiensis*, as espécies de buva mais difundidas em todo o mundo (THEBAUD; ABBOTT, 1995). Esse gênero apresenta plantas com elevado potencial competitivo e dispersivo, podendo causar danos diretos e indiretos às culturas. A cultura da soja, cultivada em sistema de semeadura direta, apresentou perdas de produtividade de 83% quando na presença de 150 plantas de *C. canadensis* por m² (BRUCE; KELLS, 1990).

A buva (*Conyza* spp.) é uma das principais plantas daninha em lavouras de soja na região Sul do Brasil. Essa espécie foi selecionada nas lavouras de soja Roundup Ready (RR)[®], devido ao uso repetido de glyphosate que resultou no aumento da pressão de seleção. Já foi comprovada a resistência ao glyphosate em biótipos de *C. bonariensis* e *C. canadenses*, no Rio Grande do Sul (VARGAS et al., 2007; LAMEGO; VIDAL, 2008), e de *C. sumatrensis* no Paraná (SANTOS, 2012).

O mecanismo de ação do glyphosate é bastante singular por ser o único herbicida capaz de inibir, especificamente, a 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), a qual é a responsável pela reação de conversão do chiquimato-3-fosfato e fosfoenolpiruvato em EPSP e fosfato inorgânico na rota do ácido chiquímico (GEIGER; FUCHS, 2002). Com o surgimento de resistência a esse mecanismo de ação outros herbicidas passaram a ser associados ao glyphosate para melhorar o controle de *Conyza* spp., entre eles o chlorimuron-ethyl. Esse herbicida atua na inibição da acetolactato sintase (ALS), na interrupção da síntese de proteína, que por sua vez interfere na síntese de DNA e no crescimento celular (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Até o momento, foi identificado um caso de *C. bonariensis* resistente aos inibidores de ALS em Israel. Já para *C. canadensis* foram identificados sete casos, sendo um caso de resistência múltipla em Israel; quatro nos Estados Unidos, em diferentes Estados, com dois casos de resistência múltipla em dois estados; um na Polônia e um no Canadá com resistência múltipla (HEAP, 2013). A resistência múltipla ocorre quando um biótipo possui dois ou mais mecanismos de resistência distintos que conferem o comportamento resistente a um ou vários herbicidas com diferentes mecanismos de ação (CHRISTOFFOLETI et al., 2008). Para *C. sumatrensis* foram identificados dois casos de resistência à ALS no Brasil, um deles resistência múltipla (HEAP, 2013).

Além da resistência dos biótipos de buva aos inibidores da EPSPs e ALS, outro fator que interfere muito no manejo desta espécie é o estágio de desenvolvimento das plantas no momento da aplicação do herbicida (KOGGER et al., 2004). O estágio de desenvolvimento, a morfologia, a absorção, a translocação, as condições ambientais, a época de aplicação e o metabolismo são importantes fatores que determinam a seletividade do herbicida nas plantas. Vangessel et al. (2009) avaliou a interação entre doses de glyphosate e o estágio de desenvolvimento da buva (biótipo resistente) e observou que em plantas jovens (estádios iniciais) os níveis de controle são melhores. Segundo Moreira et al. (2010), quanto mais avançado o estágio das plantas de buva maior a ocorrência de brotações laterais após a aplicação dos herbicidas.

Outro fator que pode influenciar a sensibilidade dos herbicidas nos biótipos de *Conyza* spp. estão relacionados as características anatômicas da folha. Segundo Procópio et al. (2003), as principais barreiras folhares potenciais à penetração de herbicidas em *Conyza bonariensis* são: alta densidade tricomática, grande espessura da cutícula da face adaxial, baixa densidade estomática na face adaxial e a presença de cera epicuticular, principalmente na face adaxial. Assim, é provável que estas características, presentes nas folhas de *Conyza* spp., possam interceptar e/ou diminuir a absorção das gotas do herbicidas pulverizado, impedindo que estas alcancem a epiderme propriamente dita, conferindo maior ou menor grau de sensibilidade aos biótipos tratados.

Assim, o objetivo deste trabalho é caracterizar morfológicamente as folhas de *C. sumatrensis* e avaliar o controle, em três estádios de desenvolvimento com diferentes doses de chlorimuron-ethyl, glyphosate e a associação desses herbicidas.

3.2 Material e Métodos

Foram conduzidos dois estudos em casa-de-vegetação, na Embrapa Trigo, em Passo Fundo/RS (S 28°15'46" e W 52°24'24", a 684m de altitude). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. No primeiro estudo, foram coletados quatro biótipos de buva identificados na Tabela 3.1. Confeccionou-se exsicatas desses biótipos que foram enviadas ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, onde foram catalogadas e classificadas como *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker (TELES; BORGES; HEIDEN, 2013) e, posteriormente, depositadas no herbário, sob os números SMDM 13950, SMDM 13951, SMDM 13952 e SMDM 13953.

Tabela 3.1 - Identificação do município, das coordenadas do local de coleta dos biótipos de *Conyza sumatrensis* e a resposta desses biótipos à aplicação dos herbicidas chlorimuron-ethyl e glyphosate, avaliados no primeiro experimento realizado em 2011. Passo Fundo, RS, 2011

Código	Município	Coordenadas	Chlorimuron-ethyl	Glyphosate
Biótipo 2	Pontão	Lat: 28°00'20.40" N Lon: 52°45'12.40" E	S	S
Biótipo 5	Carazinho	Lat: 28°18'06.51" N Lon: 52°53'41.31" E	S	R
Biótipo 17	Coqueiros do Sul	Lat: 28°07'28.00" N Lon: 52°42'47.90" E	MS	MS
Biótipo 20	Tio Hugo	Lat: 28°18'06.51" N Lon: 52°53'41.31" E	MS	MS

S=Suscetível; R=Resistente e MS=Menor Sensibilidade

No segundo estudo, a semeadura ocorreu no dia 27/04/2012, em copos plásticos (unidades experimentais) com capacidade para 500 mL, contendo substrato da Gardem Plus Turfa Fértil®, composto de turfa e calcário calcítico, suplementado com minerais (N=0,02%; P₂O₅=0,08% e K₂O=0,04%). As características técnicas do substrato eram: pH = 5,8 ± 0,5; Condutividade elétrica = 1,5 ± 0,3; Umidade máxima (massa/massa) = 55%; Densidade em base seca = 290 kg m⁻³; Capacidade de retenção de água (C.R.A.) = 60% em massa.

Após a emergência, ocorrida em 06/05/2012, foi realizado desbaste, deixando três plantas por copo. Nesse estudo foi avaliada a resposta de cada biótipo *C. sumatrensis* (2, 5, 17 e 20) (Tabela 3.1) aos herbicidas chlorimuron-ethyl, glyphosate e associação desses, em oito doses: 0,0; 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200 e 400 % da dose de registro de chlorimuron-ethyl, 20 g ha⁻¹ e de glyphosate, 720 g e.a. ha⁻¹ (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). No tratamento com chlorimuron-ethyl isolado adicionou-se 0,05% v v⁻¹ de Assist® (adjuvante hidrocarboneto alifático 756g L⁻¹). Os tratamentos herbicidas foram aplicados em três estádios de desenvolvimento (altura 0,5 a 1 cm e 3 a 4 folhas; altura 1 a 2 cm e 6 a 7 folhas e; altura 10 a 12 cm e 12 a 14 folhas), avaliando separadamente cada biótipo.

As aplicações dos tratamentos ocorreram nos dias 13/06/2012, 02/07/2012 e 23/07/2012, para ao primeiro, segundo e terceiro estádios de desenvolvimento dos biótipos, respectivamente. Os tratamentos foram aplicados com pulverizador costal pressurizado por CO₂, equipado com pontas do tipo leque Teejet XR 115.02, espaçadas em 0,5 m, e volume de calda de 150 L ha⁻¹, pressão de trabalho de 1,62 kgf cm⁻². No momento da aplicação, a temperatura média variou de 21 á 27 °C, a umidade relativa variou de 60 á 77% e a intensidade dos ventos de 1,2 á 2,5 km h⁻¹.

As avaliações de controle foram realizadas visualmente, por dois avaliadores, aos 28 DAT (dias após a aplicação dos tratamentos), utilizando escala percentual, onde zero representou ausência de sintomas e cem a morte das plantas (FRANS et al., 1986). Após a avaliação, foi realizada a colheita das plantas para determinar a produção de fitomassa seca da parte aérea. Para isso, o material vegetal foi colhido e submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar à 60°C, até se obter a massa constante, quando foi pesado o material. Transformaram-se os valores de peso para valores percentuais. Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade (teste de Shapiro Wilk) e, posteriormente, foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$). Para o fator quantitativo avaliou-se a significância da equação para cada biótipo de buva pela caracterização distinta de cada um deles. Para ajuste dos dados, utilizou-se o auxílio do programa Scientific Graphing Software, Version 10.0 - Sigmaplot, 2007 -, à equação de regressão sigmoidal do tipo logístico proposto por Streibig (1988):

$$y = a / [1 + (x / b)^c] \quad (3.1)$$

em que: y = porcentagem de controle e ou matéria seca da parte aérea; x = dose do herbicida; e a , b e c são parâmetros da curva, de modo que a é a diferença entre o ponto máximo e mínimo da curva, b é a dose que proporciona a porcentagem de 50% de resposta da variável e c a declividade da curva. A partir das equações determinou-se o C_{50} e GR_{50} (dose necessária para obter 50 % de controle e ou para reduzir 50% da matéria da parte aérea da planta), e os intervalos de confiança entre os estádios dos biótipos. Por fim, obteve-se o fator de sensibilidade (FS), dividindo-se o C_{50} e GR_{50} da menor sensibilidade pelo referido valor da maior sensibilidade para cada herbicida nos biótipos.

No estudo da superfície foliar, foram coletadas, no momento da aplicação dos herbicidas, as folhas mais desenvolvidas dos biótipos, nos três estádios de desenvolvimento avaliados. Na sequência, as folhas foram fixadas por 48 horas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético e etanol 70%, 5:5:90, v/v) e conservadas em álcool 70% (KRAUS et al., 1998), até a montagem das lâminas para o estudo. As lâminas foram montadas seccionando-se uma área de aproximadamente 5 cm² da porção mediana das folhas, utilizando-se o método da impressão da epiderme com cola instantânea (RODELLA et al., 1983). Posteriormente, as lâminas foram fotografadas em microscópio Motic BA200, nas objetivas de 10 para os tricomas e 40 para os estômatos, para contagem dos respectivos números e cálculo da

desindade. Nas avaliações de cada biótipo/estádio foram utilizadas cinco fotos da superfície adaxial.

Os dados obtidos foram verificados quanto à homogeneidade da variância e, posteriormente, submetidos à ANOVA ($p \leq 0,05$), utilizando o software “ASSISTAT 7.6 BETA” (SILVA; AZEVEDO, 2009) e quando se verificou efeito significativo, suas médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de médias de Scott-Knott ($p < 0,05$).

3.3 Resultados e Discussão

O resultado da análise de variância para a porcentagem de controle e porcentagem de fitomassa seca da parte aérea indicou que houve interação entre os tratamentos herbicidas, doses e estádios de desenvolvimento em todos os biótipos (dados não apresentados). Entretanto, para a melhor apresentação dos resultados, os gráficos foram individualizados para cada herbicida nos biótipos. O teste de Shapiro Wilk confirmou a normalidade dos dados não sendo necessária a transformação.

A porcentagem de controle e a porcentagem de fitomassa seca da parte aérea, para os biótipos de *C. sumatrensis* 2, 5, 17 e 20, avaliados em três estádios de desenvolvimento, após a aplicação de doses dos herbicidas chlorimuron-ethyl, glyphosate e a associação desses herbicidas, foram ajustadas à equação de regressão sigmoideal do tipo logístico em todas as avaliações. Para a porcentagem de controle e a porcentagem de fitomassa seca da parte aérea os valores do coeficiente de determinação (r^2) variaram de 0,93 a 0,99 e 0,82 a 0,99, respectivamente, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo. A partir das equações, foram calculados os valores de C_{50} , GR_{50} e o FS, sendo esse calculado a partir dos valores de C_{50} , GR_{50} , para cada herbicida e estágio de desenvolvimento, entre os biótipos avaliados (Tabelas 3.2 e 3.3).

Tabela 3.2 - Percentual de controle pelas equações de regressões (Y) em função das doses dos herbicidas (X) (HERB), estádios de controle (EST), valores de C_{50} com intervalos de confiança (IC, 95%) e fator de sensibilidade (FS) em quatro biótipos de *C. sumatrensis*, em resposta à aplicação de doses dos herbicidas chlorimuron-ethyl (CHLOR), glyphosate (GLYPH) e à associação deles (ASSOC), avaliados aos 28 dias após o tratamento (DAT). Passo Fundo, RS, 2012

	HERB ^{1/}	EST ^{2/}	Equações de Regressão ^{3/}	r^2	C_{50} ^{4/}		FS ^{5/}
					% D R ha ⁻¹ ^{6/}	IC	
BIÓTIPO 2	CHLOR	1	$Y = 100/[1+(X/ 4,99)^{-6,52}]$	0,99	4,99	4,1 - 5,9	–
		2	$Y = 150,52/[1+(X/ 148,16)^{-0,41}]$	0,99	26,79	22,4 - 31,1	5,4
		3	$Y = 102,04/[1+(X/ 50,91)^{-0,76}]$	0,97	48,32	39,9 - 56,7	9,7
	GLYPH	1	$Y = 102,33/[1+(X/ 24,75)^{-1,27}]$	0,99	23,88	21 - 27	–
		2	$Y = 104/[1+(X/ 32,85)^{-1,08}]$	0,97	30,61	23 - 39	NS
		3	$Y = 96,75/[1+(X/ 33,73)^{-1,10}]$	0,99	33,85	30 - 41	1,4
	ASSOC	1	$Y = 113,13/[1+(X/ 2,74)^{-0,44}]$	0,99	1,61	1,6 - 1,62	–
		2	$Y = 100,46/[1+(X/ 3,79)^{-5,01}]$	0,99	3,79	1,7 - 5,8	2,35
		3	$Y = 104,71/[1+(X/ 25,88)^{-0,97}]$	0,98	23,58	12,1 - 35	14,6
BIÓTIPO 5	CHLOR	1	$Y = 100/[1+(X/ 4,05)^{-25,07}]$	0,99	4,05	2 - 6,1	–
		2	$Y = 96,97/[1+(X/ 20,4)^{-0,96}]$	0,95	21,78	13,6 - 30	5,38
		3	$Y = 90,73/[1+(X/ 27,02)^{-0,88}]$	0,98	34,09	30,9 - 37,3	8,42
	GLYPH	1	$Y = 61,49/[1+(X/ 53,29)^{-0,88}]$	0,98	281,6	276 - 287	–
		2	$Y = 56,24/[1+(X/ 69,67)^{-1,26}]$	0,99	362,3	358 - 367	1,29
		3	$Y = 61,09/[1+(X/ 104,36)^{-1,09}]$	0,99	IFG	–	–
	ASSOC	1	$Y = 100/[1+(X/ 2,37)^{-5,69}]$	0,99	2,37	2,36 - 2,38	–
		2	$Y = 107,47/[1+(X/ 7,66)^{-0,78}]$	0,99	6,41	5,2 - 7,6	2,7
		3	$Y = 100,8/[1+(X/ 39,83)^{-1,23}]$	0,99	39,17	33,5 - 44,8	16,5
BIÓTIPO 17	CHLOR	1	$Y = 102,84/[1+(X/ 4,7)^{-1,08}]$	0,98	4,47	3,5 - 5,8	–
		2	$Y = 83,86/[1+(X/ 48,53)^{-0,8}]$	0,98	79,16	74,4 - 83,9	17,1
		3	$Y = 76,01/[1+(X/ 48,29)^{-1,02}]$	0,98	91,76	85,1 - 98,4	20,5
	GLYPH	1	$Y = 136,95/[1+(X/ 90,52)^{-0,73}]$	0,98	42,63	36,1 - 49,1	–
		2	$Y = 129,27/[1+(X/ 101,14)^{-0,77}]$	0,97	55,66	50,2 - 61,2	1,3
		3	$Y = 90,84/[1+(X/ 56,03)^{-1,07}]$	0,99	67,69	61,6 - 7,8	1,6
	ASSOC	1	$Y = 100,23/[1+(X/ 4,88)^{-2,69}]$	0,99	4,88	4,5 - 5	–
		2	$Y = 105,98/[1+(X/ 12,04)^{-1,09}]$	0,98	10,86	9 - 12,75	2,2
		3	$Y = 65,68/[1+(X/ 53,58)^{-1,08}]$	0,99	157,37	146 - 169	32,2
BIÓTIPO 20	CHLOR	1	$Y = 100,12/[1+(X/ 3,61)^{-2,62}]$	0,99	3,61	3,1 - 4,2	–
		2	$Y = 84,63/[1+(X/ 20,26)^{-1,18}]$	0,93	27,68	21,8 - 33,6	4,9
		3	$Y = 83,08/[1+(X/ 36,84)^{-1,02}]$	0,97	55,21	46,5 - 64	15,3
	GLYPH	1	$Y = 756,39/[1+(X/ 36,99)^{-0,43}]$	0,96	80,41	77 - 83	–
		2	$Y = 116,51/[1+(X/ 166,54)^{-0,73}]$	0,98	112,96	106 - 120	1,4
		3	$Y = 81,24/[1+(X/ 85,09)^{-0,96}]$	0,99	139,22	134 - 144	1,7
	ASSOC	1	$Y = 104,38/[1+(X/ 5,57)^{-0,18}]$	0,97	3,5	0,7 - 6,3	–
		2	$Y = 105,39/[1+(X/ 11,32)^{-1,02}]$	0,98	10,24	8,7 - 11,8	2,9
		3	$Y = 78,04/[1+(X/ 42,08)^{-0,99}]$	0,99	75,28	68,5 - 82,1	21,5

