

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR NORTE - RS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA:
AGRICULTURA E AMBIENTE**

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E FISIOLÓGICA
DE BUVA (*Conyza bonariensis* L.) RESISTENTE AO
HERBICIDA *GLYPHOSATE***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Tiago Edu Kaspary

Frederico Westphalen, RS, Brasil.

2014

PPGAAAM/UFSM, RS

KASPARY, Tiago Edu

Mestre

2014

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E FISIOLÓGICA
DE BUVA (*Conyza bonariensis* L.) RESISTENTE AO
HERBICIDA *GLYPHOSATE***

Tiago Edu Kaspary

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente, da Universidade Federal de Santa Maria -UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen- RS, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**.

Orientador: Prof. Dr^a Fabiane Pinto Lamego

Frederico Westphalen, RS, Brasil.

2014

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Educação Superior Norte - RS
Programa de Pós-Graduação em Agronomia:
Agricultura e Ambiente**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E FISIOLÓGICA DE BUVA (*Conyza
bonariensis* L.) RESISTENTE AO HERBICIDA *GLYPHOSATE***

elaborado por
Tiago Edu Kaspary

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Fabiane Pinto Lamego, Dr.^a.
(Presidente/Orientador)

Leandro Vargas, Dr. (Embrapa)

Claudir José Basso, Dr. (UFSM)

Frederico Westphalen, 07 de fevereiro de 2014.

*Aos meus pais,
Milton Luis Kaspary e Idelma F. Duranti Kaspary,
pelo apoio incondicional e por acreditar no meu sucesso.*

DEDICO...

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade da existência.

A Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente (PPGAAA) pela possibilidade de cursar o Mestrado, propiciando-me o acesso à Pós-Graduação pública e de qualidade. Em especial à FAPERGS pela bolsa concedida.

A Universidade Federal de Pelotas (UFPel), pela possibilidade de realização de trabalhos em laboratório, e aos colegas daquela instituição que me auxiliaram.

Em especial aos meus pais, Milton Luis Kaspary e Idelma Fátima Duranti Kaspary, ao irmão Tairon Eugênio Kaspary, ao avô Aloysio F. Kaspary e a avó Ely F. Kaspary (em memória), pelo apoio, amor, compreensão e pela ajuda na realização dos meus sonhos.

A professora Fabiane Pinto Lamego, orientadora, amiga e figura fundamental para realização dessa dissertação. Pelas brilhantes orientações, incentivos à pesquisa, confiança e em especial pela amizade que estabelecemos no decorrer da Graduação e Mestrado.

Aos demais professores e coordenação do PPGAAA por contribuírem na minha formação pessoal e profissional e pelo comprometimento, audácia e trabalho que tornaram o projeto do PPGAAA realidade.

Aos colegas da Segunda Turma de Mestrado do PPGAAA pela amizade, companheirismo, contribuições, convivência e momentos de descontração vivenciados.

Aos colegas e amigos do Grupo de Pesquisa em Plantas Daninhas: Luan Cutti, Adalin C.M. Aguiar, Carlos A. G. Rigon, Luciano Schievenin, Sabrina T. Peruzzo, Isabel B. Pagliarini, Dauana Dalla Libera, Mateus Galon, Gabriela Chaves, Daniela Uliana, Cristiano Bellé, Marcela Reinehr e demais pela amizade, contribuições na execução da pesquisa e excelente capacidade de trabalho em grupo.

A minha namorada, Bárbara Avrella pela confiança, companheirismo, compreensão e apoio incondicional nesta caminhada.

Enfim, a todos aqueles não citados que contribuíram diretamente e indiretamente para que eu vencesse mais esta importante etapa da minha vida.

A todos vocês, **MUITO OBRIGADO.**

*“Eu sou apenas um rapaz latino-americano sem dinheiro no banco
Sem parentes importantes e vindo do interior...”*
(Belchior)

*“Não é o mais forte da espécie que sobrevive, nem o mais inteligente.
É o que melhor se adapta às mudanças”*
(Charles Darwin)

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-graduação em Agronomia: Agricultura e Ambiente
Universidade Federal de Santa Maria

CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E FISIOLÓGICA DE BUVA (*Conyza bonariensis* L.) RESISTENTE AO HERBICIDA *GLYPHOSATE*

AUTOR: TIAGO EDU KASPARY
ORIENTADOR: FABIANE PINTO LAMEGO
Frederico Westphalen, RS 07 de fevereiro de 2014.

Conyza bonariensis, popularmente conhecida como buva, é a principal planta daninha da cultura da soja no Sul do Brasil, em decorrência de sua evolução como resistente ao herbicida *glyphosate*, alta adaptabilidade aos sistemas produtivos e elevada produção de sementes viáveis. O objetivo desse trabalho foi investigar a resistência ao *glyphosate* em *Conyza bonariensis*, a partir da avaliação do nível de resistência atual, herbicidas alternativos, aspectos do crescimento e desenvolvimento de biótipo resistente quando comparado ao suscetível ao herbicida, bem como determinar o mecanismo de resistência envolvido. O estudo foi dividido em três artigos sendo seus experimentos desenvolvidos no período de maio de 2012 a julho de 2013. Um experimento de curva-de-dose-resposta foi conduzido para determinar o nível de resistência apresentado pela buva. Concomitantemente, um estudo avaliou herbicidas alternativos ao *glyphosate*. Durante o outono-inverno e primavera-verão, desenvolveram-se dois experimentos de valor adaptativo para os biótipos suscetível (S) e resistente (R) ao *glyphosate*, onde foram mensuradas variáveis de crescimento e, produção e qualidade de sementes. Também foram desenvolvidos estudos relacionados e não relacionados ao local de ação do herbicida (enzima EPSPS), buscando-se elucidar o mecanismo de resistência ao *glyphosate* envolvido para a espécie *C. bonariensis*. O nível de resistência observado para o biótipo de buva foi elevado, com fator de resistência superior a 50. Herbicidas alternativos ao *glyphosate* foram eficazes no controle do biótipo de buva, comprovando a não ocorrência de resistência múltipla. O biótipo R apresentou valor adaptativo superior ao S a partir das variáveis analisadas, destacando-se como superior no desenvolvimento em estatura e acúmulo de massa seca, além de concluir o ciclo biológico em menor período que o biótipo S. Plantas R também apresentaram maior quantidade e melhor qualidade de sementes produzidas. Deste modo, o biótipo R tende a suprimir o S, mesmo na ausência da aplicação do herbicida, dissipando a resistência e dificultando ainda mais o controle da buva. A partir dos estudos relacionados aos mecanismos de resistência ao *glyphosate*, pode-se inferir que o biótipo R da *C. bonariensis* apresenta alterações envolvendo a enzima EPSPS, alvo do *glyphosate*, implicando em sua insensibilidade ao herbicida. Portanto, o *glyphosate* deixa de ser uma ferramenta no manejo da *C. bonariensis*, sendo necessária a utilização de herbicidas alternativos associado a medidas de controle integrado de plantas daninhas.

Palavras chaves: Planta daninha. Resistência. Valor adaptativo. Mecanismo de resistência.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program in Agronomy: Agriculture and Environment
Federal University of Santa Maria

BIOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS of FLEABANE (*Conyza bonariensis* L.) RESISTANT TO *GLYPHOSATE*

AUTHOR: TIAGO EDU KASPARY
ADVISOR: FABIANE PINTO LAMEGO
Frederico Westphalen, RS, February 07th, 2014.

Conyza bonariensis, popularly known as fleabane, is a major weed of soybean crop in Southern Brazil, due to its evolution as resistant to *glyphosate* herbicide, high adaptability to production systems and high production of viable seeds. The aim of this work was to investigate the resistance to *glyphosate* in *Conyza bonariensis*, from the evaluation of the current level of resistance, alternative herbicides, aspects of growth and development of the resistant biotype when compared to the susceptible to the herbicide, as well as to determine the mechanism of resistance involved. The study was divided in three chapters, with their experiments carried out from May 2012 to July 2013. An experiment of dose-response curve was conducted to determine the level of resistance presented by fleabane. Concurrently, a study evaluated alternative herbicides to *glyphosate*. During the autumn-winter and spring-summer, there were conducted two experiments of fitness with biotypes susceptible (S) and resistant (R) to *glyphosate*, where were determined growth variables and yield and quality of seeds. Also, there were developed studies related and not related to the target site of the herbicide (EPSPS enzyme), aiming to elucidate the mechanism of *glyphosate* resistance involved to *C. bonariensis* specie. The level of resistance observed for fleabane biotype was high, with resistance factor >50. Alternative herbicides to *glyphosate* were effective in controlling fleabane, proving the non-occurrence of multiple resistance. The R biotype showed higher fitness to the S from variables analyzed, highlighting as superior in the plant height development and dry matter accumulation, besides to conclude the biological cycle in a shorter time than the S biotype. R plants also showed higher quantity and better quality of seeds produced. Thus, the R biotype tends to suppress the S one, even in the absence of the herbicide spray, disseminating the resistance and becoming more difficult the control of fleabane. From the studies related to the mechanism of *glyphosate* resistance, it is possible to infer the *C. bonariensis* R biotype shows changes involving EPSPS enzyme, target site of *glyphosate*, implying in its insensitivity to the herbicide enzyme. Therefore, *glyphosate* is not anymore a tool in the management of *C. bonariensis*, being necessary the use of alternative herbicides associated with integrated weed management measures.

Keywords: Weed plant. Resistance. Adaptive value. Mechanism of resistance .

LISTA DE TABELA

ARTIGO I

- Tabela 1** - Equações^a utilizada para determinar a dose necessária para obter 50% do controle (C_{50}) ou redução de 50% da massa seca (GR_{50}) dos biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*. UFSM, *Campus* Frederico Westphalen - RS, 2013.29
- Tabela 2** - Controle (%) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 7 dias após aos tratamentos (DAT), UFSM, *Campus* Frederico Westphalen-RS, 2012/13.33
- Tabela 3** - Controle (%) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 14 dias após aos tratamentos (DAT), UFSM, *Campus* Frederico Westphalen-RS, 2012/13.34
- Tabela 4** - Controle (%) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 21 dias após aos tratamentos (DAT), UFSM, *Campus* Frederico Westphalen-RS, 2012/13.35
- Tabela 5** - Controle (%) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 28 dias após aos tratamentos (DAT), UFSM, *Campus* Frederico Westphalen-RS, 2012/13.36
- Tabela 6** - Massa seca da parte aérea (mg) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 28 dias após aos tratamentos (DAT), UFSM, *Campus* Frederico Westphalen-RS, 2012/13.37

ARTIGO II

- Tabela 1** - Período em dias após a semeadura (DAS) necessário para a emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas (NF), Área Foliar (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura (EST), Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), Massa Seca Radicular (MSR) e Massa Seca Total (MST), determinados ao florescimento de biótipos de *Conyza bonariensis*, resistente e suscetível ao herbicida *glyphosate*. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen-RS, 2012.54
- Tabela 2** - Número de Botões Florais por Planta (BP), Flores por Botão Floral (FB), Flores por Planta (FP), Sementes por Botão Floral (SB) e Sementes por Planta (SP), determinados ao no final do ciclo de biótipos de *Conyza bonariensis*, resistente e suscetível ao herbicida *glyphosate*. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen - RS, 2012.55
- Tabela 3** - Correlação linear entre as variáveis analisadas durante o desenvolvimento do biótipo suscetível de *Conyza bonariensis*: dias decorridos para emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas planta⁻¹(NF), Área Foliar planta⁻¹ (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura planta⁻¹ (EST), Massa Seca da Parte Aérea planta⁻¹ (MSPA), Massa Seca Radicular planta⁻¹ (MSR) e Massa Seca Total planta⁻¹ (MST), determinadas ao florescimento do biótipo. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen - RS, 2012.56
- Tabela 4** - Correlação linear entre as variáveis analisadas durante o desenvolvimento do biótipo resistente de *Conyza bonariensis*: dias decorridos para emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas planta⁻¹ (NF), Área Foliar planta⁻¹ (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura planta⁻¹ (EST), Massa Seca da Parte Aérea planta⁻¹ (MSPA), Massa Seca Radicular planta⁻¹ (MSR) e Massa Seca Total planta⁻¹ (MST), determinadas ao florescimento do biótipo. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen - RS, 2012.57

Tabela 5 - Período em dias após a semeadura (DAS) necessário para a emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas (NF), Área Foliar (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura (EST), Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), Massa Seca Radicular (MSR) e Massa Seca Total (MST), determinados ao florescimento de biótipos de <i>Conyza bonariensis</i> , resistente e suscetível ao herbicida <i>glyphosate</i> . UFSM, <i>Campus</i> de Frederico Westphalen - RS, 2013.	61
Tabela 6 - Número de botões florais por planta (BP), flores por botão floral (FB), flores por planta (FP), Sementes por botão floral (SB) e sementes por planta (SP) em <i>Conyza bonariensis</i> , UFSM, <i>Campus</i> de Frederico Westphalen - RS, 2013.	62
Tabela 7 - Correlação linear entre as variáveis analisadas durante o desenvolvimento do biótipo suscetível de <i>Conyza bonariensis</i> : dias decorridos para emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas planta ⁻¹ (NF), Área Foliar planta ⁻¹ (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura planta ⁻¹ (EST), Massa Seca da Parte Aérea planta ⁻¹ (MSPA), Massa Seca Radicular planta ⁻¹ (MSR) e Massa Seca Total planta ⁻¹ (MST), determinadas ao florescimento do biótipo. UFSM, <i>Campus</i> de Frederico Westphalen - RS, 2013.	64
Tabela 8 - Correlação linear entre as variáveis analisadas durante o desenvolvimento do biótipo resistente de <i>Conyza bonariensis</i> : dias decorridos para emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas planta ⁻¹ (NF), Área Foliar planta ⁻¹ (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura planta ⁻¹ (EST), Massa Seca da Parte Aérea planta ⁻¹ (MSPA), Massa Seca Radicular planta ⁻¹ (MSR) e Massa Seca Total planta ⁻¹ (MST), determinadas ao florescimento do biótipo. UFSM, <i>Campus</i> de Frederico Westphalen - RS, 2013.	65
Tabela 9 - Peso de mil sementes (PMS), Primeira contagem da Germinação (PG), Germinação (G), Índice de Velocidade da Germinação (IVG), Índice de Velocidade da Emergência (IVE), Comprimento da Parte Aérea (CPA), Comprimento de Radícula (CR), Comprimento Total (CT), Massa Fresca de Plantula (MFP), Massa Seca de Plantula (MSP), Envelhecimento Acelerado (EA) e Teste de Frio (TF), em sementes de <i>Conyza bonariensis</i> suscetível e resistente ao <i>glyphosate</i> , UFSM, <i>Campus</i> de Frederico Westphalen-RS, 2013.	66
Tabela 10 - Peso de mil sementes (PMS), Primeira contagem da Germinação (PG), Germinação (G), Índice de Velocidade da Germinação (IVG), Índice de Velocidade da Emergência (IVE), Comprimento da Parte Aérea (CPA), Comprimento de Radícula (CR), Comprimento Total (CT), Massa Fresca de Plantula (MFP), Massa Seca de Plantula (MSP), Envelhecimento Acelerado (EA) e Teste de Frio (TF), em <i>Conyza bonariensis</i> suscetível e resistente ao <i>glyphosate</i> , UFSM, <i>Campus</i> de Frederico Westphalen - RS, 2013.	68

ARTIGO III

Tabela 1 - Equações ^a utilizadas para determinar a dose necessária para obter 50% do controle (C50) ou redução de 50% da massa seca (GR ₅₀) dos biótipos de <i>Conyza bonariensis</i> suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida <i>glyphosate</i> . UFSM, <i>Campus</i> Frederico Westphalen - RS, 2013.	84
Tabela 2 - Equação ^a utilizada para determinar a dose necessária para aumentar em 50% o acúmulo de shiquimato (AS50) dos biótipos de <i>Conyza bonariensis</i> suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida <i>glyphosate</i> . Ufpe, <i>Campus</i> Capão do Leão - RS, 2013.	88

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO I

- Figura 1** - Controle (%) de biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*, avaliado aos 07, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT). UFSM, *Campus* Frederico Westphalen – RS, 2013. 28
- Figura 2** - Redução da matéria seca da parte aérea (MSPA(%)) em biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*, avaliado aos 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT). UFSM, *Campus* Frederico Westphalen – RS, 2013..... 31

ARTIGO II

- Figura 1** - Desenvolvimento de plantas dos biótipos de *Conyza bonariensis*, suscetível (●) e resistente (○) ao herbicida *glyphosate*, semanas após o transplante: A - diâmetro da roseta; B – estatura de planta; C - número de folhas; e D - área foliar. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen – RS, 2012..... 50
- Figura 2** - Desenvolvimento de plantas dos biótipos de *Conyza bonariensis*, suscetível (●) e resistente (○) ao herbicida *glyphosate*, semanas após o transplante: A - Índice de clorofila; B – Massa Seca da Parte Aérea (MSPA); C - Massa Seca Radicular (MSR); e D - Massa Seca Total (MST). UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen – RS, 2012. 52
- Figura 3** - Desenvolvimento de plantas dos biótipos de *Conyza bonariensis*, suscetível (●) e resistente (○) ao herbicida *glyphosate*, semanas após o transplante: A - estatura de planta; B - número de folhas; e C - área foliar. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen – RS, 2013..... 59
- Figura 4** - Desenvolvimento de plantas dos biótipos de *Conyza bonariensis*, suscetível (●) e resistente (○) ao herbicida *glyphosate*, semanas após o transplante: A - Índice de clorofila; B – Massa seca da Parte Aérea (MSPA); C - Massa Seca Radicular (MSR); e D - Massa seca Total (MST). UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen – RS, 2013. 60

ARTIGO III

- Figura 1** - Controle (%) de biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate* em duas condições de temperatura e fotoperíodo - Inverno (12/8 °C e 10/14h) e Verão (28/20 °C e 14/10h), avaliado aos 21 e 42 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT). UFSM, *Campus* Frederico Westphalen – RS, 2013. 83
- Figura 2** - Redução da matéria seca da parte aérea (MSPA (%)) em biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*, avaliado aos 42 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT). UFSM, *Campus* Frederico Westphalen – RS, 2013..... 85
- Figura 3** - Curva-padrão de shiquimato (A) e acúmulo de shiquimato em biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*. UFPel, *Campus* Capão do Leão – RS, 2013. 87

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. ARTIGO I – NÍVEL DA RESISTÊNCIA E ALTERNATIVAS HERBICIDAS EMPREGADAS NO MANEJO DE BUVA (<i>Conyza bonariensis</i> L.) RESISTENTE AO <i>GLYPHOSATE</i>	22
2.1 INTRODUÇÃO	23
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	25
2.2.1 Nível da resistência em <i>Conyza bonariensis</i>	25
2.2.2 Herbicidas alternativos e estádios de aplicação em <i>Conyza bonariensis</i> resistente ao <i>glyphosate</i>	26
2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
2.2.1 Nível de resistência em <i>Conyza bonariensis</i>	27
2.2.2 Herbicidas alternativos e estádios de aplicação em <i>Conyza bonariensis</i> resistente ao <i>glyphosate</i>	32
2.4 LITERATURA CITADA.....	39
3 ARTIGO II – VALOR ADAPTATIVO DE BIÓTIPO DE BUVA RESISTENTE AO HERBICIDA <i>GLYPHOSATE</i>	42
3.1 INTRODUÇÃO	43
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	45
3.2.1 Crescimento Relativo e Produção de Sementes	45
3.2.2 Germinação e Qualidade Fisiológica de Sementes	47
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.3.1 Crescimento Relativo e Produção de Sementes	48
3.3.1.1 Primeira Época - Outono/Inverno (Experimento 1)	49
3.3.1.2 Segunda Época - Primavera/Verão (Experimento 2).....	57
3.3.2 Germinação e Qualidade Fisiológica de sementes	66
3.3.2.1. Primeira Época - Outono/Inverno (Experimento 1)	66
3.3.2.2 Segunda Época - Primavera/Verão (Experimento 2).....	68
3.4 LITERATURA CITADA.....	70
4 ARTIGO III – MECANISMO DE RESISTÊNCIA DE BUVA AO HERBICIDA <i>GLYPHOSATE</i> ..	75
4.1 INTRODUÇÃO	76
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	78
4.2.1 Mecanismo de Resistência – Não Relacionado ao Local de Ação	79
4.2.2 Mecanismo de Resistência – Relacionado ao Local de Ação.....	80
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
4.3.1 Mecanismo de Resistência – Não Relacionado ao Local de Ação	82
4.3.2 Mecanismo de Resistência – Relacionado ao Local de Ação.....	86
4.4 LITERATURA CITADA.....	89
5 DISCUSSÃO.....	93
6 LITERATURA CITADA.....	95

CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA E FISIOLÓGICA DE BUVA (*Conyza bonariensis* L.) RESISTENTE AO HERBICIDA *GLYPHOSATE*

1. INTRODUÇÃO

Plantas daninhas são organismos vegetais que interferem negativamente nos ecossistemas agrícolas, podendo desencadear uma vasta gama de fatores bióticos sobre as plantas cultivadas, os quais irão interferir não só na produtividade, mas também na operacionalização do sistema produtivo e na sustentabilidade do mesmo. As perdas provocadas pela interferência das plantas daninhas assumem elevadas proporções quando da não adoção de métodos de manejo e/ou controle. O manejo químico, com a utilização de herbicidas, é atualmente o método de controle de plantas daninhas mais utilizado na agricultura. Desde seu surgimento, na década de 60, o controle químico tem representado uma evolução nas técnicas de manejo das plantas daninhas em culturas anuais e perenes. Os benefícios da utilização dos herbicidas incluem a redução da interferência das plantas daninhas sobre as cultivadas desde o início do ciclo, controle em períodos chuvosos, baixos custos de utilização, aliados à rapidez e a eficiência de uso, dentre outros.

No entanto, a utilização de herbicidas como o único método de manejo das plantas daninhas, repetidamente e por muitos anos, na mesma área, resultou na evolução de plantas daninhas resistentes a esses produtos. Em áreas cultivadas com culturas geneticamente modificadas, como é o caso da soja resistente ao herbicida *glyphosate*, a seleção de indivíduos daninhos resistentes foi acentuada, dado o aumento da utilização do mesmo produto, em pré-secagem (dessecação, preparo da área) e, em pós-emergência da cultura. A extensão das áreas agrícolas detectadas com a presença de plantas daninhas resistentes pode ser considerada de pequena escala, quando comparada com a área agrícola total, mas tem aumentado em taxa elevada (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2006).

A resistência das plantas daninhas aos herbicidas é definida pela FAO como a ocorrência natural de biótipo com habilidade de sobreviver à aplicação de composto químico para o qual a população original era suscetível (LEBARON & GRESSEL, 1982). Enquanto, Christoffoleti & López-Ovejero (2004), definem a resistência como a capacidade natural e herdável de determinados biótipos, dentro de uma população, de sobreviver e se reproduzir

após a exposição a dose herbicida que seria letal a indivíduos normais (suscetíveis) da mesma espécie. Atualmente no Brasil, o comitê de ação à resistência de plantas daninhas a herbicidas (CBRPH) e a associação brasileira de ação à resistência de plantas aos herbicidas no Brasil (HRAC-BR), descrevem em cinco itens os critérios para relatos oficiais estatísticos de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas: Definição de resistência de plantas daninhas (enquadramento nas definições); Confirmação por meio de resultados obtidos por protocolos com base científica; Caracterização da herdabilidade da resistência da planta daninha ao herbicida; Demonstração do impacto prático no campo da resistência da planta daninha ao herbicida; Identificação botânica da espécie da planta daninha em análise, e não como resultado de uma seleção deliberada/artificial (HRAC-BR, 2014).

O primeiro caso registrado de biótipos resistentes a herbicidas ocorreu nos EUA, com a espécie trapoeraba (*Commelina diffusa* L.) e no Canadá com cenoura-selvagem (*Daucus carota* L.), em 1957; em ambos os casos, as plantas foram resistentes a herbicidas pertencentes ao grupo das auxinas sintéticas (HEAP, 2014). No entanto, um novo caso surgiu somente em 1970, nos EUA, onde foram registrados biótipos de cardo-morto (*Senecio vulgaris* L.) resistentes ao herbicida simazine, uma triazina pertencente ao grupo dos herbicidas inibidores do Fotossistema II (FSII) (RYAN, 1970). A partir de então, muitos casos de resistência foram e continuam sendo registrados mundialmente, ao longo dos anos.

Atualmente, existem 418 biótipos resistentes aos herbicidas mundialmente, envolvendo 224 espécies daninhas (HEAP, 2014). No Brasil, dentre as primeiras espécies daninhas com registro para resistência aos herbicidas está o picão-preto (*Bidens pilosa* L.), resistente aos inibidores da ALS, em 1993 (HEAP, 2014). Hoje no país, existem mais de 20 espécies daninhas registradas como resistentes a algum herbicida, envolvendo principalmente lavouras de soja, milho e arroz irrigado (HEAP, 2014). Dentre essas, destaca-se a buva (*Conyza bonariensis* [L.] Cronquist), como a que tem apresentado maior expressão nos últimos anos.

A espécie daninha *Conyza bonariensis*, conhecida popularmente como buva, é uma espécie pertencente à família Asteraceae, poliplóide, preferencialmente autógama, originária da América do Sul (KISSMAN & GROTH, 1999). Apresenta ciclo anual e caracteriza-se por ser muito prolifera, podendo produzir mais de 110 mil sementes viáveis em uma única planta; sementes estas que germinam no outono/inverno, com ciclo adentrando o verão (KISSMAN & GROTH, 1999).

O controle da buva, até pouco tempo, dava-se quase em totalidade pela utilização do herbicida *glyphosate*, prática essa, adotada há mais de 20 anos também no manejo da

vegetação para formação da palhada, usada no sistema de semeadura direta. Com a introdução comercial da soja transgênica resistente a *glyphosate*, o uso desse herbicida aumentou, e atualmente são realizadas de duas a três aplicações por ciclo da cultura. O uso indiscriminado de herbicidas provocou a evolução de muitos casos de resistência por diversas espécies daninhas. Aliado ao fator da resistência, o grande aumento da infestação de áreas agrícolas por biótipos de buva resistentes deve-se, segundo Lazaroto et al. (2008), ao fato de *C. bonariensis* demonstrar elevada adaptabilidade ecológica em sistemas conservacionistas, como semeadura direta e cultivo mínimo. Já, Kissmann & Groth (1999), enfatizam que a grande quantidade de sementes produzidas, as quais apresentam características e estruturas que conferem fácil dispersão, caracterizam a buva como uma espécie “agressiva”.

O primeiro relato de *C. bonariensis* resistente a herbicidas ocorreu em 1987, em biótipos provenientes da Espanha, a herbicidas inibidores do FSII (SHAALTIEL & GRESSEL 1987). Desde então, muitos outros se sucederam e, mais recentemente, novos casos da evolução da resistência de *C. bonariensis* ao *glyphosate* foram registrados em diversas partes do mundo, inclusive no Brasil (VARGAS et al., 2006; LAMEGO & VIDAL, 2008).

O *glyphosate* é um herbicida não seletivo, que inibe a enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), a qual faz parte da rota de síntese dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, sendo que a inibição dessa enzima acarreta no acúmulo de ácido shiquímico e a não produção desses aminoácidos (MOREIRA et al., 2007). A EPSPS está presente em todos os fungos, plantas e na maioria das bactérias, mas não ocorre em animais, explicando a baixa toxicidade desse herbicida a mamíferos (VIDAL & MEROTTO Jr., 2001).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas pode ser comprovada através de ensaios conduzidos a campo, em condições de casa de vegetação e também em laboratório. Tradicionalmente, uma vez detectada a suspeita da resistência em campo, sementes são colhidas e levadas para condições de casa de vegetação, para análise. Em condições controladas, as plântulas suspeitas de resistência são aspergidas com doses crescentes de herbicida, em ensaios chamados de curva de dose-resposta, os quais permitem determinar o C_{50} , ou seja, a dose herbicida necessária para controlar 50% da população. Este valor é usado para comparação entre os biótipos resistentes e suscetíveis.

A regressão não linear descrita por Streibig et al. (1993) é uma das mais utilizadas para análise de experimentos em curva de dose-resposta. Uma adaptação desse modelo e de outros originalmente apresentados na literatura, foi proposta por Seefeldt et al. (1995). Esses autores sugerem o modelo de equação não linear log-logístico, onde o C_{50} é calculado. A

relação entre o C_{50} do biótipo R e o C_{50} do biótipo S, fornece o fator de resistência (FR), ou seja, o nível da resistência para o biótipo R em questão. O C_{50} também pode ser calculado a partir da massa seca da parte aérea, reduzida em 50% pela dose herbicida e, a partir disso, também ser calculado o FR.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas ocorre de três formas principais: resistência simples, resistência cruzada e resistência múltipla. No caso de resistência simples, o biótipo é resistente por apenas um único mecanismo de resistência, o que geralmente está relacionado a um único mecanismo de ação herbicida. Já, na resistência cruzada, a planta se torna resistente a diferentes herbicidas que agem em um mesmo local. Esses herbicidas podem ser de diferentes grupos químicos, mas que agem no mesmo local de ação da planta (POWLES & PRESTON, 1998). No entanto, essa resistência não confere necessariamente resistência a todos os grupos químicos que possuem o mesmo local de ação, podendo demonstrar diferenças devido a pequenas de ligações da enzima e da molécula herbicida e as diferentes mutações que ocorreram no gene que codifica a enzima (POWLES e PRESTON, 1998). As espécies de azevém-perene (*Lolium rigidum* Gaud) e kochia (*Kochia scoparia* L.), são exemplos de resistência cruzada aos herbicidas inibidores da enzima ALS.

No entanto, o problema de maior complexidade e de maior dificuldade de solução é o de resistência múltipla. Nos casos mais simples, dois ou mais mecanismos conferem resistência a apenas um herbicida ou grupo de herbicidas, mas para os casos mais complexos dois ou mais mecanismos conferem resistência a diversos herbicidas de diferentes grupos químicos (AGOSTINETTO & VARGAS, 2009). Um exemplo, são os biótipos de *Alopecurus* (*Alopecurus myosuroides* Hudson) encontrados na Austrália, resistentes a 15 diferentes herbicidas entre eles diclofop, pendimethalin e simazine (POWLES & PRESTON, 1998). Os mesmos autores enfatizam que as dificuldades de controle aumentam quando os mecanismos de resistência estão relacionados ao local de ação e a outros mecanismos, como a metabolização acentuada. No controle dessas plantas daninhas, é necessário o emprego de associações de herbicidas, cujos mecanismos de ação não estejam relacionados à resistência.

Dentre os mecanismos de resistência apresentados pelas plantas daninhas estão: alteração da quantidade de herbicida absorvido, diminuição da quantidade translocada até o sítio de ação, metabolização acentuada, alteração no local de ação da molécula, sequestro no vacúolo ou ainda, aumento nos níveis de expressão da enzima alvo (POWLES & SHANER, 2001; AGOSTINETTO & VARGAS, 2009).

As plantas que apresentam resistência devido à metabolização acentuada possuem a capacidade de decompor a molécula herbicida mais rapidamente que as plantas suscetíveis,

tornando-a inativa (AGOSTINETTO & VARGAS, 2009). As formas mais comuns de metabolismo dos herbicidas incluem hidrólise ou oxidação, de onde surgem grupamentos adequados para conjugação com glutathione (GSH) e aminoácidos. Os conjugados geralmente são inativos, mais hidrofílicos, menos móveis na planta e mais suscetíveis a compartimentalização do que a molécula herbicida original (KRUEZ et al., 1996). No caso de oxidação das moléculas herbicidas, o citocromo P450-monooxigenase possui papel fundamental, fazendo a hidrolização de anéis aromáticos e de grupos alkil (AGOSTINETTO & VARGAS, 2009). Após a inserção dos grupos hidroxil, amino ou carboxil na molécula herbicida, ocorre rápida conjugação com açúcares ou aminoácidos. A conjugação com glutathione (GSH) é considerada detoxificação e é a mais importante, dentre os processos de conjugação, no metabolismo dos herbicidas (KRUEZ et al., 1996). Os metabólitos derivados da conjugação do herbicida podem então ser armazenados no vacúolo.

