

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

SANTOS, F. M. (IFRS – Sertão, Sertão/RS – fernando.machado@sertao.ifrs.edu.br), VARGAS, L. (Embrapa Trigo – Passo Fundo/RS – vargas@cnpt.embrapa.br), CHRISTOFFOLETI, P. J. (ESALQ / USP, Piracicaba/SP – pjchrist@esalq.usp.br), MARIANI, F. (PPGFs - UFPel, Pelotas/RS – marianifranciele@gmail.com), AGOSTINETTO, D. (UFPel, Capão do Leão/RS – dirceu.agostinnetto@pq.cnpq.br)

**RESUMO:** A buva (*Conyza* spp.) é uma planta daninha anual, infesta lavouras de soja na região Sul do Brasil, onde o chlorimuron-ethyl é um dos herbicidas mais utilizados para o seu controle. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a suscetibilidade de biótipos de buva ao herbicida chlorimuron-ethyl. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação e laboratório em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro e três repetições, respectivamente. Os tratamentos utilizados no primeiro experimento para a elaboração das curvas de dose resposta foram cinco doses do herbicida chlorimuron-ethyl (0,0; 1,56; 3,13; 6,25 e 12,5 g i.a ha<sup>-1</sup>), aplicadas sobre cinco biótipos de buva, no estágio fenológico de 3 a 4 folhas. Em laboratório foi realizada a extração da enzima acetolactato sintase (ALS), de três biótipos de buva, e a inibição *in vitro* da enzima foi avaliada com diferentes doses do herbicida chlorimuron-ethyl (0, 0,002, 0,004, 0,006, 0,008, 0,010 e 0,012 µM). As variáveis avaliadas foram percentagem visual de controle aos 7, 14 e 21 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT) e massa seca da parte aérea aos 21 DAT, em relação à testemunha sem aplicação de herbicida, para o primeiro experimento, e percentagem de inibição da enzima *in vitro* na presença do herbicida em relação à testemunha. Concluiu-se que há suscetibilidade diferencial entre os biótipos nas doses menores que 20 g i.a ha<sup>-1</sup> (curvas de dose resposta). No entanto, o biótipo 17 apresentou fator de resistência de 13,5, na inibição da ALS *in vitro*, na presença do herbicida em relação à testemunha, evidenciando resistência de nível baixo ao chlorimuron. As consequências práticas são a indicação da aplicação do herbicida chlorimuron-ethyl na dose máxima registrada (20 g i.a ha<sup>-1</sup>) e que a prática de rotação de mecanismos de ação seja usada no manejo químico dessas áreas.

**Palavras-chave:** controle químico, buva, resistência nível baixo, ALS

### INTRODUÇÃO

Na região Sul do Brasil a soja é uma das principais culturas, sendo a buva a planta daninha mais importante. A seleção da buva na cultura da soja ocorreu devido ao uso recorrente do glyphosate após a introdução da soja resistente a esse herbicida, como

constatado para *C. bonariensis* (VARGAS et al., 2007), *C. canadenses* (MOREIRA et al., 2007) e *C. sumatrensis* (SANTOS, 2012).

Com a identificação da resistência ao glyphosate em biótipos de *C. bonariensis* e *C. canadenses*, no Rio Grande do Sul, outros herbicidas passaram a ser associados ao glyphosate para obter o controle dessas espécies, dentre eles o chlorimuron-ethyl. Ele atua nas plantas inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS), impedindo a síntese dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina, o que interrompe a síntese de proteínas, que por sua vez, interfere na síntese de DNA e no crescimento da planta (RODRIGUES e ALMEIDA, 2011).

Após a identificação de buva resistente ao glyphosate no Rio Grande do Sul, o uso contínuo do herbicida chlorimuron-ethyl pode ter selecionado biótipos resistentes aos inibidores da ALS, uma vez que tem se observado falhas de controle e redução da eficácia desse produto sobre a buva. Diante desse cenário, o objetivo do trabalho foi avaliar a suscetibilidade de biótipos de buva ao herbicida chlorimuron-ethyl.

## MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, foram coletadas 25 amostras de biótipos de buva (*Conyza* spp.) em 9 municípios, localizados na região do planalto médio do Rio Grande do Sul, em áreas onde houve problemas no controle da planta daninha. Os biótipos foram submetidos à três doses do chlorimuron-ethyl (6,25; 12,5; 25,0 g i.a. ha<sup>-1</sup>) e os resultados evidenciaram que todos os biótipos de buva avaliados foram controlados com a dose máxima de registro do chlorimuron (20 g i.a. ha<sup>-1</sup>), no estágio de desenvolvimento de 3 - 4 folhas, descartando hipótese de resistência ao herbicida. No entanto, foram observados diferentes níveis de suscetibilidade entre os biótipos e em resposta as doses discriminatórias de chlorimuron-ethyl testadas, portanto, doses menores foram utilizadas para verificar a diferença de suscetibilidade entre os biótipos.