^{1/} Herbicidas: chlorimuron-ethyl, glyphosate e associação de chlorimuron-ethyl e glyphosate, sendo oito porcentagens das doses dos herbicidas: 0, 6,25% D, 12,5% D, 25% D, 50% D, 100% D, 200% D e 400% D, em que o D foi a dose de registro dos herbicidas chlorimuron-ethyl, 20 g ha⁻¹ e glyphosate, 720 g e.a. ha⁻¹; ^{2/} Estádios de desenvolvimento na aplicação dos herbicidas: 1 = altura 0,5 a 1 cm e 3 a 4 folhas, 2 = altura 1 a 2 cm e 6 a 7 folhas e 3 = altura 10 a 12 cm e 12 a 14 folhas, sendo folhas completamente expandidas; ^{3/} $Y = a / [1 + (X / b)^c]$; ^{4/} C_{50} = dose necessária para obter 50% de controle; ^{5/} Fator de sensibilidade aos herbicidas pelos biótipos de *Conyza sumatrensis*, obtido da divisão do C_{50} dos biótipos em relação ao estágio de maior sensibilidade do biótipo para cada um dos herbicidas (primeiro estágio); ^{6/} Porcentagem da dose recomendada por hectare; ^{NS} Para cada herbicida, a sobreposição do intervalo de confiança do estágio de maior sensibilidade do biótipo, indica que não ocorreu diferença significativa entre C_{50} para os estádios avaliados; ^{IFG} Valor fora do intervalo (X) do gráfico avaliado

Tabela 3.3 - Percentual de fitomassa seca nas equações de regressões (Y) em função de doses dos herbicidas (X) (HERB), estádios de controle (EST), valores de C_{50} com intervalos de confiança (IC, 95%) e fator de sensibilidade (FS) em quatro biótipos de *C. sumatrensis*, em resposta à aplicação de doses crescentes dos herbicidas chlorimuron-ethyl (CHLOR), glyphosate (GLYPH) e à associação deles (ASSOC), avaliados aos 28 dias após o tratamento (DAT). Passo Fundo, RS, 2012

	HERB ^{1/}	EST ^{2/}	Equações de Regressão ^{3/}	r ²	GR ₅₀ ^{4/}		FS ^{5/}
					% Dose ha ⁻¹	95% IC	
BIÓTIPO 2	CHLOR	1	$Y = 100/[1+(X/1)^{0,12}]$	0,99	1,00	0,9 - 1,1	–
		2	$Y = 100,01/[1+(X/1,27)^{0,22}]$	0,97	1,27	0,8 - 1,8	NS
		3	$Y = 100,13/[1+(X/28,2)^{0,0,34}]$	0,98	28,41	21,2 - 35,6	28,4
	GLYPH	1	$Y = 100/[1+(X/4,76)^{0,47}]$	0,98	4,76	3,5 - 6,0	–
		2	$Y = 100,1/[1+(X/6,01)^{0,36}]$	0,97	6,01	3,4 - 8,6	NS
		3	$Y = 100,51/[1+(X/53,93)^{0,38}]$	0,92	55,39	43,9 - 66,8	11,6
	ASSOC	1	$Y = 100/[1+(X/0,88)^{0,11}]$	0,99	0,88	0,84 - 0,92	–
		2	$Y = 100,01/[1+(X/1,14)^{0,22}]$	0,99	1,14	0,93 - 1,3	1,3
		3	$Y = 100,58/[1+(X/13,47)^{0,53}]$	0,98	13,76	10,6 - 16,9	15,6
BIÓTIPO 5	CHLOR	1	$Y = 100/[1+(X/1,34)^{0,17}]$	0,99	1,34	1,1 - 1,6	–
		2	$Y = 99,97/[1+(X/1,89)^{0,24}]$	0,95	1,89	1,4 - 2,3	NS
		3	$Y = 101,83/[1+(X/89,92)^{0,54}]$	0,95	89,92	85,5 - 106,7	67,1
	GLYPH	1	$Y = 102,35/[1+(X/18,72)^{0,73}]$	0,87	19,94	12 - 28	–
		2	$Y = 102,02/[1+(X/124,13)^{0,54}]$	0,82	133,49	114 - 153	6,69
		3	$Y = 100,75/[1+(X/7022)^{0,39}]$	0,87	IFG	–	–
	ASSOC	1	$Y = 100/[1+(X/0,9)^{0,14}]$	0,99	0,90	0,7 - 1,1	–
		2	$Y = 100,01/[1+(X/1,16)^{0,2}]$	0,94	1,16	0,8 - 1,6	NS
		3	$Y = 100,67/[1+(X/24,51)^{0,44}]$	0,97	25,25	18,9 - 31,6	28,05
BIÓTIPO 17	CHLOR	1	$Y = 100,01/[1+(X/1,06)^{0,14}]$	0,93	1,06	0,8 - 1,3	–
		2	$Y = 100,16/[1+(X/16,61)^{0,32}]$	0,82	16,77	13,1 - 20,4	15,8
		3	$Y = 102,65/[1+(X/148,62)^{0,48}]$	0,91	165,32	153 - 177	155,9
	GLYPH	1	$Y = 100,12/[1+(X/6,01)^{0,48}]$	0,96	6,03	3,5 - 8,5	–
		2	$Y = 100,87/[1+(X/61,5)^{0,52}]$	0,97	63,56	55,9 - 71,2	10,5
		3	$Y = 101,14/[1+(X/108,2)^{0,61}]$	0,95	112,25	102 - 123	18,6
	ASSOC	1	$Y = 100,01/[1+(X/0,98)^{0,26}]$	0,99	0,98	0,7 - 1,3	–
		2	$Y = 100/[1+(X/1,34)^{0,19}]$	0,99	1,34	1,0 - 1,5	NS
		3	$Y = 100,24/[1+(X/105,14)^{0,51}]$	0,96	106,12	80,8 - 131,5	108,3
BIÓTIPO 20	CHLOR	1	$Y = 100/[1+(X/0,93)^{0,16}]$	0,99	0,93	0,7 - 1,2	–
		2	$Y = 100,04/[1+(X/7,66)^{0,3}]$	0,99	7,68	6,0 - 9,4	8,3
		3	$Y = 101,47/[1+(X/38,52)^{0,46}]$	0,93	41,04	28,3 - 53,7	44,1
	GLYPH	1	$Y = 100,25/[1+(X/8,74)^{0,54}]$	0,98	8,82	6,7 - 11,0	–
		2	$Y = 100,59/[1+(X/52,31)^{0,52}]$	0,99	53,49	48,0 - 58,9	6,1
		3	$Y = 100,5/[1+(X/152,83)^{0,44}]$	0,97	156,3	145 - 163	17,7
	ASSOC	1	$Y = 100/[1+(X/0,72)^{0,16}]$	0,99	0,72	0,66 - 0,78	–
		2	$Y = 100,01/[1+(X/2,2)^{0,21}]$	0,85	2,20	1,3 - 3,1	3,05
		3	$Y = 99,87/[1+(X/47,85)^{0,52}]$	0,98	47,62	40,3 - 54,9	66,1

^{1/} Herbicidas: chlorimuron-ethyl, glyphosate e associação de chlorimuron-ethyl e glyphosate, sendo oito porcentagens das doses dos herbicidas: 0, 6,25% D, 12,5% D, 25% D, 50% D, 100% D, 200% D e 400% D, em que o D foi a dose de registro dos herbicidas chlorimuron-ethyl, 20 g ha⁻¹ e glyphosate, 720 g e.a. ha⁻¹; ^{2/} Estádios de desenvolvimento na aplicação dos herbicidas: 1 = altura 0,5 a 1 cm e 3 a 4 folhas, 2 = altura 1 a 2 cm e 6 a 7 folhas e 3 = altura 10 a 12 cm e 12 a 14 folhas, sendo folhas completamente expandidas; ^{3/} $Y = a/[1+(X/b)^c]$; ^{4/} GR₅₀ = dose necessária para obter redução de 50% na fitomassa seca da parte aérea do biótipo; ^{5/} Fator de sensibilidade aos herbicidas pelos biótipos de *Conyza sumatrensis*, obtido da divisão do GR₅₀ dos biótipos em relação ao estágio de maior sensibilidade do biótipo para cada um dos herbicidas (primeiro estágio); ^{6/} Porcentagem da dose recomendada por hectare; ^{NS} Para cada herbicida, a sobreposição do intervalo de confiança do estágio de maior sensibilidade do biótipo indica que não ocorreu diferença significativa entre GR₅₀ para os estádios avaliados; ^{IFG} Valor fora do intervalo (X) do gráfico avaliado

As equações, formadas com os valores de porcentagem de controle nos biótipos 2, 5, 17 e 20 de *C. sumatrensis*, comprovam a existência de níveis de sensibilidade de acordo com o desenvolvimento dos biótipos evidenciado pelo aumento dos valores do C_{50} , GR_{50} e do FS, para todos os herbicidas avaliados (Tabelas 3.2 e 3.3). A porcentagem de fitomassa seca, da parte aérea, apresentou comportamento similar ao controle, mas com valores decrescentes com o aumento nas doses dos herbicidas, em todos os biótipos avaliados (Figuras 3.1, 3.2, 3.3 e 3.4, gráficos A e D; B e E; C e F).

O biótipo 2, no primeiro estágio, foi controlado nos tratamentos com chlorimuron-ethyl na dose de 12,5% (2,5 g ha⁻¹), com glyphosate na dose de 100% (720 g e.a. ha⁻¹) e na associação destes na menor dose 6,25% (1,25 g + 45 g e.a. ha⁻¹) (Figura 3.1 A, B e C). No entanto, no segundo estágio, o biótipo 2, teve controle de 90% para maior dose de chlorimuron (400% ou 80 g ha⁻¹), de 100% para glyphosate aplicado isolado e para associação na dose de 200% (40 g e 1440 g e.a. ha⁻¹) (Figura 3.1 A, B e C). No terceiro estágio do biótipo, o controle com chlorimuron foi de, aproximadamente, 80% e de glyphosate foi de 90%, na maior dose utilizada (400% ou 80 g e 2880 g e.a. ha⁻¹) (Figura 3.1 A, B). Já a associação dos herbicidas, proporcionou 100% de controle na maior dose (400% ou 80 g e 2880 g e.a. ha⁻¹) (Figura 3.1 C). Esses resultados evidenciam que a sensibilidade do biótipo 2 ao chlorimuron, ao glyphosate e a associação destes diminuiu com o seu desenvolvimento, sendo que para o chlorimuron a dose de 12,5 g ha⁻¹ proporcionou controle de 100% do biótipo no primeiro estágio e a máxima dose (80 g ha⁻¹) proporcionou controles de 90% e de 80% no segundo e terceiro estágio, respectivamente.

Figura 3.1 - Percentual de controle e fitomassa seca da parte aérea no biótipo 2 de *C. sumatrensis* aos 28 dias após aplicação de doses crescentes dos herbicidas Chlorimuron-ethyl (A e D), Glyphosate (B e E) e a associação do Chlorimuron-ethyl com o Glyphosate (C e F). As barras verticais representam 95% de intervalo de confiança. Passo Fundo, RS, 2012

Figura 3.2 - Percentual de controle e fitomassa seca da parte aérea no biótipo 5 de *C. sumatrensis* aos 28 dias após aplicação de doses crescentes dos herbicidas Chlorimuron-ethyl (A e D), Glyphosate (B e E) e a associação do Chlorimuron-ethyl com o Glyphosate (C e F). As barras verticais representam 95% de intervalo de confiança. Passo Fundo, RS, 2012

Com relação aos intervalos de confiança (IC), tendo como referência a ausência de sobreposição do IC do estágio de maior sensibilidade (primeiro estágio) em relação ao IC do estágio de menor sensibilidade (terceiro estágio), foi possível calcular o fator de sensibilidade (FS) com os valores do C_{50} e do GR_{50} no biótipo 2 para todos os herbicidas. O FS calculado

com os valores do C_{50} , para o biótipo 2, com o chlorimuron foi de 5,4 do primeiro para o segundo estágio, e de 9,7 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.2). Já o FS do biótipo calculado com os valores do GR_{50} não apresentou diferença do primeiro para o segundo estágio e foi de 28,4 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.3). Para o glyphosate o FS do biótipo 2 não alterou-se do primeiro para o segundo estágio e foi de 1,4 do primeiro para o terceiro estágio, para os valores do C_{50} (Tabela 3.2). Já o FS do biótipo calculado com os valores do GR_{50} não diferenciou-se do primeiro para o segundo estágio e foi de 11,6 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.3). A associação de chlorimuron + glyphosate apresentou FS de 2,35 no biótipo 2 do primeiro para o segundo estágio e de 14,6 do primeiro para o terceiro, para os valores do C_{50} (Tabela 3.2). Já o FS do biótipo calculado com os valores do GR_{50} foi de 1,3 do primeiro para o segundo estágio e de 15,6 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.3). Esses resultados indicam que a sensibilidade do biótipo 2, aos herbicidas e a associação avaliada, está relacionada ao estágio de desenvolvimento, sendo que quanto mais avançado o estágio menor a sensibilidade.

Já o biótipo 5, no primeiro estágio foi controlado pelos tratamentos com chlorimuron-ethyl na menor dose (6,25% ou 1,25 g ha⁻¹) e na associação de chlorimuron + glyphosate na dose de 12,5% (2,5 g + 90 g e.a. ha⁻¹) (Figura 3.2 A e C). Entretanto, no segundo estágio, o biótipo 5, teve controle de 90% na maior dose (400% ou 80 g e.a. ha⁻¹) de chlorimuron e na associação foi controlado com a dose de 100% (20 g e 720 g e.a. ha⁻¹) (Figura 3.2 A, e C). Porém, no terceiro estágio do biótipo, o controle com chlorimuron foi de, aproximadamente, 80% na maior dose utilizada (400% ou 80g ha⁻¹) e na associação apresentou 90% de controle, na maior dose (400% ou 80 g e 2880 g e.a. ha⁻¹) (Figura 3.2 C).

Para o biótipo 5, foi possível calcular o fator de sensibilidade (FS) com os valores do C_{50} e do GR_{50} para todos os herbicidas. O FS calculado com os valores do C_{50} , para o biótipo 5, com o chlorimuron foi de 5,38 do primeiro para o segundo estágio, e de 8,42 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.2). Já o FS calculado com os valores do GR_{50} do biótipo não sofreu alteração do primeiro para o segundo estágio e foi de 67,1 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.3). Na associação de chlorimuron + glyphosate, o biótipo 5 apresentou FS de 2,7 do primeiro para o segundo estágio e de 16,5 do primeiro para o terceiro, para os valores do C_{50} (Tabela 3.2). Já o FS do biótipo calculado com os valores do GR_{50} não apresentou diferença do primeiro para o segundo estágio e foi de 28,05 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.3). Esse resultado evidencia a redução da sensibilidade do biótipo 5 ao chlorimuron em estágios mais avançados de desenvolvimento. O aumento nos valores do

C_{50} , GR_{50} e os níveis de sensibilidade calculados a partir deles, comprovam menor sensibilidade no terceiro estágio de desenvolvimento ao chlorimuron (Tabela 3.2 e 3.4).