A compartimentalização ou sequestro herbicida ocorre pela conjugação da molécula com metabólitos da planta, tornando-a inativa, ou sendo removida das partes metabolicamente ativas da célula e armazenadas em locais inativos, como o vacúolo ou ainda, presa na parede celular, impedindo sua atividade e translocação. Devido à conjugação e compartimentalização, a absorção e a translocação são alteradas e, assim, a quantidade de herbicida que atinge o local de ação é bastante reduzida, não chegando a ser letal à planta. A resistência ao herbicida paraquat pode ser conferida pela compartimentalização das moléculas herbicidas na cutícula, na parede celular e no vacúolo, evitando seu acesso ao local de ação (HART & DI TOMASO, 1994).

A resistência ocasionada por alteração no local de ação, é resultado de mutações a nível de DNA, ou seja, de alteração ou alterações em uma ou mais bases nitrogenadas do gene da enzima, dando origem a uma enzima modificada, o que impede a ligação do herbicida, que assim perde sua funcionalidade. A alteração de uma única base nitrogenada, a qual resulta em mutação de ponto, pode gerar uma enzima com características funcionais diferentes da original (AGOSTINETTO & VARGAS, 2009). De forma geral, este tipo de mecanismo apresenta menor interação com o ambiente (VIDAL & MEROTTO Jr., 2001). Biótipos de picão-preto (*Bidens subalternans* DC.) originários de lavouras de soja de Goiás, apresentam resistência aos inibidores da enzima ALS devido à mutação Trp₅₇₄Leu no gene da enzima (LAMEGO et al., 2009).

Embora o herbicida *glyphosate* seja comercializado desde 1974 (VIDAL & MEROTTO Jr., 2001), os primeiros relatos de ervas daninhas resistentes só surgiram em 1996, o que surpreendeu muitos pesquisadores que, até então acreditavam que a resistência de

plantas daninhas ao *glyphosate* seria improvável de ocorrer (JASIENIUK, 1995). Três razões principais foram apresentadas para suportar esta hipótese: em primeiro lugar, o *glyphosate* é lentamente metabolizado pelas plantas; o segundo ponto supunha que a super expressão do gene da EPSPS apenas conferiria resistência de baixo nível; e, em terceiro lugar, as mutações no gene EPSPs foram associadas com altas perdas de valor adaptativo pelos biótipos resistentes (JASIENIUK, 1995).

Para Roso & Vidal (2010), somente após mais de uma década de estudos e um gradativo aumento no problema, é que a hipótese pode ser contestada. Atualmente, há relatos de mais 100 diferentes biótipos com resistência ao *glyphosate*, compreendendo cerca de 20 espécies diferentes. O primeiro caso de resistência ao *glyphosate* foi relatado para a espécie *Lolium rigidum*, na Austrália (POWLES et al., 1998). No Brasil, a primeira espécie resistente descrita foi o azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) (VARGAS et al., 2004).

Os mecanismos relacionados à resistência ao *glyphosate* são conhecidos para apenas 11 espécies do total que apresentam resistência, dividido-se em dois grupos: os que envolvem alterações no local de ação e, aqueles não relacionados ao local de ação herbicida (POWLES & YU, 2010). Mutações no sítio alvo da enzima EPSPS e aumento na amplificação do gene dessa mesma enzima, são exemplos de mecanismos de resistência relacionado ao sítio de ação. Enquanto que, reduzida absorção e translocação e sequestro no vacúolo, são exemplos de mecanismos não relacionados com o local de ação (POWLES & YU, 2010).

A resistência ao *glyphosate* em populações de capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica* L. (Gaert)) da Malásia, é causada por duas possíveis mutações na enzima alvo: prolina para serina (Pro₁₀₆Ser) ou prolina para treonina (Pro₁₀₆Thr) (NG et al., 2003). Para Gaines et al. (2010), o mecanismo de resistência ao *glyphosate* em caruru (*Amaranthus palmeri* [S.] Wats) é efeito da maior amplificação do gene da EPSPS, elevando o número de cópias da enzima na planta.

Salas et al. (2012), ao investigarem a resistência em azevém perene (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) nos EUA, observaram que o nível da resistência observado esteve relacionado com aumento na atividade da enzima EPSPS no biótipo resistente e, também, ao maior número de cópias do gene da enzima observado, quando comparado ao suscetível. No entanto, Ge et al. (2012), ao avaliarem o mecanismo de resistência em azevém oriundo de diferentes países como Austrália, Brasil, Chile e Itália, encontraram uma elevada correlação da quantidade de herbicida sequestrado para o vacúolo e o nível de resistência da espécie, sugerindo assim, que o sequestro no vacúolo é um dos principais mecanismos da resistência do azevém ao *glyphosate*. Já, para outras espécies, o mecanismo de resistência ao *glyphosate*

ainda não é esclarecido. É o que acontece para caruru (*Amaranthus tuberculatus* [Moq.] Sauer), ambrosia-americana (*Ambrosia artemisiifolia* L.), ambrosia (*Ambrosia trifida* L.), avoadinha-marfim (*Conyza sumatrensis* L.), entre outros (HEAP, 2014).

Os mecanismos mais comumente relatados para a resistência ao *glyphosate* tem sido a redução da absorção e da translocação do produto. A redução da translocação é citada por Ferreira et al. (2008), como sendo o mecanismo de resistência em biótipo de *C. bonariensis* no Brasil. Maior acúmulo do herbicida foi observado na folha tratada de plantas R, enquanto que em S, o maior acúmulo foi encontrado na parte aérea (folhas e caules) e nas raízes, indicando a translocação reduzida pelo resistente. O mesmo mecanismo é responsável pela resistência ao *glyphosate* em azevém-comum (*Lolium multiflorum* Lam.) (JASIENIUK, et al., 2008), azevém-perene (*Lolium rigidum* Gaud.) (YU, et al., 2009) e buva (*Conyza canadiensis* L.) (FENG et al., 2004). Para *Conyza canadiensis*, espécie do mesmo gênero de *C. bonariensis*, GE et al. (2010), observaram maior sequestro do herbicida *glyphosate* no vacúolo dos biótipos resistentes, quando comparados ao biótipo suscetível. O sequestro ocorreu por um aumento na taxa de transferência do herbicida do cloroplasto para o vacúolo, realizado, possivelmente pela maior expressão de um carregador molecular não identificado.

Em outro estudo com *C. canadiensis*, GE et al. (2011) demonstraram o efeito reversivo de baixas temperaturas (T°C), sobre a manifestação da resistência em biótipo R ao herbicida *glyphosate*. De acordo com os autores, quando o biótipo R é exposto a condições de elevadas temperatura (20-30 °C), aceleram-se as reações de sequestro do *glyphosate* para o vacúolo da célula, inibindo sua atuação herbicida sobre a enzima EPSPS, e, conseqüentemente, tem-se resistência. Todavia, quando sob baixas temperaturas (8-10°C) ocorre reversão da resistência, talvez pela menor atividade dos carregadores responsáveis pelo sequestro do herbicida no vacúolo, e a planta comporta-se como suscetível. Em termos práticos, o controle de biótipos resistentes ao *glyphosate* na entressafra da soja, quando ocorrem T°C mais baixas, seria mais eficiente do que em condições de T°C mais elevadas, próximo à semeadura da cultura.

A evolução da resistência aos herbicidas pode acarretar à planta um decréscimo no seu potencial competitivo ou sua aptidão ecológica, quando na ausência do agente selecionador, o herbicida. Neste caso, a redução na aptidão ecológica do biótipo, na ausência de seleção contínua com o herbicida, favorecerá que o mesmo vá lentamente desaparecendo na população, dada sua reduzida capacidade competitiva (ANDERSON et al., 1996). No entanto, há relatos na literatura de mutação no local de ação alvo do herbicida, conferindo resistência mas não afetando a adaptabilidade do espécime resistente como observado por Sibony & Rubin (2003), ao avaliarem biótipo de caruru (*Amaranthus blitoides* S.), resistente ao

herbicida sulfometuron, inibidor da enzima ALS. Estudos demonstraram que biótipos de *C. bonariensis* ou *C. canadensis*, resistentes ao *glyphosate* apresentaram maior vigor inicial em relação ao biótipo suscetível (SHRESTHA et al., 2010), o que pode ter ecológica importância para a dinâmica populacional destes dois biótipos. Shrestha et al. (2010) em trabalhos com biótipos R e S de *Conyza canadensis*, observaram menor período necessário para as plantas resistentes atingirem a floração e a produção de sementes, quando comparadas às suscetíveis. Demonstra-se assim maior velocidade de desenvolvimento inicial do biótipo R, ocasionando um maior potencial competitivo inicial quando comparado ao biótipo S.

Em condições de campo, Hanson et al. (2009) enfatiza que, ambos os biótipos (R e S), podem ocorrer concomitantemente. Deste modo, o estudo da aptidão e da capacidade competitiva entre os mesmos torna-se de grande valia e, pode auxiliar na tomada de decisão sobre o seu manejo. Avaliando a competição intraespecífica de *Conyza canadensis*, Shrestha et al. (2010) observaram que sob condições de limitação nutricional e hídrica, plantas R apresentaram maior acúmulo de matéria seca e maior estatura quando comparadas às plantas S, sendo portanto, o biótipo resistente mais competitivo em condições de limitação e disputa pelos recursos do meio. Shrestha et al. (2010) ressalta que não há penalidade na aptidão ecológica aparente para biótipos R ao *glyphosate* em *C. canadensis*, garantindo que o mesmo persista no ambiente, competindo com aqueles suscetível, independentemente da pressão de seleção do *glyphosate*. Neste caso, a presença de biótipos R em uma área, implica em disseminação da espécie, exigindo estratégias mais eficazes de controle.

Nesse contexto, o objetivo geral desse trabalho foi investigar a resistência ao *glyphosate* em *Conyza bonariensis* L., visando avaliar aspectos do crescimento e desenvolvimento de biótipo R quando comparado ao S ao herbicida, bem como determinar o mecanismo de resistência envolvido. Ainda, os objetivos específicos foram: Determinar o nível da resistência ao herbicida *glyphosate* em biótipo de *C. bonariensis*; Investigar mecanismos de ação alternativos para o manejo de biótipo de *C. bonariensis* resistente ao *glyphosate*; Avaliar a aptidão ecológica de biótipos de *C. bonariensis* R e S ao *glyphosate*; Comparar aspectos do crescimento e desenvolvimento, em diferentes estações de crescimento (outono/inverno e primavera/verão), entre biótipos de *C. bonariensis* resistente e suscetível ao herbicida *glyphosate*; Determinar o mecanismo de resistência ao *glyphosate* em biótipo resistente de *C. bonariensis*, através de investigações que envolvam análises no local de ação do herbicida (EPSPS) e, aquelas não relacionadas ao local de ação.

2. ARTIGO I – NÍVEL DA RESISTÊNCIA E ALTERNATIVAS HERBICIDAS EMPREGADAS NO MANEJO DE BUVA (*Conyza bonariensis* L.) RESISTENTE AO GLYPHOSATE

RESUMO - *Conyza bonariensis* é a principal planta daninha da cultura da soja no Sul do Brasil, em decorrência de sua evolução como resistente ao herbicida *glyphosate*. O objetivo deste trabalho foi determinar o nível de resistência de biótipo de *C. bonariensis* ao herbicida, bem como avaliar herbicidas alternativos em função do estágio de controle para a espécie daninha. Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, no período entre maio de 2012 a abril de 2013. O primeiro experimento foi realizado em esquema fatorial 2x7; dois biótipos de buva oriundos do Rio Grande do Sul, suscetível (S) e resistente (R) e sete doses de *glyphosate*, 0, 45, 90, 180, 360, 720, 1.440 g e.a ha⁻¹ para o biótipo S, e 0, 360, 720, 1.440, 2.880, 5.760 e 11.520 g e.a ha⁻¹ para o biótipo R. O segundo experimento foi constituído de um fatorial 2x3x10, onde o fator A constituiu-se dos biótipos S e R; o fator B do estágio de desenvolvimento das plantas: I – 1-2 folhas, II- 5-6 folhas; e III – 30-35 folhas (20 a 25 cm de altura); e fator C, herbicidas: testemunha (sem herbicida), *glyphosate* (720 g e.a ha⁻¹), chlorimuron-etílico (20 g i.a ha⁻¹), metsulfuron- methyl (3,6 g i.a ha⁻¹), diclosulam (33,6 g i.a ha⁻¹), amônio-glufosinato (400 g i.a ha⁻¹), paraquat (400 g i.a ha⁻¹), paraquat+diuron (400 + 200 g i.a ha⁻¹), diquat (400 g i.a ha⁻¹) e 2,4-D (1.007,5 g e.a ha⁻¹). Foi comprovada a existência de alto nível de resistência em *Conyza bonariensis* ao herbicida *glyphosate*, com fator de resistência (FR) > 50. Os tratamentos herbicidas alternativos controlaram de forma eficaz os biótipos de buva S e R, descartando a possibilidade de resistência múltipla. Entretanto, o estágio de desenvolvimento da planta daninha influencia diretamente o sucesso do controle.

Palavras-chaves: Resistência de alto nível. Herbicidas alternativos. Estádio de aplicação.

ABSTRACT - *Conyza bonariensis* is a major weed of soybean in Southern Brazil, due to the its evolution as resistant to *glyphosate* herbicide. The objective of this study was to determine the level of resistance of *C. bonariensis* biotype to the herbicide, as well as evaluating alternative herbicides according to the stage of control of the weed. Two experiments were conducted in a greenhouse, in the period from May 2012 to April 2013. The first experiment was a factorial 2x7; two biotypes of fleabane originated from Rio Grande do Sul, susceptible (S) and resistant (R) and seven rates of *glyphosate*, 0; 45; 90; 180; 360; 720; 1,440 g e.a ha⁻¹ for the biotype S and 0; 360; 720; 1,440; 2,880; 5,760 and 11,520 g e.a ha⁻¹ for the biotype R. The second experiment consisted of a factorial 2x3x10, where the first factor consisted of biotypes, R and S, factor B of stage of plant development: I - 1-2 leaves, II- 5-6 leaves, and III – 30-35 leaves (20 25 cm tall), and factor C, herbicides: control (no herbicide), *glyphosate* (720 g e.a ha⁻¹), chlorimuron-ethyl (40 g i.a ha⁻¹), metsulfuron-methyl (3,6 g i.a ha⁻¹), diclosulam (33.6 g i.a ha⁻¹), ammonium-glufosinate (400 g i.a ha⁻¹), paraquat (400 g i.a ha⁻¹), paraquat + diuron (400 + 200 g i.aha⁻¹), diquat (400 g i.a ha⁻¹) and 2,4-D (1,007.5 g e.a ha⁻¹).

There was confirmed the existence of high-level resistance in *Conyza bonariensis* to *glyphosate* herbicide with resistant factor (RF) >50. The alternative herbicide treatments controlled effectively S and R biotypes of fleabane, eliminating the possibility of multiple resistance. However, the growth stage of the weed influences directly the success of control.

Keywords: High-level resistance. Alternative herbicides. Stage of spray.

2.1 INTRODUÇÃO

A buva (*Conyza bonariensis* [L.] Cronquist) é uma planta autógama, de ciclo anual pertencente à família *Asteraceae*, originária da América do Sul, tendo distribuição entre as regiões Centro-Oeste e Sul do Brasil (KISSMANN & GROTH, 1999). Essa espécie apresenta um aumento gradativo da sua infestação nas áreas agrícolas do sul do Brasil, principalmente as cultivadas com soja, tornando-se a principal planta daninha dessa cultura. A elevada presença em áreas agrícolas se deve à capacidade de propagação e adaptabilidade ecológica dessa espécie. Wu & Walker (2004) destacam algumas características principais dessa espécie considerada daninha, relacionadas à sua adaptabilidade ecológica como a grande produção de sementes viáveis (até 200 mil por planta), a dispersão das sementes que pode ultrapassar 100 metros de distância, a alta adaptabilidade aos sistemas conservacionistas de solo como o sistema de semeadura direta, além da evolução de biótipos resistentes ao herbicida *glyphosate*.

O *glyphosate*, herbicida inibidor da enzima enol-piruvil-shikimato-fosfato-sintetase (EPSPS), consistiu até pouco tempo na principal forma de controle da buva. O uso dessa molécula herbicida na dessecação pré-semeadura da soja e em pós-emergência da cultura transgênica resistente a esse herbicida, acarretou no uso do mesmo produto algumas vezes na mesma área em um único ano, culminando na evolução de biótipos de buva resistentes ao *glyphosate*. A resistência das plantas daninhas aos herbicidas é definida pela FAO como a ocorrência natural de biótipo com habilidade de sobreviver à aplicação de composto químico para o qual a população original era suscetível (LEBARON & GRESSEL, 1982). Neste contexto, a buva passou a causar elevados prejuízos à soja, sendo seus efeitos mais danosos nos primeiros estádios de desenvolvimento da cultura. Patel et al. (2010) afirmam que quanto mais avançado o estágio de desenvolvimento das plantas de *C. bonariensis* no momento da implantação da cultura da soja, maiores serão as perdas de rendimento de grãos, devido à

dificuldade de manejo destas. Deste modo, a buva vem exigindo dos agricultores a adoção de métodos alternativos de controle, entre os quais está a utilização de herbicidas com mecanismos de ação alternativos ao *glyphosate*. Sendo assim, estudos que visam obter alternativas de controle são fundamentais para o adequado manejo dos biótipos resistentes (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2006).

Falhas observadas no controle de plantas de *Conyza* spp. estão associadas, em geral, ao estágio avançado com estatura de planta elevada, bem como a combinação ineficiente de herbicidas utilizados (VARGAS et al., 2007; VANGESSEL et al., 2009). Moreira et al. (2010) ressaltam que a ocorrência de brotações laterais e a ausência do controle de buva submetidas à aplicação de tratamentos herbicidas, aumentam com o avanço do estágio de desenvolvimento da espécie. Para Singh & Singh (2004), este fato pode ser decorrente do aumento da taxa de degradação e metabolização do herbicida em plantas em estádios de desenvolvimento mais avançados. Enquanto que Shrestha et al. (2007), enfatizam que a menor quantidade de *glyphosate* translocada para as raízes e pontos de crescimento está relacionada com o aumento do nível de resistência observado em *Conyza canadensis* L. em avançado estágio de desenvolvimento. Desta forma, vem ocorrendo uma facilitação na sobrevivência de biótipos R e na geração de altas infestações observadas atualmente nas áreas de produção agrícola.

A utilização de herbicidas com mecanismo de ação diferente ao *glyphosate* torna-se uma importante ferramenta no manejo integrado dessa planta daninha, uma vez que esses produtos ainda controlam a buva resistente ao *glyphosate* (LAMEGO et al., 2013). Neste contexto, Vargas et al. (2007) relatam que os herbicidas 2,4-D, diuron + paraquat, chlorimuron-ethyl e metsulfuron-methyl, todos utilizados em pós-emergência inicial, são consideradas alternativas eficientes para o controle de biótipos de *C. bonariensis* resistentes ao *glyphosate*. Herbicidas com ação de contato, como o amônio-glufosinato, também se mostraram eficientes no controle da buva (OLIVEIRA NETO et al., 2010). Porém, a utilização desses pode apresentar queda de eficiência devido à ocorrência de brotações laterais, decorrente do inadequado estágio de desenvolvimento (MOREIRA et al., 2010). Todavia, é importante ressaltar que em estudo conduzido nos Estados Unidos, já foram identificadas populações de *C. canadensis* com resistência cruzada aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS), devido a três diferentes mutações no gene da enzima, comprometendo assim, sua eficácia (ZHENG et al., 2011). Uma vez que esse grupo de herbicidas é o que apresenta o maior número de casos de resistência no mundo, a utilização de inibidores da ALS deve ser feita de forma cuidadosa e não repetitiva, de modo a evitar pressão de seleção sobre biótipos de buva, gerando resistência também a esse grupo químico.

A partir do exposto, este trabalho foi realizado com objetivo de determinar o nível de resistência em biótipo de buva (*Conyza bonariensis*) resistente ao *glyphosate*, bem como identificar herbicidas alternativos para controle dessa espécie, avaliados em diferentes estádios de desenvolvimento dessa planta daninha.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação do Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen, RS. Para ambos os experimentos, as sementes de buva do biótipo suscetível (S) foram provenientes do município de Frederico Westphalen-RS (27°23'46.31"S e 53°25'39.50"O), em área sem histórico de aplicação de herbicida, enquanto as sementes do biótipo resistente (R) foram coletadas em área agrícola situada no município de Jaboticaba-RS, (27°40'30.18"S e 53°17'51.12"O), distante cerca de 40 km.

2.2.1 Nível da resistência em *Conyza bonariensis*

O estudo foi conduzido nos meses de maio e outubro de 2012, em casa de vegetação, sendo portanto, repetido duas vezes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x7, onde o fator A correspondeu aos biótipos de buva, S e R; e o fator B, às doses de *glyphosate*, 0, 45, 90, 180, 360, 720, 1.440 g e.a ha⁻¹ para o biótipo S, e 0, 360, 720, 1.440, 2.880, 5.760 e 11.520 g e.a ha⁻¹ para o biótipo R.

Sementes de buva S e R foram embebidas em água por 24 horas para estimular a germinação, e posteriormente semeadas em copos de 50 ml preenchidos com substrato agrícola (TecnoMax®). Após apresentarem as primeiras folhas verdadeiras, as plantas foram transplantadas para copos plásticos de 500 ml, preenchidos com o mesmo substrato. Manteve-se uma planta por copo, sendo essas mantidas em casa de vegetação e irrigadas quando necessário. Quando as plantas apresentavam 5-6 folhas, realizou-se a aplicação dos tratamentos. Para isso, foi utilizado pulverizador costal pressurizado a CO₂, com volume de

calda de 200 L ha⁻¹ e barra de aplicação equipada com quatro pontas tipo leque XR 110.02, distanciadas 0,5m entre si. As condições de aplicação para o experimento conduzido em maio foram de 20,5°C de temperatura e umidade relativa do ar (UR) de 86%. Já em outubro, a temperatura foi de 25,3°C e UR de 80%.

O percentual de controle (%) foi avaliado aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), onde se adotou escala visual, em que a total ausência de controle correspondeu ao valor 0, enquanto a morte da planta correspondeu ao valor 100%. Também foi avaliada a massa seca da parte aérea (MSPA) residual aos 28 DAT, onde a parte aérea do material vegetal residual foi coletada e seca até peso constante em estufa a 70 °C. A massa seca foi corrigida para valores percentuais por meio da comparação da massa obtida nos tratamentos herbicidas com a massa da testemunha, considerada 100%.

Os resultados dos dois experimentos de resposta à dose foram submetidos à análise de variância. Quando observada interação biótipo x dose, realizou-se ajuste à equação sigmoidal de três parâmetros com auxílio do programa Sigma Plot versão 10.0:

$$Y=a/(1 + \exp (-(X - X_{a50})/b)) \quad \text{Equação 1}$$

onde Y = variável dependente (Controle ou Massa Seca), X = variável independente (dose herbicida (g e.a ha⁻¹)); a= diferença entre as assíntotas de máxima e de mínima; b= declividade da curva; X_{a50}= dose herbicida (g e.a ha⁻¹) responsável por reduzir a variável dependente ao nível correspondente a 50% do valor da assíntota de máxima (a). Foram calculados pela equação os respectivos coeficientes: o valor de X₅₀, ou seja, valor da dose responsável por ocasionar 50% de controle (C₅₀), ou reduzir 50% da MSPA dos biótipos (GR₅₀), e o fator de resistência (FR), calculado através de C_{50R}/ C_{50S} e GR_{50R}/ GR_{50S}. A resistência é confirmada quando FR > 1,0 (SAARI et al., 1994).

2.2.2 Herbicidas alternativos e estádios de aplicação em *Conyza bonariensis* resistente ao glyphosate

O experimento foi conduzido de novembro a dezembro de 2012 e repetido entre março e abril de 2013. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com os

tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x3x10, onde o fator A correspondeu aos biótipos de buva: S e R; o fator B ao estágio de desenvolvimento: Estádio I – plantas com 1-2 folhas verdadeiras, Estádio II - plantas com 5-6 folhas verdadeiras; e Estádio III – plantas com 30-35 folhas verdadeiras (20-25 cm de estatura); e fator C aos tratamentos herbicidas: testemunha (sem aplicação), *glyphosate* (720 g e.a ha⁻¹), chlorimuron-etílico (40 g i.a ha⁻¹), metsulfuron - methyl (3,6 g i.a ha⁻¹), diclosulam (33,6 g i.a ha⁻¹), amônio-glufosinato (400 g i.a ha⁻¹), paraquat (400 g i.a ha⁻¹), paraquat+diuron (400 + 200 g i.a ha⁻¹), diquat (400 g i.a ha⁻¹) e 2,4-D (1.007,5 g e.a ha⁻¹).

As sementes dos biótipos S e R foram semeadas de forma escalonada semelhante ao descrito para o experimento anterior, de modo à garantir plantas nos três diferentes estádios para um único momento de aplicação. Uma planta foi estabelecida por copo plástico de 500 ml, com substrato agrícola (TecnoMax®), sendo essas mantidas em casa de vegetação e irrigadas diariamente até atingirem os estádios de aplicação pré-estabelecidos. Quando as plantas se apresentavam nos referidos estádios, foi realizada a aplicação dos tratamentos. Para isso, foi utilizado pulverizador costal pressurizado a CO₂, semelhante ao descrito no experimento anterior. As condições de aplicação para o experimento conduzido em novembro/dezembro eram de 26°C de temperatura e 73% de UR. Já para o experimento conduzido em março e abril/2013, a temperatura foi de 24°C e a UR de 81%.

O percentual de controle (%) foi avaliado aos 7, 14, 21 e 28 DAT, adotando-se escala visual. Também foram colhidas as partes aéreas aos 28 DAT para determinação da MSPA. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância. Havendo significância, os tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey e no caso de interação entre os fatores, adotou-se o teste de médias de DMS com 5% de probabilidade.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.2.1 Nível de resistência em *Conyza bonariensis*

Os resultados obtidos demonstraram interação significativa (5%) entre biótipo x dose do herbicida. Os dados de controle visual, em todos os períodos de avaliação e de MSPA

foram ajustados ao modelo sigmoidal e logístico, com significância de 5% (Figura 1 e 2). Os valores do coeficiente de determinação (R^2) variaram de 0,94 a 0,98, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo (Tabela 1). A partir das equações, foram calculados os valores de C_{50} e GR_{50} para os biótipos de *Conyza bonariensis*. As equações, por sua vez, comprovam que o biótipo R tem comportamento diferencial frente às doses crescentes do herbicida *glyphosate*.

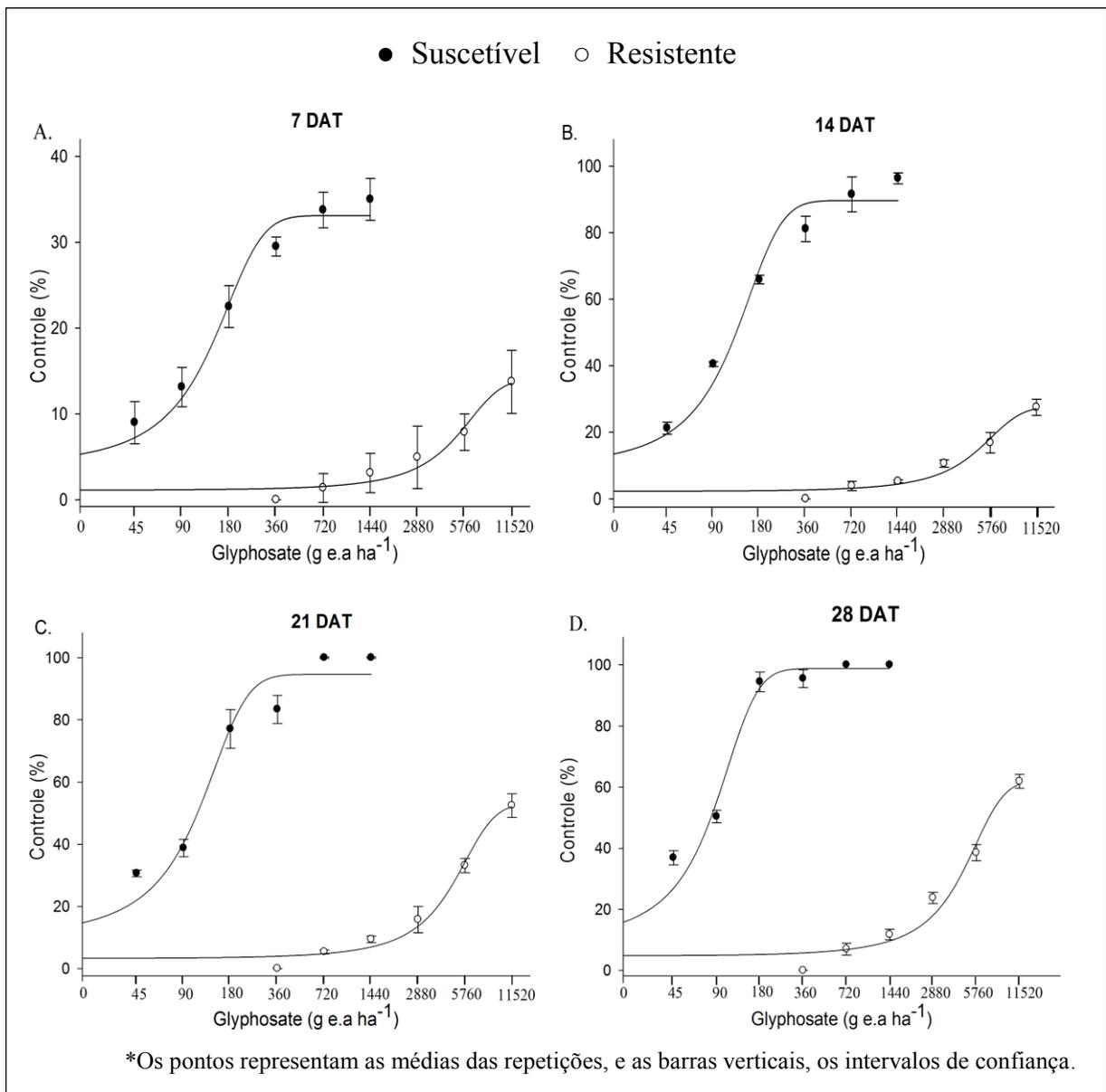


Figura 1 - Controle (%) de biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*, avaliado aos 07, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT). UFSM, Campus Frederico Westphalen – RS, 2013

A curva de dose-resposta aos 7 DAT já demonstra grande diferença entre os biótipos para o controle visual, em função do aumento da dose do herbicida (Figura 1A). Contudo, para o biótipo S, o aumento no nível de controle se verificou em menor dose e com maior intensidade do que para o biótipo R. A dose necessária para promover 50% de controle de *C. bonariensis* (C_{50}) foi de 4.923,10 e 127,86 g e.a ha⁻¹ para os biótipos R e S, respectivamente (Tabela 1). O FR calculado indica, já aos 7 DAT, que o biótipo S é 38,5 vezes mais sensível ao *glyphosate* do que o R.

Tabela 1 - Equações^a utilizada para determinar a dose necessária para obter 50% do controle (C_{50}) ou redução de 50% da massa seca (GR_{50}) dos biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*. UFSM, Campus Frederico Westphalen - RS, 2013.

