

RESPOSTA DE BIÓTIPOS DE BUVA PROVENIENTES DE LAVOURAS ANUAIS DE SANTA CATARINA A DOSES CRESCENTES DE GLYPHOSATE

COSTA, F. R. (CAV/UDESC – Lages/SC – flav_regina@hotmail.com), ANSOLIN, H. H. (CAV/UDESC – Lages/SC – humbertoansolin@yahoo.com.br), STINGHEN, J. C. (CAV/UDESC – Lages/SC – jcstinghen@hotmail.com), GMACH, J. R. (UDESC – Lages/SC – jr.gmach@yahoo.com.br), CARVALHO, L. B. (CAV/UDESC – Lages/SC – leonardo.carvalho@udesc.br), COELHO, C. M. M. (CAV/UDESC – Lages/SC – cileide.coelho@udesc.br)

RESUMO – O objetivo foi testar biótipos de buva (*Conyza bonariensis*), provenientes de lavouras anuais de Santa Catarina, com suspeita de resistência ao herbicida glyphosate. Plantas de três biótipos (S1 – Lages, S2 – Papanduva, e R – Campos Novos; S2 e R não sendo controlados com doses acima das comerciais aplicadas no campo) foram expostas a doses crescentes de glyphosate (0 a 1.440 g e.a. ha⁻¹), quando apresentaram três pares de folhas, e cresceram em ambiente controlado (câmara de crescimento). Ao final de 21 dias da aplicação do herbicida, a massa fresca das plantas foi avaliada. A dose requerida para reduzir a massa fresca em 50% foi de 105, 211 e 15.092 (estimada) g e.a. ha⁻¹, respectivamente para os biótipos S1, S2 e R. O biótipo R resistiu a doses 143,1 (estimada) e 71,6 vezes maiores que o biótipo S1 e S2, respectivamente. O biótipo R é provavelmente resistente, enquanto S1 e S2 apresentam suscetibilidade diferencial a glyphosate.

Palavras-chave: *Conyza bonariensis*, N-(fosfometil)-glicina, Dose-resposta.

INTRODUÇÃO

A resistência de buva (*Conyza bonariensis*) a glyphosate (inibidor de EPSPS – 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase) não é novidade, mas a identificação de novos bióticos, em áreas onde ainda não haviam sido detectados, indica que o problema está longe de ser resolvido e, ao contrário disso, evidencia que está aumentando. No Brasil, o único caso de resistência a glyphosate dessa espécie de buva ocorreu em 2005, no Rio Grande do Sul e em São Paulo, em lavouras de soja, trigo, milho e fruteiras (HEAP, 2014). No entanto, ainda em 2005 foi identificado biótipo de *Conyza canadensis*, e em, 2010, *Conyza sumatrensis*, resistentes a glyphosate. Em 2011, a situação passou a ser mais crítica, com identificação de resistência múltipla a glyphosate e inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) em biótipo de *C. sumatrensis*. Portanto, a importância da resistência da buva a herbicidas é indiscutível, por isso é necessário a identificação e o monitoramento de novas populações resistentes para que ações mitigatórias possam ser tomadas para se evitar a dispersão destes biótipos resistentes.

A identificação de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas pode ser feita através de curvas de dose-resposta. O objetivo foi testar a resposta de dois biótipos de buva, provenientes de populações infestantes de lavouras anuais de Santa Catarina e com suspeita de resistência, ao herbicida glyphosate.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de buva foram coletadas em duas lavouras anuais localizadas nos municípios de Papanduva (S2) e Campos Novos (R), em SC, com suspeita de resistência a glyphosate. As sementes foram coletadas de plantas sobreviventes à aplicação de 2.880 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate nas condições de campo. Além disso, também foram coletadas sementes em área urbana de Lages (S1), em SC, sem histórico de aplicação de herbicidas. Essas sementes foram semeadas em copos de plástico de 300 mL preenchidos com substrato comercial. As plantas cresceram em câmara de crescimento (fitotron), com condições controladas de temperatura de 25 °C, umidade de 60% e fotoperíodo de 14h:10h (luz:escuro) estabelecido por lâmpadas incandescentes com fluxo luminoso de 800 μmol m⁻² s⁻¹.