A aplicação isolada do glyphosate no biótipo 5 evidenciou controle de, aproximadamente, 50% na maior dose (400% ou 2880 g e.a. ha^{-1}) nos três estádios avaliados, demonstrando sua resistência ao herbicida (Figura 3.2 B), considerando que a dose de referência para resistência é de 2160 g e.a. ha^{-1} (SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS - AGROFIT, 2013). O FS para o glyphosate com os valores do C_{50} e GR_{50} foi de 1,29 e 6,69 do primeiro para o segundo estágio do biótipo, respectivamente (Tabelas 3.3 e 3.4). Já do primeiro para o terceiro estágio, os valores do C_{50} e do GR_{50} não foram calculados, pois foram maiores que a dose de 2880 g e.a. ha^{-1} , ficando fora das doses avaliadas no estudo para o biótipo 5. (Tabelas 3.2 e 3.4). Para o herbicida glyphosate os valores do C_{50} e do GR_{50} , calculados, por meio das equações estabelecidas pelas porcentagens de controle e de fitomassa seca do biótipo, comprovam a existência de resistência ao herbicida, independente do estágio de desenvolvimento que o herbicida é aplicado. A resistência de buva ao glyphosate foi identificada por Vargas et al. (2007) e Lamago e Vidal (2008), e, atualmente, o biótipo está presente na maioria das lavouras do RS.

Os resultados demonstram que o biótipo 5 apresenta resistência ao herbicida glyphosate, mas é suscetível à associação de chlorimuron-ethyl com glyphosate no primeiro estágio de desenvolvimento (altura 0,5 a 1 cm e/ou 3 a 4 folhas) não caracterizando resistência múltipla à associação dos herbicidas. Assim, para alcançar 100% de controle do biótipo, é necessário relacionar a dose da associação (glyphosate + chlorimuron) ao estágio de desenvolvimento do biótipo no momento da aplicação.

Figura 3.3 - Percentual de controle e fitomassa seca da parte aérea no biótipo 17 de *C. sumatrensis* aos 28 dias após aplicação de doses crescentes dos herbicidas Chlorimuron-ethyl (A e D), Glyphosate (B e E) e a associação do Chlorimuron-ethyl com o Glyphosate (C e F). As barras verticais representam 95% de intervalo de confiança. Passo Fundo, RS, 2012

Figura 3.4 - Percentual de controle e fitomassa seca da parte aérea no biótipo 20 de *C. sumatrensis* aos 28 dias após aplicação de doses crescentes dos herbicidas Chlorimuron-ethyl (A e D), Glyphosate (B e E) e a associação do Chlorimuron-ethyl com o Glyphosate (C e F). As barras verticais representam 95% de intervalo de confiança. Passo Fundo, RS, 2012

Nos biótipos 17 e 20 observou-se controle de 100%, no primeiro estágio, com as doses de 50% (10 g ha^{-1}) e 12,5% ($2,5 \text{ g ha}^{-1}$) de chlorimuron-ethyl, respectivamente (Figuras 3.3 e 3.4 A). Contudo, aplicando a maior dose do chlorimuron (400% ou 80 g ha^{-1}), tanto no segundo quanto no terceiro estágio de desenvolvimento dos biótipos, observaram-se controles

insatisfatórios, entre 70 e 80% (Figuras 3.3 e 3.4 A). O FS calculado com os valores do C_{50} , para os biótipos 17 e 20, com o chlorimuron foi de 17,1 e 4,9 do primeiro para o segundo estágio, respectivamente; e de 20,5 e 15,3 do primeiro para o terceiro estágio, respectivamente (Tabela 3.2). Já o FS calculado com os valores do GR_{50} , para os biótipos 17 e 20, para chlorimuron foi de 15,8 e 8,3 do primeiro para o segundo estágio, respectivamente; e de 155,9 e 44,1 do primeiro para o terceiro estágio, respectivamente (Tabela 3.2). Esses resultados demonstram a suscetibilidade dos biótipos 17 e 20 ao herbicida chlorimuron-ethyl quando aplicado no primeiro estágio de desenvolvimento (altura 0,5 a 1 cm e 3 a 4 folhas) (Figuras 3.3 e 3.4 A).

Para o glyphosate observou-se controle de 100% dos biótipos 17 e 20, no primeiro estágio de desenvolvimento, com 200% da dose (1440 g e.a. ha^{-1}) e 400% da dose (2880 g e.a. ha^{-1}), respectivamente (Figuras 3.3 e 3.4 B). No entanto, no segundo estágio, o biótipo 17 teve controle de 100% para maior dose de glyphosate (400% ou 2880 g e.a. ha^{-1}), mas, no biótipo 20, a mesma dose teve controle de 70% (Figuras 3.3 e 3.4 B). No terceiro estágio dos biótipos 17 e 20, o controle com glyphosate foi de 70% e 65% na maior dose utilizada (400% ou 2880 g e.a. ha^{-1}), respectivamente (Figuras 3.3 e 3.4 B). O FS calculado com os valores do C_{50} , para os biótipos 17 e 20, com o glyphosate foi de 1,3 e 1,4 do primeiro para o segundo estágio, respectivamente; e de 1,6 e 1,7 do primeiro para o terceiro estágio, respectivamente (Tabela 3.2). Já o FS calculado com os valores do GR_{50} , para os biótipos 17 e 20, com o glyphosate, foi de 10,5 e 6,1 do primeiro para o segundo estágio, respectivamente; e de 18,6 e 17,7 do primeiro para o terceiro estágio, respectivamente (Tabela 3.2). Esses resultados demonstram a suscetibilidade dos biótipos 17 e 20 ao herbicida glyphosate no primeiro estágio de desenvolvimento. Contudo, observa-se que os biótipos 17 e 20, no primeiro estágio de desenvolvimento, são suscetíveis ao herbicida chlorimuron-ethyl, mas no mesmo estágio os biótipos apresentaram menor sensibilidade à aplicação ao herbicida glyphosate.

Na associação de chlorimuron-ethyl + glyphosate observou-se que os biótipos 17 e 20 foram controlados no primeiro estágio com 25% da dose (5 g + 180 g e.a. ha^{-1}) e 12,5% (2,5 g + 90 g e.a. ha^{-1}), respectivamente (Figuras 3.3 e 3.4 C). No segundo estágio de desenvolvimento, obteve-se controle de 100% dos biótipos 17 e 20, com uso de 50% da dose (10 g + 360 g e.a. ha^{-1}) e de 100% da dose (20 g + 720 g e.a. ha^{-1}), respectivamente. Porém, quando aplicou-se a maior dose da associação (80 g + 2880 g e.a. ha^{-1}), no terceiro estágio de desenvolvimento dos biótipos, verificou-se controle insatisfatório dos biótipos, entre 60 e 70% (Figuras 3.3 e 3.4 C). Esses resultados demonstram a suscetibilidade dos biótipos 17 e 20 à associação dos herbicidas chlorimuron-ethyl + glyphosate somente no primeiro e

segundo estágio (Figuras 3.3 e 3.4 C). O FS calculado com os valores do C_{50} , para o biótipo 17, com a associação (chlorimuron-ethyl + glyphosate) foi de 2,2 do primeiro para o segundo estágio e de 32,2 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.2), no biótipo 20, o FS foi de 2,9 do primeiro para o segundo estágio, e de 21,5 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.3). Já o FS calculado com os valores do GR_{50} , para o biótipo 17, na associação de chlorimuron-ethyl + glyphosate não sofreu alteração do primeiro para o segundo estágio e foi de 108,3 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.2). No biótipo 20, o FS foi de 3,05 do primeiro para o segundo estágio, e de 66,1 do primeiro para o terceiro estágio (Tabela 3.3).

Na Tabela 3.4, observa-se interação significativa na variável densidade tricomática entre os biótipos e os estádios de desenvolvimento. No primeiro estágio de desenvolvimento, o biótipo 17 evidenciou a maior quantidade, 16,8 tricomas mm^{-2} , seguindo do biótipo 5 com 11,6 tricomas mm^{-2} . No entanto, o biótipo 20 apresentou a menor quantidade 7,4 tricomas mm^{-2} , não diferindo do biótipo 2, que apresentou 8,4 tricomas mm^{-2} . A menor sensibilidade do biótipo 17, no primeiro estágio de desenvolvimento, ao herbicida chlorimuron-ethyl, pode estar relacionada com a maior densidade tricomática (Tabela 3.4).

No segundo e terceiro estágio desenvolvimento, o biótipo 17 evidenciou a maior quantidade de tricomas, 11,3 e 11,6 mm^{-2} , respectivamente (Tabela 3.4). Já o biótipo 2, evidenciou a menor quantidade, 9,2 e 9,5 mm^{-2} , no segundo e terceiro estágio de desenvolvimento, respectivamente (Tabela 3.4). Contudo, os biótipos 5 e 20 não diferiram do biótipo 2, no segundo e terceiro estágio. No entanto, para o biótipo 20 houve aumento na densidade tricomática do primeiro para o segundo estágio, e no biótipo 2, não houve alteração na densidade tricomática com o seu desenvolvimento. Já nos biótipos 17 e 5 observou-se diminuição da densidade tricomática do primeiro para o segundo estágio de desenvolvimento (Tabela 3.4).

Segundo Procópio et al. (2003), a alta densidade tricomática da superfície adaxial foi considerada uma das barreiras folhares potenciais à penetração de herbicidas em *C. bonariensis*. A presença de tricomas na superfície adaxial da folha podem interceptar gotas pulverizadas, impedindo que estas alcancem a epiderme propriamente dita, prejudicando a absorção do herbicida (YAMASHITA; GUIMARÃES, 2011). As informações sobre a eficiência da absorção de herbicidas pelos tricomas e a translocação destes para as células epidérmicas ainda são parcialmente conhecidas (HESS; FALK, 1990). Segundo Iost e Raetano (2010), os surfatantes organossiliconados foram mais eficientes na redução da tensão superficial e proporcionaram maior molhamento da superfície foliar de *Euphorbia*

heterophylla com tricomas, e assim, podem ser usados como alternativa para superar eventuais efeitos negativos dos tricomas na absorção de herbicidas.

Tabela 3.4 - Densidades de tricomas e de estômatos na superfície adaxial dos biótipos 2, 5, 17 e 20 de *C. sumatrensis*, em três estádios de desenvolvimento

Biótipos	Densidade tricomática (tricomas mm ⁻²)			Densidade estomática (estômatos mm ⁻²)		
	Estádio desenvolvimento			Estádio desenvolvimento		
	1º	2º	3º	1º	2º	3º
02	8,4 cA ¹	9,2 bA	9,5 bA	84,2 ^{ns}	73,7	63,2
05	11,6 bA	9,5 bB	10,3 bB	84,2	73,7	73,7
17	16,8 aA	11,3 aB	11,6 aB	84,2	73,7	57,9
20	7,4 cB	10,0 bA	9,7 bA	84,2	84,2	68,4
Média	11,0	10,0	10,3	84,2 A	76,3 B	65,8 C
CV ² (%)		11,9			10,9	

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem, estatisticamente, entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$); ^{ns} não significativo a 5% de probabilidade; ² Coeficiente de Variação

Para a densidade estomática não houve interação entre os biótipos e os estádios de desenvolvimento (Tabela 3.4). Porém, evidenciou-se uma diminuição do número de estômatos dos biótipos com o seu desenvolvimento do primeiro (84,2 estômatos mm⁻²) até o terceiro estágio (65,8 estômatos mm⁻²). Procópio et al. (2003) determinaram que a baixa densidade estomática em *C. bonariensis* foi considerada uma das principais barreiras à penetração de herbicidas. Para Tuffi Santos et al. (2006), a alta densidade pode favorecer a penetração do glyphosate em plantas de eucalipto nas quais a presença de estômatos seja grande, principalmente, na face adaxial da epiderme foliar, em que o contato com a calda herbicida aplicada é mais provável. Um fator ligado à penetração dos herbicidas pelos estômatos é a cutícula sobre as células-guarda, que parece ser mais fina e mais permeável (menor teor de cera epicuticular), constituindo-se numa barreira menos rígida à penetração de herbicidas (HESS; FALK, 1990). Por isso, a maior densidade estomática dos biótipos no primeiro estágio de desenvolvimento pode ser considerada um fator positivo do ponto de vista do controle da espécie em se tratando de aplicação de herbicidas, uma vez que a absorção tende a ser maior.

De forma geral, foram observados, para os biótipos 2, 5, 17 e 20 de *C. sumatrensis*, diferenças nos níveis de controle, produção de fitomassa seca da parte aérea, C₅₀, GR₅₀ e FS para os tratamentos herbicidas avaliados. Para o chlorimuron-ethyl, essas diferenças foram

influenciadas pelos estádios de desenvolvimento, sendo que quanto mais avançado o estágio menor a sensibilidade. Essa menor sensibilidade dos biótipos, pode ser influência da densidade tricômica entre os estádios de desenvolvimento dos biótipos. Nesse sentido, a hipótese sugerida para explicar a menor sensibilidade dos biótipos 2, 5, 17 e 20 de *C. sumatrensis* ao chlorimuron, em estádios vegetativos acima de 5 folhas (maiores de 1 cm) é a redução da absorção devido a fatores relacionados à anatomia externa da folha como a presença de tricomas.

3.4 Conclusões

Os resultados deste trabalho evidenciam que os estádios de desenvolvimento de *C. sumatrensis* afetam significativamente o nível de sensibilidade ao herbicida chlorimuron-ethyl, glyphosate e a associação destes. Os biótipos 17 e 20 de *C. sumatrensis*, não foram suscetíveis ao chlorimuron no segundo e terceiro estágio vegetativo avaliado. Já o biótipo 05 foi resistente ao herbicida glyphosate independentemente do estágio de desenvolvimento. Na associação de chlorimuron-ethyl + glyphosate, os biótipos 17 e 20 não foram suscetíveis no terceiro estágio vegetativo avaliado. Quanto às características morfológicas da folha, o biótipo 17 apresenta maior número de tricomas em todos os estádios de desenvolvimento. No entanto, a densidade estomática diminui com o desenvolvimento dos biótipos. Assim sendo, sugere-se que a maior presença de tricomas ocorrida com o desenvolvimento dos biótipos de *C. sumatrensis* pode interferir na penetração dos herbicidas e prejudicar o controle dos biótipos. Por isso, o controle de *C. sumatrensis* com chlorimuron-ethyl ou chlorimuron+glyphosate deve ser realizado em estágio vegetativo de até quatro folhas (1 cm).

Referências

BRUCE, J.; KELLS, J. Horseweed (*C. canadensis*) control in no-tillage soybeans (*Glycine max*) with preplant and preemergence herbicides. **Weed Technology**, Champaign, v. 4, n. 3, p. 642-647, 1990.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3 ed. rev. Atual. - Piracicaba, Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas - HARAC-BR, 2008. p. 9-34.

FRANS, R.; TALBERT, R.; MARX, D.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. In: **Research methods in weed science**. CAMPER, N.D. 3rd ed. Champaign, IL: Southern Weed Science Society, 1986. p. 29-46.

GEIGER, D.R.; FUCHS, M.A. Inhibitors of aromatic amino acid biosynthesis (glyphosate). In: BÖGER, P.; WAKABAYASHI, K.; HIRAI, K. (Ed.). **Herbicide classes in development**. Berlin: Springer-Verlag, 2002. p. 59-85.

HEAP, I. **International survey of resistant weeds**. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>. Acesso em: 20 fev. 2013.

HESS, F.D.; FALK, R.H. Spontaneous lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* (Malvaceae) poisoning in cattle. **Weed Science**, Champaign, v. 38, n. 3, p. 280-288, 1990.

IOST, C.A.R.; RAETANO, C.G. Tensão superficial dinâmica e ângulo de contato de soluções aquosas com surfatantes em superfícies artificiais e naturais. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 670-680, 2010.

KOGER, C.H.; POSTON, D.H.; HAYES, R.M.; MONTGOMERY, R.F. Glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) in Mississippi. **Weed Technology**, Champaign, v. 18, n. 3, p. 820-825, 2004.