Biótipo	A	B	C_{50} (g e.a ha ⁻¹)	R^{2b}	FR ^c	Itr ^d
7 DAT*						
Suscetível	33,11	65,15	127,86	0,97	---	9
Resistente	14,12	2.018,51	4.923,1	0,94	38,5	8
14 DAT						
Suscetível	89,66	54,34	114,23	0,97	---	10
Resistente	27,78	1.881,2	4.552,84	0,96	39,85	9
21 DAT						
Suscetível	94,62	50,01	104,7	0,96	---	8
Resistente	53,09	1.729,43	4.716,07	0,98	45,04	8
28 DAT						
Suscetível	98,79	36,79	81,16	0,97	---	9
Resistente	62,22	1.808,44	4.499,42	0,97	55,43	9
Biótipo	A	b	GR_{50} (g e.a ha ⁻¹)	R^b	FR	Itr
28 DAT						
Suscetível	85,16	25,32	52,78	0,96	---	10
Resistente	60,19	1.821,84	3.242,20	0,95	61,49	10

^a Equação sigmoidal $Y=a/(1 + \exp(-(X - X_{a50})^b))$, onde $X_{a50}= GR_{50}$ ($p < 0,05$) ou $X_{a50}= C_{50}$ ($p < 0,05$).

^b Coeficiente de determinação.

^c Fator de Resistência= $C_{50}R/C_{50}S$ ou $GR_{50}R/GR_{50}S$.

^d Itr= número de iterações utilizadas para ajustar os parâmetros da equação.

* Dias após aplicação dos tratamentos.

Novamente, aos 14 DAT, o biótipo S apresentou índice de controle superior ao biótipo R, e com doses menores de herbicida (Figura 1B). A C_{50} foi de 4.552,84 e 114,23 g e.a ha⁻¹, para os biótipos R e S, respectivamente (Tabela 1), gerando um FR de 39,5. Trezzi et al.,

(2011), ao trabalhar com 13 diferentes biótipos de *Conyza* spp., observaram aos 14 DAT fatores de resistência que variaram de 1,0 a 17,8, demonstrando grande variabilidade do material em estudo. Contudo, os níveis de resistência observados pelos mesmos autores se mantiveram, praticamente estáveis até o final do período de avaliações.

Na Figura 1C pode-se verificar que aos 21DAT, para a dose recomendada do produto (720 g e.a ha⁻¹) obteve-se controle satisfatório do biótipo S de *C. bonariensis*. Entretanto, para o biótipo R, mesmo doses superiores a 11.520 g e.a ha⁻¹ não proporcionaram controle superior a 60%. Nessa mesma avaliação, o fator de resistência obtido foi de 45,04, demonstrando para o biótipo R elevada capacidade de resistência quando comparado ao S. Controle superiores a 80% foram obtido para três biótipos de *Conyza* spp., com utilização da dose de 720 g.e. a ha⁻¹ de *glyphosate* (TREZZI et al., 2011).

Aos 28 DAT (Figura 1D), o biótipo suscetível apresentou controle satisfatório, acima de 80%, para a doses de 180 e 360 g e.a ha⁻¹, e morte para as doses de 720 e 1.440 g e.a ha⁻¹, enquanto que para o biótipo R, mesmo na dose mais elevada (11.520 g e.a ha⁻¹), não foi possível constatar o controle total das plantas. Para essa avaliação, o FR obtido foi de 55,43, sendo que a dose necessária para promover 50% de controle de *C. bonariensis* (C₅₀) foi de 4.499,42 e 81,16 g e.a ha⁻¹, para os biótipos R e S, respectivamente (Tabela 1). Sendo assim, ficou comprovado o alto nível de resistência apresentado pelo biótipo R. Outros autores já relataram a resistência em *C. bonariensis* no Brasil, como Moreira et al. (2007), Vargas et al. (2007) e Lamego & Vidal (2008); contudo, os níveis de resistência observados foram próximos a 10.

Os dados de MSPA aos 28 DAT (Figura 2) estão em concordância com os valores de controle visual obtidos (Figura 1), onde menores doses de *glyphosate* foram suficientes para inibir o acúmulo de massa do biótipo S quando comparado ao R. As doses necessárias para promover a redução em 50% da massa seca (GR₅₀) foram de 52,78 e 3.242,20 g e.a ha⁻¹, para os biótipos S e R, respectivamente. O FR gerado ficou acima do encontrado para as avaliações de controle visual e indicou que biótipo R é 61,49 menos sensível ao *glyphosate* do que S.

As variações na amplitude do FR observadas entre controle (%) e MSPA, também foram reportadas por Trezzi et al. (2011); ao trabalharem com plantas de *Conyza* spp. resistentes ao *glyphosate*, os autores observaram para um mesmo biótipo FR de 3,98 e 37,27, para as variáveis controle aos 21 DAT e matéria seca, respectivamente. Os valores de FR variaram em amplitude, mas se mantiveram elevados par todas as variáveis avaliadas (Tabela 1), concordando com o relatado por Moreira et al. (2007) e Trezzi et al. (2011).

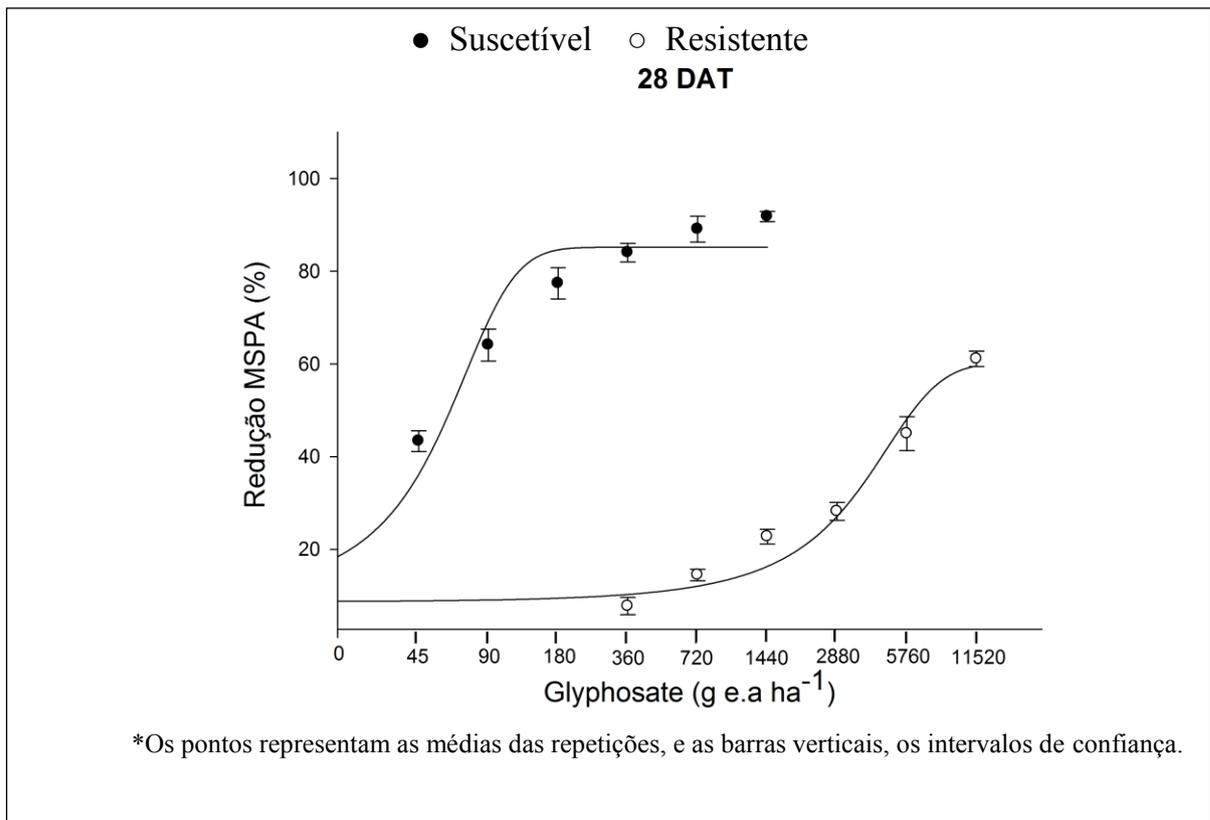


Figura 2 - Redução da matéria seca da parte aérea (MSPA(%)) em biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*, avaliado aos 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT). UFSM, Campus Frederico Westphalen – RS, 2013.

A resistência ao *glyphosate* em biótipos de *C. bonariensis* também já foi relatada na África do Sul (2003), Espanha (2004), Israel (2005), Colômbia (2006), Estados Unidos (2007), Austrália, Grécia e Portugal (2010), conforme Heap (2014). Na maioria dos casos, a resistência tem sido caracterizada pelo baixo FR, diferindo do encontrado nesse estudo, 61,49 aos 28 DAT para MSPA (Tabela 1), enquanto que os observados por Moreira et al. (2007) e Lamego & Vidal (2008) foram de 14,74 e 2,3, respectivamente. Valores de FR superiores a 10 são considerados elevados e relatam resistência de alto nível, onde as plantas tratadas com o herbicida mesmo em altas doses sofrem poucos ou nenhum sintoma de dano e não tem seu ciclo biológico afetados, proporcionando a reprodução e propagação do biótipo (VIDAL et al., 2007).

Os mecanismos de resistência ao *glyphosate* elucidados até então em plantas daninhas, estão relacionados à reduzida translocação do herbicida nas plantas (FERREIRA et al., 2008), sequestro no vacúolo (GE et al., 2012), aumento da atividade da EPSPS (SALAS et al., 2012) e mutação na posição 106 da enzima EPSPS, alterando o aminoácido prolina para serina ou

treonina (POWLES & PRESTON, 2006; ALARCÓN-REVERTE et al., 2013). Neste contexto, ao comparar os fatores de resistência ao herbicida *glyphosate* com o mecanismo de resistência envolvido, Hugh (2011) relata a atuação de mudanças no local alvo dos biótipos com FR acima de 10, enquanto que mecanismo de resistência não relacionado ao local alvo, implicaria em FR inferior a 10. Contudo, trabalhos desenvolvidos com *Eleusine indica* (Gaert) e *Lolium multiflorum* (Lam.) que apresentam como mecanismo de resistência mutações na enzima EPSPS, apresentaram FR 4 e 2, respectivamente (KAUNDUN, et al., 2008; PEREZ-JONES, et al., 2007). Salas et al. (2012), relatam a super expressão do gene que codifica a enzima EPSPS, sendo este o mecanismo de resistência ao *glyphosate* apresentado por biótipos de *Lolium perenne* ssp. *multiflorum*, e que confere FR=13. Deste modo, resistência de baixo nível pode ser ocasionada por mudanças no local alvo. Entretanto, o nível de resistência elevado observado no presente estudo sugere que a evolução da resistência está associada com um ou mais mecanismos de resistência, que podem estar atuando em conjunto e garantindo a sobrevivência do biótipo R, mesmo em doses elevadas do produto. Sendo assim, detalhados estudos são necessários para elucidar qual ou quais mecanismos de resistência são atuantes sobre essa espécie, visando adotar a melhor estratégia de manejo.

2.2.2 Herbicidas alternativos e estádios de aplicação em *Conyza bonariensis* resistente ao *glyphosate*.

Os resultados obtidos demonstraram, a partir do teste F, interação significativa (5%) entre biótipo x herbicidas x estágio de aplicação. Os dados de controle visual, em todos os períodos de avaliação e de MSPA apresentaram diferença significativa pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Aos 7 DAT, de forma geral, já era possível ser observado o melhor desempenho dos tratamentos herbicidas para as plantas em estágios de menor desenvolvimento (Tabela 2). Contudo, o herbicida *glyphosate* não apresentou diferença para a variável estágio de desenvolvimento, mas sim para biótipo, onde se observou ausência total de controle no biótipo R. Esses resultados demonstram a existência de correlação entre estágio de aplicação e nível de controle, estando em concordância com o observado por Vargas et al. (2007), que obtiveram resultados favoráveis para 2,4-D, paraquat, chlorimuron-ethyl, metsulfuron-methyl aplicados em estádios iniciais de desenvolvimento dessa planta daninha.

Tabela 2 - Controle (%) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 7 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), UFSM, *Campus* Frederico Westphalen-RS, 2012/13.

Tratamentos	Suscetível			Resistente		
	I ¹	II	III	I	II	III
Testemunha	A 0,00 ^{ns} e	A 0,00 ^{ns} f	A 0,00 ^{ns} h	A 0,00 e	A 0,00 g	A 0,00 g
<i>Glyphosate</i>	A 35,71* c	A 37,86* d	A 36,87* e	A 0,00 e	A 0,00 g	A 0,00 g
Chl. Ethyl ³	B 23,12* d	A 32,14* e	C 18,57* g	A 38,75 d	B 21,87 e	C 14,29 f
Met. metil ⁴	A 39,57* c	A 39,17* d	B 23,33 ^{ns} f	A 44,37 c	B 27,50 d	C 21,25 e
Diclosulam	A 42,00* c	A 43,75* c	B 24,37* f	A 36,25 d	B 19,33 f	B 20,86 e
Glufosinato	A 100,00* a	A 99,28* a	B 80,00* c	A 96,25 b	B 92,62 b	C 65,00 c
Paraquat	A 100,00 ^{ns} a	A 99,00* a	B 84,37* b	A 100,00 a	B 94,75 b	C 77,50 b
Par.+Diuron ⁵	A 100,00 ^{ns} a	B 90,25* a	C 86,25* b	A 98,12 ab	B 92,85 b	C 77,14 b
Diquat	A 100,00 ^{ns} a	B 95,71* a	C 90,62* a	A 99,75 ab	A 98,71 a	B 83,57 a
2,4-D	A 53,57* b	A 52,86* b	B 40,00*d	A 43,10 c	B 41,25 c	C 34,16 d
Média	32,33	59,00	48,44	50,73	48,89	39,38
C.V. (%) ⁶	6,04					

¹ Estádio I – plantas com 1-2 folhas verdadeiras, Estádio II- plantas com 5-6 folhas verdadeiras; e Estádio III – plantas com 30-35 folhas (20-25 cm de altura). ² Médias antecedidas por letras maiúsculas distintas, comparadas nas linhas (estádios), ou sucedidas por letras minúsculas diferentes, comparam nas colunas (herbicidas), diferem pelo teste t ($p \leq 0,05$). ns e * comparam médias dos biótipos (S e R), dentro dos mesmos estádios e herbicidas. ³ Chlorimuron-ethyl, ⁴ Metsulfuron-metil, ⁵ paraquat +diuron, ⁶ Coeficiente de variação.

Ainda para a avaliação aos 7 DAT, os herbicidas de contato, em especial paraquat e diquat, apresentaram melhor desempenho quando utilizados em plantas menores, atingindo controle próximo a 100%, nos estádios I e II em ambos os biótipos (Tabela 2). O rápido controle de plantas jovens, se deve à alta capacidade desses herbicidas atuarem como receptores de elétrons provenientes da fotossíntese e pela capacidade de gerar radicais livres (superóxidos de O₂), que por sua vez, são altamente reativos e danificam a membrana plasmática, permitindo o extravasamento do conteúdo celular, ocasionando sua morte em apenas algumas horas (HESS, 2000; MARKWELL et al., 2006). Contudo, esse grupo de herbicida exige uma eficaz cobertura do alvo e em casos de plantas com maior estatura, pode não se obter controle satisfatório e ainda se ter a incidência de rebrotes laterais, como o observado para plantas de ambos os biótipos que se apresentavam no estádio III (25 cm de altura). Esses resultados corroboram com o relatado por Vargas et al. (2007), que ao trabalharem com buva em estádio de desenvolvimento de quatro folhas, observaram

resultados satisfatórios quando da aplicação do paraquat e paraquat+diuron. Enquanto Moreira et al. (2010), obtiveram insucesso no controle de biótipos de *Conyza* spp. a partir da utilização de paraquat + diuron e amônio-glufosinato sobre plantas com 10 folhas, apresentando rebrotos laterais.

Aos 14 DAT, o melhor desempenho para todos os herbicidas, com exceção do *glyphosate* para o biótipo R, foi observado sobre as plantas que se apresentavam nos estágios iniciais de desenvolvimento (Tabela 3). Enquanto que para o estágio III (30-35 folhas), o desempenho foi inferior aos demais estádios. Os herbicidas sistêmicos alternativos ao *glyphosate*, ainda apresentaram um inferior desempenho frente aos herbicidas de contato, como pode ser observado para a comparação do chlorimuron-ethyl e o paraquat, para o estágio I do biótipo S, onde o controle foi equivalente a 60,62 e 100%, respectivamente (Tabela 3). Na comparação entre biótipos, de forma geral não ocorreram diferenças significativas dentro de cada época e para cada herbicida, a principal exceção foi o herbicida *glyphosate* que obteve controle percentual nulo para o biótipo R.

Tabela 3 - Controle (%) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 14 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), UFSM, Campus Frederico Westphalen-RS, 2012/13.

Herbicidas	Suscetível			Resistente		
	Estádio					
	I ¹	II	III	I	II	III
Testemunha	A 0,00 ^{2ns} f	A 0,00 ^{ns} e	A 0,00 ^{ns} g	A 0,00 e	A 0,00 d	A 0,00 d
<i>Glyphosate</i>	A 85,29* c	A 84,29* b	B 70,62* c	A 0,00 e	A 0,00 d	A 0,00 d
Chl. ethyl ³	A 60,62* e	A 58,57* d	B 39,28 ^{ns} f	A 76,87 c	B 66,87 b	C 33,57 c
Met. metil ⁴	A 69,29* d	A 69,17 ^{ns} c	B 47,5 ^{ns} e	A 83,12 b	B 65,62 b	C 47,00 b
Diclosulam	A 75,00* d	A 74,37* c	B 54,37 ^{ns} d	A 83,75 b	B 58,33 c	C 49,28 b
Glufosinato	A 100,00 ^{ns} a	A 99,71 ^{ns} a	B 83,12 ^{ns} b	A 99,25 a	A 99,75 a	B 82,85 a
Paraquat	A 100,00 ^{ns} a	AB 99,28 ^{ns} a	B 94,62 ^{ns} a	A 100,00 a	A 98,62 a	B 89,17 a
Par.+Diuron ⁵	A 100,00 ^{ns} a	B 94,25 ^{ns} a	AB 97,25* a	A 100,00 a	A 95,71 a	B 87,14 a
Diquat	A 100,00 ^{ns} a	A 99,71 ^{ns} a	A 97,00* a	A 99,50 a	A 99,00 a	B 90,00 a
2,4-D	A 89,16* b	A 86,42* b	B 80,62* b	A 71,25 d	B 60,00 c	C 51,50 b
Média	77,94	76,58	63,04	71,37	64,39	52,95
C.V. (%) ⁶	8,07					

¹ Estádio I – plantas com 1-2 folhas verdadeiras, Estádio II- plantas com 5-6 folhas verdadeiras; e Estádio III – plantas com 30-35 folhas (20-25 cm de altura). ² Médias antecedidas por letras maiúsculas distintas, comparadas nas linhas (estádios), ou sucedidas por letras minúsculas diferentes, comparam nas colunas (herbicidas), diferem pelo teste t (p≤0,05). ns e * comparam médias dos biótipos (S e R), dentro dos mesmos estádios e herbicidas. ³ Chlorimuron-ethyl, ⁴ Metsulfuron-metil, ⁵ paraquat +diuron, ⁶ Coeficiente de variação.

Controles próximos a 100% foram observados para todos os herbicidas alternativos ao *glyphosate* no menor estágio de desenvolvimento e em ambos os biótipos aos 21DAT (Tabela 4). De forma geral, para os mesmos produtos alternativos não foi observada diferença significativa no controle, na comparação entre biótipos dentro de estágio. Entretanto, o herbicida 2,4-D apresentou, para os três estágios de avaliação, inferior controle do biótipo R, com percentual de 66% para o estágio III, enquanto o controle no mesmo estágio para o S, foi superior a 88%. É importante ressaltar que os herbicidas diclosulam, metsulfurom-metil e chlorimuron-ethyl demonstraram controle insatisfatório para ambos os biótipos no estágio III de desenvolvimento da buva, com índices de controle próximos a 65, 60 e 40%, respectivamente aos 21 DAT.

Tabela 4 - Controle (%) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 21 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), UFSM, *Campus* Frederico Westphalen-RS, 2012/13.

Herbicidas	Suscetível			Resistente		
	Estádio					
	I ¹	II	III	I	II	III
Testemunha	A 0,00 ^{2ns} c	A 0,00 ^{ns} d	A 0,00 ^{ns} e	A 0,00 c	A 0,00 e	A 0,00 e
<i>Glyphosate</i>	A 99,71* a	A 99,71* a	B 91,87* ab	A 0,00 c	A 0,00 e	A 0,00 e
Chl. ethyl ³	A 98,87 ^{ns} a	B 77,14 ^{ns} c	C 45,00 ^{ns} d	A 98,00 a	B 78,75 c	C 39,28 d
Met. metil ⁴	A 100,00 ^{ns} a	B 81,67* bc	C 65,83 ^{ns} c	A 98,12 a	A 96,62 b	B 59,37 c
Diclosulam	A 100,00 ^{ns} a	B 85,62* b	C 68,75 ^{ns} c	A 100,00 a	B 70,00 d	B 64,28 bc
Glufosinato	A 100,00 ^{ns} a	A 100,00 ^{ns} a	B 89,37 ^{ns} b	A 99,50 a	A 100,00 a	A 92,86 a
Paraquat	A 100,00 ^{ns} a	A 100,00 ^{ns} a	A 97,50 ^{ns} a	A 100,00 a	A 99,75 a	B 91,67 a
Par.+Diuron ⁵	A 100,00 ^{ns} a	A 100,00 ^{ns} a	A 94,37 ^{ns} ab	A 100,00 a	A 99,71 a	A 93,00 a
Diquat	A 100,00 ^{ns} a	A 100,00 ^{ns} a	A 97,50 ^{ns} a	A 99,12 a	A 98,14 a	A 96,00 a
2,4-D	A 100,00* a	A 98,00* a	B 88,50* b	A 83,12 b	A 82,50 b	B 66,67 b
Média	89,86	84,21	73,87	77,79	72,55	60,31
CV (%) ⁶	9,35					

¹ Estádio I – plantas com 1-2 folhas verdadeiras, Estádio II- plantas com 5-6 folhas verdadeiras; e Estádio III – plantas com 30-35 folhas (20-25 cm de altura). ² Médias antecedidas por letras maiúsculas distintas, comparadas nas linhas (estádios), ou sucedidas por letras minúsculas diferentes, comparam nas colunas (herbicidas), diferem pelo teste t ($p \leq 0,05$). ns e * comparam médias dos biótipos (S e R), dentro dos mesmos estádios e herbicidas. ³ Chlorimuron-ethyl, ⁴ Metsulfuron-metil, ⁵ paraquat +diuron, ⁶ Coeficiente de variação.

Na última avaliação de controle realizada aos 28 DAT, é possível afirmar que todos os herbicidas alternativos ao *glyphosate* demonstraram-se eficientes no controle de *Conyza*

bonariensis resistente a esse herbicida, quando aplicados em plantas em estágio de até seis folhas – Estádio II (Tabela 5). Os resultados corroboram com o observado por Moreira et al. (2007) e Vargas et al. (2007), onde biótipos resistentes de *C. bonariensis*, em estádios de quatro a cinco folhas foram eliminados com o uso dos herbicidas chlorimuron-ethyl ou metsulfuron-methyl. Vangessel et al. (2009) e Moreira et al. (2010) afirmam que aspergir plantas de *C. canadensis* e *C. bonariensis* em estádios iniciais de desenvolvimento, aumenta a sensibilidade aos herbicidas de ação total e proporciona menor capacidade de rebrote da espécie, sendo o mesmo comportamento observado nesse estudo. Vargas et al. (2007) afirmam ainda, que para estágio inicial, a utilização do herbicida 2,4-D proporcionou controle superior a 80% em biótipos de buva resistente ao *glyphosate*. No entanto, Wu & Walker (2004), ressaltam que a buva apresenta elevada capacidade em produção de sementes, atingindo quantidades superiores a 200.000 sementes por planta. Por isso, o controle de 80% da população de uma determinada área pode se tornar ineficiente em impedir a propagação da espécie e de biótipos resistentes de *C. bonariensis*.

Tabela 5 - Controle (%) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), UFSM, Campus Frederico Westphalen-RS, 2012/13.

Herbicidas	Suscetível			Resistente		
	Estádio					
	I ¹	II	III	I	II	III
Testemunha	A 0,00 ^{2ns} b	A 0,00 ^{ns} c	A 0,00 ^{ns} e	A 0,00 b	A 0,00 c	A 0,00 e
<i>Glyphosate</i>	A 100,00* a	A 100,00*a	B 91,87* a	A 0,00 b	A 0,00 c	A 0,00 e
Chl. Ethyl ³	A 99,00 ^{ns} a	B 85,00* b	C 51,43* d	A 99,75 a	A 99,37 a	B 37,14 d
Met. metil ⁴	A 100,00 ^{ns} a	B 78,83* b	C 63,33 ^{ns} c	A 100,00 a	A 96,87 a	B 67,50 c
Diclosulam	A 100,00 ^{ns} a	B 78,12* b	B 81,37* b	A 100,00 a	A 97,50 a	B 73,57 bc
Glufosinato	A 100,00 ^{ns} a	A 100,00 ^{ns} a	A 93,87 ^{ns} a	A 100,00 a	A 100,00 a	A 94,00 a
Paraquat	A 100,00 ^{ns} a	A 100,00 ^{ns} a	A 96,25 ^{ns} a	A 100,00 a	A 100,00a	A 94,13 a
Par.+Diuron ⁵	A 100,00 ^{ns} a	A 100,00 ^{ns} a	A 93,12 ^{ns} a	A 100,00 a	A 100,00 a	A 96,42 a
Diquat	A 100,00 ^{ns} a	A 100,00 ^{ns} a	A 97,50 ^{ns} a	A 99,75 a	A 98,57 a	A 98,57 ^a
2,4-D	A 100,00* a	A 95,00* a	A 92,50* a	A 91,25 a	A 85,62 b	B 76,66 b
Média	89,90	83,70	76,42	79,08	77,79	63,80
CV (%) ⁶	9,33					

¹ Estádio I – plantas com 1-2 folhas verdadeiras, Estádio II- plantas com 5-6 folhas verdadeiras; e Estádio III – plantas com 30-35 folhas (20-25 cm de altura). ² Médias antecedidas por letras maiúsculas distintas, comparadas nas linhas (estádios), ou sucedidas por letras minúsculas diferentes, comparam nas colunas (herbicidas), diferem pelo teste t (p≤0,05). ns e * comparam médias dos biótipos (S e R), dentro dos mesmos estádios e herbicidas. ³ Chlorimuron-ethyl, ⁴ Metsulfuron-metil, ⁵ paraquat +diuron, ⁶ Coeficiente de variação.

Para o estágio III, ou seja, plantas com até 25 cm de altura, os herbicidas metasulfuron-metil e chlorimuron-ethyl não obtiveram desempenho satisfatório para os dois biótipos, enquanto o herbicida 2,4-D não controlou eficientemente o biótipo R (Tabela 5). Neste contexto, observa-se a influência que o estágio de desenvolvimento da buva exerce sobre a eficiência dos tratamentos no momento da aplicação (OLIVEIRA NETO et al., 2010). Segundo Carvalho et al. (2008), isto ocorre pelo fato das plantas aumentarem o acúmulo de matéria seca na medida em que se desenvolvem, adquirindo maior capacidade para sobreviverem em condições adversas e de se recuperarem do efeito fitotóxico de herbicidas.

A MSPA avaliada aos 28 DAT, apresentou maiores valores à medida que aumentava a estatura das plantas de buva no momento da aplicação (Tabela 6). Esse comportamento ocorre devido aos baixos níveis de controle obtidos à medida que as plantas se desenvolvem e está em acordo com os dados observados para o controle visual e com o relatado por Olivera Netto et al. (2010).

Tabela 6 - Massa seca da parte aérea (mg planta^{-1}) de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate* aos 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), UFSM, Campus Frederico Westphalen-RS, 2012/13.

Herbicidas	Suscetível			Resistente		
	Estádio					
	I ¹	II	III	I	II	III
Testemunha	C 288,7 ^{ns} a	B 1.161,3 ^{ns} a	A 4.885,2 ^{ns} a	C 273,7 a	B 1.201,0 a	A 4.783,8 a
<i>Glyphosate</i>	B 10,6* b	B 10,7* b	A 1.071,0* d	C 269,0 a	B 1.232,1 a	A 4.936,2 a
Chl. Ethyl ³	B 6,4 b	B 53,5* b	A 2.033,0* c	C 12,2 b	B 73,7 c	A 2.661,7 b
Met. metil ⁴	B 4,7 ^{ns} b	B 34,2* b	A 3.092,4 ^{ns} b	C 12,2 b	B 49,8 b	A 2.995,7 b
Diclosulam	B 5,1 ^{ns} b	B 72,0 ^{ns} b	A 1.885,7* c	B 15,9 b	B 78,0 b	A 2.878,4 b
Glufosinato	B 5,9 ^{ns} b	B 6,6 ^{ns} b	A 984,7* d	B 20,1 b	B 21,5 b	A 1.247,2 c
Paraquat	B 2,6 ^{ns} b	B 5,9 ^{ns} b	A 1.080,0* d	B 18,7 b	B 16,6 b	A 1.606,0 c
Par.+Diuron ⁵	B 3,0 ^{ns} b	B 9,1 ^{ns} b	A 976,8* d	B 3,0 b	B 27,2 b	A 1.346,2 c
Diquat	B 5,4 ^{ns} b	B 6,1 ^{ns} b	A 1.078,0* d	B 5,9 b	B 38,4 b	A 1.426,3 c
2,4-D	B 6,6 ^{ns} b	B 19,7 ^{ns} b	A 1.829,7 ^{ns} c	B 35,5 b	B 64,5 b	A 2.435,1 b
Média	33,9	137,9	1.891,7	66,7	280,3	2.631,7
CV (%) ⁶	21,43					

¹ Estádio I – plantas com 1-2 folhas verdadeiras, Estádio II- plantas com 5-6 folhas verdadeiras; e Estádio III – plantas com 30-35 folhas (20-25 cm de altura). ² Médias antecedidas por letras maiúsculas distintas, comparadas nas linhas (estádios), ou sucedidas por letras minúsculas diferentes, comparam nas colunas (herbicidas), diferem pelo teste t ($p \leq 0,05$). ns e * comparam médias dos biótipos (S e R), dentro dos mesmos estádios e herbicidas. ³ Chlorimuron-ethyl, ⁴ Metsulfuron-metil, ⁵ paraquat +diuron, ⁶ Coeficiente de variação.

De forma geral, os herbicidas apresentaram pouca ou nenhuma diferença no acúmulo residual de massa dentro dos estágios I e II. Contudo, no estágio III de desenvolvimento, os herbicidas de contato apresentaram, em virtude de seu efeito mais rápido, um maior efeito na redução da MSPA, enquanto herbicidas sistêmicos como o chlorimuron-ethyl, metsulfuron-methyl, diclosulam e 2,4-D obtiveram as maiores médias de acúmulo, em especial para o biótipo R (Tabela 6). Os resultados discordam daqueles observados por Kruger et al. (2008), que ao avaliarem a sensibilidade de quatro populações de *C. canadensis* ao herbicida 2,4-D, relatam que a dose desse herbicida capaz de reduzir em 90% o acúmulo de massa seca para essa espécie foi de 513 g e.a ha⁻¹, enquanto no presente estudo, mesmo para a dose de 1.007, 5 g e.a ha⁻¹, a redução da matéria seca para o biótipo R ficou em torno de 50% no estágio III de desenvolvimento.

A utilização de herbicidas com mecanismos de ação alternativos ao *glyphosate* se mostrou eficiente no controle de biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente a esse herbicida. A sensibilidade do biótipo resistente a esses distintos herbicidas descarta a possibilidade de resistência múltipla aos produtos avaliados. Entretanto, ressalta-se a necessidade de cautela na frequência da utilização de herbicidas com atuação sobre a enzima ALS, pois para a espécie *C. canadensis* já foram relatados casos de resistência múltipla envolvendo herbicidas inibidores da ALS, decorrente de mutações nesta (ZHENG et al., 2011).

