

## **EFEITO DO GLYPHOSATE SOBRE ACÚMULO DE ÁCIDO CHIQUÍMICO EM BIÓTIPOS DE *Conyza sumatrensis***

MARIANI, F. (PPGFs - UFPel, Capão do Leão/RS – marianifranciele@gmail.com), 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), AGOSTINETTO, D. (UFPel, Capão do Leão/RS – dirceu.agostinnetto@pq.cnpq.br), SILVA, D. R. O. (IFF – São Vicente do Sul, São Vicente do Sul/RS – diecsonros@hotmail.com)

**RESUMO:** O acúmulo de ácido chiquímico pode ser usado para determinar a resistência das plantas ao herbicida glyphosate, como no caso da buva (*Conyza spp.*), uma das principais plantas daninhas resistentes ao glyphosate na região sul do Brasil. O objetivo do trabalho foi avaliar o acúmulo de ácido chiquímico, após a aplicação do herbicida glyphosate, em quatro biótipos de *C. sumatrensis*, coletados no Estado do Rio Grande do Sul. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, em delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os tratamentos foram quatro biótipos de *C. sumatrensis* (2, 5, 17 e 20) e o glyphosate, na dose de 1.440 g e.a. ha<sup>-1</sup>, aplicado nos biótipos em estágio de 3 - 4 folhas. Para a determinação do ácido chiquímico, as plantas foram cortadas na superfície do solo aos 0 (antes da aplicação do herbicida), 3, 7, 10 e 14 dias após o tratamento (DAT), e, secas em estufa com temperatura de 60°C por 16 horas. Após as amostras atingirem massa constante, foram moídas em moinho com 2500 rpm, e armazenadas sob refrigeração (-10°C) até o momento da extração e determinação do ácido chiquímico. De acordo com os resultados, houve maior acúmulo de ácido chiquímico nos biótipos 2, 17 e 20, considerados suscetíveis ao glyphosate e menor acúmulo no biótipo 5, considerado resistente. O acúmulo de ácido chiquímico no biótipo 5 indica que o mecanismo de resistência não está relacionado com a insensibilidade total da EPSPs ao glyphosate e/ou que outros mecanismos de resistência podem estar envolvidos.

**Palavras-chave:** Buva, EPSPs, resistência

### **INTRODUÇÃO**

Atualmente, uma das principais discussões acerca do manejo de plantas daninhas nas culturas agrícolas está relacionada com a seleção de biótipos resistentes a herbicidas. O surgimento de plantas daninhas resistentes ocorre com maior frequência, em áreas onde há uso repetido de herbicidas do mesmo grupo químico ou pertencentes a diferentes grupos,

mas com o mesmo mecanismo de ação (GRESSEL e SEGEL, 1990). Assim, a utilização constante de tecnologias que envolvem Organismos Geneticamente Modificados (OGMs), associadas ao uso de glyphosate, contribuiu para o aumento da pressão de seleção e o aparecimento de biótipos resistentes à molécula do herbicida.

A buva (*Conyza* spp.) é uma das principais plantas daninhas resistentes ao glyphosate na região Sul do Brasil. Biótipos das espécies *C. bonariensis*, *C. canadensis* e *C. sumatrensis* foram relatadas como resistentes ao glyphosate em áreas de soja transgênica (LAMEGO e VIDAL, 2008; SANTOS, 2012).

A inibição da EPSPs resulta no acúmulo de ácido chiquímico nas plantas e na redução da biossíntese de aminoácidos aromáticos essenciais, como triptofano, tirosina e fenilalanina (ZABLOTOWICZ e REDDY, 2004). Assim, o acúmulo de ácido chiquímico em plantas pode ser usado para determinar se as plantas são resistentes ao herbicida glyphosate, quando o mecanismo de resistência for insensibilidade da EPSPs (CARVALHO et al., 2012). Deste modo, o objetivo do trabalho foi avaliar o acúmulo de ácido chiquímico, após a aplicação do herbicida glyphosate, em quatro biótipos de *C. sumatrensis*, coletados no Estado do Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação, em Passo Fundo/RS. Na primeira etapa do trabalho foram selecionados biótipos de buva resistentes ao herbicida glyphosate com dose discriminatória de 720 g e.a. ha<sup>-1</sup>. Os biótipos selecionados foram identificados como *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker (TELES et al., 2013) e denominados de biótipos 2, 17 e 20 (Lat: 28°00'20.40" N e Lon: 52°45'12.40" E; Lat: 28°07'28.00" N e Lon: 52°42'47.90" E e Lat: 28°18'06.51" N e Lon: 52°53'41.31" E, respectivamente), considerados de maior suscetibilidade ao glyphosate e biótipo 5 (Lat: 28°18'06.51" N e Lon: 52°53'41.31" E), resistente ao glyphosate.