KRAUS, J.E.; SOUSA, H.C. DE; REZENDE, M.H.; CASTRO, N.M.; VECCHI, C.; LUQUE, R. Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials. **Biotechnic and Histochemistry**, Colorado, v. 73, n. 5, p. 235-243, 1998.

LAMEGO, F.P.; VIDAL, R.A. Resistência ao glyphosate em biótipos de *C. bonariensis* e *C. canadensis* no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 2, p. 467-471, 2008.

MOREIRA, M.S.; MELO, M.S.C.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; CRHISTOFFOLETI, P.J. Herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *Conyza bonariensis* e *C. canadensis* resistentes ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 167-175, 2010.

PROCÓPIO, S.O.; FERREIRA, E.A.; SILVA, E.A. M.; SILVA, A.A.; RUFINO, R.J.N.; SANTOS, J.B. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III - *Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2003.

RODELLA, R.A.; PIRES, A.I.; MAIMONI-RODELLA, R.C.S. Anatomia comparativa foliar e caulinar de duas espécies daninhas de *Merremia* (Convolvulaceae). **Científica**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 345-353, 1983.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6.ed. Londrina, 2011. 696 p.

SANTOS, G. **Resistência múltipla ao glyphosate e ao chlorimuron-ethyl em biótipos de *Conyza sumatrensis***. 2012. 87p. Dissertação (Mestrado em Produção de Plantas) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009. **Proceedings...** Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 09 mar. 2013.

STREIBIG, J.C. Herbicide bioassay. **Weed Research**, Oxford, v. 28, n. 1, p. 479-484, 1988.

TELES, A.M.; BORGES, R.A.X.; HEIDEN, G. *Conyza* In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2013. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB5288>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

THEBAUD, C.; ABBOTT, R.J. Characterization of invasive *Conyza* species (Asteraceae) in Europe: Quantitative trait and isozyme analysis. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 82, n. 1, p. 360-368, 1995.

TUFFI SANTOS, L.D.; IAREMA, L.; THADEO, M.; FERREIRA, F.A.; MEIRA, R.M.S.A. Características da epiderme foliar de eucalipto e seu envolvimento com a tolerância ao glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 503-520, 2006.

VANGESSEL, M.J.; SCOTT, B.A.; JOHNSON, Q.R.; WHITE-HANSEN, S.E. Influence of glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) growth stage on response to glyphosate applications. **Weed Technology**, Champaign, v. 23, n. 1, p. 49-53, 2009.

VARGAS, L.; BIANCHI, M.A.; RIZZARDI, M.A.; AGOSTINETTO, D.; DAL MAGRO, T. Buva (*C. bonariensis*) Resistente ao Glyphosate na Região Sul do Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 3, p. 573-578, 2007.

YAMASHITA, O.M.; GUIMARÃES, S.C. Biologia e resistência a herbicidas de espécies do gênero *Conyza*. **Ambiência**, Guarapuava, v. 7, n. 2, p. 383-398, maio/ago. 2011.

4 EFEITO DO GLYPHOSATE SOBRE PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE *Conyza sumatrensis*

Resumo

A buva (*Conyza sumatrensis*) é uma planta daninha, de ocorrência comum em lavouras de soja, suscetível ao controle com o herbicida glyphosate. Porém, após a introdução de culturas resistentes ao glyphosate, e consequente uso intensivo deste herbicida, observa-se falhas no controle da buva, em virtude da seleção de populações resistentes. Sabe-se pouco sobre os efeitos fisiológicos e bioquímicos comparativos entre as populações resistentes e as suscetíveis. Saber sobre este efeito é fundamental para o entendimento do fenômeno de resistência, bem como auxiliar nas estratégias de manejo da planta daninha. Assim, o objetivo da pesquisa é determinar alterações no processo fotossintético e na inibição da 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), através do acúmulo de ácido chiquímico após a aplicação do herbicida glyphosate, em quatro biótipos de *C. sumatrensis*, coletados no Estado do Rio Grande do Sul. Para isso, conduziu-se experimentos em casa-de-vegetação e em laboratório, avaliando a fitomassa seca da parte aérea, a taxa máxima de assimilação líquida de carbono e a transpiração e, também, calculou-se a eficiência do uso da água e a quantidade de ácido chiquímico. A aplicação do glyphosate reduziu o crescimento e afetou a taxa máxima de assimilação líquida de carbono e a eficiência do uso da água dos biótipos de forma diferenciada. O biótipo resistente teve pequena interferência do herbicida e os suscetíveis tiveram os parâmetros fisiológicos, profundamente, afetados pelo herbicida. Nos biótipos suscetíveis houve maior acúmulo de ácido chiquímico que no biótipo resistente. Evidenciou-se sensibilidade diferencial da EPSPs, do biótipo resistente e dos sensíveis ao glyphosate.

Palavras-chave: Ácido chiquímico; Buva; *Conyza sumatrensis*; EPSPs; Resistência

Abstract

Horseweed (*Conyza sumatrensis*) is a common weed which occurs in soybean crops and is susceptible to control with glyphosate. Although, after the introduction of glyphosate-resistant crops that are resulted of its intensive use. It was observed flaws in horseweed control, due to the selection of resistant populations. However, little is known about the physiological and biochemical effects of resistant vs. susceptible populations, but this knowledge is critical to understand the phenomenon of resistance as well as be useful for weed management strategies. Thus, the aim of this research was to determine changes in the photosynthetic process and the inhibition of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPs) by shikimic acid accumulation, after application of the herbicide glyphosate in four biotypes of *C. sumatrensis* collected in the state of Rio Grande do Sul. Therefore, the experiments were conducted in a green house and an in laboratory, assessing plant biomass, maximum net carbon assimilation rate, transpiration; water use efficiency and the amount of shikimic acid were calculated. Glyphosate application reduced the growth and affected the maximum net carbon assimilation rate and water use efficiency of the biotypes differentially, and the resistant biotype had small interference from glyphosate, while the physiological parameters of the susceptible biotype were profoundly affected by the herbicide. Susceptible biotypes had higher shikimic acid accumulation than the resistant biotype, indicating differential sensitivity of EPSPs, the glyphosate-resistant biotype and the glyphosate-sensitive biotypes.

Keywords: Shikimic acid; Horseweed; *Conyza sumatrensis*; EPSPs; Resistance

4.1 Introdução

Atualmente, uma das principais discussões acerca do manejo de plantas daninhas nas culturas agrícolas está relacionada com a seleção de biótipos resistentes a herbicidas. Trata-se de um fenômeno natural que ocorre espontaneamente nas populações, não sendo, portanto, o herbicida o agente causador, e sim selecionador dos indivíduos resistentes que se encontram em baixa frequência inicial (CHRISTOFFOLETI et al., 1994).

O surgimento de plantas daninhas resistentes ocorre com maior frequência, em áreas onde há uso repetido de herbicidas do mesmo grupo químico ou pertencentes a diferentes grupos, mas com o mesmo mecanismo de ação (GRESSEL; SEGEL, 1990). Assim, a utilização constante de tecnologias que envolvem Organismos Geneticamente Modificados (OGMs), associadas ao uso de glyphosate, contribuiu para o aumento da pressão de seleção e o aparecimento de biótipos resistentes à molécula do herbicida.

Na região sul do Brasil, uma das principais plantas daninhas resistentes ao glyphosate é a buva (*Conyza* spp.). A buva é uma planta daninha com elevado potencial competitivo pelos fatores essenciais de crescimento e apresenta alta dispersibilidade de suas sementes, podendo causar danos diretos e indiretos às culturas. No Brasil, já foi constatada a resistência ao glyphosate em biótipos das espécies de buva *C. bonariensis*, *C. canadensis* e *C. sumatrensis* em áreas de soja transgênica resistente ao glyphosate (HEAP, 2013).

O herbicida glyphosate apresenta como mecanismo de ação a inibição da 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) responsável pela reação de condensação do chiquimato-3-fosfato e fosfoenolpiruvato em EPSP e fosfato inorgânico na rota do ácido chiquímico (GEIGER; FUCHS, 2002). A inibição da EPSPs resulta no acúmulo de ácido chiquímico nas plantas e na redução da biossíntese de aminoácidos aromáticos essenciais, como triptofano, tirosina e fenilalanina. (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004). Assim, o acúmulo de ácido chiquímico em plantas pode ser usado para determinar se as plantas são resistentes ao herbicida glyphosate, quando o mecanismo de resistência for insensibilidade da EPSPs (CARVALHO et al., 2012). Outra forma de avaliar a resistência é pelo efeito inibitório da fotossíntese nas plantas após a aplicação de glyphosate (DUKE et al., 2003). Deste modo, o objetivo da pesquisa foi determinar alterações no processo fotossintético e na inibição da EPSPs, através do acúmulo de ácido chiquímico após a aplicação do herbicida glyphosate em quatro biótipos de *C. sumatrensis* coletados no Estado do Rio Grande do Sul.

4.2 Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação da Embrapa Trigo, em Passo Fundo/RS (S 28°15'46" e W 52°24'24", a 684m de altitude). A primeira etapa do trabalho foi realizada com o objetivo de selecionar quatro populações, três suscetíveis e uma resistente ao glyphosate, a partir de 25 populações coletadas no campo. Para isso, foi utilizada a aplicação de dose discriminatória do herbicida glyphosate (720 g e.a. ha⁻¹). A partir dos vasos que não receberam a aplicação do herbicida, foram coletadas as suas sementes dos biótipos suscetíveis, para utilização nas etapas seguintes da pesquisa. Já para o biótipo resistente, as sementes coletadas foram das plantas que sobreviveram à aplicação do glyphosate. Os biótipos selecionados foram identificados como *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker (TELES; BORGES; HEIDEN, 2013) e, posteriormente, depositadas no herbário da Universidade Federal de Santa Maria, sob os números SMDM 13950, SMDM 13951, SMDM 13952 e SMDM 13953.

Na segunda etapa foi realizado um experimento conduzido em esquema bifatorial, delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Foram avaliados quatro biótipos de *C. sumatrensis* selecionados na primeira etapa (denominados de 2, 5, 17 e 20), com duas doses do glyphosate (0 e 1.440 g de e.a. ha⁻¹). A semeadura dos biótipos ocorreu no dia 27 de abril de 2012, em copos plásticos (unidades experimentais) com capacidade para 500 mL, contendo substrato da Gardem Plus Turfa Fértil®, composto de turfa e calcário calcítico, suplementados com minerais (N=0,02%; P₂O₅=0,08% e K₂O=0,04%). As características técnicas do substrato eram: pH = 5,8 ± 0,5; Condutividade elétrica = 1,5 ± 0,3; Umidade máxima (massa/massa) = 55,0%; Densidade em base seca = 290 kg m⁻³; Capacidade de retenção de água (C.R.A.) = 60% em massa. Após a emergência, ocorrida em 6 maio de 2012, foi realizado desbaste deixando três plantas por copo. O herbicida foi aplicado em 23 de julho 2012, com pulverizador costal pressurizado por CO₂, equipado com pontas do tipo leque Teejet XR 115.02, espaçadas em 0,5 m, e volume de calda de 150 L ha⁻¹, pressão de trabalho de 1,62 kgf cm⁻².

As variáveis avaliadas foram a taxa máxima de assimilação líquida de carbono ($A_{m\acute{a}x}$), transpiração (E), a eficiência do uso da água (EUA), e as concentrações de ácido chiquímico nas folhas, em cinco épocas de avaliação: 0 (antes da aplicação do herbicida), 3, 7, 10 e 14 dias após tratamento (DAT). Já aos 28 DAT, foi realizada a colheita das plantas para determinar a produção de fitomassa seca da parte aérea. Para isso, submeteu-se o material vegetal à secagem em estufa de circulação forçada de ar à 60°C até se obter a massa constante

quando foi pesado o material. Transformaram-se os valores de peso para valores percentuais, comparando-se a fitomassa seca obtida nos tratamentos que receberam herbicida com a matéria seca média obtida na testemunha, considerada 100%.

A taxa máxima de assimilação líquida de carbono ($A_{\text{máx}}$) e da transpiração (E) foram realizadas utilizando um analisador de gases no infravermelho (IRGA) (Marca: LI-COR, Modelo LI-6400XT), equipado com câmara de luz (Marca: LI-COR, Modelo: LI-6400-2B) e sistema de injeção automática de CO_2 . Durante as leituras, foi estabelecida uma densidade de fluxo de fótons de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, injeção de CO_2 dentro da câmara de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$, temperatura da folha em 20°C e fluxo de ar de $500 \mu\text{mol s}^{-1}$. Para calcular a eficiência do uso da água (EUA) foi realizada a razão das variáveis $A_{\text{máx}}/E$. As avaliações foram feitas entre as 15h e 18h, utilizando a folha com maior desenvolvimento de todas as três plantas de cada copo. Para a determinação do ácido chiquímico, as plantas foram cortadas na superfície do solo, e secas em estufa com temperatura de 60°C por 16 horas. Após as amostras atingirem massa constante, foram moídas em moinho com 2500 rpm, e armazenadas sob refrigeração (-10°C) até o momento da extração e determinação do ácido chiquímico pelo método descrito por Matallo et al. (2009).

Os dados obtidos foram verificados quanto à homogeneidade da variância e, posteriormente, submetidos à ANOVA ($p \leq 0,05$), utilizando o software “ASSISTAT 7.6 BETA” (SILVA; AZEVEDO, 2009). Para as variáveis fitomassa seca da parte aérea, taxa máxima de assimilação líquida de carbono ($A_{\text{máx}}$) e a eficiência do uso da água (EUA), as médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de médias de Scott-Knott ($p < 0,05$). Os valores referentes à concentração de ácido chiquímico nas folhas, quando constatada significância estatística pelo teste F ($p \leq 0,05$), foram submetidos à análise de regressão para o fator épocas de avaliação, após o tratamento com o glyphosate em cada biótipo avaliado. A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa Scientific Graphing Software, Version 10.0 - Sigmaplot, 2007 -, ajustando-se os dados à equação de regressão do modelo não-linear polinômial cúbico, conforme segue:

$$y = y_0 + ax + bx^2 + cx^3 \quad (4.1)$$

em que: y = acúmulo de ácido chiquímico; x = dias após o aplicação de glyphosate; e y_0 , a , b e c são os quatro coeficientes do modelo cúbico. As médias do acúmulo de ácido chiquímico

nas equações foram representadas pelo intervalo de confiança em nível de 95%. Assim, a sobreposição do intervalo de confiança indica que não ocorreu diferença significativa entre os biótipos nas épocas de avaliação após o tratamento com o glyphosate.

4.3 Resultados e Discussão

Os quatro biótipos selecionados na primeira etapa, e que foram utilizados na segunda etapa, foram da espécie *C. sumatrensis*. O Biótipo 2, coletado no município de Pontão-RS (Lat: 28°00'20.40" N e Lon: 52°45'12.40" E), e considerado de maior suscetibilidade ao glyphosate (dados não apresentados); o Biótipo 5, coletado no município de Carazinho-RS (Lat: 28°18'06.51" N e Lon: 52°53'41.31" E), foi considerado resistente ao glyphosate (dados não apresentados); o Biótipo 17, coletado no município de Coqueiros do Sul-RS (Lat: 28°07'28.00" N e Lon: 52°42'47.90" E), foi considerado de menor suscetibilidade ao glyphosate (dados não apresentados) e, o Biótipo 20, coletado no município de Tio Hugo-RS (Lat: 28°18'06.51" N e Lon: 52°53'41.31" E), foi também considerado de menor suscetibilidade ao glyphosate (dados não apresentados), estes biótipos foram utilizados para primeira e segunda etapas da pesquisa.

O resultado da análise de variância, dos quatro biótipos na segunda etapa, indicou que houve interação entre biótipos e doses do herbicida glyphosate em todas as variáveis. Todos os biótipos sofreram redução de acúmulo de biomassa, comparando-os com sua respectiva testemunha (Tabela 4.1), no entanto, houve diferenciação no grau de redução quando comparados entre si. Sendo que, os biótipos 2, 17 e 20 foram controlados pelo glyphosate e apresentaram reduções na MS de 67%, 55% e 52%, respectivamente, em relação às suas testemunhas sem aplicação do glyphosate (Tabela 4.1). Já o biótipo 5, apresentou a menor redução da MS (18%), em relação à sua testemunha sem aplicação do herbicida. Entretanto, a redução da MS do biótipo 5 não era esperada, já que ele foi classificado como resistente ao glyphosate na etapa 1 da pesquisa. Assim, uma possível explicação para a redução da MS no biótipo 5 foram os sintomas de fitotoxicidade observados aos 28 DAT, estes sintomas podem ter sido provocados pela presença do ácido aminometilfosfônico (AMPA). O AMPA é produto da degradação de glyphosate nas plantas, podendo causar fitotoxicidade mesmo em plantas que possuem a EPSPs insensíveis ao glyphosate (REDDY et al., 2004).