Moretti et al. (2013) também relatam resistência múltipla a *glyphosate* e paraquat em estudo desenvolvido com *C. bonariensis*, onde o FR foi igual a 149 para o herbicida alternativo ao inibidor da EPSPS. Resultados estes, demonstram o agravamento da resistência para a espécie *C. bonariensis*, uma vez que fica cada vez mais restrito o número de herbicidas alternativos para o controle de populações com resistência múltipla. Maiores cuidados devem ser tomados também com a utilização do herbicida inibidores do FSI, uma vez que biótipos de *C. bonariensis* apresentaram resistência múltipla para o *glyphosate* e para o paraquat (MORETTI et al., 2013).

O biótipo de *Conyza bonariensis* resistente ao herbicida *glyphosate* é eficientemente controlado pelos herbicidas alternativos chlorimuron, metsulfuron-methyl, diclosulam, amônio-glufosinato, paraquat, paraquat+diuron, diquat e 2,4-d em estágio de até seis folhas, sendo este o período ideal para se realizar o manejo químico dessa planta daninha.

2.4 LITERATURA CITADA

ALARCÓN-REVERTE, R. et al. Resistance to *Glyphosate* in Junglerice (*Echinochloa colona*) from California. **Weed Science**, v.61, p.48-54, 2013.

CARVALHO, S.J.P.; OVEREJO, R.F.L.; CRHISTOFFOLETI, P.J. Crescimento e desenvolvimento de cinco espécies de plantas daninhas do gênero *Amaranthus*. **Bragantia**, v.62, p.317-326, 2008.

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

FERREIRA, E.A. et al. *Glyphosate* translocation in hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) biotypes. **Planta Daninha**, v.26, p.637-643, 2008.

GE, X. et al. Vacuolar *Glyphosate* - Sequestration correlates with *Glyphosate* resistance in ryegrass (*Lolium* spp.) from Australia, South America, and Europe: A ³¹P NMR Investigation. **Agricultural and Food Chemistry**. v.60, p.1243–1250, 2012.

HEAP, I. **International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org/In.asp>. Acesso em: 06 de janeiro 2014.

HESS, F. D. Light-dependent herbicides: an overview. **Weed Science**, v.48, p.160–170, 2000.

HUGH, J. B. Herbicide-resistant weed management: focus on *glyphosate*. **Pest Management Science**, v.67, p.1037–1048, 2011.

KAUNDUN, S.S. et al. Importance of the P106S target-site mutation in conferring resistance to *glyphosate* in a goosegrass (*Eleusine indica*) population from the Philippines. **Weed Science**, v.56, p.637–646, 2008.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. Plantas infestantes e nocivas. São Paulo: **BASF**, p.789, 1999.

KRUGER, G. R. et al. Response and survival of rosette-stage horseweed (*Conyza canadensis*) after exposure to 2,4-D. **Weed Science**, v.56, p.748-752, 2008.

LAMEGO, F. P. et al. Manejo de *Conyza bonariensis* resistente ao *glyphosate*: coberturas de inverno e herbicidas em pré-semeadura da soja. **Planta Daninha**, v.31, p.433-442, 2013.

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

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

LÓPEZ-OVEJERO, R. F. et al. Alternativas de manejo químico da planta daninha *Digitaria ciliaris* resistente aos herbicidas inibidores da ACCase na cultura da soja. **Planta Daninha**, v.24, p.399-406, 2006.

MARKWELL, J.; NAMUTH, D.; HERNANDEZ-RIOS, I. **Introducción a los herbicidas que actúan através de la fotosíntesis**. 2006. Disponível em: <<http://passel.unl.edu/pages/informationmodule.php?idinformationmodule=1024932941#>>. Acesso em 02/10/2013.

MOREIRA, M. S. et al. Resistência de *Conyza canadensis* e *Conyza bonariensis* ao herbicida *glyphosate*. **Planta Daninha**, v.25, p.157-164, 2007.

MOREIRA, M.S. et al. Herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* resistentes ao *glyphosate*. **Planta Daninha**, v.28, p.167-175, 2010.

MORETTI, M. L. et al. *Glyphosate* resistance is more variable than paraquat resistance in a multiple-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) population. **Weed Science**, v.61, p.396-402, 2013.

OLIVEIRA NETO, A. M. et al. Manejo de *Conyza bonariensis* com *glyphosate* + 2,4-D e amônio-glufosinate em função do estágio de desenvolvimento. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.9, p.73-80, 2010.

PATEL, F. et al. Redução de rendimento de grãos de soja devido à variação em densidades e períodos de introdução da buva (*Conyza bonariensis*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27, Ribeirão Preto, 2010. **Resumos...** Ribeirão Preto: FUNEP, 2010. p.1674-1677.

PEREZ-JONES A. et al. Investigating the mechanism of *glyphosate* resistance in *Lolium multiflorum*. **Planta**, v.226, p.395–404, 2007.

POWLES, S. B.; PRESTON, C. Evolved *glyphosate* resistance in plants: biochemical and genetic basis of resistance. **Weed Technology**, v.20, p.282-289, 2006.

SAARI, L. L.; COTTERMAN, J. C.; THILL, D. C. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In: POWLES, S. B.; HOLTUM, J. A. M. Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry. **Boca Raton: CRC Press**, p.353, 1994.

SALAS, R.A. et al. EPSPS gene amplification in *glyphosate*-resistant Italian 1 ryegrass (*Lolium perenne* ssp multiflorum) from Arkansas, USA. **Pest Management Science**, v.68, p.1223–1230, 2012.

SHRESTHA, A. et al. Growth stage influences level of resistance in *glyphosate*-resistant horseweed. **California Agriculture**, v.61, p.67-70, 2007.

SINGH, S; SINGH, M. Effect of growth stage on trifloxysulfuron and *glyphosate* efficacy in twelve weed species of citrus groves, **Weed Technology**, v.18, p.1031–1036, 2004.

TREZZI, M. M. Et al. Resistência ao *glyphosate* em biótipos de buva (*Conyza* spp.) Das regiões oeste e sudoeste do Paraná. **Planta Daninha**, v.29, p.1113-1120, 2011.

VANGESSEL, M. J. et al. Influence of *glyphosate*-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) growth stage on response to *glyphosate* applications. **Weed Technology**, v.23, p.49-53, 2009.

VARGAS, L. et al. *Conyza bonariensis* resistente ao *glyphosate* na Região Sul do Brasil. **Planta Daninha**, v.25, p.573-578, 2007.

VIDAL, R. A. et al. Definindo resistência aos herbicidas. **Revista Plantio Direto**, v. 2007, p.18-19, 2007.

WU, H.; WALKER, S. Fleabane: **Fleabane biology and control**. 2004. Disponível em: <<http://www.weeds.crc.org.au/documents/fleabane.pdf>>. Acesso em: 12 de fevereiro de 2014.

ZHENG, D. et al. Cross-resistance of horseweed (*Conyza canadensis*) populations with three different ALS mutations. **Pest Management Science**, v.67, p.1486-1492, 2011.

3 ARTIGO II – VALOR ADAPTATIVO DE BIÓTIPO DE BUVA RESISTENTE AO HERBICIDA *GLYPHOSATE*

RESUMO – O valor adaptativo de uma espécie consiste na sua capacidade de aproveitamento dos recursos do meio para o crescimento, sobrevivência e produção de descendentes. O objetivo deste trabalho foi determinar o valor adaptativo de biótipos de buva suscetível (S) e resistente (R) ao *glyphosate*, a partir da análises de variáveis de crescimento, características reprodutivas e qualidade de sementes produzidas. Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação do DCAA da UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen-RS, em 2012, em duas épocas (outono/inverno e primavera/verão), cujos tratamentos consistiram de um arranjo fatorial, sendo o fator A os biótipos de buva R e S e o fator B, as épocas de avaliação após o transplante. Análises de germinação e qualidade fisiológica das sementes produzidas pelos experimentos foram conduzidas no Laboratório de Tecnologia de Sementes do DCAA da UFSM, em 2013. O biótipo R de *C. bonariensis* apresentou, em ambas as épocas de avaliação, valor adaptativo superior ao biótipo S. Ainda, sementes do biótipo S demonstraram potencial germinativo e qualidade fisiológica inferiores. Deste modo, o biótipo R apresenta mesmo na ausência da aplicação do herbicida *glyphosate*, vantagens adaptativas frente ao S, proporcionando elevada capacidade de disseminação de sementes, o que agrava e dificulta ainda mais o manejo da resistência.

Palavras-chaves: Variáveis de crescimento. Características reprodutivas. Qualidade de sementes.

ABSTRACT - The adaptive value of a species is its ability to make use of resources from the environment for growth, survival and offspring production. The objective of this study was to determine the adaptive value of susceptible (S) and resistant (R) biotypes of hairy fleabane (S) to *glyphosate*, from the analysis of growth variables, reproductive characteristics and quality of seeds produced. Two experiments were conducted in a greenhouse of DCAA UFSM, *Campus* Frederico Westphalen-RS, in 2012, twice a time (fall/ winter and spring/summer), whose treatments consisted of a factorial arrangement, with the factor A being the R and S biotypes of hairy fleabane and factor B, the evaluations after transplantation. Physiological analysis of germination and seed quality of the seeds produced by the experiments were conducted at the Laboratory of Seed Technology of DCAA of UFSM, in 2013. The *C. bonariensis* R biotype presented in both evaluation periods, superior adaptative value when compared with the S biotype. Still, the seeds from S biotype showed inferior potential of germination and physiological quality. Thus, the R biotype presents even in the absence of *glyphosate* spray, adaptative advantages over the S one, providing high capacity of seeds dispersion, which become more difficult and aggravates the management of herbicide resistance.

Keywords: Growth variables Reproductive traits. Seed quality.

3.1 INTRODUÇÃO

A planta daninha *Conyza bonariensis* ([L.] Cronquist), popularmente conhecida como buva, é uma espécie pertencente à família Asteraceae, originária da América do Sul e encontra-se amplamente distribuída pelo centro-sul do Brasil (KISSMANN, 2007). O aumento gradativo da infestação dessa espécie em áreas agrícolas cultivadas com soja, tornou a buva uma das principais plantas daninhas da cultura. Este fato decorre da alta adaptabilidade dessa planta aos sistemas de produção utilizados (semeadura direta), bem como da evolução de biótipos resistentes ao herbicida *glyphosate*.

O controle da *C. bonariensis* era baseado, até pouco tempo, no uso do herbicida *glyphosate*, inibidor da enzima enol-piruvil-shikimato-fosfato-sintetase (EPSPS). Contudo, após anos de uso contínuo deste herbicida e, sendo aplicado mais de uma vez ao ano, biótipos de buva foram selecionados e constatou-se resistência a esse herbicida. Deste modo, a resistência das plantas daninhas aos herbicidas é definida pela FAO como a ocorrência natural de biótipo com habilidade de sobreviver à aplicação de composto químico, para o qual a população original era suscetível (LEBARON & GRESSEL, 1982). Os primeiros casos de resistência em *C. bonariensis* no Brasil foram relatados por Moreira et al. (2007), Vargas et al. (2007) e Lamego & Vidal (2008). Alguns trabalhos demonstram que a resistência de plantas daninhas aos herbicidas está associada à redução de valor adaptativo pelo biótipo resistente (BERGELSON & PURRINGTON, 1996; VAUGHN, 2003; MOREIRA et al., 2010); todavia, diferentes estudos não mostram efeitos (WESTHOVEN et al., 2008; DAVIS et al. 2009; TRAVLOS & CHACHALIS, 2013); outros ainda, apontam para ganhos de valor adaptativo pelos biótipos resistentes (CHRISTOFFOLETI, 2001; SHRESTHA et al., 2010).

A adaptabilidade ou valor adaptativo de uma espécie consiste no comportamento dos componentes de crescimento, na sobrevivência e na produção de sementes viáveis, em função do aproveitamento dos recursos do meio em determinado nicho ecológico (RADOSEVICH et al., 2007). Diferenças na adaptabilidade ecológica entre biótipos resistentes e suscetíveis são usualmente aferidas a partir da comparação de diferentes variáveis, tais como: vigor da planta, produtividade ou competitividade (MOREIRA et al., 2010). A produção e a dormência de sementes, época de florescimento, fitomassa produzida e outros fatores com efeito na sobrevivência e fecundação das espécies, também podem ser utilizados de modo a comparar a adaptabilidade entre biótipos (RADOSEVICH et al., 2007).

Anderson et al. (1996) ressaltam que biótipos resistentes a determinado herbicida e que apresentem redução na sua adaptabilidade na ausência de seleção continuada por este herbicida e, na presença do biótipo suscetível da mesma espécie, irão lentamente desaparecer da população, devido à reduzida capacidade competitiva. Em estudos desenvolvidos com biótipos de *Lolium rigidum* Gaud resistentes e suscetíveis ao *glyphosate*, foram observadas diferenças significativas no acúmulo de matéria seca e na produção de sementes, onde o biótipo suscetível demonstrou desempenho superior ao resistente (PEDERSEN et al., 2007). Contudo, o valor adaptativo de um biótipo, não depende apenas do total de sementes produzidas, mas também no sucesso delas em sobreviver, germinar, se estabelecer e gerar plantas capazes de se reproduzirem (PEDERSEN et al., 2007).

A possibilidade de biótipos resistentes apresentarem valores adaptativos superiores aos suscetíveis tornou-se uma grande preocupação associada à resistência de plantas daninhas a herbicidas, resultando em um maior potencial para a concorrência e invasividade (ELLSTRAND, 1999). Entretanto, Powles & Preston (2006) ressaltam que para *Conyza* spp. resistente ao *glyphosate*, há pouca informação disponível sobre os custos ou benefícios relacionados com a adaptabilidade ecológica.

Em estudos com *Conyza canadensis* L., foi observado elevado vigor inicial para o biótipo resistente em relação ao suscetível (GRANTZ et al., 2008; SHRESTHA et al., 2007). Shrestha et al. (2010) relataram que o biótipo resistente apresentou maior diâmetro de roseta que o biótipo suscetível e Alcorta et al. (2011), observaram redução no ciclo de desenvolvimento em plantas dessa espécie resistentes ao *glyphosate*. No entanto, estudos de valor adaptativo de *Conyza bonariensis* são raros ou incompletos.

A compreensão da dinâmica populacional de determinada espécie, pode estar relacionada com o entendimento do valor adaptativo dos indivíduos resistentes e suscetíveis. O conhecimento das características fisiológicas de biótipos resistentes e suscetíveis se torna crucial para compreender e definir a capacidade competitiva de uma espécie e pode, por conseguinte, ajudar na elaboração e utilização de métodos de gestão e prevenção da resistência aos herbicidas (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2008; SCHAEGLER et al., 2013).

Nesse contexto, este estudo foi desenvolvido com o objetivo de determinar, em condições controladas, não competitivas, em duas épocas e na ausência de aplicações do herbicida, o valor adaptativo de biótipos de *Conyza bonariensis* resistente e suscetível ao *glyphosate*, a partir da análises de variáveis de crescimento, características reprodutivas e qualidade de sementes produzidas.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi dividido em duas etapas, primeiramente em casa de vegetação e a segunda em Laboratório de Tecnologia de Sementes, ambos do Departamento de Ciências Agronômicas e Ambientais (DCAA) da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen – RS.

As sementes de buva suscetíveis a *glyphosate* foram provenientes de área sem histórico de aplicação de herbicida situada no município de Frederico Westphalen-RS, enquanto que as sementes do biótipo resistente (R) foram coletadas em área agrícola situada no município de Jaboticaba-RS e confirmadas posteriormente como resistentes.

3.2.1 Crescimento Relativo e Produção de Sementes

Dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação: a primeira época (Experimento 1) foi realizado de maio a dezembro de 2012 e, a segunda época (Experimento 2), desenvolvido de outubro de 2012 a janeiro de 2013. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x16, onde o fator A, correspondeu aos biótipos de buva Suscetível (S) e Resistente (R); e fator B, ao período em semanas que foram realizadas as avaliações. Estabeleceu-se que as avaliações semanais em ambos os experimentos seriam conduzidas até o início do florescimento de cada biótipo. Deste modo, para o Experimento 1, as avaliações foram realizadas até a 16^a semana, enquanto que para o Experimento 2, as mesmas foram realizadas até a 12^a semana para o biótipo R e até a 13^a para o S.

As sementes S e R foram embebidas em água por 24 horas, para estimular a germinação e, posteriormente semeadas em copos plásticos de 50 ml preenchidos com substrato agrícola (TecnoMax®). Após apresentarem as primeiras folhas verdadeiras, as plântulas foram transplantadas para vasos plásticos de 6 L, também preenchidos com o mesmo substrato. Manteve-se uma planta por vaso, sendo essas mantidas em casa de vegetação e irrigadas diariamente. As temperaturas médias durante o período de condução dos experimentos foram de 21,05 °C durante o dia e de 16,61°C no período noturno para o Experimento 1 e 25,20°C durante o dia e 19,82 °C à noite, para o Experimento 2.

Avaliações de diâmetro de roseta (DIR), estatura de planta (EST), índice de clorofila (IC), número de folhas (NF), área foliar (AF), massa seca de parte aérea (MSPA), radicular (MSR) e total (MST), foram realizadas semanalmente, a partir da segunda semana após o transplante (SAT). O diâmetro de roseta (cm) foi determinado até as plantas apresentarem desenvolvimento em estatura, a partir desse estágio se determinou estatura de planta (cm), sendo considerada a haste principal, da base até o último nó perceptível, com base em metodologia proposta por Shrestha et al. (2010).

A determinação do IC foi realizada com o clorofilômetro digital ClorofiLOG1300 (FALKER, 2013), sendo aferidas cinco folhas do terço médio de cada planta, totalizando 20 repetições por biótipo, em cada semana de avaliação. O NF foi aferido manualmente, considerando-se folhas com desenvolvimento superior a 2 cm, e o valor expresso em folhas planta⁻¹.

A quantificação da AF foi realizada com auxílio do determinador (Licor-3000C Portable Area Meter), sendo os resultados apresentados em cm² planta⁻¹. O material amostrado foi seco em estufa de circulação de ar forçado, com temperatura de 60 °C até peso constante. Após secagem, foram determinados em g planta⁻¹, a MSPA, MSR e MST.

Quatro plantas de cada biótipo foram conduzidas até a fase reprodutiva, sendo determinado o período, em dias após a semeadura, necessários para a emissão dos botões florais (DB), floração (DF) e produção de sementes (DS), além das avaliações realizadas nas demais épocas. As plantas foram consideradas na fase de emissão de botões quando apresentavam no mínimo 15 botões florais (capítulos) com diâmetro superior a 3 mm, assim como o período de floração foi considerado quando pelo menos 15 capítulos tinham as flores expostas, conforme metodologia adaptada de Shrestha et al. (2010). Por fim, a produção de sementes foi estimada quando cada planta, de forma individual, apresentava 15 capítulos com sementes visivelmente maduras. Nesse momento, também foi quantificado o número de botões florais por planta (BP), número de flores por botão floral (FB), sementes por botão (SB), e estimado o número de flores por planta (FP) e sementes por planta (SP). O BP foi determinado através da contagem manual, sendo considerados botões florais com diâmetro maior a 3 mm. Já o FP foi aferido pela contagem de flores de 15 botões florais (FB) e o valor multiplicado pelo BP, assim como o SP foi estimado pela multiplicação da média do número de sementes de 15 botões florais (SB) pelo BP, adaptado de Shrestha et al. (2010).

Separadamente para cada experimento, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F, adotando-se como limites de aceitação de significância o nível de 5% de probabilidade, tanto para efeitos individuais de fatores como para efeitos de interação.

As médias dos tratamentos foram comparadas aplicando-se o teste da Diferença Mínima Significativa (DMS), a 5% de probabilidade do erro experimental, quando necessário.

Os dados referentes a diâmetro de roseta, estatura, índice de clorofila, número de folhas, área foliar, massa seca da parte aérea, massa seca radicular, massa seca total foram ajustados ao modelo sigmoidal de três parâmetros:

$$Y = a / (1 + \exp(-(x - x_0)/b)) \quad \text{Equação 1}$$

onde Y = variável dependente (DIR; EST; IC; NF; AF; MSPA; MSR; MST); x = variável independente (SAT); a = diferença entre a assíntota máxima e mínima; b = declive da curva, x₀ = semanas após o transplante correspondente a 50% do rendimento da variável dependente para o valor da assíntota máxima (a).

3.2.2 Germinação e Qualidade Fisiológica de Sementes

As sementes dos biótipos de *Conyza bonariensis*, obtidas nos dois estudos de crescimento relativo, foram armazenadas por um período de um mês em geladeira (7 °C) e, posteriormente, foram submetidas aos testes de germinação e qualidade fisiológica. O estudo consistiu da comparação de desempenho dos dois biótipos S e R no Laboratório de Análise de Sementes do DCAA da UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen – RS, no período de janeiro à fevereiro de 2013.

As sementes foram avaliadas quanto a sua massa pelo teste de peso de mil sementes, que foi determinado por meio da contagem de 8 repetições de 100 sementes, pesadas em balança analítica de precisão e os resultados foram expressos em gramas, de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009). Também, foi conduzido o teste de germinação, utilizando-se como substrato o papel de germinação (“germitest”), previamente umedecido com água destilada, utilizando-se 2,5 vezes a massa do papel seco, e mantido à temperatura de 20 °C. Os rolos do papel com as amostras de 100 sementes foram acondicionadas em câmara de crescimento do tipo BOD, com fotoperíodo de 12/12 h (luz/escuro). Realizaram-se contagens diárias até os 14 dias, sendo consideradas germinadas somente as sementes com protrusão da raiz primária superiores a 2 mm. Aos sete e 14 dias

foram contabilizadas as plântulas normais, sendo primeira contagem da germinação (PCG) e germinação (G), respectivamente. Após, calculou-se o índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962).

Na determinação do índice de velocidade de emergência (IVE), foram utilizadas 100 sementes para cada tratamento em quatro sub-amostras de 25 sementes. A semeadura foi realizada manualmente em bandejas (20x10x7cm) contendo substrato agrícola (TecnoMax®), em casa de vegetação. Aos 28 dias após a instalação do experimento, retiraram-se as plântulas normais medindo-se comprimento da parte aérea (CPA), de raiz (CR) e total (CT), em 10 plântulas e os resultados foram expressos em cm plântula⁻¹. Logo após, realizou-se a determinação da matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e matéria seca total (MST), sendo utilizadas 10 plântulas de cada repetição, acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa, com circulação de ar forçada, à temperatura de 70°C, por 48 horas. Posteriormente, cada repetição foi pesada em balança analítica (g plântula⁻¹).

O teste de frio foi conduzido distribuindo-se quatro sub-amostras de 50 sementes por biótipo sobre papel dentro de caixas gerbox, sendo que a quantidade de água correspondeu a 2,5 vezes a massa do papel (“germitest”). Os gerbox foram mantidos em câmara de germinação do tipo B.O.D. a 10°C, por 7 dias. Após esse período de resfriamento, foi conduzido o teste de germinação da mesma forma relatada anteriormente, à temperatura constante de 20°C, durante 14 dias.

Os dados percentuais e os índices obtidos foram submetidos à análise de variância, e constatado diferença significativa ($p \leq 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste *t* ($p \leq 0,05$). Ainda, ao final de cada época de avaliação, foi elaborada uma matriz de correlação de Pearson entre as variáveis estudadas nos experimentos de crescimento relativo.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Crescimento Relativo e Produção de Sementes

Os resultados obtidos demonstraram interação significativa ($p \leq 0,05$) para os fatores biótipos e semanas de avaliação. Os dados de DR, EST, NF, AF, IC, MSPA, MSR e MST para

as duas épocas (Experimentos 1 e 2), foram ajustados a curvas sigmoidais de três parâmetros ($p \leq 0,05$).

3.3.1.1 Primeira Época - Outono/Inverno (Experimento 1)

O biótipo de buva resistente ao *glyphosate* apresentou no outono-inverno para todas as variáveis analisadas, desenvolvimento superior e um ciclo de desenvolvimento mais rápido quando comparado ao biótipo S (Figuras 1 e 2; Tabela 1). Para a variável diâmetro de roseta (Figura 1A), o biótipo suscetível demonstrou desenvolvimento mais lento, inferindo em uma possível maior capacidade competitiva inicial para o biótipo resistente. A ocupação do espaço circundante mais rapidamente aliada a um rápido crescimento, são fatores determinantes no estabelecimento das relações de competitividade entre plantas (BALBINOT Jr. et al., 2003).

Após a fase de roseta, a partir da sexta semana para o biótipo R e sétima semana para S, passou a ser avaliada a estatura de planta. Novamente, R obteve desenvolvimento superior já na sétima semana, e o crescimento diferencial ficou mais pronunciado à medida que o ciclo da planta avançava (Figura 1B). Na 16ª semana após o transplante, o biótipo R apresentou cerca de 70 cm de estatura, enquanto o biótipo S se aproximava apenas dos 40 cm. Os resultados corroboram com o observado por Shrestha et al. (2010), que ao trabalharem com biótipos de *Conyza canadensis* nos EUA, mensuraram para o ano de 2006 estatura próxima a 2,0 m para o biótipo R, enquanto que para S a estatura observada foi cerca de 60 cm inferior, atingindo aproximadamente 1,40 m. O crescimento em estatura é uma característica ligada à capacidade competitiva, onde plantas com rápido e superior desenvolvimento em estatura tenderão a sombrear o ambiente, reduzindo a disponibilidade de luz e suprimindo as plantas menores (GARRITY et al., 1992). Deste modo, mesmo na ausência da aplicação do herbicida, o biótipo R continuaria a ter vantagens de estabelecimento e desenvolvimento frente ao S.

O número de folhas e a área foliar dos biótipos apresentaram comportamento com a mesma tendência observada para as variáveis anteriores, porém com magnitudes diferentes (Figuras 1C e 1D). O número de folhas para o biótipo S a partir da 8ª semana de avaliação, foi significativamente inferior ao biótipo R, estando em concordância com a maior estatura apresentada por esse biótipo. Os resultados concordam com o observado por Alcorta et al. (2011) em *C. canadensis*, onde foi obtido número superior de folhas para biótipo R em comparação ao S, sendo 1217 e 778 folhas, respectivamente. Número de folhas planta⁻¹

superior e maior área foliar planta⁻¹ possibilitam para o biótipo R, maior capacidade de interceptação de luz, refletindo em maior acúmulo geral de fotoassimilados e massa seca (SILVA et al., 2009).

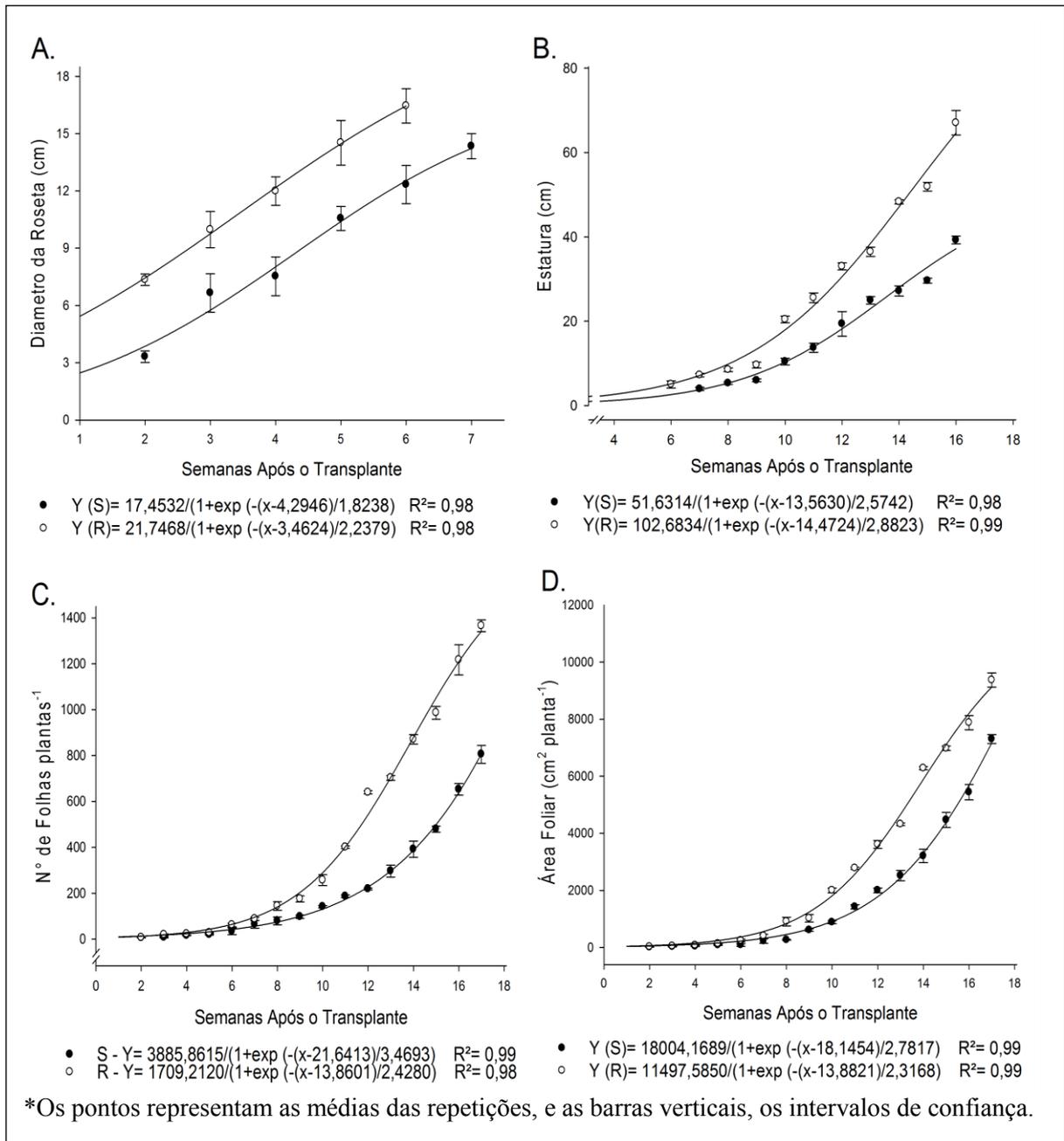


Figura 1 - Desenvolvimento de plantas dos biótipos de *Conyza bonariensis*, suscetível (●) e resistente (○) ao herbicida *glyphosate*, semanas após o transplante: A - diâmetro da roseta; B - estatura de planta; C - número de folhas; e D - área foliar. UFSM, Campus de Frederico Westphalen – RS, 2012.

Para a variável índice de clorofila (IC), na comparação entre biótipos, constatou-se maior índice relativo pelo resistente em todos os estádios de avaliação (Figura 2A). O biótipo resistente apresentou um incremento no teor de clorofila do estabelecimento até a 16ª semana de avaliação, enquanto que o suscetível teve teores de clorofila relativamente estáveis a partir da 7ª semana. Sendo assim, R apresenta uma crescente e superior capacidade de aproveitamento da luminosidade quando comparado ao S, possibilitando maior produção de fotoassimilados e incremento de tecidos pelas plantas. Resultados similares foram obtidos em estudos prévios em fase de publicação (Kaspary et al., *no prelo*), onde foi observado maior IC pelo biótipo R de *C. bonariensis* em todos os estádios de avaliação: fase de roseta, estádios vegetativo e reprodutivo, inferindo sobre superior capacidade competitiva de R.