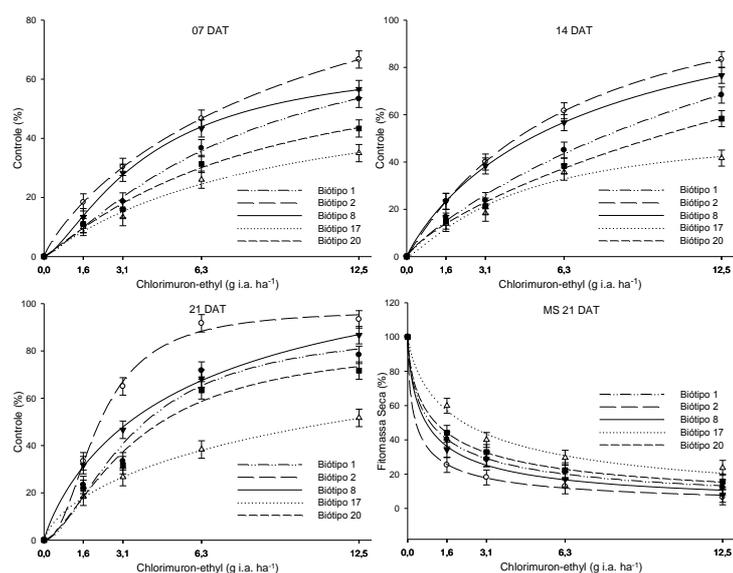
Os biótipos selecionados foram denominados de 1, 17 e 20, considerados com menor nível de sensibilidade, e os biótipos 2 e 8, considerados de maior sensibilidade ao herbicida chlorimuron-ethyl. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial com 5 biótipos e 5 doses de chlorimuron-ethyl (0,0; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5 g ha<sup>-1</sup>), três plantas por unidade experimental e quatro repetições. A aplicação dos tratamentos foi realizada, quando as plantas de buva atingiram estágio de 3-4 folhas, com uso de pulverizador costal pressurizado por CO<sub>2</sub>, equipado com pontas do tipo leque Teejet XR 115.02, espaçadas em 0,5 m, e volume de calda de 150 L ha<sup>-1</sup>, pressão de trabalho de 1,62 kgf cm<sup>-2</sup>. As variáveis avaliadas foram controle visual (%) aos 7, 14 e 21 DAT e massa seca (g ha<sup>-1</sup>) da parte aérea da planta. Os valores de massa foram transformados para valores percentuais.

Para os biótipos 2, 17 e 20 foi realizada a extração da enzima ALS seguindo a metodologia utilizada por Dal Magro et al. (2010) e a percentagem de inibição *in vitro* da atividade da enzima foi realizada com a adição de doses crescentes do herbicida chlorimuron (0, 0,002, 0,004, 0,006, 0,008, 0,010 e 0,012  $\mu\text{M}$ ). O experimento foi realizado em delineamento experimental completamente casualizado com três repetições. A atividade da enzima foi quantificada através da quantidade de acetoína produzida, avaliada em espectrofotômetro (530 nm). Os valores de absorbância foram corrigidos por meio da subtração do valor do controle zero. Os valores obtidos foram usados para calcular a dose necessária para inibir 50% da atividade da enzima ( $I_{50}$ ) e o fator de resistência (FR), o qual foi calculado pela divisão do  $I_{50}$  do biótipo resistente pelo correspondente ao do biótipo suscetível.

Os dados obtidos foram analisados quanto a sua homocedasticidade, e posteriormente submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ). Quando significativo, os dados foram ajustados ao modelo de regressão não linear log-logístico. A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa SigmaPlot 10.0, ajustando-se os dados à equação de regressão sigmoideal do tipo logístico proposto por Streibig (1988).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