Tabela 4.1 - Percentual da fitomassa seca da parte aérea dos biótipos 2, 5, 17 e 20 de *C. sumatrensis* aos 28 dias após a aplicação de 1440 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate e a testemunha sem a aplicação do herbicida. Passo Fundo, RS, 2012

Biótipos	Doses (g e.a. ha ⁻¹)	
	0	1440
2	100 aA ¹	67 aB
5	100 aA	18 cB
17	100 aA	55 bB
20	100 aA	52 bB
Média	100	48
CV ² (%)	3,38	

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05); ² Coeficiente de Variação Percentual

Resultado semelhante foi observado por Trezzi et al. (2011), quando biótipos de *Conyza* spp. resistentes ao glyphosate apresentaram redução na matéria seca após a aplicação do glyphosate. Trabalho conduzido por Zobiole et al. (2012) comparando a produção de MS entre soja resistente ao glyphosate e soja convencional, também observaram menor produção de MS na soja RR comparada a soja convencional. Essa menor MS na soja RR foi atribuída aos efeitos do herbicida glyphosate sobre a quantidade de clorofila ou na imobilização do Mg⁺⁺ e Mn⁺⁺, que são essenciais para a funcionalidade e produção de clorofilas nas plantas (ZOBIOLE et al., 2010).

Nas avaliações da assimilação líquida de carbono, observou-se que houve redução contínua da taxa máxima de assimilação líquida de carbono ($A_{máx}$) em todos os biótipos tratados com glyphosate e nas avaliações. No entanto, o biótipo 5 e o 20 apresentaram recuperação da $A_{máx}$ aos 14 DAT, sendo que o biótipo 5 apresentou a maior $A_{máx}$ nesta avaliação, evidenciando resistência ao glyphosate (Tabela 4.2). Embora o glyphosate tenha atuação específica na EPSPs, ele pode afetar diretamente a fotossíntese da planta, reduzindo a atividade da ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) e a síntese do ácido 3-fosfoglicérico, diminuindo a síntese de clorofila e interferindo na organização do aparelho fotossintético (AHSAN et al., 2008). Assim, como também, aumentando a taxa respiratória celular em função do estresse exercido (FLEXAS et al., 2005). Além disso, a inibição da EPSPs desregula o fluxo de carbono na rota do chiquimato, com a consequente redução nos metabólitos que ocorrem na etapa fotoquímica da fotossíntese, e essa alteração no metabolismo de carbono nas folhas, inibe a fotossíntese (GEIGER et al., 1999).

Tabela 4.2 - Taxa máxima de assimilação líquida de carbono, da transpiração e da eficiência do uso da água de *C. sumatrensis* em função de dias após tratamento (DAT) com herbicida glyphosate (1440 g e.a. ha⁻¹), nos biótipos 2, 5, 17 e 20. Passo Fundo, RS, 2012

DAT	Taxa de Assimilação Líquida de Carbono ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				Transpiração ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				Eficiência do uso da água [$\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$]			
	Biótipos				Biótipos				Biótipos			
	2	5	17	20	2	5	17	20	2	5	17	20
0	18,2 aA ¹	15,4 aB	17,1 aA	14,5 aB	6,9 aA	4,9 aB	4,8 aB	5,3 aB	2,6 bA	3,2 aA	3,6 bA	2,7 cA
03	7,8 bB	10,2 bA	7,1 bB	10,1 bA	4,5 bB	5,1 aA	4,1 aB	4,3 bB	1,7 bA	2,0 aA	1,8 cA	2,4 cA
07	1,7 cC	8,4 cA	2,0 eC	3,5 dB	0,2 cB	3,2 bA	0,3 bB	0,4 cB	8,5 aA	2,6 aC	6,4 aB	8,6 aB
10	2,4 cB	5,4 dA	5,4 cA	3,2 dB	0,6 cB	1,8 cA	1,4 bB	0,6 cB	3,9 bA	3,0 aA	3,8 bA	5,1 bA
14	2,3 cC	7,4 cA	3,6 dC	4,9 cB	0,8 cB	1,8 cA	0,9 bB	1,1 cB	2,9 bA	4,1 aA	3,9 bA	4,6 bA
Média	6,5	9,4	7,0	7,2	2,6	3,4	2,3	2,3	3,9	3,0	3,9	4,7
CV ² (%)	11,52				16,91				24,87			

¹ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$); ² Coeficiente de Variação Percentual

A implicação prática da redução da taxa máxima de assimilação líquida de carbono ($A_{\text{máx}}$) do biótipo 5 (resistente ao glyphosate), em resposta ao tratamento com glyphosate, está na interferência da capacidade competitiva do biótipo com a cultura. Deste modo, em condições de campo, observa-se que após a aplicação do glyphosate os biótipos de buva resistentes evidenciam sinais de fitotoxicidade e apresentam menor crescimento do que a espécie cultivada. Assim, a cultura terá maior desenvolvimento sombreando o biótipo resistente e limitando o seu desenvolvimento pela falta de luz. Contudo, conforme observa-se na Tabela 4.2, entre os 10 e 14 DAT o efeito do glyphosate sobre $A_{\text{máx}}$ diminui e, assim, ao final do ciclo da cultura, quando esta perde as folhas, observa-se que a planta daninha retoma o crescimento normalmente, e completa o ciclo. Por isso, é indicada uma prática de manejo que controle o biótipo resistente ao final do ciclo da cultura, evitando a dispersão e o aumento do banco de semente do biótipo resistente.

A aplicação do herbicida glyphosate diminuiu a transpiração em todos os biótipos avaliados (Tabela 4.2). Porém, o biótipo 5, resistente ao herbicida glyphosate, evidenciou maior transpiração aos 3, 7, 10 e 14 DAT (Tabela 4.2). Já a eficiência do uso da água (EUA), que é a relação entre a taxa máxima de assimilação líquida de carbono e a taxa de transpiração, observou-se aumento aos 7 DAT nos biótipos 2, 17 e 20, considerados suscetíveis ao glyphosate (Tabela 4.2). O aumento da EUA nos biótipos suscetíveis pode ser explicado pelo fechamento dos estômatos e consequente redução da transpiração. Contudo, para o biótipo 5, considerado resistente, não ocorreu influência do glyphosate na EUA (Tabela

4.2). Segundo Reddy et al. (2004), os efeitos secundários do glyphosate como a produção de metabolitos (AMPA) podem contribuir na ação do herbicida e gerar efeitos fitotóxicos que afetam a fotossíntese, a transpiração e a EUA (ZOBIOLE et al., 2010).

Não foi observada diferença na concentração de ácido chiquímico endógeno nos biótipos de *C. sumatrensis* 2, 5, 17 e 20, antes da aplicação do herbicida glyphosate (0 DAT), e as concentrações médias foram de 188, 201, 174 e 144 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente (Figura 4.1). As concentrações foram semelhantes à encontrada em *C. canadensis* por Reddy et al. (2008).

Figura 4.1 - Acúmulo de ácido chiquímico em biótipos de *C. sumatrensis* (2, 5, 17 e 20) em função de dias após tratamento com glyphosate (1440 g e.a. ha^{-1}). As barras verticais representam 95% de intervalo de confiança. Passo Fundo, RS, 2012

Analisando a figura 4.1, observa-se que, após a aplicação do glyphosate, houve aumento na concentração de ácido chiquímico até os 7 DAT, em todos os biótipos. Porém, esse aumento foi maior, em todas as épocas avaliadas, nos biótipos 2, 17 e 20, considerados suscetíveis ao herbicida glyphosate, comparados ao biótipo 5, resistente ao herbicida. O acúmulo de ácido chiquímico nos tecidos ocorre pela inibição competitiva da EPSPs pelo glyphosate (BRESNAHAN et al., 2003). Na Figura 4.2, são apresentados os cromatogramas,

aos 7 DAT, com os picos de absorção do ácido chiquímico endógeno, com tempo de retenção de 5,0 minutos, referentes ao padrão do ácido chiquímico (A) e dos biótipos 2 (B), 5 (C), 17 (D) e 20 (E), em resposta ao tratamento com glyphosate.

Figura 4.2 - Cromatograma com os picos de absorção do ácido chiquímico endógeno na amostra padrão de ácido chiquímico (a) e nos biótipos de *C. sumatrensis* 2 (b), 5 (c), 17 (b) e 20 (e), aos 7 dias após o tratamento com 1440g e.a. ha⁻¹ de glyphosate. Campinas, SP, 2012

No biótipo 2, o pico máximo de concentração do ácido chiquímico endógeno foi de 25000µg g⁻¹ o que representou um aumento de 133 vezes em relação à concentração do endógeno antes da aplicação do glyphosate (0 DAT) (Figura 4.1). Já para os biótipos 17 e 20, o aumento em relação à concentração do endógeno foi de 114 e 122, respectivamente (Figura

4.1). Relatos da literatura demonstram que o efeito mais rápido e drástico da aplicação de glyphosate, em plantas sensíveis, é o acúmulo de ácido chiquímico (BRESNAHAN et al., 2003) e têm sido utilizado como marcador para a sensibilidade da EPSPs ao herbicida glyphosate em plantas (GONZÁLEZ-TORRALVA et al., 2010). Portanto, considerando o acúmulo de ácido chiquímico, os biótipos 2, 17 e 20 são sensíveis ao glyphosate.

Para o biótipo 5, resistente ao herbicida glyphosate, a concentração de ácido chiquímico endógeno, aos 7 DAT com glyphosate foi de $12000 \mu\text{g g}^{-1}$ (Figura 4.1). Esse resultado representa um aumento de 60 vezes em relação à concentração endógena sem a aplicação do herbicida (0 DAT) (Figura 4.1). O acúmulo de ácido chiquímico nos tecidos do biótipo 5 (resistente ao glyphosate) foi inesperado, porém a concentração acumulada foi 2,2 vezes menor que no biótipo 2, indicando claramente que o biótipo 5 de *C. sumatrensis* tem um nível de inibição menor da EPSPs, e, conseqüentemente, pode ser considerado resistente ao herbicida glyphosate. Há resultados semelhantes na literatura sobre o acúmulo de ácido chiquímico em padrões diferentes, tanto em biótipos suscetíveis quanto resistentes ao herbicida glyphosate (DINELLI et al., 2008; FENG et al., 2004).

Uma vez que houve acúmulo de ácido chiquímico no biótipo 5, pode-se inferir que o mecanismo de resistência não é resultado da insensibilidade total da EPSPs ao glyphosate. Caso houvesse total insensibilidade da EPSPs ao glyphosate não haveria acúmulo de ácido chiquímico, podendo, então, ser descartada a possibilidade de alteração do sítio de ação do herbicida no biótipo 5. Dentre os mecanismos de resistência das plantas daninhas ao glyphosate relatados na literatura, destaca-se o trabalho de Feng et al. (2004), sugerindo que a resistência é, provavelmente, devido a uma distribuição celular alterada do glyphosate, que impede o carregamento do herbicida no floema e a importação para dentro dos plastídios, resultando, assim, em uma translocação reduzida do herbicida na planta. Dessa forma, se este mecanismo de resistência for o mesmo do biótipo 5, isso explicaria o acúmulo de ácido chiquímico.

Outro mecanismo de resistência, proposto por Ge et al. (2010) em *C. canadensis* e possível para o biótipo 5, é a translocação reduzida do glyphosate, que está relacionada com o sequestro do herbicida para dentro do vacúolo da célula. Os autores relataram que quando o glyphosate chega ao citoplasma das plantas suscetíveis, ele é dirigido para o floema, e conseqüentemente distribuído para os locais de ação. Já em plantas resistentes, o glyphosate que chega ao citoplasma das células é sequestrado e direcionado para o vacúolo, ficando indisponível ao transporte via floema, e conseqüentemente, não atinge o alvo para sua ação. A

translocação reduzida também foi citada como mecanismo de resistência em *C. bonariensis* por Dinelli et al. (2008) e em *C. canadensis* por Feng et al. (2004).

Também, é possível que o mecanismo de resistência do biótipo 5 esteja relacionado com a expressão e amplificação do gene EPSPs em múltiplos cromossomos. Gaines et al. (2010) observaram em biótipos de *Amaranthus*, que a relação do número de cópias da EPSPs foi maior no biótipo resistente comparado com o suscetível. Os autores relatam, ainda, que nesse tipo de resistência a enzima EPSPs permanece sensível ao herbicida glyphosate, o que muda é que a quantidade de herbicida necessário para reduzir a atividade da EPSPs que aumenta com o número de cópias do gene EPSPs. Baerson et al. (2002), observaram evidências de amplificação gênica ou co-segregação do gene específico da enzima variante no biótipo resistente de *Lolium multiflorum*.

Por fim, o metabolismo do glyphosate também é uma possibilidade. González-Torralva et al. (2012) observaram metabolismo diferencial do glyphosate entre biótipos de *Conyza canadensis* resistentes e suscetíveis. Nesses biótipos, o metabolismo do glyphosate foi mais rápido no biótipo resistente comparado ao biótipo suscetível, e o herbicida foi transformado nos metabólitos AMPA, glioxilato e sarcosina. Esse metabolismo diferencial do glyphosate poderia explicar a resistência do biótipo 5. Contudo, estudos adicionais devem ser realizados para esclarecimento.

4.4 Conclusões

A aplicação do herbicida glyphosate reduz o crescimento dos biótipos avaliados, a maior redução observou-se no biótipo 2 e a menor no biótipo 5. O glyphosate inibe a taxa de assimilação líquida de carbono e causa interferência na eficiência do uso da água dos biótipos suscetíveis. Entretanto, o herbicida glyphosate inibe parcialmente a taxa máxima de assimilação líquida de carbono e não causa interferência no uso eficiente da água do biótipo 5. No entanto, o acúmulo de ácido chiquímico no biótipo 5 indica que o mecanismo de resistência não está relacionado com a insensibilidade total da EPSPs ao glyphosate e/ou que outros mecanismos de resistência podem estar envolvidos.

Referências

AHSAN, N.; LEE, D.G.; LEE, K.W.; ALAM, I.; LEE, S.H.; BAHK, J.D.; LEE, B.H. Glyphosate-induced oxidative stress in rice leaves revealed by proteomic approach. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.46, n.12, p.1062-1070, 2008.

BAERSON, S.R.; RODRIQUEZ, D.J.; BIEST, N.A.; TRAN, M.; YOU, J.; KREUGER, R.W.; DILL, G.M.; PRATLEY, J.E.; GRUYS, K.J. Investigating the mechanism of glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). **Weed Science**, Oxford, v. 50, n 6, p. 721-730, 2002.

BRESNAHAN, G.A.; MANTHEY, F.A.; HOWATT, K.A.; CHAKRABORTY, M. Glyphosate applied pre harvest induces shikimic acid accumulation in hard red spring wheat (*Triticum aestivum*). **Journal of Agriculture and Food and Chemistry**, Easton, v. 51, p. 4004-4007, 2003.

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

CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 12, n. 1, p. 13-20, 1994.

DINELLI, G.; MAROTTI, I.; CATIZONE, P.; BONETTI, A.; URBANO, J.M.; BARNES, J. Physiological and molecular basis of glyphosate resistance in *Conyza bonariensis* (L.) Cronq. biotypes from Spain. **Weed Research**, Oxford, v. 48, n. 3, p.257-265, 2008.

DUKE, S.O.; BAERSON, S.R.; RIMANDO, A.M. **Glyphosate**. New York: Wiley. 2003. 120p.

FENG, P.C.C.; TRAN, M.; CHIU, T.; SAMMONS, R.D.; HECK, G.R.; CAJACOB, C.A. Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. **Weed Science**, Champaign, v. 52, p. 498-505. 2004.