A partir das sementes coletadas o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Os tratamentos foram quatro biótipos de *C. sumatrensis* (2, 5, 17 e 20). Os biótipos foram semeados em vasos com capacidade para 500 mL e mantidas 3 plantas por vaso. O glyphosate (1.440 g e.a. ha<sup>-1</sup>) foi aplicado com pulverizador costal pressurizado por CO<sub>2</sub>, equipado com pontas do tipo leque Teejet XR 115.02, espaçadas em 0,5 m, volume de calda de 150 L ha<sup>-1</sup> e pressão de trabalho de 1,62 kgf cm<sup>-2</sup> em estágio de 3 - 4 folhas.

Para a determinação do ácido chiquímico, as plantas foram cortadas na superfície do solo aos 0 (antes da aplicação do herbicida), 3, 7, 10 e 14 dias após o tratamento (DAT) e secas em estufa com temperatura de 60°C por 16 horas. Após as amostras atingirem massa constante, foram moídas em moinho com 2500 rpm, e armazenadas sob refrigeração (-

10°C) até o momento da extração e determinação do ácido chiquímico pelo método descrito por Matallo et al. (2009).

Os dados obtidos foram verificados quanto à homogeneidade da variância e posteriormente submetidos à ANOVA ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o software "ASSISTAT 7.6 BETA". Os valores referentes à concentração de ácido chiquímico nas folhas, quando constatada significância estatística pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), foram submetidos à análise de regressão para o fator épocas de avaliação, após o tratamento com o glyphosate em cada biótipo avaliado. A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa SigmaPlot 10.0, ajustando-se os dados à equação de regressão do modelo não-linear polinomial cúbico, conforme segue:

$$y = y_0 + ax + bx^2 + cx^3$$

onde:  $y$  = acúmulo de ácido chiquímico;  $x$  = dias após o aplicação de glyphosate; e  $y_0$ ,  $a$ ,  $b$  e  $c$  são os quatro coeficientes do modelo cúbico. As médias do acúmulo de ácido chiquímico nas equações foram representadas pelo intervalo de confiança em nível de 95%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

Após a aplicação do glyphosate, houve aumento significativo na concentração de ácido chiquímico até os 7 DAT, em todos os biótipos. Porém, esse aumento foi maior, em todas as épocas avaliadas, nos biótipos 2, 17 e 20, considerados suscetíveis ao herbicida glyphosate, comparados ao biótipo 5, resistente ao herbicida. O acúmulo de ácido chiquímico nos tecidos ocorre pela inibição competitiva da EPSPs pelo glyphosate (BRESNAHAN et al., 2003).

No biótipo 2 o pico máximo de concentração do ácido chiquímico endógeno foi de 25000  $\mu\text{g g}^{-1}$ , representando aumento de 133 vezes em relação à concentração do endógeno antes da aplicação do glyphosate (0 DAT). Para os biótipos 17 e 20, o aumento em relação à concentração do endógeno foi de 114 e 122, respectivamente. Relatos da literatura demonstram que o efeito mais rápido e drástico da aplicação de glyphosate em plantas sensíveis é o acúmulo de ácido chiquímico (BRESNAHAN et al., 2003) e têm sido usado como marcador para a sensibilidade da EPSPs ao herbicida glyphosate em plantas (GONZÁLEZ-TORRALVA et al., 2010). Portanto, considerando o acúmulo de ácido chiquímico os biótipos 2, 17 e 20 são sensíveis ao glyphosate.