O herbicida glyphosate foi aplicado em doses de 0, 5,625, 11,25, 22,5, 45, 90, 180, 360, 720 e 1.440 g e.a. ha⁻¹, diretamente sobre plantas de todos os biótipos apresentando três pares de folhas. Doses mais altas não foram utilizadas, pois houve morte das plantas em outros testes realizados previamente, também em condições controladas, utilizando a dose máxima aplicada, similar ao observado em outros trabalhos com resistência, como Carvalho et al. (2011) e Carvalho et al. (2012). Foi utilizado pulverizador costal pressurizado a CO₂, com pressão de 200 kPa, munido de barra de pulverização contendo quatro pontas tipo leque TeeJet 80.02 VS e calibrado para volume de calda de 200 L ha⁻¹. O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições.

Aos 21 dias após a aplicação do herbicida, as plantas foram cortadas rente ao substrato. O material foi pesado em balança analítica (0,00001 g) para determinação da massa fresca.

Os dados foram submetidos à análise de regressão segundo o modelo não-linear, log-logístico:

$$y = \min + (\max - \min) / [1 + (x^{\text{Hillslope}}/\text{EC50})]$$

em que: y indica massa fresca; min e máx são coeficientes que expressam os valores mínimo e máximo de massa fresca; Hillslope é a inclinação da curva; EC50 é o ponto de inflexão da curva (expressa a dose requerida para reduzir a massa fresca em 50% – EC50); e x representa a dose de produto comercial usada.

A análise estatística do experimento foi realizada através do programa computacional SigmaPlot® (Systat, versão 10.0, EUA). Adicionalmente, este programa utiliza o teste de Kolmogorov-Smirnov para testar a normalidade dos resíduos e a correlação de Spearman

Rank entre valores absolutos e dos resíduos e absolutos das variáveis dependentes para testar a homogeneidade de variâncias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os três biótipos testados apresentaram resposta diferencial ao aumento de dose do herbicida glyphosate (Figura 1). Os biótipos S1 e S2 acumularam menor quantidade de massa fresca em doses de até 45 g e.a. ha⁻¹; já em doses de glyphosate acima de 180 g e.a. ha⁻¹, os três biótipos acumularam diferentes quantidades de massa fresca. Na dose de 45 g e.a. ha⁻¹, a redução de massa fresca foi da ordem de 17%, 9% e 8%, enquanto na dose de 180 g e.a. ha⁻¹, na ordem de 75%, 35% e 13%, respectivamente para os biótipos S1, S2 e R. Porém, na dose de 1.440 g e.a. ha⁻¹, grande redução na massa fresca (91%), além da morte das plantas, foi observada no biótipo S1; nessa dose, ainda, o biótipo S2 teve redução expressiva (com morte das plantas) de 70%, enquanto o biótipo R (sem morte das plantas), de 29%. Esses resultados evidenciam a suscetibilidade dos biótipos S1e S2 e a provável resistência do biótipo R.