FLEXAS, J.; GALMÉS, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; MEDRANO, H. The effects of drought in plant respiration. In: LAMBERS, H. and RIBAS-CARBÓ, M. (Eds.) **Advances in Photosynthesis and Respiration** v. 18. Plant Respiration: from Cell to Ecosystem. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2005. p. 85-94.

GAINES, T.A.; ZHANG, W.; WANG, D.; BUKUN, B.; CHISHOLM, S.T; SHANER, D.L.; NISSEN, S.J.; PATZOLDT, W.L.; TRANEL, P.J.; CULPEPPER, A.S.; GREY, T.L.; WEBSTER, T.M.; VENCILL, W.K.; SAMMONS, R.D.; JIANG, J.; PRESTON, C.; LEACH, J.E.; WESTRA, P. Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. **Proceedings of the National Academy of Science**, Washington, v. 7, p. 1029-1034, 2010.

GE, X.; D'AVIGNON, A.D.; ACKERMAN, J.J.H.; SAMMONS, D.R. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. **Pest Management Science**, New York, v.66, n.4, p.345-348, 2010.

GEIGER, D.R.; SHIEH, W.J.; FUCHS, M.A. Causes of self-limited translocation of glyphosate in *Beta vulgaris* plants. **Pesticide Biochemical and Physiology**, New York, v. 64, p. 124-133, 1999.

GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; ROJANO-DELGADO, A.M.; CASTRO, M.D.L.; MÜLLEDER, N.; DE PRADO, R. Two non-target mechanisms are involved in glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.) biotypes. **Journal of Plant Physiology**, Irvine, v. 169, n. 17, p. 1673-1679, 2012.

GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; CRUZ-HIPOLITO, H.; BASTIDA, F.; MÜLLEDER, N.; SMEDA, R.J.; DE PRADO, R. Differential susceptibility to glyphosate among the *Conyza* weed species in Spain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 58, n. 7, p. 4361-4366, 2010.

GRESSEL, J.; SEGEL, L.A. Modeling the effectiveness of herbicide rotations and mixtures as strategies to delay or preclude resistance. **Weed Technology**, Champaign, v. 4, p. 186-198, 1990.

HEAP, I. **International survey of resistant weeds**. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>. Acesso em: 20 fev. 2013.

MATALLO, M.B.; ALMEIDA, S.D.B.; CERDEIRA, A.L.; FRANCO, D.A.; BLANCO, F.M.G.; MENEZES, P.T.C.; LUCHINI, L.C.; MOURA, M.A.M.; DUKE, S.O. Microwave-assisted solvent extraction and analysis of shikimic acid from plant tissues. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 27, n. spe, p. 987-994, 2009.

REDDY, K.N.; RIMANDO, A.M.; DUKE, S.O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 52, n. 16, p. 5139-5143, 2004.

REDDY, K.N.; RIMANDO, A.M.; DUKE, S. O.; NANDULA, V.K. Amino methyl phosphoric acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, Davis, v. 56, p. 2125-2130, 2008.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: **WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE**, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

TELES, A.M.; BORGES, R.A.X.; HEIDEN, G. *Conyza* In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2013. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB5288>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

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

ZABLOTOWICZ, R.M.; REDDY, K.N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.33, n.3, p.825-831, 2004.

ZOBIOLE, L.H.S.; OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR, A.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F.A.; KREMER, R.J.; MOREIRA, A.; ROMAGNOLI, L. M. Acúmulo de nutrientes em soja convencional e soja RR em diferentes tipos de controle de planta daninha. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 75-85, 2012.

ZOBIOLE, L.H.S.; OLIVEIRA JR., R. S.; KREMER, R.J.; MUNIZ, A.S.; OLIVEIRA JR., A. Nutrient accumulation and photosynthesis in glyphosate-resistant soybeans is reduced under glyphosate use. **Journal of Plant Nutrition**, London, v. 33, p. 1860-1873, 2010.

5 HERBICIDAS ALTERNATIVOS PARA O CONTROLE DE *Conyza sumatrensis* COM SUSCETIBILIDADE DIFERENCIAL AOS INIBIDORES DA ALS E/OU RESISTENTES AO GLYPHOSATE

Resumo

A buva (*Conyza sumatrensis*) é uma das principais plantas daninhas já identificadas no Sul do Brasil e apresenta controle insatisfatório em resposta à aplicação dos herbicidas chlorimuron-ethyl e glyphosate. Neste contexto, o objetivo da pesquisa é avaliar herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *C. sumatrensis* com resistência de nível baixo ao herbicida chlorimuron-ethyl e resistentes ao herbicida glyphosate. O experimento é realizado em casa-de-vegetação, no período compreendido entre abril e agosto de 2012, no município de Passo Fundo/RS. O delineamento experimental foi, inteiramente, casualizado, com quatro repetições, sendo avaliados 15 tratamentos herbicidas, além de uma testemunha sem aplicação. As variáveis consideradas foram controle percentual aos 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT) e a fitomassa seca da parte aérea aos 28 DAT. Como resultados, observou-se que os biótipos foram 100% controlados, aos 28 DAT, pelos tratamentos alternativos de paraquat + diuron; ammonium glufosinate; glyphosate + 2,4-D; glyphosate + ammonium glufosinate; 2,4-D; tembotrione e tembotrione + atrazine. O biótipo 17 evidenciou menor sensibilidade aos herbicidas inibidores da ALS, e os biótipos 05, 17 e 20 não foram controlados pelo herbicida glyphosate.

Palavras-chave: Buva; Chlorimuron-ethyl; Glyphosate

Abstract

Horseweed (*Conyza sumatrensis*) is the major weed already identified in southern Brazil and present unsatisfactory control in response to application of herbicide chlorimuron-ethyl and glyphosate. In this context, the aim of this research is evaluating alternative herbicides for control of biotypes of *C. sumatrensis* with low-level resistance to the herbicide chlorimuron-ethyl and glyphosate-resistant. The experiment was carried out in a greenhouse, in a period during the interval April to August 2012, in Passo Fundo / RS. The experimental design was completely randomized with four replications, with 15 herbicide treatments, plus an untreated control. The variables evaluated were percent control at 14, 21 and 28 days after treatment (DAT) and dry weight of shoot at 28 DAT. The results showed that the biotypes were 100% controlled at 28 DAT for alternative treatments of paraquat + diuron, ammonium glufosinate, glyphosate + 2,4-D, glyphosate and ammonium glufosinate; 2,4-D; tembotrione and tembotrione + atrazine. The biotype 17 showed less sensitivity to ALS-inhibiting herbicides, and biotypes 05, 17 and 20 were not controlled by glyphosate.

Keywords: Horseweed; Chlorimuron-ethyl; Glyphosate

5.1 Introdução

O uso de novas tecnologias na agricultura aumentou, notavelmente, a produção de alimentos em todo o mundo. Segundo Powles e Yu (2010), o aumento na produção de alimentos está associado ao uso generalizado de herbicidas na agricultura. Contudo, a aplicação sucessiva do mesmo herbicida ou de herbicidas diferentes, mas com o mesmo mecanismo de ação pode selecionar plantas daninhas resistentes. Conforme Uizurrún e Leaden (2012), o uso de novas tecnologias, como a soja resistente ao glyphosate, não melhorou o manejo de plantas daninhas e, ainda, contribuíram para o surgimento de resistência aos herbicidas, predominantemente, utilizados.

As diferenças de sensibilidade nas plantas daninhas aos herbicidas podem caracterizar resistência de nível baixo. Isso ocorre quando existe diferença no controle entre biótipos resistente e suscetível em doses abaixo da dose registrada, entretanto, na dose de registro do herbicida os biótipos são controlados. O que ocorre na prática é redução da sensibilidade dos biótipos aos herbicidas, mas eles continuam sendo controlados com a dose registrada (indicada na bula), não sendo, assim, classificados como resistentes. Nestes casos, pode-se considerar a possibilidade de que os biótipos estão evoluindo para resistência.

A resistência trata-se de um fenômeno natural que ocorre, espontaneamente, nas populações, não sendo, portanto, o herbicida o agente causador, e sim selecionador dos indivíduos resistentes que se encontram em baixa frequência inicial (CHRISTOFFOLETI et al., 1994). A resistência de planta a um herbicida é definida como a habilidade herdada de uma planta sobreviver e reproduzir-se após a exposição à dose registrada do herbicida normalmente letal para a população natural (GAZZIERO et al., 2009).

No sul do Brasil, a produção de soja é destaque na agricultura, e tem como principal planta daninha a buva (*Conyza* spp.). A seleção dessa planta daninha, na cultura, ocorreu pela introdução da soja Roundup Ready (RR), que aumentou a pressão pelo uso do glyphosate. O glyphosate age inibindo a 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), que é a enzima responsável pela reação de conversão do chiquimato-3-fosfato e fosfoenolpiruvato em EPSP e fosfato inorgânico, na rota do ácido chiquímico (GEIGER; FUCHS, 2002). A inibição da EPSPs resulta no acúmulo de ácido chiquímico nas plantas e na redução da biossíntese de aminoácidos aromáticos, como triptofano, tirosina e fenilalanina (MOREIRA et al., 2007). No entanto, já foram identificados no Sul do Brasil biótipos de *C. bonariensis* (VARGAS et al., 2007; MOREIRA et al., 2007), *C. canadenses* (MOREIRA et al., 2007; LAMEGO; VIDAL, 2008) e *C. sumatrensis* (Retz.) E.Walker (HEAP, 2013) resistentes ao herbicida glyphosate.

Com a comprovação da resistência ao herbicida glyphosate em biótipos *Conyza* spp., na região Sul, outros herbicidas passaram a ser utilizados para controlar a buva, entre eles o chlorimuron-ethyl. Esse herbicida atua na inibição da acetolactato sintase (ALS), interrompe a síntese de proteína, que por sua vez interfere na síntese de DNA e no crescimento celular (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Contudo, foram identificados biótipos de *C. sumatrensis* (Retz.) E.Walker com resistência múltipla aos herbicidas chlorimuron-ethyl e glyphosate (HEAP, 2013). A resistência múltipla ocorre quando um indivíduo possui um ou mais mecanismos de resistência distintos que conferem o comportamento resistente aos herbicidas com mecanismos de ação diferenciados (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

Dentre as principais consequências da resistência de plantas daninhas a herbicidas, podemos enumerar a restrição ou inviabilização da utilização desses produtos; perdas de áreas de plantio; perdas de rendimento e qualidade dos produtos das culturas agrícolas; necessidade de reaplicação de herbicidas; mudança no sistema de produção e, em alguns casos, requerendo aumento de doses de herbicidas, que tem como consequência maior impacto ambiental e elevação dos custos de produção, com consequente redução da competitividade na comercialização do produto final (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

Segundo Christoffoleti e López-Ovejero (2003), quando ocorrem plantas daninhas resistentes aos herbicidas em uma área com densidade suficiente para limitar a produção das culturas agrícolas, há necessidade de mudanças nas práticas de manejo utilizadas. De acordo com os autores, o manejo de plantas daninhas em uma propriedade deve ser considerado à longo prazo, através de um controle integrado com os sistemas de produção envolvendo métodos culturais, físicos, mecânicos, químicos, além de outros.

Deste modo, é necessário alterar, constantemente, as práticas, normalmente, utilizadas no controle de plantas daninhas visando evitar ou retardar o aparecimento de plantas daninhas resistentes (LÓPEZ-OVEJERO; CHRISTOFFOLETI, 2003). Para Boerboom (1999), o aspecto mais importante na prevenção e manejo da resistência é a recomendação de práticas e sistemas de produção em que a pressão de seleção de biótipos resistentes à determinado herbicida seja reduzida. Além disso, podem evitar a seleção de novos biótipos resistentes, sendo também ferramenta fundamental no controle de espécies já resistentes (OLIVEIRA NETO et al., 2010).

Para os agricultores, a adição de herbicidas alternativos aplicados de forma isolada e/ou misturados no tanque com aqueles herbicidas para os quais foi detectada a resistência, é a mudança mais adotada no manejo de plantas daninhas em áreas onde foi identificada resistência (PETERSON, 1999). Contudo, a alternativa de mistura de herbicidas no tanque de

pulverização, bem como o uso de misturas formuladas ou aplicações sequenciais de herbicidas para manejo e prevenção da resistência, está baseada no fato de que os ingredientes ativos controlam, eficientemente, os dois biótipos da mesma espécie, ou seja, o biótipo resistente a um dos herbicidas é controlado pelo outro ingrediente ativo da mistura (POWLES; HOLTUM, 1994). Assim, o estudo de alternativas de controle é fundamental para o adequado manejo dos biótipos resistentes (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2006).

Neste contexto, o objetivo da pesquisa foi avaliar herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *C. sumatrensis* com resistência de nível baixo ao herbicida chlorimuron-ethyl e resistentes ao herbicida glyphosate.

5.2 Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação da Embrapa Trigo, em Passo Fundo/RS (S 28°15'46" e W 52°24'24", a 684m de altitude). O delineamento experimental foi, inteiramente, casualizado, com quatro repetições. Na primeira etapa da pesquisa, foram selecionados quatro biótipos de *C. sumatrensis* (2, 5, 17 e 20) identificados na Tabela 5.1. Os biótipos selecionados foram identificados no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, como *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker (TELES; BORGES; HEIDEN, 2013), e depositados no herbário, sob os números SMDM 13950, SMDM 13951, SMDM 13952 e SMDM 13953.

Tabela 5.1 - Identificação do município, das coordenadas do local de coleta dos biótipos de *C. sumatrensis* e a resposta desses biótipos à aplicação dos herbicidas chlorimuron-ethyl e glyphosate, avaliados no primeiro experimento realizado em 2011

Código	Município	Coordenadas	Chlorimuron-ethyl	Glyphosate
Biótipo 2	Pontão	Lat: 28°00'20.40" N Lon: 52°45'12.40" E	S	S
Biótipo 5	Carazinho	Lat: 28°18'06.51" N Lon: 52°53'41.31" E	S	R
Biótipo 17	Coqueiros do Sul	Lat: 28°07'28.00" N Lon: 52°42'47.90" E	MS	MS
Biótipo 20	Tio Hugo	Lat: 28°18'06.51" N Lon: 52°53'41.31" E	MS	MS

S=Suscetível; R=Resistente e MS=Menor Sensibilidade

A semeadura dos biótipos, na segunda etapa da pesquisa, ocorreu em 27/04/2012. As unidades experimentais foram compostas de copos plásticos com capacidade para 500 mL, preenchidos com substrato, composto de turfa de produção da Florestal S.A. (Gardem Plus

Turfa Fértil) e calcário calcítico ativado com minerais (N=0,02%; P_2O_5 =0,08% e K_2O =0,04%). As características técnicas do substrato são: pH=5,8 $\pm$ 0,5; Condutividade Elétrica=1,5 $\pm$ 0,3; Umidade Máxima (massa/massa)=55%; Densidade em Base Seca=290 kg m⁻³; Capacidade de Retenção de Água (C.R.A.)=60% em massa. Após a emergência, ocorrida em 06/05/2012, foi realizado desbaste, deixando três plantas por copo.

Foram avaliados 15 tratamentos herbicidas para o controle da buva, além de uma testemunha sem aplicação de herbicida (Tabela 5.2). A aplicação dos tratamentos ocorreu no dia 12/07/2012, quando os biótipos atingiram o estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura, com pulverizador costal pressurizado por CO₂ equipado com pontas do tipo leque Teejet XR 115.02, espaçadas em 0,5 m, e volume de calda de 150 L ha⁻¹, utilizando uma pressão de trabalho de 1,62 kgf cm⁻². No momento da aplicação a temperatura média era de 19 °C, a umidade relativa, de 57%, a intensidade dos ventos inferior a 1 km h⁻¹ e céu com poucas nuvens.