A competitividade está relacionada à utilização eficiente dos recursos do meio no qual a planta se encontra, sendo a radiação solar (luz) um importante componente no estabelecimento desta relação (RIZZARDI et al., 2001). Clorofilas e os carotenóides são os principais pigmentos ligados à eficiência fotossintética e, com o estabelecimento das relações de competitividade que a espécie manifesta no crescimento e adaptação aos diversos ambientes (FORCE et al., 2003). Para Fleck et al. (2003), maiores teores de pigmentos fotossintéticos podem proporcionar ao biótipo detentor desta característica, um melhor aproveitamento da luminosidade do meio e maior taxa de acúmulo líquida de fotoassimilados, além de uma elevada velocidade de crescimento. Neste contexto, o biótipo R ao possuir elevados teores de clorofila, apresenta uma importante e vantajosa característica de competitividade frente ao biótipo S.

O acúmulo de massa seca da parte aérea, radicular e total mantiveram a tendência das demais variáveis, onde as plantas suscetíveis demonstraram desempenho inferior (Figuras 2B; 2C e 2D). No entanto, só são observadas diferenças significativas à partir da 10ª semana de avaliação para as três variáveis, inferindo na proporcional capacidade de acúmulo de massa até esse período. Já a partir da 10ª semana, o biótipo resistente demonstrou elevada capacidade em acúmulo de massa, em especial para MSR onde as diferenças frente ao suscetível foram maiores, determinando para esse biótipo maior capacidade de exploração de recursos do solo. Silva et al. (2007) ressaltam que plantas com sistema de raízes mais desenvolvidas tendem a explorar maior volume de solo e apresentar melhor desempenho em caso de escassez de recursos. Ainda neste contexto, o maior acúmulo total de massa seca indica maior potencial competitivo de plantas R para as mesmas condições de desenvolvimento, podendo resultar quando da ausência da aplicação do *glyphosate* em predominância desse biótipo em uma comunidade de plantas dessa espécie daninha.

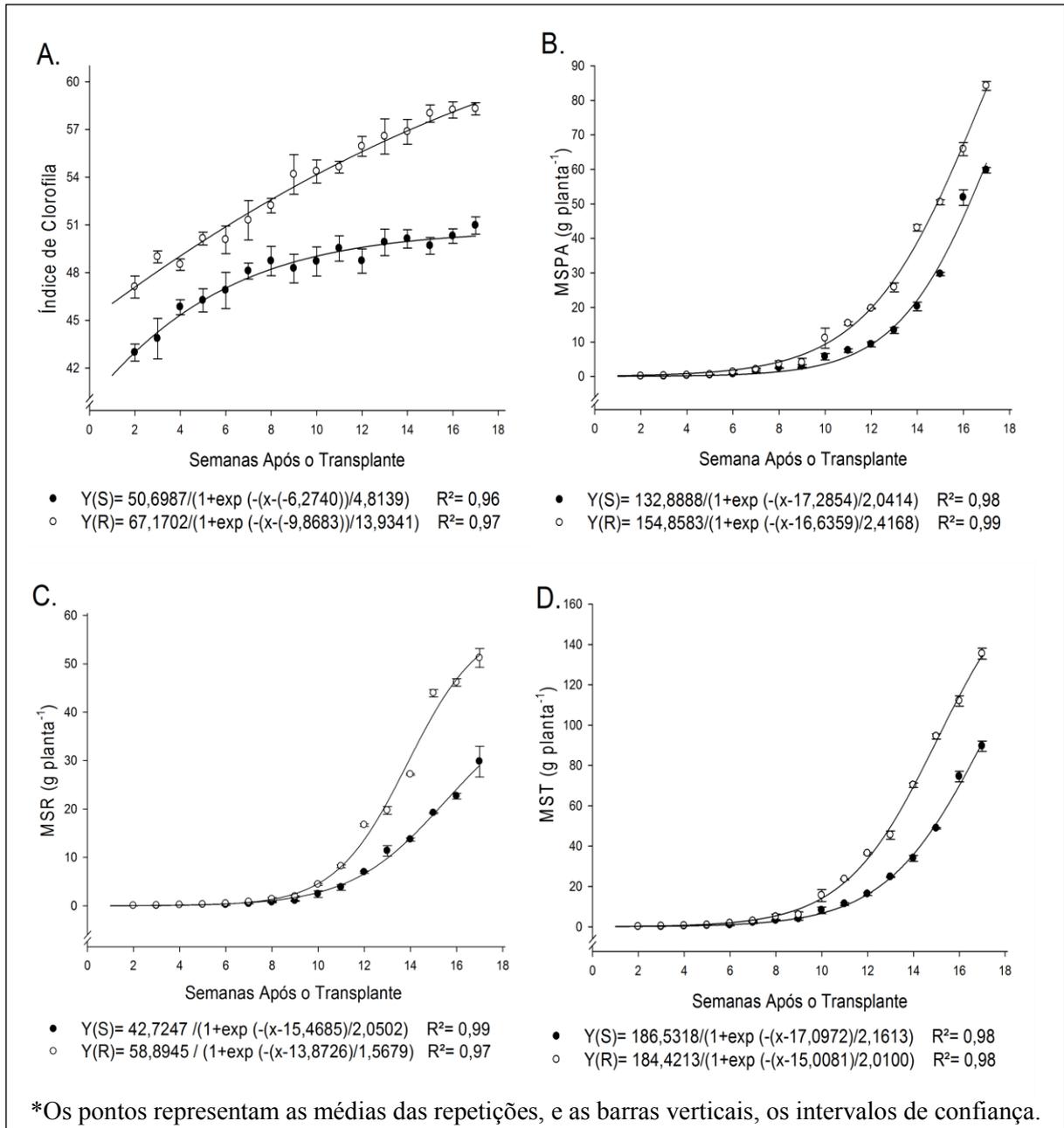


Figura 2 - Desenvolvimento de plantas dos biótipos de *Conyza bonariensis*, suscetível (●) e resistente (○) ao herbicida *glyphosate*, semanas após o transplante: A - Índice de clorofila; B - Massa Seca da Parte Aérea (MSPA); C - Massa Seca Radicular (MSR); e D - Massa Seca Total (MST). UFSM, Campus de Frederico Westphalen - RS, 2012.

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com observado por Shrestha et al. (2010), que ao trabalharem com biótipos de *C. canadensis* R e S ao *glyphosate* observaram ganho de massa inferior para o S. Os mesmos autores relatam ainda, a maior capacidade de plantas R em acumular matéria seca mesmo em condições de déficit hídrico. Plantas de *C. canadensis* resistentes ao *glyphosate* submetidas a condições de estresse por

ozônio produziram cerca de 40% mais biomassa em relação ao biótipo suscetível (GRANTZ, et al., 2008). Contudo, estudos desenvolvidos por Moreira et al. (2010) com biótipo R e S de duas espécies de buva, *C. canadensis* e *C. bonariensis*, demonstraram menor quantidade de matéria seca para os biótipos resistentes, apontando para um efeito negativo da resistência sobre a habilidade de desenvolvimento de plantas resistentes. No entanto, no presente trabalho, como no descrito por Shrestha et al. (2010), não foi observada redução no valor adaptativo para o biótipo resistente quando em crescimento na condição outono-inverno, mas constatou-se uma maior capacidade de desenvolvimento nesse biótipo quando comparado ao suscetível.

O período necessário em dias para as plantas iniciarem a emissão de botões florais (DB), flores (DF) e a produção de sementes (DS), foi superior para o biótipo S quando comparado ao R (Tabela 1). Para DB, a diferença em dias entre S e R, chegou próximo a 28 dias; para DF, a diferença foi de 26 dias e, para DS 21 dias, sendo que sempre o biótipo suscetível precisou de um maior período para completar as etapas de desenvolvimento. Resultados semelhantes foram obtidos por Shrestha et al. (2010), os quais relatam uma necessidade de cerca de 3-4 semanas superior para o biótipo suscetível de *C. canadensis* emitir flores e iniciar a maturação de sementes. Comportamento semelhante também foi observado para plantas de *Chenopodium album* L. tolerantes ao *glyphosate*, que apresentaram antecipação em 4 a 6 semanas na emissão de estruturas florais, na comparação com plantas suscetíveis (WESTHOVEN et al., 2008). A capacidade do biótipo R de produzir sementes em período de tempo reduzido, proporciona a ocorrência de maior número de ciclos por ano, elevando ainda mais a produção de sementes.

As demais variáveis avaliadas no período de produção de sementes confirmam a tendência que se observou durante o restante do ciclo da *C. bonariensis*, onde o biótipo suscetível foi sempre inferior ao resistente em NF, AF, IC, EST, MSA, MSR E MST (Tabela 1). Destaca-se nessa avaliação a grande diferença de estatura apresentada pela buva, que chegou a mais de 40 cm, sendo 181,1 e 221,9 cm para S e R, respectivamente. Deste modo, plantas resistentes tornam-se ainda mais competitivas e prejudiciais às culturas, exigindo maior rigor em seu manejo. Esses resultados divergem dos apresentados por Travlos & Chachalis (2013), que não observaram diferenças significativas para variáveis relacionada ao crescimento de plantas de *C. bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate*. No entanto, Alcorta et al. (2011), evidenciou redução significativa do crescimento de videiras quando em competição com o biótipo resistente de *C. canadensis*, enquanto o biótipo suscetível não apresentou interferência significativa sobre a espécie cultivada.

Tabela 1 - Período em dias após a semeadura (DAS) necessário para a emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas (NF), Área Foliar (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura (EST), Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), Massa Seca Radicular (MSR) e Massa Seca Total (MST), determinados ao florescimento de biótipos de *Conyza bonariensis*, resistente e suscetível ao herbicida *glyphosate*. UFSM, Campus de Frederico Westphalen-RS, 2012.

Biótipo	DB	DF	DS	Nº F planta ⁻¹	AF(cm ² planta ⁻¹)
S	199,2*	216,5*	221,8*	1.755,7*	8.426,2*
R	171,0	190,5	201,8	3.132,0	13.646,8
Média	185,1	203,5	211,7	2.443,9	11.036,5
C.V. (%) ¹	4,9	5,3	5,9	5,6	6,2
Biótipo	IC	EST (cm)	MSPA (g planta ⁻¹)	MSR (g planta ⁻¹)	MST (g planta ⁻¹)
S	49,4*	181,1*	340,0*	99,0 ^{ns}	439,1*
R	60,6	221,9	437,0	111,5	549,1
Média	54,9	201,5	388,5	105,3	494,1
C.V. (%)	5,7	6,8	6,5	10,9	6,5

¹ Coeficiente de variação. * Médias de biótipos (susceptível (S) e resistente (R)) diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$). ^{ns} Não significativo ($p \geq 0,05$).

Na Tabela 2 são apresentados os valores dos componentes de produtividade para os biótipos de *Conyza bonariensis*. Para todas as variáveis, BP, FB, FP, SB e SP, o biótipo resistente apresentou desempenho superior ao suscetível, podendo afirmar que o biótipo R, tem maior potencial de propagação de sementes frente ao S. É importante ressaltar, ainda, a elevada produção de botões florais por ambos os biótipos, que deram origem a uma maior quantidade de flores e por consequência, elevadas quantidades de sementes, sendo na média, equivalente a 366.425,0 e 878.086,0 sementes planta⁻¹ para S e R, respectivamente.

Os valores obtidos para produção de sementes superam em muito o observado por Kissmann & Groth (1999), que relatam produção em torno de 110.000 sementes planta⁻¹. Além do mais, para esses autores, a alta produção de sementes é um dos principais fatores que caracterizam a buva como uma espécie “agressiva” presente nas áreas de cultivo. Em um estudo desenvolvido no ano de 2006 por Shresta (2010), o biótipo de *C. canadensis* resistente produziu maior quantidade de sementes que o biótipo suscetível ao *glyphosate*, 792.799 e 400.771 aquênios, respectivamente. Resultado que está de acordo com o observado no presente estudo. Entretanto, Davis et al. (2009) e Travlos & Chachalis (2013), não observaram diferenças significativas quanto à produção de sementes entre biótipos de buva resistentes e

suscetíveis ao *glyphosate*. Deste modo, ressalta-se a importância de conhecer o comportamento dos biótipos resistentes, para se traçar a melhor estratégia de manejo.

Tabela 2 - Número de Botões Florais por Planta (BP), Flores por Botão Floral (FB), Flores por Planta (FP), Sementes por Botão Floral (SB) e Sementes por Planta (SP), determinados ao final do ciclo dos biótipos de *Conyza bonariensis*, resistente e suscetível ao herbicida *glyphosate*. UFSM, Campus de Frederico Westphalen - RS, 2012.

Biótipo	BP	FB	FP	SB	SP
S	2.742,8*	170,7*	467.717,0*	133,2*	366.425,0*
R	4.392,0	214,0	938.204,0	200,3	878.086,0
Média	3.567,4	192,4	702.960,2	166,7	622.255,5
C.V. (%) ¹	11,5	4,4	10,4	8,4	13,4

¹ Coeficiente de variação. * Médias de biótipos (susceptível (S) e resistente (R)) diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$). ^{ns} Não significativo ($p \geq 0,05$).

Na correlação entre as variáveis, é possível observar que nem todos os parâmetros avaliados atuam em conjunto e influenciam do mesmo modo um ao outro, uma vez que não foi observada correlação significativa entre todas as variáveis analisadas para o biótipo suscetível (Tabela 3). Ainda, na correlação das variáveis do biótipo S é importante ressaltar a dependência do aproveitamento fotossintético da planta no acúmulo de tecidos e na capacidade reprodutiva desta, como pode ser observado na correlação positiva do índice de clorofila e o acúmulo total de matéria seca, além de variáveis reprodutivas como Flores Botão⁻¹, Sementes Botão⁻¹, Flores Planta⁻¹, Sementes Planta⁻¹ (Tabela 3). Sendo assim, perdas em área foliar acarretarão em perdas na capacidade de produção de propágulos, bem como a competição por espaço e luz com biótipos mais competitivos, como é o caso do biótipo R, resultando em menor capacidade reprodutiva das plantas S. Nesse cenário, o biótipo S poderá ser progressivamente suprimido, até desaparecer da área.

Para a correlação entre as variáveis do biótipo R, observa-se maior interdependência das variáveis, ou seja, maior número de variáveis correlacionadas (Tabela 4). Destaca-se a correlação significativa entre a MSA, MSR e MST com o NF, AF e IC, podendo-se inferir em um ganho geral de fotoassimilados pela planta, em razão da maior capacidade de interceptação e aproveitamento da luz proporcionado pelo NF, AF e IC.

Tabela 3 - Correlação linear entre as variáveis analisadas durante o desenvolvimento do biótipo suscetível de *Conyza bonariensis*: dias decorridos para emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas planta⁻¹(NF), Área Foliar planta⁻¹ (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura planta⁻¹ (EST), Massa Seca da Parte Aérea planta⁻¹ (MSPA), Massa Seca Radicular planta⁻¹ (MSR) e Massa Seca Total planta⁻¹ (MST), determinadas ao florescimento do biótipo. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen - RS, 2012.

	DB	DF	DS	EST	AF	NF	MSA	MSR	MST	IC	BP	FB	SB	FP
DF	0,97*													
DS	0,54 ^{ns}	0,71 ^{ns}												
EST	0,04 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,29 ^{ns}											
AF	0,39 ^{ns}	0,52 ^{ns}	0,89*	0,11 ^{ns}										
NF	0,95*	0,98*	0,76 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,63 ^{ns}									
MSA	0,96*	0,98*	0,74 ^{ns}	0,33 ^{ns}	0,62 ^{ns}	0,99*								
MSR	0,91*	0,92*	0,73 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,97*	0,97*							
MST	0,91*	0,87*	0,96*	0,29 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,92*	0,92*	0,94*						
IC	0,92*	0,91*	0,93*	0,42 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,96*	0,95*	0,96*	0,96*					
BP	0,67 ^{ns}	0,89*	0,91*	0,55 ^{ns}	0,62 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,96*	0,84 ^{ns}				
FB	0,84 ^{ns}	0,95*	0,87*	0,35 ^{ns}	0,63	0,94*	0,94*	0,85	0,97*	0,94*	0,96*			
SB	0,69 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,80 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,92*	0,84 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,92*	0,83 ^{ns}	0,94*	0,64 ^{ns}	0,74 ^{ns}		
FP	0,85 ^{ns}	0,94*	0,91*	0,12 ^{ns}	0,77 ^{ns}	0,97*	0,96*	0,95*	0,97*	0,99*	0,92*	0,96*	0,92*	
SP	0,73 ^{ns}	0,72 ^{ns}	0,92*	0,03 ^{ns}	0,91*	0,93*	0,90*	0,93*	0,94*	0,98*	0,81 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,97*	0,96*

* interação significativa a 5% de probabilidade pela matriz de Pearson.

O número de folhas, do biótipo R também se correlacionou diretamente com a área foliar, podendo a maior área ser atribuída ao maior número de folhas, o que não ocorreu para o biótipo suscetível. Destaca-se também para o biótipo R, a correlação significativa entre estatura de planta (EST) e produção de sementes (SP), assim como essa última se apresentou fortemente relacionada a matéria seca total (MST) e índice de clorofila (IC), apresentando índice de correlação superior a 90% (Tabela 4). O teor de clorofila também demonstrou alta correlação com o acúmulo de massa seca total, estatura e a quantidade de sementes produzidas, ressaltado o efeito positivo do melhor aproveitamento da radiação solar sobre o número de aquênios obtidos pelo biótipo R. Corroborando com o relatado por Souza et al. (2010), onde a eficiência fotossintética e o acúmulo de fotoassimilados assim como o crescimento observados estão associados diretamente, entre outros fatores, aos teores de clorofila foliar. Desta forma, destaca-se a importância do IC na capacidade adaptativa do biótipo resistente de *Conyza bonariensis*.

Tabela 4 - Correlação linear entre as variáveis analisadas durante o desenvolvimento do biótipo resistente de *Conyza bonariensis*: dias decorridos para emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas planta⁻¹ (NF), Área Foliar planta⁻¹ (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura planta⁻¹ (EST), Massa Seca da Parte Aérea planta⁻¹ (MSPA), Massa Seca Radicular planta⁻¹ (MSR) e Massa Seca Total planta⁻¹ (MST), determinadas ao florescimento do biótipo.UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen - RS, 2012.

	DB	DF	DS	EST	AF	NF	MSA	MSR	MST	IC	BP	FB	SB	FP
DF	0,99*													
DS	0,98*	0,99*												
EST	0,71 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,80 ^{ns}											
AF	0,99*	0,99*	0,99*	0,74 ^{ns}										
NF	0,76 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,95*	0,93*									
MSA	0,73 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,95*	0,95*	0,99*								
MSR	0,93*	0,94*	0,95*	0,92*	0,94*	0,94*	0,92*							
MST	0,61 ^{ns}	0,65 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,98*	0,92*	0,95*	0,96*	0,84 ^{ns}						
IC	0,91*	0,94*	0,92*	0,97*	0,64 ^{ns}	0,95*	0,94*	0,97*	0,93*					
BP	0,60 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,72 ^{ns}	0,98*	0,93*	0,92*	0,92*	0,81 ^{ns}	0,98*	0,92*				
FB	0,86 ^{ns}	0,93*	0,93*	0,96*	0,64 ^{ns}	0,94*	0,92*	0,95*	0,93*	0,99*	0,93*			
SB	0,77 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,99*	0,81 ^{ns}	0,95*	0,95*	0,93*	0,97*	0,98*	0,97*	0,98*		
FP	0,59 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,99*	0,64 ^{ns}	0,93*	0,92*	0,81 ^{ns}	0,99*	0,92*	0,99*	0,93*	0,96*	
SP	0,49 ^{ns}	0,53 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,94*	0,54 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,69 ^{ns}	0,93*	0,94*	0,98*	0,92*	0,93*	0,97*

* interação significativa a 5% de probabilidade pela matriz de Pearson.

3.3.1.2 Segunda Época - Primavera/Verão (Experimento 2)

Na segunda época de avaliação do crescimento relativo dos biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate*, foi observada uma redução de ciclo para ambos os biótipos, quando em comparação com a primeira época. Isso decorreu possivelmente pelo maior número de horas/luz e temperaturas mais elevadas, características comuns para o período de realização do experimento (outubro à janeiro). No entanto, o biótipo R, completou o ciclo com produção de sementes já na 12^a semana de avaliação, tendo, dessa forma, um ciclo menor que o biótipo S, que completou na 13^a semana. Deste modo, as avaliações de crescimento relativo foram encerradas na 12^a semana para R e na 13^a semana para S, inferiores aquelas do Experimento 1 em que o R precisou de 22 semanas para florescer enquanto que o S precisou de 29 semanas. Da mesma forma que para a primeira época, o biótipo de buva R apresentou nas condições de primavera-verão para todas as variáveis

analisadas, desenvolvimento superior e em menor período quando comparado ao biótipo suscetível (S) (Figuras 3 e 4; Tabela 5).

Para a variável diâmetro de roseta, ambos os biótipos passaram por esse estágio de forma muito rápida, e os dados obtidos não se ajustaram ao modelo utilizado, não sendo possível comparar S e R quanto ao diâmetro da roseta (dados não apresentados). Novamente, para a variável estatura de planta (Figura 3A), é observado valor médio superior para a variável no biótipo R em relação ao S. Entretanto, ocorreu diferença significativa entre os biótipos já na 5ª semana de avaliação, enquanto que na primeira época só foi possível observar diferenças significativas a partir da 10ª semana (Figura 1A; 3A). Esse comportamento ressalta a capacidade em aproveitar os recursos do meio pelo biótipo R, implicando em maior agressividade e predominância desse biótipo quando em competição com o biótipo S. A estatura inferior de S, também refletiu em sua menor quantidade de folhas e área foliar (Figura 3B e 3C). Resultados semelhantes foram observados por Westhoven et al. (2008), que em estudo realizado com *Chenopodium album*, verificaram maior estatura, área foliar e massa seca para o biótipo tolerante ao *glyphosate* quando comparado ao biótipo suscetível.

A elevada área foliar juntamente com o maior índice de clorofila proporcionou ao biótipo R, superior capacidade de interceptação e aproveitamento da luz, indicando ganho geral de fotoassimilados pela planta, o que contribuiu para o superior acúmulo de massa seca da parte aérea, radicular e total (Figuras 4B, 4C e 4D, respectivamente). Para Carvalho et al. (2008), um maior desenvolvimento do sistema radicular favorece a absorção de água e nutriente, proporcionando a estas plantas vantagens de estabelecimento e desenvolvimento. A partir do exposto, é possível inferir que pelo seu maior desenvolvimento aéreo e radicular, o biótipo R de *C. bonariensis* apresenta melhores características competitivas frente ao biótipo S, e possivelmente quando em convivência a campo e, na ausência da aplicação do *glyphosate*, o biótipo S será suprimido e ao longo do tempo desaparecerá da área.

freqüência destes na ausência de pressão de seleção ocasionada pelo herbicida (TRAVLOS & CHACHALIS, 2013). Christoffoleti et al. (2002) ressaltam que na ausência de aplicação do herbicida, o maior crescimento de plantas sensível impede que o biótipo R ocupe o nicho ecológico de forma dominante. No entanto, não há penalidade sobre a aptidão ecológica para biótipos R, mas sim, observa-se superioridade em características de crescimento e produção de sementes para este, concordando com o obtido por Shrestha et al (2010). Alcorta et al. (2011) relatam que mesmo em condições de competição com videiras, o

biótipo R de *C. canadensis* acumulou cerca de duas vezes mais matéria seca que o S. Deste modo, há uma tendência de predominância de indivíduos resistentes no nicho ecológico.

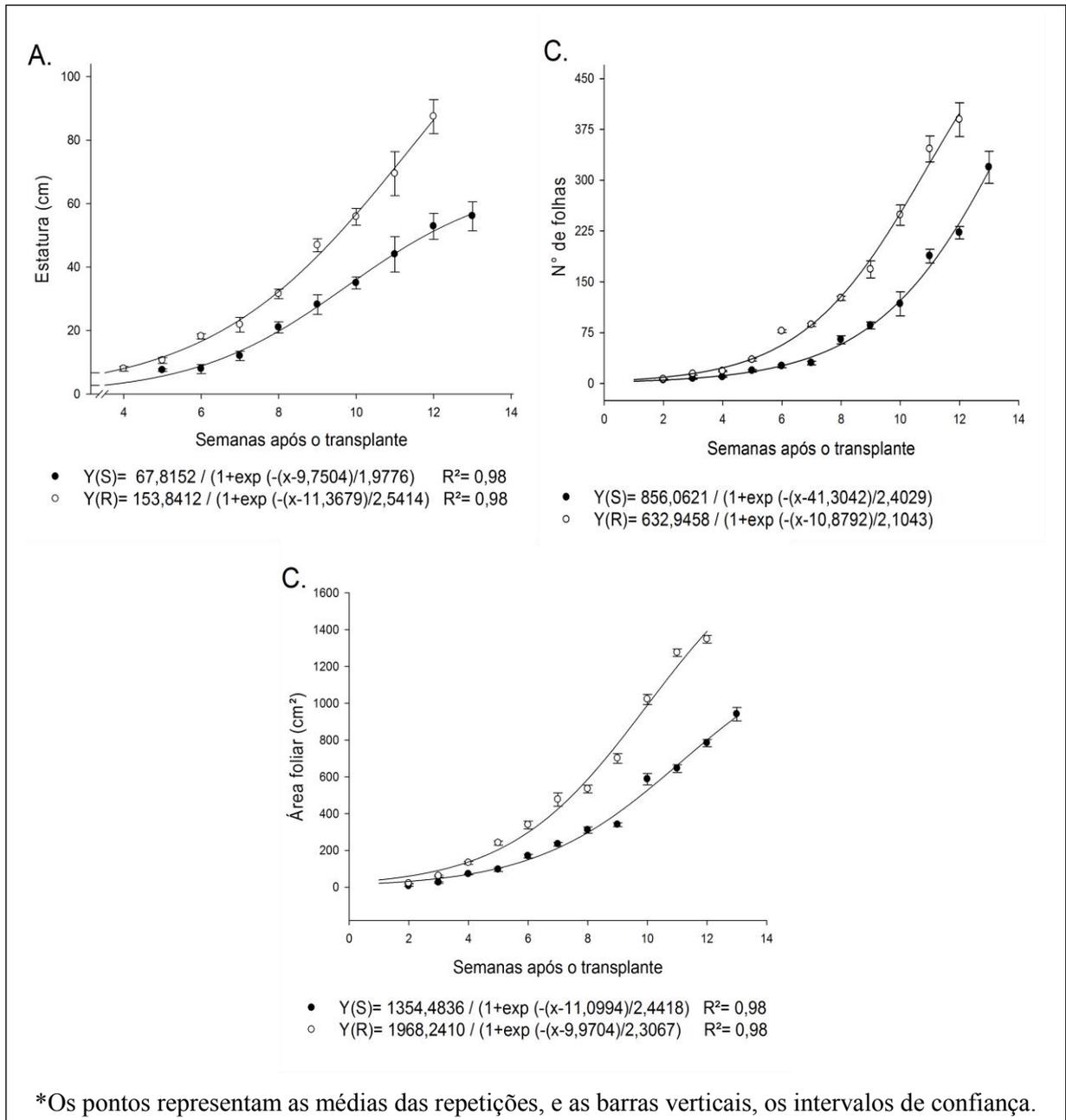


Figura 3 - Desenvolvimento de plantas dos biótipos de *Conyza bonariensis*, suscetível (●) e resistente (○) ao herbicida *glyphosate*, semanas após o transplante: A - estatura de planta; B - número de folhas; e C - área foliar. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen – RS, 2013.

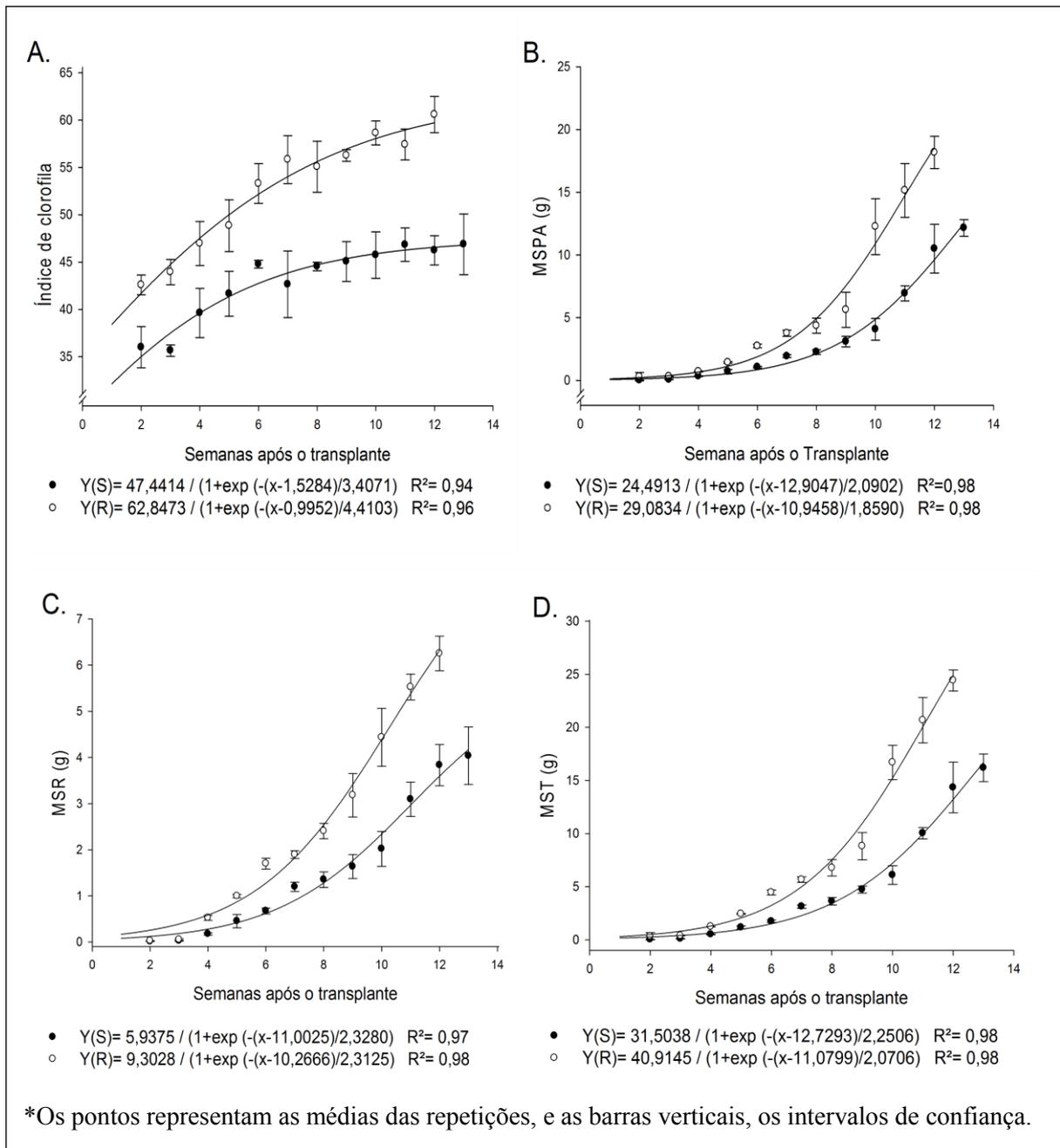


Figura 4 - Desenvolvimento de plantas dos biótipos de *Conyza bonariensis*, suscetível (●) e resistente (○) ao herbicida *glyphosate*, semanas após o transplante: A - Índice de clorofila; B - Massa seca da Parte Aérea (MSPA); C - Massa Seca Radicular (MSR); e D - Massa seca Total (MST). UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen - RS, 2013.