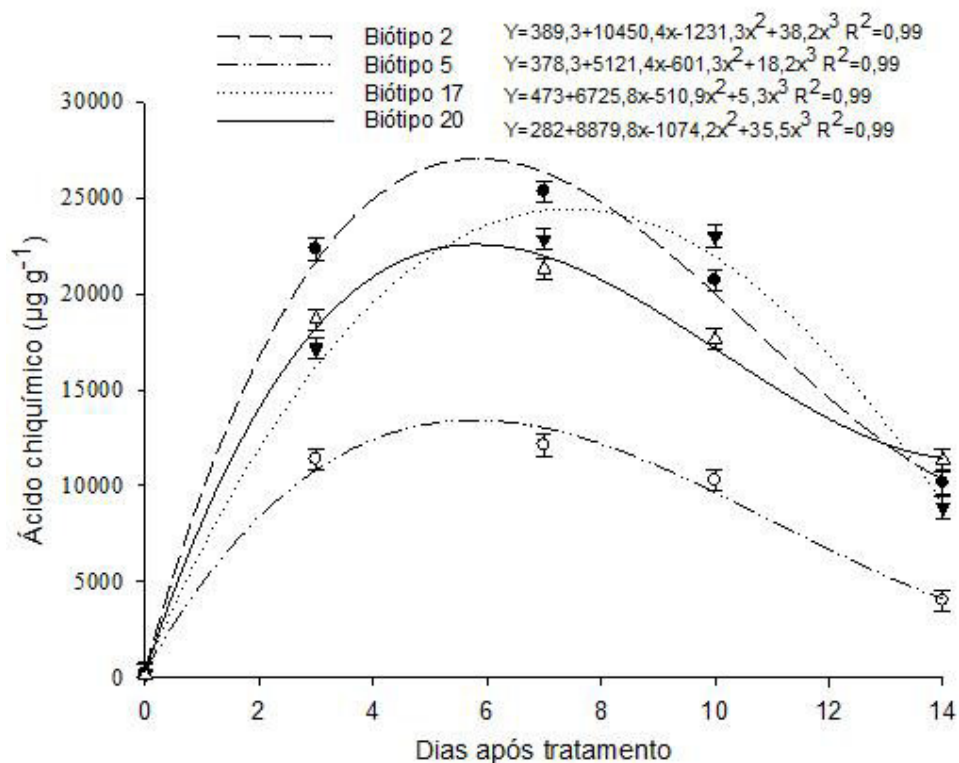


Figura 1. Acúmulo de ácido chiquímico em biótipos de *C. sumatrensis* (2, 5, 17 e 20) em função de dias após tratamento com glyphosate (1.440 g e.a. ha<sup>-1</sup>). As barras verticais representam 95% de intervalo de confiança. Passo Fundo RS, 2012.

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

Como houve acúmulo de ácido chiquímico no biótipo 5 pode-se inferir que o mecanismo de resistência não é resultado da insensibilidade total da EPSPs ao glyphosate. Caso houvesse total insensibilidade da EPSPs ao glyphosate não haveria acúmulo de ácido chiquímico, podendo então ser descartada a possibilidade de alteração do sítio de ação do herbicida no biótipo 5. Dentre os mecanismos de resistência das plantas daninhas ao glyphosate relatados na literatura destacam-se a translocação reduzida, amplificação do gene EPSPs em múltiplos cromossomos (GE et al., 2010) e metabolismo diferencial entre biótipos resistentes e suscetível (GONZÁLEZ-TORRALVA et al., 2012).

## CONCLUSÕES

O acúmulo de ácido chiquímico no biótipo 5 indica que o mecanismo de resistência não está relacionado com a insensibilidade total da EPSPs ao glyphosate e/ou que outros mecanismos de resistência podem estar envolvidos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRESNAHAN, G. A. et al. Glyphosate applied pre harvest induces shikimic acid accumulation in hard red spring wheat (*Triticum aestivum*). **Journal of Agriculture and Food and Chemistry**, v.51, n.14, p. 4004-4007, 2003.
- CARVALHO, L. B. et al. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, n. 2, p.615-622, 2012.
- DINELLI, G. et al. Physiological and molecular basis of glyphosate resistance in *Conyza bonariensis* (L.) Cronq. biotypes from Spain. **Weed Research**, v.48, n.3, p.257-265, 2008.
- FENG, P. C. C. et al. Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. **Weed Science**, v.52, n.4, p.498-505. 2004.
- GE, X. et al. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. **Pest Management Science**, v.66, n.4, p.345-348, 2010.
- GONZÁLEZ-TORRALVA, F. et al. Two non-target mechanisms are involved in glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.) biotypes. **Journal of Plant Physiology**, v.169, n.17, p.1673-1679, 2012.
- GONZÁLEZ-TORRALVA, F. et al. Differential susceptibility to glyphosate among the *Conyza* weed species in Spain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, n.7, p.4361-4366, 2010.
- GRESSEL, J.; SEGEL, L. A. Modeling the effectiveness of herbicide rotations and mixtures as strategies to delay or preclude resistance. **Weed Technology**, v.4, n.s/n, p.186-198, 1990.
- LAMEGO, F. P.; VIDAL, R. A. Resistência ao glyphosate em biótipos de *C. bonariensis* e *C. canadensis* no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.467-471, 2008.
- MATALLO, M. B. et al. Microwave-assisted solvent extraction and analysis of shikimic acid from plant tissues. **Planta Daninha**, v.27, n.spe, p.987-994, 2009.
- SANTOS, G. **Resistência múltipla ao glyphosate e ao chlorimuron-ethyl em biótipos de *Conyza sumatrensis***. 2012. 87 p. Dissertação (Mestrado em Produção de Plantas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.
- ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K .N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **Journal of Environmental Quality**, v.33, n.3, p.825-831, 2004.