Tabela 5.2 - Tratamentos aplicados no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura nos biótipos de *C. sumatrensis* 2, 5, 17 e 20. Embrapa Trigo, 2012

Herbicida		Dose	
Nome comum	Nome comercial	(^{1/} g i.a. ha ⁻¹)	(^{2/} g ou L p.c. ha ⁻¹)
Testemunha sem herbicida	Testemunha sem herbicida	S/herbicida	S/herbicida
2,4-D	Dma 806 BR [®]	1.042	2,0
Glyphosate	Roundup Original [®]	900	2,5
Ammonium glufosinate ^{3/}	Finale [®]	400	2,0
Chlorimuron-ethyl ^{4/}	Classic [®]	20	80
Glyphosate+2,4-D	Round.Orig. [®] +Dma 806BR [®]	900 + 1.042	2,5 + 2,0
Glyphosate+ ammonium glufos.	Round. Original [®] +Finale [®]	900 + 400	2,5 + 2,0
Glyphosate+Chlorimuron-ethyl	Round. Original [®] +Classic [®]	900 + 20	2,5 + 80
Paraquat+Diuron	Gramocil [®]	600 + 300	1,5 + 1,5
Nicosulfuron	Sanson 40 SC [®]	28	0,7
Atrazine	Proof [®]	1000	2,0
Tembotrione	Soberan [®]	84	0,2
Nicosulfuron + Atrazine	Sanson 40SC [®] +Proof [®]	28 + 1000	0,7 + 2,0
Tembotrione + Atrazine	Soberan [®] +Proof [®]	84 + 1000	0,2 + 2,0
Iodosulfuron-methyl sodium ^{3/}	Hussar [®]	5	100
Metsulfuron-methyl	Ally [®]	3,6	6

^{1/}Ingrediente ativo; ^{2/}produto comercial; ^{3/}Adição de adjuvante Lauril éter sulfato de sódio 279g L⁻¹ (Hoefix[®]) a 0,25% v v⁻¹; ^{4/}Adição de adjuvante hidrocarbonetos alifáticos 756g L⁻¹ (Assist[®]) a 0,05% v v⁻¹

As variáveis avaliadas foram controle (%) e fitomassa seca (g ha⁻¹) da parte aérea da planta, em relação às plantas não tratadas. As avaliações de controle foram realizadas

visualmente, por dois avaliadores, aos 14, 21 e 28 DAT (dias após a aplicação dos tratamentos), utilizando escala percentual, em que zero representou ausência de sintomas e cem a morte das plantas (FRANS et al., 1986). Após a última avaliação, realizou-se a colheita das plantas para determinar a produção de matéria seca da parte aérea. Para isso, submeteu-se o material vegetal à secagem em estufa de circulação forçada de ar à 60°C, até se obter a massa constante, quando foi pesado o material. Transformaram-se os valores de peso para valores percentuais, comparando-se a matéria seca obtida nos tratamentos que receberam herbicida com a matéria seca média obtida na testemunha, considerada 100%.

Os dados obtidos foram verificados quanto à homogeneidade da variância e, posteriormente, submetidos à ANOVA ($p \leq 0,05$), utilizando o software “ASSISTAT 7.6 BETA” (SILVA & AZEVEDO, 2009) e verificou-se efeito significativo para alguma variável-resposta, suas médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de médias de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Na terceira etapa da pesquisa, foi avaliada a capacidade dos biótipos 2, 5, 17 e 20, em metabolizar o herbicida clorimurom-etílico na presença de dois inibidores do citocromo P450 monoxigenase, butóxido de piperonila (SINGH et al., 1998) e malation (YU et al., 2004). A semeadura ocorreu no dia 13/05/2013, em copos plásticos (unidades experimentais) com capacidade para 500 mL, contendo o mesmo substrato do experimento anterior, e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições.

Os tratamentos avaliados, no experimento de metabolização foram: butóxido de piperonila (2.100 g ha^{-1}) e malation (1000 g ha^{-1}) aplicados 60 e 30 min. antes do herbicida clorimurom-etílico, respectivamente, e a testemunha sem aplicação de inibidor. Foram avaliadas quatro doses do herbicida clorimurom-etílico (0, 10, 20 e 40 g ha^{-1}) na presença dos inibidores. A aplicação dos tratamentos foi realizada em 11/07/2013, quando as plantas de buva atingiram estágio de 8 a 10 folhas, com uso de pulverizador costal pressurizado por CO_2 , equipado com pontas do tipo leque Teejet XR 115.02, espaçadas em 0,5 m, e volume de calda de 150 L ha^{-1} , pressão de trabalho de $1,62 \text{ kgf cm}^{-2}$. Foram realizadas quatro avaliações de controle (%) aos 7, 14, 21 e 42 DAT.

5.3 Resultados e Discussão

O resultado da análise da variância do segundo experimento indicou interação significativa entre tratamentos e biótipos de *C. sumatrensis* em todas as variáveis analisadas para os herbicidas alternativos. Na primeira avaliação, realizada aos 14 DAT, observa-se

maior nível de controle para o tratamento com paraquat + diuron (98%) sobre os biótipos 2, 5, 17 e 20 (Tabela 5.3). Observou-se controle de 95% em todos os biótipos quando utilizou-se os tratamentos ammonium glufosinate e glyphosate + ammonium glufosinate (Tabela 5.3). Os biótipos 2 e 20 foram mais sensíveis ao tratamento glyphosate + chlorimuron-ethyl, com 80% de controle, enquanto, os biótipos 5 e 17 evidenciaram controles de 75% e 76,2%, respectivamente (Tabela 5.3). A aplicação isolada do glyphosate proporcionou controle de 75% para o biótipo 2, porém para os biótipos 5, 17 e 20 os controles foram de 15%, 30% e 25%, respectivamente. (Tabela 5.3). Os demais tratamentos evidenciaram controles inferiores a 60% nos biótipos (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 - Controle percentual de biótipos de *C. sumatrensis* 2, 5, 17 e 20, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura, 14 dias após o tratamento (DAT) com 15 herbicidas e uma testemunha sem aplicação de herbicida. Embrapa Trigo, 2013

Tratamentos	($\frac{1}{g}$ i.a. ha^{-1})	Controle Percentual nos Biótipos			
		2	5	17	20
Testemunha sem herbicida	S/herbicida	0,0 mA ^{4/}	0,0 lA	0,0 mA	0,0 lA
2,4-D	1.042	60 eA	50 eB	50 eB	50 eB
Glyphosate	900	75 dA	15 iD	30 gB	25 hC
Ammonium glufosinate ^{3/}	400	95 bA	95 bA	95 bA	95 bA
Chlorimuron-ethyl ^{4/}	20	40 gA	40 fA	32,5 gB	40 gA
Glyphosate+2,4-D	900 + 1.042	70 dA	65 dB	65 dB	65 dB
Glyphosate+ammonium glufos.	900 + 400	95 bA	95 bA	95 bA	95 bA
Glyphosate+Chlorimuron-ethyl	900 + 20	80 cA	75 cB	76,2 cB	80 cA
Paraquat+Diuron	600 + 300	98 aA	98 aA	98 aA	98 aA
Nicosulfuron	28	15 jA	10 iB	10 jB	10 jB
Atrazine	1000	8 lA	3 jC	3 lC	5 lB
Tembotrione	84	20 iA	20 hA	20 iA	20 iA
Nicosulfuron + Atrazine	28 + 1000	20 iA	15 iB	15 jB	15 iB
Tembotrione + Atrazine	84 + 1000	30 hA	28,7 gA	25 hB	25 hB
Iodosulfuron-methyl sodium ^{3/}	5	40 gB	45 eA	45 fA	45 fA
Metsulfuron-methyl	3,6	50 fA	40 fB	40 fB	40 gB
Média		49			
CV ^{5/} (%)		2,81			

^{1/}Ingrediente ativo; ^{2/}Adição de adjuvante Lauril éter sulfato de sódio 279g L⁻¹ (Hoefix[®]) a 0,25% v v⁻¹; ^{3/}Adição de adjuvante hidrocarbonetos alifáticos 756g L⁻¹ (Assist[®]) a 0,05% vv⁻¹; ^{4/} Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05); ^{5/} Coeficiente de variação Percentual

Aos 21 DAT o maior nível de controle dos biótipos foi, novamente, observado no tratamento com paraquat + diuron (acima de 98,5%) (Tabela 5.4). Contudo, os tratamentos com

ammonium glufosinate, glyphosate + 2,4-D e glyphosate + ammonium glufosinate não apresentaram diferença significativa do tratamento paraquat + diuron, com controles entre 95,3 e 99% (Tabela 5.4). A aplicação de glyphosate + chlorimuron-ethyl, tembotrione + atrazine e 2,4-D apresentaram controles entre 81,2 e 93,7%, porém, o biótipo 17 foi menos sensível ao tratamento com glyphosate + chlorimuron-ethyl, com controle de 86,2%, comparado com os demais biótipos (Tabela 5.4). No tratamento com metsulfuron-methyl, o biótipo 2 evidenciou a maior sensibilidade (85%), não diferindo dos controles com glyphosate + chlorimuron-ethyl, tembotrione + atrazine e 2,4-D (Tabela 5.4). Os demais tratamentos apresentaram níveis de controle abaixo de 80% (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 - Controle percentual nos biótipos de *C. sumatrensis* 2, 5, 17 e 20, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura, 21 dias após a o tratamento (DAT) com 15 herbicidas e uma testemunha sem aplicação de herbicida

Tratamentos	($\frac{1}{g}$ i.a. ha ⁻¹)	Controle Percentual nos Biótipos			
		2	5	17	20
Testemunha sem herbicida	S/herbicida	0,0 hA ^{1/5}	0,0 hA	0,0 gA	0,0 hA
2,4-D	1.042	88,7 bA	87,5 bA	87,5 bA	81,2 bA
Glyphosate	900	72,5 cA	15 gC	37,5 eB	35 fB
Ammonium glufosinate ^{3/}	400	98 aA	98 aA	98,5 aA	98 aA
Chlorimuron-ethyl ^{4/}	20	70 cB	80 cA	57,5 cC	66,2 dB
Glyphosate+2,4-D	900 + 1.042	96,7 aA	95,3 aA	96 aA	97 aA
Glyphosate+ammonium glufos.	900 + 400	98 aA	96,7 aA	96,7 aA	99 aA
Glyphosate+Chlorimuron-ethyl	900 + 20	91 bA	93,7 bA	86,2 bB	90,5 bA
Paraquat+Diuron	600 + 300	100 aA	99,5 aA	98,5 aA	99,5 aA
Nicosulfuron	28	30 fA	25 fA	25 fA	25 gA
Atrazine	1000	15 gB	5 hC	5 gC	25 gA
Tembotrione	84	40 eA	40 eA	40 eA	40 fA
Nicosulfuron + Atrazine	28 + 1000	70 cA	56,2 dB	36,2 eC	36,2 fC
Tembotrione + Atrazine	84 + 1000	90 bA	90 bA	88,7 bA	87,5 bA
Iodosulfuron-methyl sodium ^{3/}	5	65 dA	60 dB	57,5 cB	60 eB
Metsulfuron-methyl	3,6	85 bA	76,2 cB	51,2 dD	70 cC
Média				50	
CV ^{1/6} (%)				6,22	

^{1/}Ingrediente ativo; ^{2/}produto comercial; ^{3/}Adição de adjuvante Lauril éter sulfato de sódio 279g L⁻¹ (Hoefix[®]) a 0,25% v v⁻¹; ^{4/}Adição de adjuvante hidrocarbonetos alifáticos 756g L⁻¹ (Assist[®]) a 0,05% v v⁻¹; ^{5/} Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05); ^{6/} Coeficiente de variação

Na última avaliação de controle, realizada aos 28 DAT, o maior nível de controle dos biótipos (100%), novamente, foi observado nos tratamentos paraquat + diuron; ammonium glufosinate; glyphosate + 2,4-D e glyphosate + ammonium glufosinate, além dos tratamentos com 2,4-D, tembotrione e tembotrione + atrazine (Tabela 5.5). Trabalhos realizados com a

aplicação de paraquat + diuron (VARGAS et al., 2007) e de glyphosate + 2,4-D (OLIVEIRA NETO et al., 2010), também evidenciaram 100% de controle em buvas resistentes ao herbicida glyphosate. Porém, Moreira et al. (2010) testando a aplicação de ammonium glufosinate e glyphosate + ammonium glufosinate encontraram controles intermediários em biótipos de *Conyza* spp. resistentes ao glyphosate no estágio fenológico de 10 folhas.

Tabela 5.5 - Controle percentual nos biótipos de *C. sumatrensis* 2, 5, 17 e 20, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura, 28 dias após a o tratamento (DAT) com 15 herbicidas e uma testemunha sem aplicação de herbicida. Embrapa Trigo, 2013

Tratamentos	$(\frac{1}{g} \text{ i.a. ha}^{-1})$	Controle Percentual Biótipos de <i>C. sumatrensis</i>			
		2	5	17	20
Testemunha sem herbicida	S/herbicida	0,0 fA ^{5/}	0,0 fA	0,0 gA	0,0 gA
2,4-D	1.042	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Glyphosate	900	80 cA	0,0 fB	0,0 gB	0,0 gB
Ammonium glufosinate ^{3/}	400	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Chlorimuron-ethyl ^{4/}	20	85 bB	100 aA	45 dD	80 bC
Glyphosate+2,4-D	900 + 1.042	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Glyphosate+ammonium glufos.	900 + 400	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Glyphosate+Chlorimuron-ethyl	900 + 20	100 aA	100 aA	73,7 cB	100 aA
Paraquat+Diuron	600 + 300	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Nicosulfuron	28	60 dA	40 dC	20 fD	45 eB
Atrazine	1000	35 eA	30 eB	30 eB	30 fB
Tembotrione	84	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Nicosulfuron + Atrazine	28 + 1000	100 aA	100 aA	90 bB	82,5 bC
Tembotrione + Atrazine	84 + 1000	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Iodosulfuron-methyl sodium ^{3/}	5	75 cA	53,7 cC	45 dD	60 dB
Metsulfuron-methyl	3,6	85 bA	65 bC	45 dD	73,7 cB
Média				73,8	
CV ^{6/} (%)				1,91	

^{1/}Ingrediente ativo; ^{2/}produto comercial; ^{3/}Adição de adjuvante Lauril éter sulfato de sódio 279g L⁻¹ (Hoefix[®]) a 0,25% vv⁻¹; ^{4/}Adição de adjuvante hidrocarbonetos alifáticos 756g L⁻¹ (Assist[®]) a 0,05% vv⁻¹; ^{5/} Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05); ^{6/} Coeficiente de variação Percentual

Os resultados demonstram que o herbicida ammonium glufosinate, sozinho e em associação com o glyphosate, foi eficiente no controle dos biótipos avaliados, porém, o estágio fenológico dos biótipos foi de 8 a 10 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura. Contudo, existem relatos na literatura sobre a influência de estágio de desenvolvimento na eficiência do

ammonium glufosinate no controle de buva resistente ao glyphosate (TALBERT et al., 2004; MOREIRA et al., 2010).

A aplicação do herbicida glyphosate, aos 28 DAT, evidenciou diferenças no controle entre os biótipos avaliados, o biótipo 2 apresentou o maior nível de controle com a aplicação do glyphosate (80%), enquanto que os demais biótipos não foram controlados, evidenciando menor sensibilidade e/ou resistência ao herbicida (Tabela 5.5). Já, para o tratamento chlorimuron-ethyl aos 28 DAT, também constatou-se diferença no controle entre os biótipos avaliados, sendo que a maior e a menor sensibilidade ao chlorimuron foram observadas para os biótipos 5 (100%) e 17 (45%), respectivamente, e os biótipo 2 e 20 tiveram controle semelhantes (Tabela 5.5). Contudo, fazendo a associação do glyphosate + chlorimuron-ethyl, o biótipo 17, permaneceu com a menor sensibilidade 73,7%, já os demais biótipos foram, eficientemente, controlados (100%) (Tabela 5.5). Os resultados acima evidenciam a dificuldade de controle do biótipo 17 com uso de chlorimuron-ethyl e dos biótipos 5, 17 e 20 com uso de glyphosate, inclusive com controle insatisfatório (73,7%) dos herbicidas em associação sobre o biótipo 17 (Tabela 5.5).

A aplicação de nicosulfurom + atrazine controlaram 100% os biótipos 2 e 5, não diferindo dos tratamentos com maior nível de controle aos 28 DAT. No entanto, os biótipos 17 e 20 demonstram menor sensibilidade à associação de nicosulfurom + atrazine, com níveis de controle de 90% e 82,5%, respectivamente (Tabela 5.5). Para o tratamento com metsulfuron-methyl, o biótipo 2 evidenciou a maior sensibilidade (85%), entre os biótipos avaliados e, não apresentou diferença do controle com o chlorimuron-ethyl (Tabela 5.5). O biótipo 17 apresentou a menor sensibilidade ao metsulfuron-methyl, entre os biótipos avaliados, com controle de 45% e, também, não diferiu dos controles com iodosulfuron-methyl sodium e chlorimuron-ethyl. Os demais tratamentos nos biótipos ficaram com controles abaixo de 75% (Tabela 5.5).