Em geral, as diferenças de crescimento e produção de sementes entre biótipos de plantas daninhas R e S podem afetar a persistência e a frequência de biótipos resistente aos herbicidas, onde a redução da aptidão ecológica e reprodutiva resultaria na redução da frequência destes na ausência de pressão de seleção ocasionada pelo herbicida (TRAVLOS &

CHACHALIS, 2013). Christoffoleti et al. (2002) ressaltam que na ausência de aplicação do herbicida, o maior crescimento de plantas sensível impede que o biótipo R ocupe o nicho ecológico de forma dominante. No entanto, não há penalidade sobre a aptidão ecológica para biótipos R, mas sim, observa-se superioridade em características de crescimento e produção de sementes para este, concordando com o obtido por Shrestha et al (2010). Alcorta et al. (2011) relatam que mesmo em condições de competição com videiras, o biótipo R de *C. canadensis* acumulou cerca de duas vezes mais matéria seca que o S. Deste modo, há uma tendência de predominância de indivíduos resistentes no nicho ecológico.

O biótipo resistente de *C. bonariensis*, necessitou em média apenas 92,3 dias para chegar ao período reprodutivo, com o surgimento dos botões florais e 114,8 dias para completar o ciclo e produzir sementes (Tabela 5). Já o biótipo suscetível necessitou de um período significativamente maior para completar essas fases, 105,5 e 121,0 dias, para chegar ao período reprodutivo e produzir sementes, respectivamente.

Tabela 5 - Período em dias após a semeadura (DAS) necessário para a emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas (NF), Área Foliar (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura (EST), Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), Massa Seca Radicular (MSR) e Massa Seca Total (MST), determinados ao florescimento de biótipos de *Conyza bonariensis*, resistente e suscetível ao herbicida *glyphosate*. UFSM, Campus de Frederico Westphalen - RS, 2013.

Biótipo	DB	DF	DS	Nº F planta ⁻¹	AF(cm ² planta ⁻¹)
S	105,5*	113,8*	121,0*	517,25*	886,30*
R	92,3	107,3	114,8	1.025,25	2.286,60
Média	98,9	110,5	117,9	771,25	1.586,45
C.V.(%) ¹	2,25	3,04	2,16	5,98	10,27
Biótipo	IC	EST (cm)	MSR (g planta ⁻¹)	MST (g planta ⁻¹)	MSPA (g planta ⁻¹)
S	41,16*	151,25*	52,64	10,26	62,80
R	58,42	189,25	109,33	19,50	128,83
Média	49,79	170,25	80,98	14,88	95,86
C.V. (%)	4,05	6,94	18,05	16,85	16,38

¹ Coeficiente de variação. * Médias de biótipos (susceptível (S) e resistente (R)) diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste t (p<0,05). ^{ns} Não significativo (p≥0,05).

Apesar da maior duração do ciclo, o biótipo S apresentou inferior desempenho para todas as variáveis da avaliação final, destacando-se menor número de folhas, área foliar, estatura e acúmulo de matéria seca (Tabela 5). Comportamento similar foi evidenciado por Westhoven et al. (2008) para o biótipo suscetível de *Chenopodium album*, que demonstrou menor estatura e apresentou a floração e produção de sementes cerca de 4 a 6 semanas após o biótipo resistente. Menor necessidade do acúmulo de graus dias para o biótipo resistente de *Conyza canadensis* atingir o período de produção de capítulos, floração e produção de sementes foi relatado por Shresta et al. (2010). Sendo assim, o biótipo R pode apresentar maior número de ciclos por ano, elevando a produção de sementes e a dispersão da resistência.

A superior área foliar mensurada na fase reprodutiva da *C. bonariensis*, aliada a um elevado índice de clorofila proporcionam ao biótipo R, alta capacidade fotossintética no período crucial para a produção de sementes em grande quantidade e elevada qualidade fisiológicas. A redução precoce no teor de clorofila é responsável pela senescência prematura das folhas e pela produção de frutos menores em tomateiros (SCHUELTER et al. 2003; MOURA et al., 2004). Neste contexto, o biótipo suscetível ao apresentar desempenho inferior para área foliar e índice de clorofila, não atingiu o período reprodutivo com elevado potencial fotossintético quanto o biótipo R, refletindo em uma menor quantidade de sementes produzidas (Tabela 6).

Tabela 6 - Número de botões florais por planta (BP), flores por botão floral (FB), flores por planta (FP), Sementes por botão floral (SB) e sementes por planta (SP) em *Conyza bonariensis*, UFSM, Campus de Frederico Westphalen – RS, 2013.

Biótipo	BP	FB	FP	SB	SP
Suscetível	1.168,3*	156,6*	182.553,3*	120,9*	140.971,0*
Resistente	3.070,8	210,2	645.494,0	194,9	598.094,2
Média	2.119,6	183,4	4.140,2	157,9	369.532,5
C.V. (%) ¹	7,16	2,74	6,11	4,55	4,91

¹ Coeficiente de variação. * Médias de biótipos (suscetível (S) e resistente (R)) diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$). ^{ns} Não significativo ($p \geq 0,05$).

Para as variáveis relacionadas à produção de sementes, o biótipo R apresentou resultados muito superiores aos observados para o S (Tabela 6). Para o número de botões

florais por planta (BP), S apresentou 1.168,3 botões florais enquanto R, 3.070,8 botões, ou seja, a produção de R foi cerca 2,68 vezes superior a de S (Tabela 6). A quantidade de sementes por botão floral foi 120,9 e 194,9 aquênios para S e R, respectivamente. Neste contexto, Wu et al. (2007), destacam que a quantidade de sementes em *C. bonariensis* pode chegar a mais de 400 por capítulo.

A maior diferença entre biótipos foi encontrada para a produção de sementes por planta, onde o R teve produção 4,24 vezes superior a S, com 598.094,2 e 140.971,0 sementes produzidas, respectivamente; resultados esses superiores aos observados por Wu et al. (2007) que obtiveram 119.100 sementes planta⁻¹. Desta forma, é ressaltada a alta capacidade de propagação do biótipo resistente, tornando a resistência predominante na área e dificultando o seu manejo. Moreira et al. (2007) ressaltam que a habilidade de autopolinização e a produção de grande número de sementes facilmente disseminadas são fatores que podem contribuir para a sobrevivência, o estabelecimento e a manutenção de densas infestações dos biótipos resistentes de buva, elevando ainda mais a presença de biótipos resistentes em áreas com cultivos comerciais.

Em estudo conduzido com *Lolium rigidum*, plantas do biótipo resistente ao *glyphosate* produziram menor quantidade de sementes em relação ao biótipo suscetível (PEDERSEN et al., 2007). A redução observada no número de descendentes, pode explicar a drástica diminuição na frequência fenotípica resistência de 45% a 11% após 3 anos da ausência de seleção com *glyphosate* (PRESTON & WAKELIN, 2008). Contudo, a partir da elevada quantidade de sementes produzidas pelo biótipo R no presente trabalho, pode-se inferir que a frequência de *C. bonariensis* tende a aumentar para um determinado nicho ecológico onde estas estejam em convívio com plantas suscetíveis ao *glyphosate*.

A matriz de correlação do biótipo S de *C. bonariensis* relata novamente a influência do número de folha e área foliar sobre as demais variáveis, e mesmo em um ciclo relativamente curto quando comparado ao estudo da primeira época (Experimento 1), ocorre uma dependência significativa da produção de sementes para a EST, NF, IC e MST, e dependência direta do BP, FB e SB, com índice de correlação de 0,99, 0,95 e 0,99, respectivamente (Tabela 7).

A correlação positiva entre área foliar e sementes por planta para o biótipo S, ressalta a necessidade de elevada quantidade de área fotossintética para a produção de sementes. Deste modo, por não apresentar área foliar tão elevada quanto o biótipo resistente, S foi incapaz de produzir elevada quantidade de sementes. Ainda é possível destacar que o menor teor de clorofila apresentado pelo biótipo S, aliado ao número de folhas e área foliar reduzido, foram

responsáveis pelo menor acúmulo de matéria seca total do biótipo suscetível, uma vez que essas variáveis apresentaram correlação significativas entre si (Tabela 7). Por fim, o menor valor adaptativo apresentado por S é resultado da menor expressão de várias características com impacto sobre a capacidade competitiva e da correlação destas.

Tabela 7 - Correlação linear entre as variáveis analisadas durante o desenvolvimento do biótipo suscetível de *Conyza bonariensis*: dias decorridos para emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas planta⁻¹ (NF), Área Foliar planta⁻¹ (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura planta⁻¹ (EST), Massa Seca da Parte Aérea planta⁻¹ (MSPA), Massa Seca Radicular planta⁻¹ (MSR) e Massa Seca Total planta⁻¹ (MST), determinadas ao florescimento do biótipo. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen - RS, 2013.

	DB	DF	DS	EST	AF	NF	MSA	MSR	MST	IC	BP	FB	SB	FP
DF	0,83 ^{ns}													
DS	0,82 ^{ns}	0,99*												
EST	0,94*	0,75 ^{ns}	0,75 ^{ns}											
AF	0,97*	0,86 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,82 ^{ns}										
NF	0,97 ^{ns}	0,95*	0,94*	0,92*	0,97*									
MSA	0,41 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,63 ^{ns}								
MSR	0,80 ^{ns}	0,99*	0,99*	0,71 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,93*	0,86 ^{ns}							
MST	0,93*	0,98*	0,98*	0,79 ^{ns}	0,94*	0,98*	0,92*	0,97*						
IC	0,79 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,98*	0,78 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,92*	0,93 ^{ns}	0,98*	0,94*					
BP	0,93*	0,73 ^{ns}	0,73 ^{ns}	0,99*	0,98*	0,86 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,77 ^{ns}	0,77 ^{ns}				
FB	0,99*	0,85 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,92*	0,99*	0,97*	0,44 ^{ns}	0,82 ^{ns}	0,93*	0,89 ^{ns}	0,92*			
SB	0,99*	0,88 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,88 ^{ns}	0,93*	0,98*	0,48 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,95*	0,82 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,99*		
FP	0,97*	0,83 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,98*	0,92*	0,95*	0,53 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,92*	0,84 ^{ns}	0,97*	0,96*	0,95*	
SP	0,96*	0,86 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,97*	0,93*	0,96*	0,55 ^{ns}	0,83 ^{ns}	0,93*	0,92*	0,97*	0,99*	0,95*	0,99*

* interação significativa a 5% de probabilidade pela matriz de Pearson.

Para o biótipo R, a matriz de correlação entre as variáveis analisadas, demonstra de forma ainda mais pronunciada o efeito do NF sobre a AF, EST, MSA, MSR e MST (Tabela 8). Não é observada correlação significativa entre o número de dias necessários para a floração e produção de sementes com a quantidade de flores e sementes produzidas, ressaltando que mesmo em um curto período de tempo as plantas resistentes foram capazes de produzir grande quantidade de flores e sementes.

Os valores de acúmulo de massa seca aérea, radicular e total, estiveram altamente correlacionados com as variáveis de produção de órgãos reprodutivos e sementes, onde todos apresentaram coeficiente de correlação iguais ou acima de 94%. Novamente, o teor de

clorofila e área foliar demonstraram alta correlação com o acúmulo de massa seca total, estatura e a quantidade de sementes produzidas, ressaltado o efeito positivo do melhor aproveitamento da radiação solar sobre o número de aquênios obtidos pelo biótipo R. Corroborando com o relatado por Souza et al. (2010), onde a eficiência fotossintética e o acúmulo de fotoassimilados assim como o crescimento observados estão associados diretamente, entre outros fatores, aos teores de clorofila foliar. Sendo assim, é possível afirmar que não ocorreram prejuízos ao desenvolvimento das plantas de *C. bonariensis* resistente ao *glyphosate*, e nem na quantidade de propágulos produzidos por essas plantas, em virtude do rápido ciclo demonstrado nesse estudo.

Tabela 8 - Correlação linear entre as variáveis analisadas durante o desenvolvimento do biótipo resistente de *Conyza bonariensis*: dias decorridos para emissão dos botões florais (DB), Floração (DF) e Produção de Sementes (DS); Número de Folhas planta⁻¹ (NF), Área Foliar planta⁻¹ (AF), Índice de Clorofila (IC), Estatura planta⁻¹ (EST), Massa Seca da Parte Aérea planta⁻¹ (MSPA), Massa Seca Radicular planta⁻¹ (MSR) e Massa Seca Total planta⁻¹ (MST), determinadas ao florescimento do biótipo. UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen – RS, 2013.

	DB	DF	DS	EST	AF	NF	MSA	MSR	MST	IC	BP	FB	SB	FP
DF	0,92*													
DS	0,92*	0,55 ^{ns}												
EST	0,92*	0,99*	0,59 ^{ns}											
AF	0,79 ^{ns}	0,98*	0,48 ^{ns}	0,99*										
NF	0,77 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,96*	0,94*									
MSA	0,70 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,75 ^{ns}	0,94*	0,93*	0,94*								
MSR	0,73 ^{ns}	0,92*	0,55 ^{ns}	0,93*	0,94*	0,93*	0,96*							
MST	0,79 ^{ns}	0,86 ^{ns}	0,68 ^{ns}	0,93*	0,94*	0,93*	0,98*	0,98*						
IC	0,93*	0,95*	0,78 ^{ns}	0,93*	0,93*	0,96*	0,97*	0,95*	0,98*					
BP	0,59 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,89 ^{ns}	0,93*	0,98*	0,83 ^{ns}	0,75 ^{ns}	0,81 ^{ns}	0,93*				
FB	0,76 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,96*	0,94*	0,99*	0,94*	0,88 ^{ns}	0,94*	0,98*	0,97*			
SB	0,84 ^{ns}	0,72 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,94*	0,93*	0,93*	0,98*	0,97*	0,99*	0,99*	0,86 ^{ns}	0,96*		
FP	0,57 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,94*	0,87 ^{ns}	0,97*	0,75 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,88 ^{ns}	0,98*	0,96*	0,95*	
SP	0,81 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,97*	0,98*	0,94*	0,94*	0,98*	0,97*	0,96*	0,94*	0,94*	0,98*	0,95*

* interação significativa a 5% de probabilidade pela matriz de Pearson.

3.3.2 Germinação e Qualidade Fisiológica de sementes

3.3.2.1. Primeira Época - Outono/Inverno (Experimento 1)

As sementes de *Conyza bonariensis* resistentes ao *glyphosate* provenientes da primeira época do estudo de crescimento relativo apresentaram, de forma geral, para as variáveis analisadas, desempenho superior aquelas do biótipo suscetível, $p < 0,05$ (Tabela 9). Na determinação de PMS, o biótipo S apresentou menor peso que R, 3,90 e 5,10 mg, respectivamente. Esse resultado indica que o biótipo R apresenta um maior acúmulo de reservas, fator que pode influenciar na germinação e no vigor das sementes. Geralmente, as sementes que têm mais vigor podem germinar e emergir mais rapidamente sob condições adversas (VIEIRA & CARVALHO, 1994).

Tabela 9 – Peso de mil sementes (PMS), Primeira contagem da Germinação (PG), Germinação (G), Índice de Velocidade da Germinação (IVG), Índice de Velocidade da Emergência (IVE), Comprimento da Parte Aérea (CPA), Comprimento de Radícula (CR), Comprimento Total (CT), Massa Fresca de Plantula (MFP), Massa Seca de Plantula (MSP), Envelhecimento Acelerado (EA) e Teste de Frio (TF), em sementes de *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate*, UFSM, Campus de Frederico Westphalen-RS, 2013.

Biótipo	PMS (mg)	PG (%)	G (%)	IVG	IVE	CPA (cm)
S	3,91*	23,50*	66,50*	24,66*	10,83*	0,65*
R	5,12	33,25	83,75	38,02	16,43	1,08
Média	4,51	28,37	75,13	31,34	13,63	8,65
C.V. (%) ¹	4,38	9,30	5,48	6,74	4,90	5,59
Biótipo	CR (cm)	CT (cm)	MFP(mg)	MSP(mg)	EA (%)	TF(%)
S	2,53*	3,18*	10,70*	1,60*	35,00*	47,00*
R	4,16	5,24	24,80	3,80	52,50	79,45
Média	3,35	4,21	17,80	2,70	43,75	62,22
C.V. (%)	7,70	6,59	16,09	8,23	4,47	5,12

¹ Coeficiente de variação. * Médias de biótipos (suscetível (S) e resistente (R)) diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$). ^{ns} Não significativo ($p \geq 0,05$).

No teste de germinação (Tabela 9), a primeira contagem de plântulas (PG) indicou que sementes R demonstraram desempenho superior a S. Da mesma forma, para a percentagem da germinação de sementes do biótipo R foram superiores frente aquelas observadas para S, com 83,75 e 66,50%, respectivamente. No mesmo contexto, para o IVG e IVE os resultados conferem ao biótipo R superior capacidade de estabelecimento, assim como pelo CPA, CR e CT demonstram maior capacidade de desenvolvimento inicial desse biótipo, possibilitando a melhor e mais rápida utilização dos recursos do meio, quando em competição com outras plantas da mesma espécie, suscetíveis ou de culturas comerciais. Os resultados diferem do observado por Schuch et al. (2008), que em estudo com biótipos de capim-arroz (*Echinochloa* sp.), obtiveram desempenho radicular inferior para o biótipo resistente ao herbicida quinclorac, acarretando em uma menor capacidade de sobrevivência sob condições de competição, uma vez que apresenta baixa capacidade de estabelecimento. Enquanto Gustafson et al. (2004), ressaltam que plantas com elevada velocidade de emergência e de crescimento inicial possuem prioridade na utilização dos recursos do meio e, por isso, levam vantagem na utilização destes, ocupando primeiramente o nicho ecológico.

Resultados obtidos para massa fresca e seca de plântula, demonstram uma capacidade cerca de 50% inferior do biótipo S em acumular tecido quando comparado ao biótipo R, onde para MSP obteve-se 1,60 e 3,80 mg, respectivamente (Tabela 9). Ainda, nos testes de frio e de envelhecimento acelerado foram observados menores efeitos das condições adversas (temperatura e umidade) sobre sementes de buva resistentes, enquanto que as suscetíveis foram mais afetadas e o percentual de germinação teve grande redução. Esses resultados corroboram com o PMS superior apresentado pelo biótipo R, sendo assim, mesmo em condições adversas suas sementes foram capazes de germinar em elevado percentual e a nível de campo garantiriam maior estabelecimento de suas plântulas.

Travlos & Chachalis (2013), não encontraram diferença no percentual de germinação das sementes ou vigor entre biótipos resistentes e suscetíveis de buva em diferentes regimes de temperatura testadas. Por outro lado, desempenho superior para as variáveis germinação e qualidade de sementes foram observadas no presente trabalho, concordando com o obtido por Park et al. (2004), com biótipos de bromo-felpudo (*Bromus Tectorum*L.) resistentes aos inibidores da enzima ACCase (acetil coenzima A carboxilase). Já, biótipo de *Fimbristylis miliacea* ([L.] Vahl.) suscetível aos inibidores da enzima ALS (acetolactato sintase), apresentaram maior percentual de germinação e índice de velocidade de germinação frente aos biótipos da mesma espécie resistentes aos herbicidas inibidores da ALS (SCHAEDLER et al., 2013). Deste modo ressalta-se a resposta diferencial de espécies a herbicidas, não podendo

ser tomada decisão de manejo para uma espécie baseada no conhecimento da capacidade competitiva de outra.

3.3.2.2 Segunda Época - Primavera/Verão (Experimento 2)

O desempenho das sementes provenientes da segunda época do estudo de crescimento relativo foi similar ao observado para as sementes da primeira época. Deste modo, pode-se afirmar que o menor período de ciclo não afetou a viabilidade das sementes de buva de ambos os biótipos. Contudo, diferenças significativas foram observadas entre os biótipos estudados em todas as variáveis avaliadas (Tabela 10).

Tabela 10 – Peso de mil sementes (PMS), Primeira contagem da Germinação (PG), Germinação (G), Índice de Velocidade da Germinação (IVG), Índice de Velocidade da Emergência (IVE), Comprimento da Parte Aérea (CPA), Comprimento de Radicula (CR), Comprimento Total (CT), Massa Fresca de Plantula (MFP), Massa Seca de Plantula (MSP), Envelhecimento Acelerado (EA) e Teste de Frio (TF), em *Conyza bonariensis* suscetível e resistente ao *glyphosate*, UFSM, Campus de Frederico Westphalen - RS, 2013.

Biótipo	PMS (mg)	PG (%)	G (%)	IVG	IVE	CPA (cm)
S	4,00*	22,50*	58,50*	31,34*	10,98*	1,05*
R	5,50	33,25	86,25	45,15	16,93	1,64
Média	4,80	27,87	72,38	38,25	13,96	1,34
C.V.(%) ¹	2,66	5,43	8,05	2,96	7,46	6,20
Biótipo	CR (cm)	CT (cm)	MFP(mg)	MSP(mg)	EA (%)	TF(%)
S	1,67*	2,72*	10,91*	1,30*	43,00*	56,66*
R	3,17	4,81	21,60	3,82	53,50	94,50
Média	2,42	3,76	16,25	2,56	48,25	75,58
C.V. (%)	5,38	4,19	10,09	12,94	5,80	2,94

¹ Coeficiente de variação. * Médias de biótipos (suscetível (S) e resistente (R)) diferentes nas colunas, diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$). ^{ns} Não significativo ($p \geq 0,05$).

O biótipo resistente de *Conyza bonariensis*, apresentou maior PMS que o biótipo suscetível, 5,50 e 4,00 mg, respectivamente. Maior PMS também foi relatado em *Lolium rigidum* resistentes ao *glyphosate*, na comparação com sementes de plantas suscetíveis

(PEDERSEN et al., 2007). Resultados de PG, G, IVG e IVE observados para o biótipo S foram todos inferiores aos obtidos pelo biótipo R. O comprimento radicular superior apresentado por R, proporcionará ao mesmo, rápido crescimento das raízes, podendo conferir significativa vantagem competitiva em casos nos quais predominem as interações abaixo do solo (SEIBERT & PEARCE, 1993).

O teste de envelhecimento acelerado está diretamente relacionado ao potencial de conservação das sementes e, por esse motivo, é considerado um dos mais sensíveis para a avaliação do vigor, entre os disponíveis (MARCOS FILHO, 1999). Desta forma, ressalta-se a capacidade das sementes de R permanecerem viáveis por mais tempo no solo, até que condições ideais de germinação sejam atingidas. Do mesmo modo, as demais variáveis avaliadas apontam melhor qualidade fisiológica das sementes de *C. bonariensis* resistente ao *glyphosate*, sendo que, mesmo em testes que simulam condições adversas de temperatura e umidade, a germinação desse biótipo ficou em percentual bom e ótimo, 53,5 e 94,5 para EA e TF, respectivamente; enquanto que o biótipo S apresentou para o EA 43% e para TF, 56,66% de germinação (Tabela 10).

Ao final dos dois estudos de crescimento relativo e produção de sementes, com suas respectivas avaliações de qualidade de sementes, é possível afirmar que mesmo na ausência da aplicação do *glyphosate*, o biótipo resistente de *C. bonariensis* apresenta superior capacidade de estabelecimento e desenvolvimento, quando comparado ao biótipo suscetível. Ainda, é característica do biótipo R, maior número de sementes produzidas, que aliadas à elevada qualidade fisiológica proporcionam a este alta capacidade de propagação e infestação de áreas agrícolas, caracterizando-o com biótipo de alto valor adaptativo.

Nesse contexto, as pronunciadas características de valor adaptativo apresentadas pelo biótipo resistente, implicam ainda em uma maior dificuldade de manejo e controle da resistência de *Conyza bonariensis* ao herbicida *glyphosate*. Torna-se imprescindível a adoção conjunta de mais de um método de controle, de modo a garantir que essas plantas não completem o ciclo, evitando assim, que produzam elevada quantidade de sementes e desenvolvam cada vez mais resistência. Sendo assim, salienta-se a importância da eliminação de todas as plantas de buva presentes na área cultivada e nas que a circundam, como beira de estradas e áreas não cultivadas, além de evitar a disseminação por máquinas agrícolas e animais. Cabe ressaltar que os biótipos possivelmente não apresentem origem comum, uma vez que o biótipo R é originário de município 40 km distante do S. Deste modo, os resultados encontrados nos estudos conduzidos devem ser considerados como indicação do

comportamento dos biótipos R e S, mas não podem ser conclusivos sobre o valor adaptativo uma vez que o *background* genético entre os mesmos não é similar.

3.4 LITERATURA CITADA

ALCORTA, M. et al. Competitive Effects of *Glyphosate*-Resistant and *Glyphosate*-Susceptible Horseweed (*Conyza canadensis*) on Young Grapevines (*Vitis vinifera*). **Weed Science**, v.59, p.489-494, 2011.

ANDERSON, D. D., et al. Competition between triazine-resistant and -susceptible common waterhemp (*Amaranthus rudis*). **Weed Science**, v.44, p.853–859, 1996.

BALBINOT Jr., A.A., et al. Características de plantas de arroz e a habilidade competitiva com plantas daninhas. **Planta daninha**, v.21, p.165-174, 2003.

BERGELSON, J., & PURRINGTON, C. B. . Surveying patterns in the costs of resistance in plants. **American Naturalist**, v.148, p.536–558, 1996.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: **Mapa/ACS**, 2009.

CARVALHO, S.J.P.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Crescimento e desenvolvimento de cinco espécies de plantas daninhas do gênero *Amaranthus*. **Bragantia**, v.67, p.317-326, 2008.

CHRISTOFFOLETI, P. J. Análise comparativa do crescimento de biótipos de picão-preto (*Bidens pilosa*) resistente e susceptível aos herbicidas inibidores de ALS. **Planta Daninha**, v.19, p.75-84, 2001.

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

DAVIS, V. M., et al. Growth and seed production of horseweed (*Conyzacandensis*) populations resistant to *glyphosate*, ALS-inhibiting, and multiple (*glyphosate* + ALS-inhibiting) herbicides. **Weed Science**, v.57, p.494–504, 2009.

ELLSTRAND, N. C. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v.30, p.539-563, 1999.

FALKER – Automação agrícola. **Medidor Eletrônico de Teor de Clorofila**: Dados Técnicos clorofiLOG CFL1030. Rev. C – Set. 2009. 6 p. Disponível em: http://www.falker.com.br/download.php?file_id=74>. Acesso em 27 de outubro. 2013.

FLECK, N. G. et al. Velocidade de estabelecimento em cultivares de arroz irrigado como característica para aumentar a habilidade competitiva com plantas concorrentes. **Ciência Rural**, v.33, p.635-640, 2003.

FORCE, L. et al. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. **Photosynthesis Research**, v.78, p.17-33, 2003.

GARRITY, D. P.; MOVILLON, M.; MOODY, K. Differential weed suppression ability in upland rice cultivars. **Agronomy Journal**, v.84, p.586-591, 1992.

GRANTZ, D. A. et al. Early vigor and ozone response in horseweed (*Conyzacanadensis*) biotypes differing in *glyphosate* response. **Weed Science**, v.56, p.224–230, 2008.

GUSTAFSON, D. J.; GIBSON, D.J.; NICKRENT, D.L. Competitive relationships of *Andropogon gerardii* (Big Bluestem) from remnant and restored native populations and select cultivated varieties. **Functional Ecology**, v.18, p.451-457, 2004.

KASPARY, T. E. et al. Determinação de pigmentos fotossintéticos em biótipos de buva suscetível e resistente ao herbicida *glyphosate*. **Planta daninha, no prelo**, 2014.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. Plantas infestantes e nocivas. São Paulo: Basf Brasileira, p.789, 1999.

KISSMANN, K.G. **Plantas infestantes e nocivas**. TOMO I. 3º ed. São Paulo: Basf Brasileira S. A., 2007.

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

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

LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CARVALHO, S.J.P.;CHRISTOFFOLETI, P.J. Recomendações gerais para manejo integrado de plantas daninhas resistentes a herbicidas. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Piracicaba: HRAC-BR, p.109-120, 2008.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177,1962.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap.3, p.1-24, 1999.

MOREIRA, M. S. et al. Resistência de *Conyza canadensis* e *Conyza bonariensis* ao herbicida *glyphosate*. **Planta Daninha**, v.25, p.157-164, 2007.

MOREIRA, M.S. et al. crescimento diferencial de biótipos de *Conyza* spp. resistente e suscetível ao herbicida glifosato. **Bragantia**, v.69, p.591-598, 2010.

MOURA, M. L.et al. Crescimento e desenvolvimento de frutos do tomateiro 'Santa Clara' e do seu mutante natural 'firme'. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.6, p. 1284-1290, 2004.

PARK KW., et al. Ecological fitness of acetolactate synthase inhibitor-resistant and -susceptible downy brome (*Bromus tectorum*) biotypes. **Weed Science**, v.52, p.768–773, 2004.

PEDERSEN, B.P., et al. Ecological fitness of a *glyphosate*-resistant *Lolium rigidum* population: growth and seed production along a competition gradient. **Basic and Applied Ecology**, v.8, p.258–268, 2007.

POWLES, S. B.; C. PRESTON. Evolved *glyphosate* resistance in plants: biochemical and genetic basis of resistance. **Weed Technology**, v.20, p.282–289, 2006.

PRESTON, C; WAKELIN, A.M. Resistance to *glyphosate* from altered herbicide translocation patterns. **Pest Management Science**, v.64, p.372–376, 2008.

RADOSEVICH, S. R.; HOLT, J. S. & GHERSA, C. M. **Ecology of weeds and invasive plants**: Relationship to agriculture and natural resource management. 3.ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2007.

RIZZARDI, M. A. et al. Competição por recursos do solo entre ervas daninhas e culturas. **Ciência Rural**, v.31, p.707-714, 2001.

SCHAEDLER, C.E. et al. Germination and growth of *Fimbristylis miliacea* biotypes resistant and susceptible to acetolactate synthase-inhibiting herbicides. **Planta Daninha**, v. 31, p.687-694, 2013.

SCHUCH, L.O.B. et al. Crescimento de raízes de biótipos de capim-arroz resistente e suscetível ao quinclorac em competição. **Planta Daninha**, v.26, p.893-900, 2008.

SCHUELTER, A. R. et al. Avaliação dos níveis de clorofila em folhas de tomateiro da cultivar Santa Clara, do mutante 'firme' e do híbrido F1. **Acta Scientiarum**, Biological Sciences, v. 25, p. 183-187, 2003.

SEIBERT, A.C., PEARCE, R.B. Growth analysis of weed and crop species with reference to seed weight. **Weed Science**, v.41, n.1, p.52-56, 1993.

SHRESTHA, A. et al. Growth, Phenology, and Intraspecific Competition between *Glyphosate*-Resistant And *Glyphosate*-Susceptible Horseweeds (*Conyza canadensis*) in the San Joaquin Valley of California. **Weed Science**, v.58, p.147-153, 2010.

SHRESTHA, A., K. J. HEMBREE, AND N. VA.. Growth stage influences level of resistance in *glyphosate*-resistant horseweed. **California Agriculture**, v.61, p.67-70, 2007.

SILVA, A. A. et al. Competição entre plantas daninhas e culturas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Eds.) Tópicos em manejo de plantas daninhas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p.17-61, 2007.

SILVA, A. C. et al. Acúmulo de macro e micronutrientes por soja e *Brachiaria brizantha* emergida em diferentes épocas. **Planta Daninha**, v.27, p.49-56, 2009.

TRAVLOS, I. S.; CHACHALIS, D. Relative competitiveness of *glyphosate*-resistant and *glyphosate*-susceptible populations of hairy fleabane, *Conyza bonariensis*. **Journal of Pest Science**, v.86, p.345-351, 2013.

VARGAS, L. et al. *Conyza bonariensis* resistente ao *glyphosate* na Região Sul do Brasil. **Planta Daninha**, v.25, p.573-578, 2007.

VAUGHN K. C. Herbicide resistance work in the United States Department of Agriculture—agricultural research service. **Pest Management Science**, v.59, p.764–769, 2003.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, p.164, 1994.

WESTHOVEN, A. M., et al Characterization of selected common lambsquarters (*Chenopodium album*) biotypes with tolerance to *glyphosate*. **Weed Science**, v.56, p.685–691, 2008.

WU, H. et al. Germination, persistence, and emergence of flaxleaf fleabane (*Conyza bonariensis* [L.] Cronquist). **Weed Biology and Management**, v.7, p.192-199, 2007.