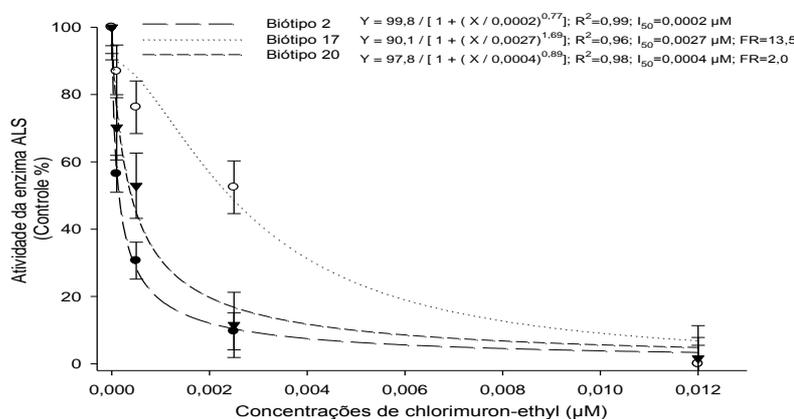
Para o experimento de dose resposta os resultados indicaram que os biótipos de *Coryza* spp. apresentam respostas diferenciadas e com o mesmo padrão, para doses do herbicida chlorimuron-ethyl avaliadas aos 7, 14 e 21 DAT (Figura 1).



**Figura 1.** Percentual visual de controle (Controle %) e percentual da massa seca (MS) da parte aérea em relação a dose 0,0 de chlorimuron-ethyl, em cinco biótipos de *Coryza* spp., em função da aplicação de diferentes doses de chlorimuron-ethyl, avaliados aos 7, 14 e 21 dias após o tratamento (DAT). As barras verticais representam 95% de intervalo de confiança. Passo Fundo RS, 2011, DAT = dias após o tratamento herbicida.

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

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



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

Na maioria dos casos de resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS, o mecanismo da resistência é decorrente de alteração da ALS no sítio de ação do herbicida, que a torna insensível (DAL MAGRO et al., 2010). As alterações no local de ação do herbicida geralmente decorrem de mutações nos genes que codificam a enzima (DEVINE e SHUKLA, 2000), resultando em redução da afinidade da enzima com os inibidores (herbicidas), porém com ausência ou reduzida perda da função enzimática (TRANEL e WRIGHT, 2002). No caso do biótipo 17, observou-se menor inibição da ALS pelo herbicida chlorimuron comparado com os biótipos 2 e 20 (Figura 2). É provável que tenha ocorrido alguma alteração na enzima ALS do biótipo 17 que resultou na menor sensibilidade ao chlorimuron, conforme observado por Tranel e Wright (2002).

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

Assim, os resultados deste trabalho permite sugerir que em situações onde o chlorimuron-ethyl é usado em associação com o glyphosate, para controle de populações de buva resistentes ao glyphosate, sua dose deve ser a máxima registrada ( $20 \text{ g i.a ha}^{-1}$ ) e a aplicação realizada quando a buva estiver em estágio vegetativo de 3 a 4 folhas.

### CONCLUSÃO

Biótipos de buva apresentam suscetibilidade diferencial ao herbicida chlorimuron-ethyl em doses menores que a dose registrada ( $20 \text{ g i.a ha}^{-1}$ ). No entanto, o biótipo 17 apresentou fator de resistência de 13,5, na inibição da ALS *in vitro*, na presença do herbicida em relação à testemunha, evidenciando resistência de nível baixo ao chlorimuron.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DAL MAGRO, T. et al. Propriedades enzimáticas da enzima ALS de *Cyperus difformis* e mecanismo de resistência da espécie ao herbicida pyrazosulfuron-ethyl. **Ciência Rural**, v.40, n.12, p.2439-2445, 2010.
- DEVINE, M.D.; SHUKLA, A. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. **Crop Protection**, v.19, n.8 p.881-889, 2000.
- GAZZIERO, D.L.P. et al. Critérios para relatos oficiais estatísticos de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas. In: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. (Eds.). **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Passo Fundo: Berthier, 2009. p.91-101.
- MOREIRA, M.S.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 25, n. 01, p. 157-164, 2007.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6. ed. Londrina: 2011. 696 p.
- SANTOS, G. **Resistência múltipla ao glyphosate e ao chlorimuron-ethyl em biótipos de *Conyza sumatrensis***. 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Produção de Plantas) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.
- STREIBIG, J. C. Herbicide bioassay. **Weed Res.** V.28, n.1, p.479-484, 1988.
- TRANEL, P.J.; WRIGHT T.R. Resistance of weeds to ALS inhibiting herbicides: what have we learned? **Weed Science**, v.50, n.6, p.700-712, 2002.
- VARGAS, L. et al. Buva (*C. bonariensis*) resistente ao glyphosate na Região Sul do Brasil. **Planta Daninha**, v.25, n.3, p.573-578, 2007.