De forma geral, os resultados indicam que o biótipo 17 apresenta menor sensibilidade aos herbicidas inibidores da enzima ALS (chlorimuron-ethyl, nicosulfurom, iodosulfuron-methyl sodium e metsulfuron-methyl). Porém, Vargas et al. (2007) identificaram os herbicidas chlorimuron-ethyl e metsulfuron-methyl como eficientes no controle de buva resistente ao glyphosate. Portanto, a buva apresentou-se sensível aos herbicidas inibidores da ALS. Contudo, podem ter ocorrido modificações morfofisiológicas na planta de buva que resultaram em resistência de nível baixo a esses herbicidas. O mecanismo mais comum de sobrevivência das espécies aos herbicidas inibidores da ALS é a capacidade da planta de metabolizar a molécula herbicida (SWEESTER et al., 1982). Entre as reações metabólicas

mais comuns, envolvidas na seletividade das espécies aos inibidores da ALS, estão a hidroxilação do anel aromático, a hidroxilação alifática, a desalquilação, a desesterificação e a conjugação. A enzima citocromo P-450 monooxigenase muitas vezes está associada com reações de hidroxilação das moléculas de herbicida (VIDAL, 2002). No entanto, a aplicação dos inibidores do citocromo P450 monooxigenase, butóxido de piperonila e malation, não aumentou a fitotoxicidade do herbicida chlorimuron-ethyl sobre os biótipos de buva no estágio fenológico de 8 a 10 folhas. Esse resultado indica que os biótipos de buva não metabolizam o chlorimuron-ethyl, e que a sobrevivência dos biótipos nesse estágio está relacionada a outro mecanismo.

No controle com o herbicida glyphosate, somente o biótipo 2 demonstrou sensibilidade, já os demais biótipos não foram controlados pelo herbicida, evidenciando a menor sensibilidade e/ou a resistência dos biótipos ao glyphosate. A resistência em biótipos de *Conyza spp.* ao herbicida glyphosate já foi identificada no Rio Grande do Sul (VARGAS et al., 2007; LAMEGO & VIDAL, 2008). A partir dessa identificação, a incidência de biótipos de buva com resistência e/ou com menor sensibilidade ao glyphosate tem aumentado no Estado. Entretanto, mesmo fazendo a associação do herbicida chlorimuron-ethyl ao glyphosate, o biótipo 17 evidenciou menor sensibilidade. Essa menor sensibilidade à associação de produtos pode evoluir para um biótipo com resistência múltipla aos herbicidas, dificultando o seu controle. Os demais biótipos (2, 17 e 20) foram, eficientemente, controlados pela associação de chlorimuron-ethyl + glyphosate.

Na tabela 5.6, são apresentadas as porcentagens de redução da fitomassa seca por meio da aplicação dos tratamentos herbicidas aos 28 DAT, confirmando os resultados de controle dos biótipos com o uso dos herbicidas paraquat + diuron, ammonium glufosinate, glyphosate + 2,4-D e glyphosate + ammonium glufosinate. Os demais resultados também seguem a mesma tendência dos resultados de controle aos 28 DAT.

Tabela 5.6 - Percentual da fitomassa seca da parte aérea nos biótipos de *C. sumatrensis* 2, 5, 17 e 20, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura, 28 dias após a o tratamento (DAT) com 15 herbicidas e uma testemunha sem aplicação

Tratamentos	$(\frac{1}{g} \text{ i.a. ha}^{-1})$	Controle Percentual Biótipos de <i>C. sumatrensis</i>			
		2	5	17	20
Testemunha sem herbicida	S/herbicida	100 aA ^{5/}	100 aA	100 aA	100 aA
2,4-D	1.042	18,9 eA	18,4 dA	19,8 gA	18,2 dA
Glyphosate	900	21,3 dC	36,6 bA	24,9 eB	27,6 bB
Ammonium glufosinate ^{3/}	400	16,5 fA	16,1 eA	16,0 hA	15,9 eA
Chlorimuron-ethyl ^{4/}	20	21,2 dB	21,8 cB	28,6 dA	23,6 cB
Glyphosate+2,4-D	900 + 1.042	19,8 dA	19,8 dA	17,3 hA	18,2 dA
Glyphosate+ammonium glufos.	900 + 400	16,0 fA	17,1 eA	16,2 hA	16,3 eA
Glyphosate+Chlorimuron-ethyl	900 + 20	19,8 dB	18,0 dB	31,1 dA	18,7 dB
Paraquat+Diuron	600 + 300	15,7 fA	16,3 eA	14,8 hA	15,1 eA
Nicosulfuron	28	27,2 cC	37,4 bB	40,3 bA	29,8 bC
Atrazine	1000	30,0 bB	34,9 bA	34,5 cA	29,0 bB
Tembotrione	84	22,9 dA	24,8 cA	23,4 fA	21,5 cA
Nicosulfuron + Atrazine	28 + 1000	22,2 dA	24,0 cA	24,5 eA	22,3 cA
Tembotrione + Atrazine	84 + 1000	18,6 eA	20,1 dA	19,4 gA	17,9 dA
Iodosulfuron-methyl sodium ^{3/}	5	18,4 eC	25,6 cA	26,0 eA	22,7 cB
Metsulfuron-methyl	3,6	18,2 eC	24,4 cB	27,5 dA	24,1 cB
Média				56,1	
CV ^{6/} (%)				7,01	

^{1/}Ingrediente ativo; ^{2/}produto comercial; ^{3/}Adição de adjuvante Lauril éter sulfato de sódio 279g L⁻¹ (Hoefix®) a 0,25% vv⁻¹; ^{4/}Adição de adjuvante hidrocarbonetos alifáticos 756g L⁻¹ (Assist®) a 0,05% vv⁻¹; ^{5/} Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05); ^{6/} Coeficiente de variação Percentual

5.4 Conclusões

Os tratamentos alternativos 2,4-D (1.042 g ha⁻¹), ammonium glufosinate (400 g ha⁻¹), glyphosate (900 g e.a. ha⁻¹ + 2,4-D 1.042 g ha⁻¹), glyphosate (900 g e.a ha⁻¹) + ammonium glufosinate (400 g ha⁻¹), paraquat (600 g ha⁻¹) + diuron (300 g ha⁻¹), tembotrione (84 g ha⁻¹) e tembotrione (84 g ha⁻¹) + atrazine (1.000 g ha⁻¹), controlam todos os biótipos de *C. sumatrensis*, independente da suscetibilidade diferencial e/ou resistência, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura. A associação de glyphosate (900 g e.a. ha⁻¹) + chlorimuron-ethyl (20 g ha⁻¹) controla os biótipos 2, 5 e 20, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura. A associação de nicosulfurom (28 g ha⁻¹) + atrazine (1.000 g ha⁻¹) controla os biótipos 2 e 5, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura.

O herbicida chlorimuron-ethyl (20 g ha⁻¹) não controla os biótipos 2, 17 e 20, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura. Os herbicidas inibidores da ALS (chlorimuron-ethyl, nicosulfuron, iodosulfuron-methyl sodium, metsulfuron-methyl) não controlam o biótipo 17, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura. O glyphosate não controla os biótipos 5, 17 e 20, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura. Os biótipos de buva não evidenciaram capacidade de metabolizar o chlorimuron-ethyl.

Referências

- BOERBOOM, C.M. Nonchemical options for delaying weed resistance to herbicides in Midwest cropping systems. **Weed Technology**, Champaign, v. 13, n. 3, p. 636-642, 1999.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. & LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Principais aspectos da resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 3, p. 507-515, 2003.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3.ed. Piracicaba: HRAC-BR, 2008. p. 14-119.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 12, n. 1, p. 13-20, 1994.
- FRANS, R., TALBERT, R.; MARX, D.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. In: **Research methods in weed science**. CAMPER, N.D. 3rd ed. Champaign, IL: Southern Weed Science Society, 1986. p. 29-46.
- GAZZIERO, D.L.P. Critérios para relatos oficiais estatísticos de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas. In: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. (Ed.). **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Passo Fundo: Berthier, 2009. p. 91-101.
- GEIGER, D.R.; FUCHS, M.A. Inhibitors of aromatic amino acid biosynthesis (glyphosate). In: BÖGER, P.; WAKABAYASHI, K.; HIRAI, K. (Ed.). **Herbicide classes in development**. Berlin: Springer-Verlag, 2002. p. 59-85.
- HEAP, I. **International survey of resistant weeds**. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>. Acesso em: 20 fev. 2013.
- LAMEGO, F.P.; VIDAL, R.A. Resistência ao glyphosate em biótipos de *C. bonariensis* e *C. canadensis* no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, n. 2, p. 467-471, 2008.

- LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Recomendações para prevenção e manejo da resistência a herbicidas. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.) **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Londrina: Associação Brasileira de Ação a resistência de Plantas aos herbicidas (HRAC-BR), 2003. p. 45-79.
- LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; PENCKOWSKI, L.H.; PODOLAN, M.J.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Alternativas de manejo químico da planta daninha *Digitaria ciliaris* resistente aos herbicidas inibidores da ACCase na cultura da soja. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 399-406, 2006.
- MOREIRA, M.S.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de *C. canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 157-164, 2007.
- MOREIRA, M.S.; MELO, M.S.C.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Herbicidas alternativos para controle de biótipos de *Conyza bonariensis* e *C. canadensis* resistentes ao glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 167-175, 2010.
- OLIVEIRA NETO, A.M.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R.S.; GUERRA, N.; DAN, H.A.; ALONSO, D.G.; BLAINSKI, E.; SANTOS, G. Estratégias de manejo de inverno e verão visando ao controle de *Conyza bonariensis* e *Bidens pilosa*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. spe, p. 1107-1116, 2010.
- PETERSON, D.E. The impact of herbicide-resistant weeds on Kansas agriculture. **Weed Technology**, Champaign, v. 13, n. 3, p. 632-635, 1999.
- POWLES, S.B.; HOLTUM, J.A.M. **Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry**. Boca Raton: Lewis. 1994. 353p.
- POWLES, S.B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, n. 1, p. 317-347, 2010.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6.ed. Londrina, 2011. 697p
- SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. Principal components analysis in the software assistat-statistical attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009. **Proceedings...** Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.
- SINGH, S.; KIRKWOOD, R.C.; MARSHALL, G. Effect of the Monooxygenase Inhibitor Piperonyl Butoxide on the Herbicidal Activity and Metabolism of Isoproturon in Herbicide Resistant and Susceptible Biotypes of *Phalaris minor* and Wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 59 n. 3, p. 143-153, 1998.
- SWEESTER, P.B.; SCHOW, G.S.; HUTCHISON, J.M. Metabolism of chlorulfuron by plants: Biological basis for selectivity of a new herbicide for cereals. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 17, n. 1, p. 18-23, 1982.

TALBERT, R.E.; MCCLELLAND, M.R.; BARRENTINE, J.L.; SMITH, K.L.; KELLEY, M.B. **Managing glyphosate-resistant horseweed in Arkansas cotton**. Fayetteville: University of Arkansas, Division of Agriculture, 2004. 72p. (Research Series, 530)

TELES, A.M.; BORGES, R.A.X.; HEIDEN, G. *Conyza* In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2013. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB5288>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

UIZURRUN, P.D.; LEADEN, M.I. Análisis de la sensibilidad de biotipos de *Lolium multiflorum* a herbicidas inhibidores de la enzima ALS, ACCasa y glifosato. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 667-673, 2012.

VARGAS, L.; BIANCHI, M.A.; RIZZARDI, M.A.; AGOSTINETTO, D.; DAL MAGRO, T. Buva (*C. bonariensis*) Resistente ao Glyphosate na Região Sul do Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 3, p. 573-578, 2007.

VIDAL, R.A. **Ação dos herbicidas**. Porto Alegre: Evangraf, 2002. 89p.

YU, Q.; FRIESEN, L.J.S.; ZHANG, Q.; POWLES, S. B. Tolerance to acetolactate synthase and acetyl-coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides in *Vulpia bromoides* is conferred by two co-existing resistance mechanisms. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 78, n. 1, p. 21-30, 2004.

6 CONCLUSÕES GERAIS

- (i) Os biótipos de buva 2, 5, 17 e 20 foram identificados como *Conyza sumatrensis*;
- (ii) todos os biótipos avaliados foram controlados, eficientemente, com a dose de 20 g ha⁻¹ de chlorimuron-ethyl, no estágio fenológico de 3 a 4 folhas o que permitiu descartar a hipótese de resistência a ALS;
- (iii) houve susceptibilidade diferencial entre os biótipos em doses abaixo de 20 g ha⁻¹ de chlorimuron-ethyl o que indica resistência de nível baixo;
- (iv) o herbicida chlorimuron-ethyl (20 g ha⁻¹) não controla os biótipos 2, 17 e 20 em estágio fenológico acima de 5 folhas;
- (v) os herbicidas inibidores da ALS (chlorimuron-ethyl, nicosulfuron, iodosulfuron-methyl sodium, metsulfuron-methyl) não controlam o biótipo 17 no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura;
- (vi) a dose de chlorimuron-ethyl, para controle de buva no estágio fenológico de 3 a 4 folhas, aplicada isolada ou associada ao glyphosate deve ser a máxima registrada (20 g ha⁻¹);
- (vii) o biótipo 5 apresenta resistência ao herbicida glyphosate;
- (viii) os biótipos 2, 17 e 20 são suscetíveis ao herbicida glyphosate;
- (ix) a aplicação do herbicida glyphosate reduz o crescimento dos biótipos avaliados, a maior redução observou-se no biótipo 2 e a menor no biótipo 5;
- (x) o glyphosate inibe a taxa de assimilação líquida de carbono e causa interferência na eficiência do uso da água nos biótipos suscetíveis;
- (xi) o glyphosate inibe, parcialmente, a taxa máxima de assimilação líquida de carbono e não causa interferência no uso eficiente da água do biótipo 5;

- (xii) as diferenças no acúmulo de ácido chiquímico indicam sensibilidade diferencial da EPSPs entre o biótipo resistente e os sensíveis ao glyphosate;
- (xiii) o acúmulo de ácido chiquímico, no biótipo 5, indica que o mecanismo de resistência não está relacionado com a insensibilidade total da EPSPs ao glyphosate e/ou que outros mecanismos de resistência podem estar envolvidos;
- (xiv) a associação de glyphosate (900 g e.a. ha⁻¹) + chlorimuron-ethyl (20 g ha⁻¹) controla os biótipos 2, 5 e 20, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura;
- (xv) os estádios de desenvolvimento de *C. sumatrensis* afetam, significativamente, o nível de controle dos herbicidas chlorimuron-ethyl, glyphosate e a associação destes herbicidas. Quanto mais avançado o estágio menor a eficácia de controle dos biótipos;
- (xvi) Os tratamentos alternativos 2,4-D (1.042 g ha⁻¹), ammonium glufosinate (400 g ha⁻¹), glyphosate (900 g e.a. ha⁻¹ + 2,4-D 1.042 g ha⁻¹), glyphosate (900 g e.a ha⁻¹) + ammonium glufosinate (400 g ha⁻¹), paraquat (600 g ha⁻¹) + diuron (300 g ha⁻¹), tembotrione (84 g ha⁻¹) e tembotrione (84 g ha⁻¹) + atrazine (1.000 g ha⁻¹), controlam todos os biótipos de *C. sumatrensis*, independente da suscetibilidade diferencial e/ou resistência, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura;
- (xvii) a associação de nicosulfurom (28 g ha⁻¹) + atrazine (1.000 g ha⁻¹) controla os biótipos 2 e 5, no estágio fenológico de 7 a 8 folhas e/ou 5 a 7 cm de altura;
- (xviii) o biótipo 17 apresenta menor sensibilidade ao chlorimuron-ethyl, que poder ser devido ao maior número de tricomas apresentado por este em todos os estádios de desenvolvimento;

- (xix) a menor sensibilidade dos biótipos para o herbicida chlorimuron-ethyl nos estádios 2 e 3 (altura 1 a 2 cm e 6 a 7 folhas e; altura 10 a 12 cm e 12 a 14 folhas, respectivamente) pode estar relacionada com a densidade tricomática;
- (xx) os biótipos de buva não evidenciaram capacidade de metabolizar o chlorimuron-ethyl.