4. ARTIGO III – MECANISMO DE RESISTÊNCIA DE BUVA AO HERBICIDA GLYPHOSATE

RESUMO - A resistência de plantas daninhas a herbicidas é consequência da ocorrência de um ou mais mecanismos de resistência. O objetivo deste estudo foi investigar o(s) mecanismo(s) de resistência em *Conyza bonariensis* ao herbicida *glyphosate*. Um experimento foi conduzido no LTS/DCAA-UFSM, com arranjo fatorial 2x7x2; fator A - dois biótipos de buva, suscetível (S) e resistente (R), fator B - sete doses de *glyphosate*, 0, 45, 90, 180, 360, 720, 1.440 g e.a ha⁻¹ para o biótipo S, e 0, 360, 720, 1.440, 2.880, 5.760 e 11.520 g e.a ha⁻¹ para o biótipo R e fator C - duas condições de temperatura e fotoperíodo simulando o inverno (temperatura de 12/8°C dia/noite e fotoperíodo de 10/14 horas) e verão (temperatura de 28/20°C dia/noite e fotoperíodo de 14/10 horas). Um ensaio enzimático foi realizado no LMS/DFs-UFPel, com tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x7; fator A - dois biótipos de buva, S e R e fator B - doses de *glyphosate*, 0; 0,112; 0,226; 0,450; 0,900; 1,800; 3,600 mg e.a L⁻¹ para S, e 0; 1,8; 3,6; 7,2; 14,4 e 28,8 mg e.a L⁻¹ para R. O biótipo R de *C. bonariensis* aparenta não apresentar o mecanismo de sequestro do herbicida no vacúolo como mecanismo de resistência. Entretanto, o menor acúmulo de shiquimato para o biótipo R, caracteriza a menor sensibilidade da enzima EPSPS ao *glyphosate*, inferindo que este seja o mecanismo de resistência presente em plantas de *C. bonariensis*. Contudo, a resistência pode não estar atrelada à apenas um mecanismo de resistência, exigindo para seu inteiro entendimento, estudos complementares.

Palavras-chaves: *Conyza bonariensis*. Temperatura. Fotoperíodo. EPSPS.

ABSTRACT - The resistance of weeds to herbicides is a consequence of one or more mechanisms of resistance. The aim of this study was to investigate mechanism (s) of resistance to *glyphosate* in *Conyza bonariensis*. An experiment was conducted in LTS/DCAA - UFSM with 2x7x2 factorial arrangement; Factor A - two biotypes of hairy fleabane, susceptible (S) and resistant (R), factor B - seven rates of *glyphosate*, 0, 45, 90, 180, 360, 720, 1,440 g ae ha⁻¹ for the S biotype, and 0, 360, 720, 1,440, 2,880, 5,760 and 11,520 g ae ha⁻¹ for the R biotype C and factor - two conditions of temperature and photoperiod simulating winter (temperature 12/8 °C day/night photoperiod and 10/14 hours) and summer (temperature 28/20 °C day/night and a photoperiod of 14/10 hours). An enzymatic assay was performed in LMS / FS - UFPel with treatments arranged in a factorial 2x7, Factor A - two biotypes of hairy fleabane, S and R and B factor - *glyphosate* rates, 0, 0.112, 0.226, 0.450, 0.900, 1.800, and 3.600 mg a.e L⁻¹ to S, and 0, 1.8, 3.6, 7.2, 14.4, and 28.8 mg a.e L⁻¹ for R. The R biotype of *C. bonariensis* does not appear to present the sequestration of herbicide in the vacuole with resistance mechanism. However, the lowest accumulation of shikimate by the R biotype, characterize lower sensitivity of EPSPS enzyme to *glyphosate*, inferring that this is the mechanism of resistance present in plants of *C. bonariensis*. However, the

resistance can not be associated to an unique mechanism of resistance, being required further studies for completely understanding.

Keywords: *Conyza bonariensis*. Temperature. Photoperiod. EPSPS.

4.1 INTRODUÇÃO

O *glyphosate*, herbicida inibidor da enzima enol-piruvil-shikimato-fosfato-sintetase (EPSPS), consistiu-se até pouco tempo, na principal forma de controle da buva (*Conyza bonariensis* ([L.] Cronquist), uma das principais plantas daninhas das áreas agrícolas cultivadas no período de primavera/verão da região centro-sul do Brasil, em especial da cultura da soja. A intensa utilização dessa molécula herbicida na dessecação pré-semeadura da soja e em pós-emergência da cultura transgênica resistente a esse herbicida, associada à alta capacidade de produção de propágulos dessa espécie, contribuiu para elevar a pressão de seleção sobre a buva, culminando na evolução de biótipos resistentes ao *glyphosate*.

A resistência das plantas daninhas aos herbicidas é definida pela FAO como a ocorrência natural de biótipo com habilidade de sobreviver à aplicação de composto químico para o qual a população original era suscetível (LEBARON & GRESSEL, 1982). No Brasil, os primeiros casos de resistência ao *glyphosate* em *C. bonariensis*, foram relatados por Moreira et al. (2007), Vargas et al. (2007) e Lamego & Vidal (2008).

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas está associada a um ou mais mecanismos de resistência, responsáveis por não deixar o herbicida atuar de forma eficiente sobre o local de ação alvo nas plantas, ou seja, a enzima EPSPS. Os mecanismos relacionados à resistência ao *glyphosate* são conhecidos para apenas 11 espécies do total que apresentam resistência, podendo ser divididos em dois grupos: os que envolvem alterações no local de ação e, aqueles não relacionados ao local de ação herbicida (POWLES & YU, 2010). Mutações no gene responsável pela enzima EPSPS e aumento na amplificação desse mesmo gene, são exemplos de mecanismo de resistência relacionados ao sítio de ação. Enquanto que a reduzida absorção, translocação e sequestro do herbicida no vacúolo, são exemplos de mecanismos não relacionados diretamente com o local de ação (POWLES & YU, 2010).

A espécie capim-colchão (*Digitaria insularis* [L.] Fedde), apresenta compilação de mecanismos de resistência ao *glyphosate*. Em estudos com essa espécie, foi evidenciada que a menor absorção e translocação do herbicida, maior taxa de metabolização e mutação no gene

da enzima EPSPS, desempenham papel importante na resistência ao *glyphosate* (CARVALHO & ALVES 2012).

A resistência ao *glyphosate* em populações de capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica* [L.] (Gaert)) da Malásia, é causada por duas mutações na enzima alvo: prolina para serina (Pro₁₀₆Ser) ou prolina para treonina (Pro₁₀₆Thr) (NG et al., 2003). Para Gaines et al. (2010), o mecanismo de resistência ao *glyphosate* em caruru (*Amaranthus palmeri* [S.] Wats) é efeito da maior amplificação do gene da EPSPS, elevando o número de cópias da enzima na planta. Salas et al. (2012) ao investigarem a resistência ao *glyphosate* em azevém perene (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum* Lam.) nos EUA, observaram que o nível da resistência observado esteve relacionado com o aumento na atividade da enzima EPSPS no biótipo resistente e, também, ao maior número de cópias do gene da enzima observado, quando comparado ao suscetível.

Já, Ge et al. (2012) ao avaliarem o mecanismo de resistência em azevém oriundo de diferentes países, como Austrália, Brasil, Chile e Itália, encontraram uma elevada correlação da quantidade de herbicida sequestrado para o vacúolo e o nível de resistência da espécie, sugerindo assim, que o sequestro vacuolar é um dos principais mecanismos da resistência do azevém ao *glyphosate*. Para outras espécies, o mecanismo de resistência a este herbicida ainda não é esclarecido. É o que acontece para caruru (*Amaranthus tuberculatus* [Moq.] Sauer), ambrosia-americana (*Ambrosia artemisiifolia* L.), ambrosia (*Ambrosia trifida* L.), avoadinha-marfim (*Conyza sumatrensis* L.), entre outros (HEAP, 2014).

Os mecanismos mais comumente relatados para a resistência ao *glyphosate* têm sido a redução da absorção e translocação do produto. A redução da translocação é citada por Ferreira et al. (2008), como sendo o mecanismo de resistência em biótipo de *C. bonariensis* no Brasil. Um maior acúmulo do herbicida foi observado na folha tratada no biótipo resistente, enquanto que no suscetível, o maior acúmulo foi encontrado na parte aérea (folhas e caules) e nas raízes, indicando a translocação reduzida pelo resistente. O mesmo mecanismo é responsável pela resistência ao *glyphosate* em *Lolium multiflorum* (NANDULA et al., 2008), *Lolium rigidum* (YU, et al., 2009) e *Conyza canadiensis* L. (FENG et al., 2004).

Para buva, *Conyza canadensis*, espécie do mesmo gênero de *C. bonariensis*, em estudo realizado por GE et al. (2010), foi observado sequestro do herbicida *glyphosate* no vacúolo dos biótipos resistentes. O sequestro ocorreu por um aumento na taxa de transferência do herbicida do cloroplasto para o vacúolo, realizada, possivelmente pela maior expressão de um carregador molecular não identificado. Em outro estudo com *Conyza canadensis*, GE et al. (2011) demonstraram o efeito reversivo de baixas temperaturas sobre a manifestação da

resistência em biótipo resistente ao herbicida *glyphosate* pelo sequestro no vacúolo. De acordo com os autores, quando o biótipo resistente é exposto a condições de temperatura entre 20 e 30°C, aceleram-se as reações de sequestro do herbicida para o vacúolo da célula, inibindo sua atuação sobre a enzima EPSPS, e conseqüentemente, tem-se resistência. Todavia, quando sob baixas temperaturas (8-10°C) ocorre reversão da resistência, inferindo-se em uma menor atividade dos possíveis carregadores responsáveis pelo sequestro do herbicida no vacúolo, e a planta comporta-se como suscetível.

A avaliação do acúmulo de ácido shiquímico a partir de ensaios com discos foliares mostra-se como um método promissor e rápido para detectar resistência ao *glyphosate* em *Conyza* e em outras espécies de plantas (KOGER et al., 2005; SHANER et al., 2005). Isso se deve ao shiquimato se acumular nos tecidos da planta após o tratamento com *glyphosate*, com um montante acumulado normalmente sendo maior no biótipo suscetível do que em plantas resistentes (HENRY et al., 2007; MUELLER et al., 2008).

A compreensão do mecanismo de resistência ao *glyphosate* em plantas daninhas, é urgentemente necessária para garantir a continuidade do uso desse herbicida (SERVICE, 2007). No Brasil, à exceção do trabalho de Ferreira et al. (2008), não há relatos da elucidação do mecanismo de resistência em *Conyza bonariensis*. Portanto, a identificação do mecanismo de resistência resultará em mudanças oportunas na forma de manejo dessa planta daninha e na propagação da resistência ao *glyphosate*. Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi investigar o mecanismo de resistência ao *glyphosate* em biótipo resistente de *C. bonariensis*, a partir de estudos que envolvam análises no local de ação do herbicida (enzima EPSPS) e, aquelas não relacionadas ao local de ação.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi dividido em duas etapas: primeiramente em câmara de crescimento do tipo B.O.D do Laboratório de Tecnologia de Sementes, do Departamento de Ciências Agrônômicas e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria (LTS/DCAA)-UFSM, *Campus* de Frederico Westphalen – RS, e a segunda etapa no Laboratório de Metabolismo Secundário (LMS) do Departamento de Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas - UFPel, *Campus* Capão do Leão – RS.

4.2.1 Mecanismo de Resistência – Não Relacionado ao Local de Ação

O estudo foi conduzido no período de novembro a dezembro de 2012, sendo repetido de março a abril de 2013, em B.O.D. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x7x2, onde o fator A correspondeu aos biótipos de buva S e R; fator B, referiu-se às doses de *glyphosate*; 0, 45, 90, 180, 360, 720, 1.440 g e.a ha⁻¹ para o biótipo S, e 0, 360, 720, 1.440, 2.880, 5.760 e 11.520 g e.a ha⁻¹ para o biótipo R. O fator C, consistiu em duas condições de temperatura e fotoperíodo, simulando o inverno (temperatura de 12/8°C dia/noite e fotoperíodo de 10/14 horas) e verão (temperatura de 28/20°C dia/noite e fotoperíodo de 14/10 horas), sendo utilizadas 3 repetições por tratamento.

Sementes de buva S e R foram embebidas em água por 24 horas, para estimular o processo de germinação, e posteriormente semeadas em copos de 50 ml preenchidos com substrato comercial (TecnoMax®). Após apresentarem as primeiras folhas verdadeiras, as plantas foram transplantadas para copos plásticos de 500 ml, preenchidos com o mesmo substrato. Manteve-se uma planta por copo, sendo essas mantidas em casa de vegetação e irrigadas diariamente. Quando as plantas apresentavam 4-5 folhas, foram acondicionadas dentro da câmara de crescimento, onde ficaram por 10 dias nas respectivas temperaturas de inverno e verão, para aclimação. Após esse período, as plantas (com 5-6 folhas) foram retiradas das câmaras de crescimento e realizou-se a aplicação dos tratamentos. Para isso, foi utilizado pulverizador costal pressurizado a CO₂, com volume de calda de 200 L ha⁻¹ e barra de aplicação equipada com quatro pontas tipo leque XR 110.02, distanciadas 0,5 m entre si. As aplicações foram realizadas no início do dia ao ar livre, sendo as condições de aplicação para o experimento conduzido no mês de novembro/12 de 19,5°C de temperatura e umidade relativa do ar (UR) de 76%. Já em março/13, a temperatura foi de 17,3°C e UR de 81%. Imediatamente após a aplicação dos tratamentos, as plantas foram recolocadas nas respectivas câmaras de crescimento.

O percentual de controle (%) foi avaliado aos 21 e 42 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), onde se adotou escala visual, em que a total ausência de controle correspondeu ao valor 0, enquanto a morte da planta correspondeu ao valor 100%. Também foi avaliada a massa seca da parte aérea aos 42 DAT, sendo o material vegetal coletado e mantido em estufa até peso constante, a 70 °C. A massa seca foi corrigida para valores

percentuais por meio da comparação da massa obtida nos tratamentos herbicidas com a massa da testemunha, considerada 100%.

Os resultados dos dois experimentos de resposta à dose foram submetidos à análise de variância. Quando observada interação biótipo x dose, realizou-se ajuste à equação sigmoidal de três parâmetros com auxílio do programa Sigma Plot versão 10.0:

$$Y = a / (1 + \exp(-(X - X_{a50})/b)) \quad \text{Equação 1}$$

onde Y = variável dependente (Controle ou Massa Seca), X = variável independente (dose herbicida (g e.a ha⁻¹)); a = diferença entre as assíntotas de máxima e de mínima; b = declividade da curva; X_{a50} = dose herbicida (g e.a ha⁻¹) responsável por reduzir a variável dependente ao nível correspondente a 50% do valor da assíntota de máxima (a). Foram calculados pela equação os respectivos coeficientes: o valor de X₅₀, ou seja, valor da dose responsável por ocasionar 50% de controle (C₅₀), ou reduzir 50% da MSPA dos biótipos (GR₅₀), e o fator de resistência (FR), calculado através de C_{50R}/ C_{50S} e GR_{50R}/ GR_{50S}. A resistência é confirmada quando FR > 1,0 (SAARI et al., 1994).

4.2.2 Mecanismo de Resistência – Relacionado ao Local de Ação

Um estudo enzimático foi conduzido e repetido duas vezes no mês de julho 2013, em laboratório. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x7, onde o fator A, correspondeu aos biótipos de buva S e R; fator B, referiu-se às doses de *glyphosate*: 0; 0,112; 0,226; 0,450; 0,900; 1,800; 3,600 mg e.a L⁻¹ para o biótipo S, e 0; 1,8; 3,6; 7,2; 14,4 e 28,8 mg e.a L⁻¹ para o biótipo R. Foi utilizado o ingrediente ativo *glyphosate* puro. O protocolo foi adaptado de Nol et al. (2012). Foram utilizadas plantas de *C. bonariensis* com 5-6 folhas, pré-germinadas e posteriormente transplantadas para copos plásticos, conforme descrição anterior e mantidas em casa de vegetação.

Discos foliares com 5mm de diâmetro foram extraídos manualmente das folhas de buva com auxílio de um extrator de metal. Os discos foram colocados em placas de petri, que continham 10ml da solução de fosfato de amônio ((NH₄)₂HPO₄) na concentração de 10 molar

(M), 0,1% (v/v) do surfactante Tween 80 e os referidos tratamentos com *glyphosate*. Cada placa representou uma repetição do tratamento correspondente e, cada repetição foi composta de quatro discos foliares de buva. As placas foram seladas com filme plástico para evitar a evaporação da solução e incubadas sob luz fluorescente (aproximadamente $200 \mu\text{ol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) a 26°C por 16 horas. Em seguida, separadamente para cada tratamento e repetição, os discos foram macerados com auxílio de nitrogênio líquido e acondicionados em tubos *ependorf* de 1,5 ml. O shiquimato foi extraído com a adição de 1ml de ácido clorídrico (HCl) na concentração de 1,25M, em cada tubo. As amostras foram misturadas vigorosamente durante 5 minutos e incubadas sob agitação durante 30 min a 37°C .

Após a incubação, as amostras foram centrifugadas a 12000 rpm por 10 min. Na sequência, duas alíquotas sobrenadantes de 250 μL foram transferidas para tubos *ependorff*, que continham 1ml da solução 0,25 % ácido periódico e 0,25 % de ácido metaperiódico. As amostras foram incubadas à novamente à 37°C por 60 min. Posteriormente, foi adicionado a cada tubo mais 1 ml da solução de HCl (0,6 M) e sulfito de sódio (Na_2SO_3 [0,22 M]). Em seguida, foi realizada a leitura (380 nm) em espectrofotômetro (Ultrospec 2100 Pro UV/Visível – Amersham Bioscience), e os valores ajustados à equação linear, obtida a partir da curva padrão de doses conhecidas de shiquimato em ácido clorídrico 1,25 M.

O acúmulo de shiquimato em discos de buva foi obtido subtraindo-se do valor obtido pelos tratamentos com *glyphosate* e o valor da testemunha (sem *glyphosate*). O valor médio de shiquimato foi submetido à análise de variância e, observada interação biótipo x dose, realizou-se ajuste à equação sigmoidal:

$$Y=a/(1 + \exp(-(X - X_{a50})/b)) \quad \text{Equação 1}$$

onde Y=variável dependente (acúmulo de shiquimato), X= variável independente (dose herbicida (mg e.a L^{-1})); a= diferença entre as assíntotas de máxima e de mínima; b= declividade da curva; X_{a50} = dose herbicida (mg e.a L^{-1}) responsável por reduzir a variável dependente ao nível correspondente a 50% do valor da assíntota de máxima (a). Foram calculados pela equação os respectivos coeficientes: o valor de X_{50} , ou seja, valor da dose responsável por aumentar em 50% o acúmulo de shiquimato(AS_{50}) e o fator de resistência (FR), calculado através de $AS_{50}R/AS_{50}S$.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Mecanismo de Resistência – Não Relacionado ao Local de Ação

Os resultados obtidos demonstraram interação significativa (5%) entre biótipo x dose do herbicida x condição de temperatura e fotoperíodo. Os dados de controle visual e de massa seca foram ajustados para curvas sigmoidais de três parâmetros, com significância de 5% (Figura 1). Os valores do coeficiente de determinação (R^2) variaram de 0,94 a 0,99, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo (Tabela 1).

Aos 21 DAT, a curva de dose-resposta demonstra para a condição de inverno, com baixas temperaturas e reduzido fotoperíodo, incremento no controle visual para ambos os biótipos, em função do aumento da dose herbicida (Figura 1A). Contudo, o biótipo S apresentou percentual de controle satisfatório com doses inferiores às necessárias ao biótipo R. A dose necessária para promover 50% de controle de *C. bonariensis* (C_{50}) foi de 4.040,21 e 71,71g e.a ha^{-1} para R e S, respectivamente (Tabela 1). O fator de resistência (FR) indica aos 21 DAT e para condições de inverno, que o biótipo S é 56,34 vezes mais sensível ao *glyphosate* do que o R. Para as condições que simulam o verão, altas temperaturas e fotoperíodo com 14 horas de luz, aos 21 DAT foi observados controle percentual acima de 90% para o biótipo S, em dose de apenas 90 g e.a ha^{-1} , enquanto que para R, a dose necessária para atingir o mesmo percentual de controle foi de aproximadamente 5.760 g e.a ha^{-1} (Figura 1A). Nesse cenário, o C_{50} foi de 39,34 e 1.524,70 g e.a ha^{-1} para os biótipos S e R, respectivamente, e o fator de resistência (FR) obtido foi de 38,69 (Tabela 1).

Na comparação entre as condições de temperatura e fotoperíodo aos 21 DAT, ambos os biótipos apresentaram superior percentual de controle para condições de verão (V), quando comparado às condições de inverno (I). O biótipo S apresentou percentual de controle superior ao R em ambas as condições, I e V. Já o biótipo R, demonstrou redução em sua capacidade de resistir ao *glyphosate* na condição V, onde apresentou C_{50} de 1.524,21 ge.a ha^{-1} , enquanto que para a condição I o C_{50} foi de 4.040,21 g e.a ha^{-1} , resultando em FR de 38,69 e 56,34 em V e I, respectivamente (Tabela 1). A partir destes resultados, se for considerado a dose máxima de registro para a buva, 1.800,00 g e.a ha^{-1} , pode inferir em uma reversão de resistência, tornado o biótipo R suscetível ao *glyphosate*. Destaca-se ainda, a necessidade da

investigação aprofundada dos efeitos das elevadas temperaturas e fotoperíodo prolongado sobre a resistência ao glyphosate, pois não há relatos desse comportamento na literatura.

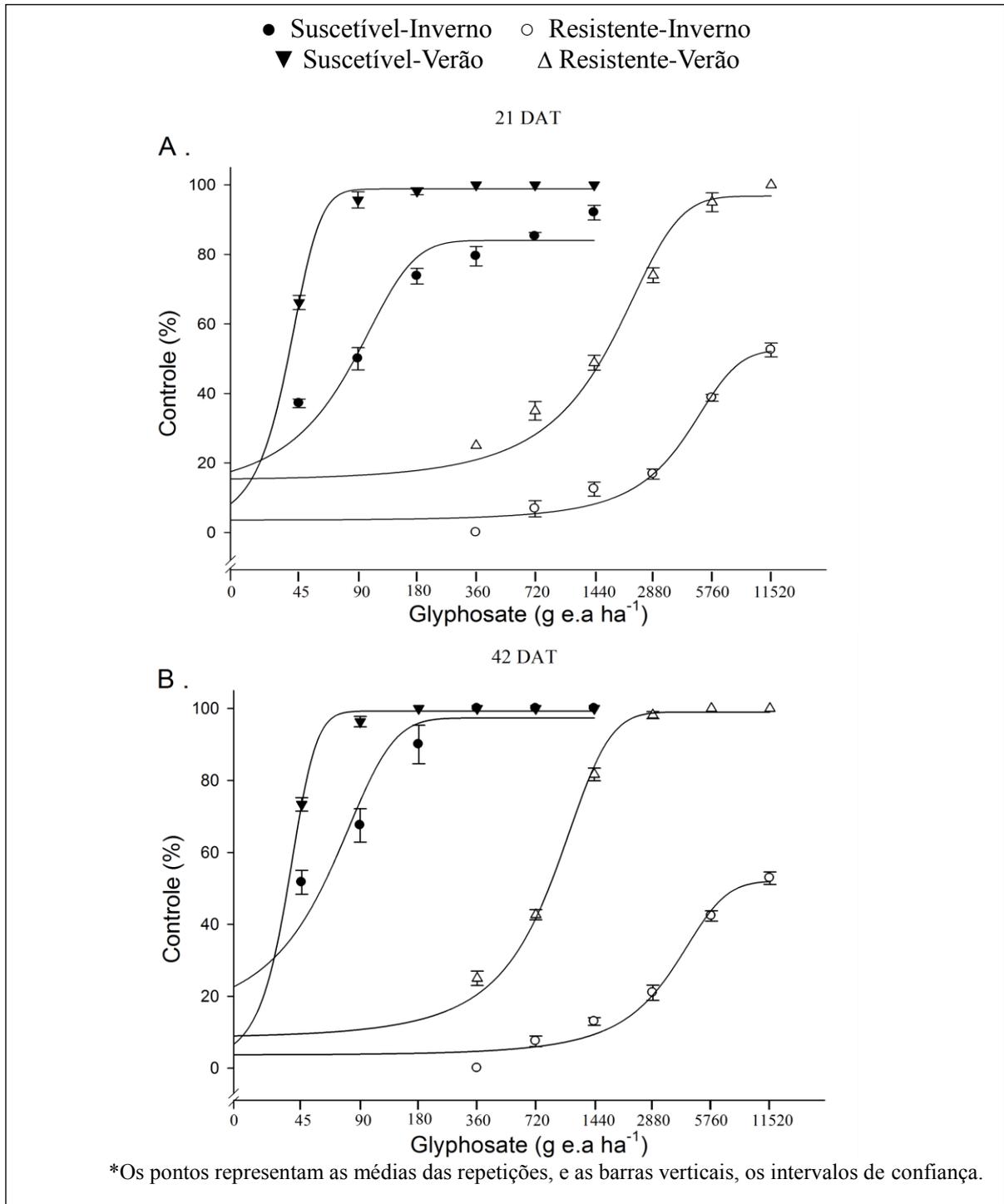


Figura 1 - Controle (%) de biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate* em duas condições de temperatura e fotoperíodo - Inverno (12/8 °C e 10/14h) e Verão (28/20 °C e 14/10h), avaliado aos 21 e 42 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT). UFSM, Campus Frederico Westphalen – RS, 2013.

Tabela 1 -Equações^a utilizadas para determinar a dose necessária para obter 50% do controle (C₅₀) ou redução de 50% da massa seca (GR₅₀) dos biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*. UFSM, Campus Frederico Westphalen - RS, 2013.

Biótipo	A	b	C ₅₀ (g e.a ha ⁻¹)	R ^{2b}	FR ^c	Itr ^d
21 DAT*						
S-Inverno	84,01	38,71	71,71	0,94	---	11
R-Inverno	52,52	1.540,70	4.040,21	0,98	56,34	7
S-Verão	98,80	8,03	39,34	0,99	---	9
R-Verão	96,7	905,10	1.524,29	0,96	38,69	10
42 DAT						
S-Inverno	97,35	29,60	55,44	0,95	---	12
R-Inverno	52,01	1.350,34	3.475,41	0,98	62,68	8
S-Verão	99,28	6,78	37,96	0,99	---	12
R-Verão	99,12	352,74	832,74	0,99	21,94	7
Biótipo	A	b	GR ₅₀ (g e.a ha ⁻¹)	R ^b	FR	Itr
42 DAT						
S-Inverno	89,85	10,82	38,16	0,97	---	11
R-Inverno	66,44	879,63	2.281,38	0,97	59,78	8
S-Verão	94,30	5,70	36,05	0,99	---	11
R-Verão	91,56	454,48	907,23	0,97	25,19	9

^a Equação sigmoideal $Y=a/(1 + \exp(-(X - X_{a50})^b))$, onde $X_{a50}= GR_{50}$ ($p < 0,05$) ou $X_{a50}= C_{50}$ ($p < 0,05$).

^b Coeficiente de determinação.

^c Fator de Resistência= $C_{50}R/C_{50}S$ ou $GR_{50}R/GR_{50}S$.

^d Itr= número de iterações utilizadas para ajustar os parâmetros da equação.

* Dias após aplicação dos tratamentos.

Novamente aos 42 DAT, o herbicida *glyphosate* obteve maior controle sobre o biótipo S em ambas as condições, I e V (Figura 1B). O FR observado nas condições de I foi superior ao de V, com valores de 62,68 e 21,94, respectivamente. Sendo assim, as condições de alta temperatura e fotoperíodo prolongado, influenciaram negativamente a resistência para o biótipo R. No presente estudo, baixas temperaturas e fotoperíodo reduzido não foram suficientes para reverter a resistência, discordando de GE et al. (2011) que observaram reversão quando plantas de *C. Canadensis* foram submetidas a essas condições, creditando esse efeito a uma menor atividade dos carregadores responsáveis pelo sequestro do herbicida no vacúolo, tornando o comportamento da planta suscetível. Comportamento similar foi observado para capim-massambará (*Sorghum halepense* [L.] Persoon.) e *Lolium rigidum*, que apresentaram redução significativa nos parâmetros de resistência ao *glyphosate*, quando as

plantas resistentes tratadas com o herbicida foram cultivadas sob condições de temperatura não ideal, 19°C e 8°C, respectivamente (VILA-AIUB et al., 2013).

O acúmulo de massa seca da parte aérea (MSPA) observado aos 42 DAT, está em concordância com os valores de controle visual obtidos, onde menores doses de *glyphosate* foram suficientes para inibir o acúmulo de massa do biótipo S em ambas as condições de temperatura e fotoperíodo, quando comparado ao R (Figura 2). As doses necessárias para promover a redução em 50% da massa seca (GR_{50}) para o biótipo S foram de 38,16 e 36,05 g e.a ha^{-1} para I e V, respectivamente. Enquanto, o biótipo R apresentou GR_{50} de 4.312,24 para condições de inverno e 1090,84 para condições de verão e FR de 2.281,38 e 907,23, respectivamente. Ressalta-se a ocorrência de variações nos fatores de resistência entre as variáveis de controle (%) e MSPA. Contudo, variações na amplitude do FR foram reportadas por Trezzi et al. (2011), que ao trabalharem com plantas de *Conyza* spp. resistentes ao *glyphosate*, observaram para um mesmo biótipo FR de 3,98 e 37,27, para as variáveis controle aos 21 DAT e matéria seca, respectivamente. No entanto, apesar das variações nos FRs, todos se mantiveram acima de 10 considerado elevados, caracterizando resistência de alto nível (VIDAL et al., 2007).

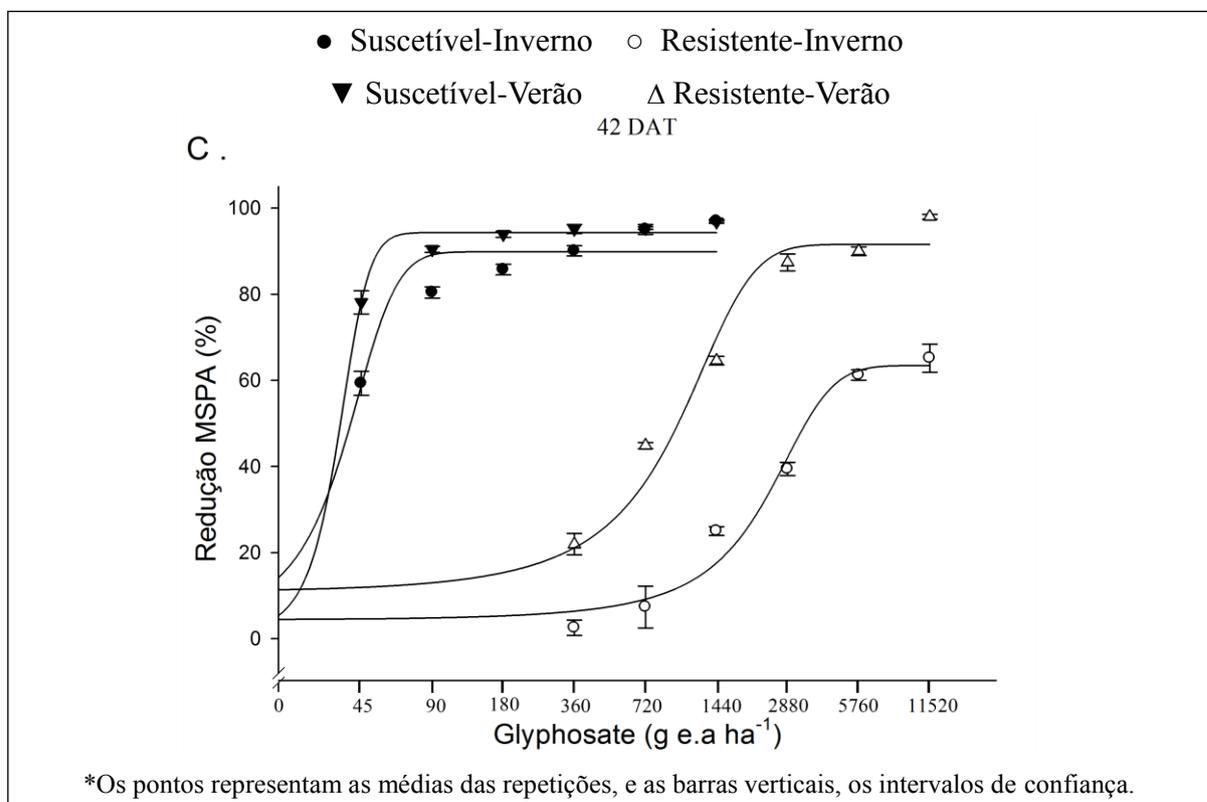


Figura 2 - Redução da matéria seca da parte aérea (MSPA (%)) em biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*, avaliado aos 42 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT). UFSM, Campus Frederico Westphalen – RS, 2013.

Plantas resistentes aos herbicidas podem produzir novas enzimas ou aumentar a produção destas, conferindo resistência (WERCK-REICHHART et al., 2000). Contudo, a energia adicional necessária para produzir estas enzimas pode tirar a energia alocada para o crescimento e reprodução na ausência da aplicação do herbicida ou sob condições de estresse causado pelo ambiente (VILA-AIUB et al., 2009). Deste modo, a partir da redução da capacidade de resistir em altas temperaturas e prolongado fotoperíodo, pode se inferir que o biótipo resistente apresente o mecanismo de resistência atrelado a mudanças no local alvo, ou seja, na enzima EPSPS e não sequestro no vacúolo.

4.3.2 Mecanismo de Resistência – Relacionado ao Local de Ação

A avaliação do acúmulo de shiquimato em *Conyza bonariensis* foi realizada a partir da elaboração da curva-padrão de absorvância de shiquimato (Figura 2A), que gerou a seguinte equação linear: $Y = -0,0011 + 0,0489x$, com $R^2 = 0,99$.

Os resultados de acúmulo de shiquimato obtido para os biótipos de *C. bonariensis*, demonstraram, interação significativa (5%) entre biótipo x dose do herbicida. O valor do coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,97 e 0,98, para S e R, respectivamente, o que demonstra um ajuste satisfatório dos dados ao modelo (Tabela 2).

A partir das equações, foram calculados os valores da dose de *glyphosate* responsáveis por aumentar em 50% o acúmulo de shiquimato (AS_{50}) para os biótipos de *Conyza bonariensis*. As equações, por sua vez, comprovam que o biótipo R tem comportamento diferencial frente às doses crescentes do herbicida *glyphosate*.

A curva de shiquimato demonstra incremento significativo no acúmulo desse metabólito para ambos os biótipos de buva, em função do aumento da dose herbicida (Figura 3B). No entanto, para o biótipo S, o aumento no nível de controle se verificou em menor dose e com maior intensidade do que no biótipo R. A dose necessária para promover aumento em 50% no acúmulo de shiquimato em *C. bonariensis* (AS_{50}) foi de 11,58 e 1,00 mg e.a L^{-1} para os biótipos R e S, respectivamente (Tabela 2). O fator de resistência indica que o biótipo S é 11,58 vezes mais sensível ao *glyphosate* do que o R. No entanto, o nível de resistência observado para a atividade enzimática, ficou abaixo do encontrado para os estudo de curva-dose em condições variadas de temperaturas e fotoperíodo (Mecanismo de Resistência –

Não Relacionado ao Local de Ação), indicando para o biótipo R, a possível atuação de um mecanismo de resistência complementar.

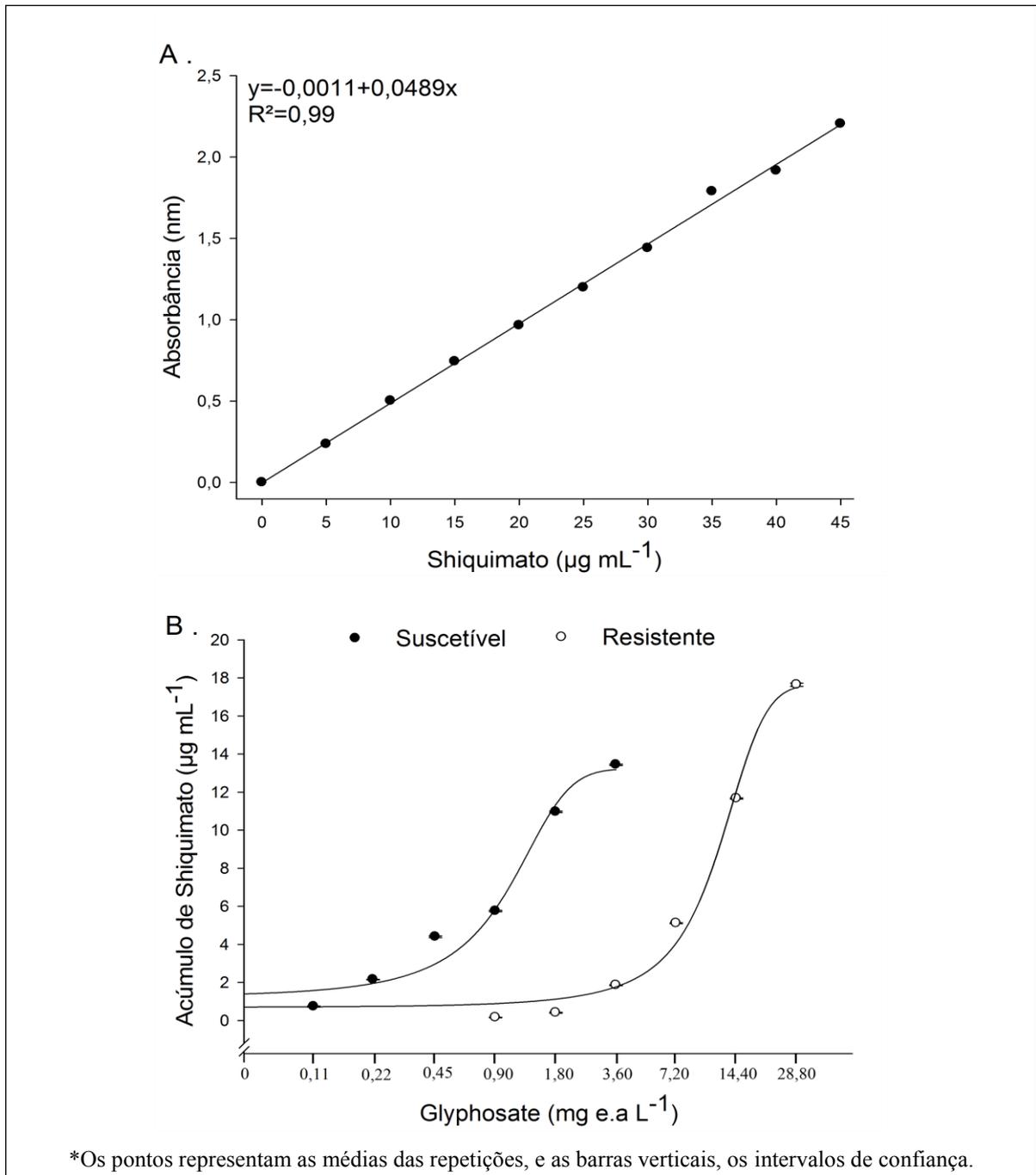


Figura 3 - Curva-padrão de shiquimato (A) e acúmulo de shiquimato em biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*. UFPel, Campus Capão do Leão – RS, 2013.

Tabela 2 - Equação^a utilizada para determinar a dose necessária para aumentar em 50% o acúmulo de shiquimato (AS₅₀) dos biótipos de *Conyza bonariensis* suscetível (S) e resistente (R) ao herbicida *glyphosate*. UFPel, Campus Capão do Leão - RS, 2013.

Biótipo	a	b	AS ₅₀ (mg e. a L ⁻¹)	R ^{2b}	FR ^c	Itr ^d
S	13,22	0,44	1,00	0,97	---	8
R	17,64	3,64	11,58	0,98	11,58	8

^a Equação sigmoideal $Y=a/(1 + \exp(-(X - X_{a50})^b))$, onde $X_{a50}=AS_{50}$ ($p < 0,05$)

^b Coeficiente de determinação.

^c Fator de Resistência= AS_{50R}/AS_{50S}

^d Itr= número de iterações utilizadas para ajustar os parâmetros da equação.

Acúmulo de ácido shiquimico diferencial após o tratamento com *glyphosate* pode ocorrer quando biótipos diferem entre si na sensibilidade ao herbicida, por diferenças no local-alvo (POWLES & PRESTON, 2006). Reduzido acúmulo de shiquimato também foi relatado por Nol et al. (2012) em biótipos de *Conyza canadensis* resistentes ao *glyphosate*, que para a maior dose herbicida, 3,6 mg e.a L⁻¹, obteve acúmulo cerca de 28 vezes inferior ao biótipo suscetível, caracterizando resistência por mudança na suscetibilidade da enzima EPSPS. Deste modo, corroborando com os resultados deste estudo e permitindo inferir que a enzima 5-enolpiruvil-shiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) do biótipo R apresenta menor afinidade pela molécula de *glyphosate*, o que possibilita a esta, manter-se em atividade, mesmo com a presença de doses superiores de herbicida. Assim sendo, não se observa o acúmulo do shiquimato e mantém-se a produção dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) de sua rota metabólica, possibilitando o desenvolvimento da planta após o tratamento herbicida. Wakelin & Preston (2006), observaram menor acúmulo de shiquimato em população de *Lolium rigidum* resistente ao *glyphosate* e posteriormente através do sequenciamento do gene que codifica a EPSPS, comprovaram mutação na posição 106, onde ocorreu a troca de uma prolina para treonina. Deste modo, é possível correlacionar mudança de sensibilidade na enzima EPSPS ao *glyphosate*, a partir da avaliação do acúmulo de shiquimato.

Em estudo com biótipos de *Digitaria insularis*, suscetíveis e resistentes, não foi verificada diferença no acúmulo shiquimato até 72 horas após a aplicação de *glyphosate*, indicando que a enzima EPSPS não apresentava diferencial suscetibilidade ao herbicida (CARVALHO et al., 2012). Contudo, trabalhos realizados com *C. canadensis* relatam que a quantidade de ácido shiquimico decresce em plantas submetidas a tratamentos com *glyphosate*, após 3-4 dias da aplicação do herbicida, indicando a atuação de mecanismo de resistência não atrelado à enzima alvo, mas sim, a metabolismo diferencial e translocação

reduzida (MUELLER et al., 2008; CHODOVÁ et al., 2009; GONZÁLEZ-TORRALVA, et al., 2012).

O mecanismo de resistência que possivelmente seja responsável pela resistência no biótipo de *Conyza bonariensis* em questão, aparentemente não está atrelado ao sequestro de herbicida para o vacúolo, uma vez que sob condições de baixas temperaturas e fotoperíodo reduzido, a resistência se manteve, indo em desencontro com o observado por Ge et al. (2011), que observaram reversão da resistência nessas condições. Entretanto, o mecanismo de resistência parece estar relacionado com uma alteração no local-alvo, onde a atividade da enzima EPSPS do biótipo resistente manteve-se elevada mesmo após exposição a doses de *glyphosate* capazes de inibirem a atividade da enzima no biótipo suscetível. Contudo, a resistência em *C. bonariensis* pode não ser resultado apenas da insensibilidade da enzima, mas ainda da superexpressão desta, ou ainda da atuação de mais de um mecanismo de resistência, exigindo para completo entendimento estudos complementares.

4.4 LITERATURA CITADA

CARVALHO L.B. DE., et al. Pool of resistance mechanisms to *glyphosate* in *Digitaria insularis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.615–622, 2012.

CHODOVÁ D. et al.. Horseweed with reduced susceptibility to *glyphosate* found in the Czech Republic. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.6957–6961, 2009.

FENG, P. C. C. et al. Investigations into *glyphosate*-resistant horseweed (*Conyzacandensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. **Weed Science**, v.52, p.498-505, 2004.

FERREIRA, E.A. et al. *Glyphosate* translocation in hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) biotypes. **Planta Daninha**, v.26, p.637-643, 2008.

GAINES, T. A. et al. Gene amplification confers *glyphosate* resistance in *Amaranthus palmeri*. **Academy of Sciences of the United States of America**, v.107, p.1029-1034, 2010.

GE, X. et al. *Glyphosate*-resistant horseweed made sensitive to *glyphosate*: low-temperature suppression of *glyphosate* vacuolar sequestration revealed by ^{31}P NMR. **Pest Management Science**, v.67: p.1215–1221,2011.

GE, X. et al. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed *glyphosate* resistance mechanism. **Pest Management Science**, v.66, p.345-348, 2010.

GE, X. et al. Vacuolar *Glyphosate* - Sequestration Correlates with *Glyphosate* Resistance in Ryegrass (*Lolium* spp.) from Australia, South America, and Europe: A ^{31}P NMR Investigation. **Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.1243–1250, 2012.

GONZÁLEZ-TORRALVA et al. Two non-target mechanisms are involved in *glyphosate*-resistant horseweed (*Conyzacanadensis* L. Cronq.) biotypes. **Journal of Plant Physiology**, v.169, p.1673–1679, 2012.

HEAP, I. **International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org/In.asp>. Acesso em: 06 janeiro 2014.

HENRY, W.B., et al. Shikimate accumulation in sunflower, wheat, and proso millet after *glyphosate* application. **Weed Science**, n.55, p.1–5, 2007.

KOGER, C.H. et al. Role of absorption and translocation in the mechanism of *glyphosate* resistance in horseweed (*Conyzacanadensis*). **Weed Science**, v.53, p.84–90, 2005.

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

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

MUELLER, T.C., et al. Shikimate accumulation in nine weedy species following *glyphosate* application. **Weed Research**, v.48, p.455–460, 2008.

NANDULA, V. K. et al. *Glyphosate* tolerance mechanism in Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum*) from Mississippi. **Weed Science**, v.56, p.344-349, 2008.

NG, C. H. et al. Gene polymorphisms in *glyphosate*-resistant and -susceptible biotypes of *Eleusine indica* from Malaysia. **Weed Research**, v.43, p.108-115, 2003.

NOL, N., et al. Shikimate leaf disc assay for early detection of *glyphosate* resistance in *Conyzacananadensis* and relative transcript levels of EPSPS and ABC transporter genes. **Weed Research**, v.52, p.233–241, 2012.

POWLES, S. B.; PRESTON, C. Evolved *glyphosate* resistance in plants: biochemical and genetic basis of resistance. **Weed Technology**, v. 20, p. 282-289, 2006.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v.61, p.317-347, 2010.

SAARI, L. L., et al. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In: POWLES, S. B.; HOLTUM, J. A. M. **Herbicide resistance in plants: Biology and biochemistry**. Boca Raton: CRC Press, p.353, 1994.

SALAS, R.A. et al. EPSPS gene amplification in *glyphosate*-resistant Italian 1 ryegrass (*Lolium perenne* ssp multiflorum) from Arkansas, USA. **Pest Management Science**, v.68, p.1223–1230, 2012.

SERVICE RF, A. Growing threat down on the farm. **Science**, v.316, p.1114–1117, 2007.

SHANER, D.L., et al. A rapid in vivo shikimate accumulation assay with excised leaf discs. **Weed Science**, v.53: p.769–774, 2005.

TREZZI, M. M. Et al. Resistência ao *glyphosate* em biótipos de buva (*Conyza* spp.) Das regiões oeste e sudoeste do Paraná. **Planta Daninha**, v.29, p.1113-1120, 2011.

VARGAS, L. et al. *Conyza bonariensis* resistente ao *glyphosate* na Região Sul do Brasil. **Planta Daninha**, v. 25, p. 573-578, 2007.

VIDAL, R. A. et al. Definindo resistência aos herbicidas. **Revista Plantio Direto**, v. 2007, p.18-19, 2007.

VILA-AIUB, M. M., P., et al. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. **New Phytologist**, v.184: p.751-767, 2009.

VILA-AIUB, M. M., et al. *Glyphosate* resistance in *Sorghum halepense* and *Lolium rigidum* is reduced at suboptimal growing temperatures. **Pest Management Science**, v.69, p.228–232, 2013.

WAKELIN, A.M; PRESTON, A, C. Target-site mutation is present in a *glyphosate* resistant *Lolium rigidum* population. **Weed Research**, v.46, p.432–440, 2006.

WERCK-REICHHART, D., A., et al. Cytochromes P450 for engineering herbicide tolerance. **Trends in Plant Science**, v.5: p.116-123, 2000.

YU, Q. et al. *Glyphosate*, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. **Planta**, v.225, p.499-513, 2009.

5 DISCUSSÃO

As plantas daninhas, organismos vegetais que interferem negativamente nos ecossistemas agrícolas, estão presentes e causam prejuízos nas áreas de produção agrícola. No sul do Brasil, em especial em áreas cultivadas com soja, a espécie *Conyza bonariensis*, popularmente conhecida como buva, tornou-se a principal planta daninha da cultura, ocasionando elevadas perdas de produtividade. A buva é considerada uma espécie daninha “agressiva”, pela sua alta capacidade adaptativa aos sistemas de cultivo conservacionistas, elevada quantidade de sementes viáveis produzidas e mais recentemente, por evoluir como resistente ao herbicida *glyphosate*. Esse herbicida foi por muitos anos a principal - quando não a única - forma de controle empregada sobre a buva, com aplicações repetitivas ano a ano, culminando na resistência a essa molécula herbicida.

Neste cenário, biótipos com suspeita de apresentarem resistência ao *glyphosate* surgiram e se disseminaram por toda a região sul do Brasil. Estudos confirmaram a presença de plantas resistentes a esse herbicida já em 2007 (Moreira et al., 2007; Vargas et al., 2007). Contudo, o nível de resistência observado para *Conyza bonariensis* não superava fatores de resistência (FR) = 10, caracterizando uma resistência de baixo nível e inferindo para mecanismos de resistência não ligados a enzima alvo do *glyphosate*, a EPSPS. Porém, o mecanismo de resistência presente na espécie *C. bonariensis* não é plenamente elucidado. Somando-se a isso, estudos de habilidade adaptativa desenvolvidos com *Lolium multiflorum* e ensaios preliminares com *C. bonariensis* resistentes (R) ao *glyphosate* sugeriam perda da capacidade competitiva por parte dos biótipos R. No entanto, em trabalho desenvolvido por Shrestha et al. (2010) com *C. canadensis*, foram observados resultados divergentes, onde plantas resistentes ao *glyphosate* se mostraram mais competitivas que as suscetíveis.

No presente estudo, já no primeiro experimento do Artigo I, foi possível perceber que a evolução da resistência na espécie *C. bonariensis* tinha atingido nível elevado. Fato este, que pode ser comprovado pelo FR observado, que foi superior a 50 em todas as variáveis consideradas. Fatores de resistência dessa magnitude, referentes ao *glyphosate* não haviam sido anteriormente relatados. Neste cenário, o herbicida *glyphosate* deixa de ser uma ferramenta viável no controle da buva, sendo necessária a utilização de herbicidas alternativos associados a outros métodos de manejo, como o controle cultural, utilização de plantas cobertura na entre-safra e rotação de culturas. Sendo assim, o experimento utilizando

herbicidas com mecanismos alternativos de controle comprovou primeiramente a não existência de resistência múltipla nos biótipos em estudo, uma vez que todos os herbicidas alternativos ao *glyphosate* apresentaram controle satisfatório. Entretanto, ressalta-se a dependência da utilização desses produtos, em especial os herbicidas de contato em estádios iniciais de desenvolvimento, de forma a evitar rebrotes e perdas na eficiência do controle.

No Artigo II, ao avaliar a adaptabilidade dos biótipos R e S ao *glyphosate*, a partir do acompanhamento do desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, foi possível comprovar a superior capacidade de desenvolvimento, acúmulo de matéria seca e produção de sementes pelo R. Esses resultados demonstram que mesmo apresentando capacidade de resistir a elevadas doses do herbicida *glyphosate* como relatado no Artigo I, o biótipo R não apresentou “custo” adaptativo no seu desenvolvimento e, pelo contrário, mesmo na ausência da aplicação do herbicida se mostrou mais adaptado em relação ao biótipo S. De forma geral, as variáveis mensuradas convergiram de modo a garantir o desempenho final superior do biótipo R. Nesse contexto, pequenos ganhos nos primeiros estádios de desenvolvimento, como o observado para as variáveis números de folhas e índice de clorofila, resultaram em ganho significativamente elevados no acúmulo de massa seca final, redução do ciclo biológico e na elevada quantidade de sementes produzidas.

As plantas de buva R foram capazes de apresentar superior valor adaptativo em ambas as condições de condução dos estudos - inverno e verão - demonstrando deste modo que a resistência não causou prejuízos ao seu desenvolvimento em condições de altas ou baixas temperaturas e fotoperíodos distintos. Corroborando com esses resultados, no Artigo III, experimento I, observa-se que mesmo sob condições de baixas temperaturas e fotoperíodo reduzido, os altos FRs observados no experimento de curva-de-dose em casa de vegetação (Artigo I) foram mantidos, discordando de GE et al. (2011) que observou reversão da resistência ao *glyphosate* em *C. canadensis* submetida a condições de inverno. Esses autores relatam que esse comportamento decorre porque o mecanismo de resistência envolvido no referido estudo é o sequestro do herbicida para o vacúolo, e sobre tais condições de temperatura e fotoperíodo os carregadores responsáveis pelo sequestro tornam-se menos eficientes e o herbicida consegue atingir o alvo, tornando a planta novamente suscetível. Para as condições do clima do sul do Brasil, se esse comportamento fosse observado poderiam ser traçadas estratégias de manejo da buva durante o período de inverno, onde o *glyphosate* se tornaria eficiente no controle, novamente. Contudo, não se observou a reversão da resistência, inferindo sobre a atuação de outro (s) mecanismo(s) de resistência.

Quando conduzido o experimento nas condições de verão, altas temperaturas e fotoperíodo elevado observam-se reduções significativas na C_{50} e GR_{50} de ambos os biótipos. Pode-se especular sobre a reduzida capacidade das câmaras tipo B.O.D em fornecer luminosidade para as plantas sob essas condições, ocasionando menor capacidade de resistir ao herbicida. Salienta-se que o FR foi reduzido, mas as plantas do biótipo R ainda foram capazes de resistir a doses de *glyphosate* cerca de 22x superiores ao biótipo S. Contudo, a dose responsável pela morte de 50% da população (DL_{50}) do biótipo R ficou abaixo da dose máxima de registro para a espécie, inferindo sobre a suscetibilidade do biótipo R ao *glyphosate* em condições de alta temperatura e fotoperíodo prolongado. Neste contexto, estudos do efeito dessa condição sobre a resistência ao *glyphosate* passam a ser necessários uma vez que são raros trabalhos deste gênero. Ainda, poderá se correlacionar e/ou avaliar alterações climáticas como o aumento de temperatura e concentração de gás carbônico sobre a incidência, persistência e expressão da resistência ao *glyphosate* em *C. bonariensis*.

O insucesso obtido na tentativa de reverter a resistência com a atuação da temperatura (Artigo III) e o alto nível de resistência observado (Artigo I) passam a ter uma possível resposta a partir do menor acúmulo de shiquimato demonstrado pelo biótipo R frente ao biótipo S, quando estes foram submetidos a doses crescentes de *glyphosate*. Esses resultados possibilitam inferir sobre a ocorrência de um mecanismo de resistência atrelado ao alvo do *glyphosate*, ou seja, ligado à enzima EPSPS. Assim sendo, duas hipóteses são plausíveis na elucidação do mecanismo de resistência em *C. bonariensis*; a primeira hipótese estaria fundamentada na ocorrência de uma mutação no gene que codifica a enzima EPSPS, como o relatado por Wakelin & Preston (2006) em *Lolium rigidum*; a segunda hipótese a insensibilidade da enzima estaria ocorrendo pela superexpressão do gene que codifica a EPSPS, concordando com o relatado por Salas et al. (2012), também para a espécie *L. rigidum* resistente ao *glyphosate*. Portanto, de modo a elucidar o mecanismo de resistência em *Conyza bonariensis*, trabalhos de sequenciamento genético poderá comprovar a existência ou ausência de mutação na enzima EPSPS, assim como a avaliação da expressão genica da enzima alvo do *glyphosate*.

A partir confirmação do elevado nível de resistência da buva e da superior capacidade competitiva do biótipo R é possível sugerir uma mudança na concepção de nível satisfatório de controle atual (80%) para a espécie *Conyza bonariensis*, uma vez que o não controle de apenas uma planta por m^2 , poderá significar a produção de mais de 800.000 sementes nessa área. Deste modo, controle de buva em áreas não agrícolas e áreas em pousio torna-se ferramenta importante na redução de infestações futuras. Entretanto, apesar da imensa

quantidade de sementes produzidas e de seu elevado vigor inicial, informações da viabilidade destas no solo por maiores períodos de tempo e a dinâmica do banco de sementes da espécie são raros ou inesistentes, fazendo-se necessário mais estudos deste gênero. Por fim, torna-se importante o monitoramento da expansão da resistência ao *glyphosate*, bem como a evolução de casos de resistência multipla a difentes herbicidas, como ferramenta de manejo da espécie daninha.

6 LITERATURA CITADA

AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. **Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas no Brasil**. Passo Fundo: Berthier, 2009.

ANDERSON, D. D. et al. Competition between triazine-resistant and -susceptible common waterhemp (*Amaranthus rudis*). **Weed Science**, v.44, p.853–859,1996.

FENG, P. C. C. et al. Investigations into *glyphosate*-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. **Weed Science**, v.52, p.498-505, 2004.

FERREIRA, E.A. et al. *Glyphosate* translocation in hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) biotypes. **Planta Daninha**, v.26, p.637-643, 2008.

GAINES, T. A. et al. Gene amplification confers *glyphosate* resistance in *Amaranthus palmeri*. **Academy of Sciences of the United States of America**., v.107, p.1029-1034, 2010.

GE, X. et al. *Glyphosate*-resistant horseweed made sensitive to *glyphosate*: low-temperature suppression of *glyphosate* vacuolar sequestration revealed by ³¹P NMR. **Pest Management Science**, v.67: p.1215–1221,2011.

GE, X. et al. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed *glyphosate* resistance mechanism. **Pest Management Science**, v.66, p.345-348, 2010.

GE, X. et al. Vacuolar *Glyphosate* - Sequestration Correlates with *Glyphosate* Resistance in Ryegrass (*Lolium* spp.) from Australia, South America, and Europe: A ³¹P NMR Investigation. **Agricultural and Food Chemistry**. v.60, p.1243–1250, 2012.

HANSON, B. D.; SHRESTHA, A.; SHANER, D. Distribution of *glyphosate* resistant horseweed (*Conyza canadensis*) and relationship to cropping systems in the Central Valley of California. **Weed Science** v.57,p.48–53, 2009.

HART, J.J.; DI TOMASO, J.M. Sequestration and Oxygen Radical Detoxification as Mechanisms of Paraquat Resistance. **Weed Science**, v.42, p.277-284, 1994.

HARC-BR. **Crêterios para relatos oficiais estatísticos de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas**. Disponível em: <http://www.hrac-br.com.br/arquivos/criteriosrelatos.pdf>. Acesso em: 16 de fevereiro de 2014.

HEAP, I. **International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org/In.asp>. Acesso em: 08 de janeiro 2014.

JASIENIUK, M. Constraints on the evolution of *glyphosate* resistance in weeds. **Resistant Pest Management**, v.7, p.31-32, 1995.

JASIENIUK, M. et al. Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in California: distribution, response to glyphosate, and molecular evidence for an altered target enzyme. **Weed Science**. v.56, p.496-502, 2008.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. Plantas infestantes e nocivas. São Paulo: **BASF**, p.789, 1999.

KRUEZ, K. et al. Old enzymes for a new job. **Plant Physiology**, v.111, p.349-353, 1996.

LAMEGO, F. P. Molecular basis of resistance to ALS-inhibitor herbicides in greater beggarticks. **Weed Science**, v.57, p.474–481, 2009.

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

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

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

LÓPEZ-OVEJERO, R. F. et al. Alternativas de manejo químico da planta daninha *Digitaria ciliaris* resistente aos herbicidas inibidores da ACCase na cultura da soja. **Planta Daninha**, v.24, p.399-406, 2006.

MOREIRA, M.S. et al. Resistência de *Conyza canadensis* E *C. Bonariensis* ao herbicida *glyphosate*. **Planta Daninha**, v.25, p.157-164, 2007.

NG, C. H. et al. Gene polymorphisms in *glyphosate*-resistant and -susceptible biotypes of *Eleusine indica* from Malaysia. **Weed Research**, v.43, p.108-115, 2003.

POWLES, S. B.; PRESTON, C. **Herbicide cross resistance and multiple resistance in plants**. Disponível em: <http://ipmwww.ncsu.edu/orgs/hrac/mono2.htm>, p.26, 1998.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v.61, p.317-347, 2010.

POWLES, S.B.; SHANER, D.L. **Herbicide resistance and wold grains**. Boca Raton: CRC Press, 2001.

ROSO, A.C.; VIDAL, R.A. A modified phosphate-carrier protein theory is proposed as a Non-target site mechanism for *glyphosate* resistance in Weeds. **Planta Daninha**, v.28, p.1175-1185, 2010.

RYAN, G.F. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. **Weed Science**, v.18, p.614-616,1970.

SALAS, R.A. et al. EPSPS gene amplification in *glyphosate*-resistant Italian 1 ryegrass (*Lolium perenne* ssp multiflorum) from Arkansas, USA. **Pest Management Science**, v.68, p.1223–1230, 2012.

SEEFELDT, S.S. et al. Log-logistic analysis oh herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, v.9, n.2, p.218-227, 1995.

SHAALTIEL, I; GRESSEL, J. Kinetic Analysis of Resistance to Paraquat in *Conyza*. **Plant Physiology**, v.85, p. 869-871, 1987.

SHRESTHA, A. et al. Growth, Phenology, and Intraspecific Competition between *Glyphosate*-Resistant And *Glyphosate*-Susceptible Horseweeds (*Conyza canadensis*) in the San Joaquin Valley of California. **Weed Science**, v.58, p.147-153, 2010.

SIBONY, M., RUBIN, B. The ecological fitness of ALS-resistant *Amaranthus retroflexus* and multiple-resistant *Amaranthus blitoides*. **Weed Research**, v.43, p.40–47, 2003.

STREIBIG, J.C.; RUDEMO, M.; JENSEN, J.E. Dose-response curves and statistical models. In: STREIBIG, J.C; KUDSK, P. (Ed.) **Herbicide bioassay**, p.30-35. 1993.

VARGAS, L. et al. *Conyza bonariensis* resistente ao *glyphosate* na Região Sul do Brasil. **Planta Daninha**, v.25, p.573-578, 2007.

VARGAS, L. et al. Identification of *glyphosate*-resistant ryegrass (*Lolium multiflorum*) biotypes in apple orchards. **Planta Daninha**, v.22, p.617-622, 2004.

VARGAS, L. et al. Resistência de *Conyza bonariensis* ao herbicida *glyphosate*. In: Congresso Brasileiro DE Ciência das Plantas Daninhas. Brasília. **Resumos...** Londrina: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, p.540, 2006.

VIDAL, R.A.; MEROTTO Jr., A. **Herbicidologia**. Evangraf, 1ed, 2001.

WAKELIN, A.M; PRESTON, A, C. Target-site mutation is present in a *glyphosate* resistant *Lolium rigidum* population. **Weed Research**, v.46, p.432–440, 2006.

YU, Q. et al. *Glyphosate*, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. **Planta**, v.225, p.499-513, 2009.