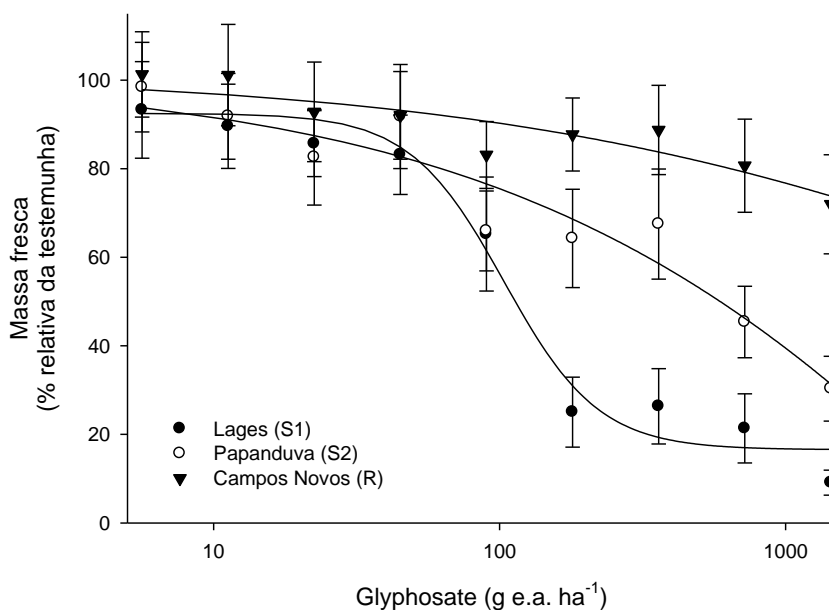


Figura 1. Curvas de dose-resposta de biótipos de *Conyza bonariensis* provenientes de Santa Catarina (S1 – Lages; S2 – Papanduva; R – Campos Novos) a glyphosate. Eixo x em escala logarítmica. Linhas verticais expressam o erro padrão da média.

De acordo com a análise de regressão (com curvas ajustadas altamente significativas, resíduos de distribuição normal e variâncias homogêneas), a dose requerida para reduzir a massa fresca em 50% foi da ordem de 105 g e.a. ha⁻¹, 211 g e.a. ha⁻¹ e 15.091 (estimada) g e.a. ha⁻¹, respectivamente para os biótipos S1, S2 e R (Tabela 1). Esses resultados indicaram fatores de resistência distintos entre os biótipos, quando

comparados ao biótipo com menor EC50 (S1). Assim, o biótipo S2 apresentou FR de 2,0, indicando suportar dose 2,0 vezes maior que o biótipo S1, enquanto o biótipo R apresentou FR estimado de 143,1, indicando que resiste a dose 143,1 vezes maior que o biótipo S1. Cabe ressaltar que plantas do biótipo R tiveram alto acúmulo de massa fresca mesmo na dose mais alta testada, indicando que doses mais acima dessa deveriam ser aplicadas para garantir o bom ajuste da curva segundo o comportamento biológico da planta. Os resultados indicam que o biótipos R provavelmente é resistente a glyphosate, pois não morreu na maior dose testada (apesar da limitação das doses utilizadas no experimento) e apresentou alto fator de resistência, enquanto os biótipos S1 e S2 apresentaram suscetibilidade diferencial ao herbicida.

Tabela 1. Parâmetros da equação e resumo da análise estatística usada para estimar a resposta de biótipos de *Conyza bonariensis* provenientes de Santa Catarina (S1 – Lages; S2 – Papanduva; R – Campos Novos) a glyphosate.

| Biótipo | Parâmetros da Equação ¹ | | | | ANOVA ² | | | CVT ³ | NT ⁴ | FR ⁵ |
|----------------|------------------------------------|-------|--------|-----------|--------------------|-------|--------|------------------|-----------------|-----------------|
| | min | max | EC50 | Hillslope | R ² | F | P | | | |
| S1 | 14,6 | 93,1 | 105 | 2,32 | 0,96 | 70,14 | <0,001 | 0,14 | 0,94 | 1,0 |
| S2 | 15,7 | 99,7 | 211 | 0,87 | 0,95 | 58,16 | <0,001 | 0,95 | 0,97 | 2,0 |
| R ⁶ | 0,7 | 101,6 | 15.092 | 0,41 | 0,77 | 10,87 | <0,01 | 0,71 | 0,90 | 143,1 |

¹ Equação de regressão: $y = \min + (\max - \min) / [1 + (x^{\text{Hillslope}} / \text{EC50})]$, onde min é o valor mínimo de massa fresca, máx é o valor máximo de massa fresca, EC50 é o ponto de inflexão da curva (representa a dose de herbicida requerida para reduzir a massa fresca em 50%) e Hillslope é a inclinação da curva no ponto EC50. ² ANOVA: R², F e P são os valores do coeficiente de determinação ajustado e do F e do P (significância), respectivamente, do teste F para análise de regressão não linear. ³ CVT é o valor de significância (P) do teste de homogeneidade de variância. ⁴ CVT é o valor de significância (P) do teste de normalidade de resíduos. ⁵ FR indica o fator de resistência = EC50(S2 ou R) / EC50(S1). ⁶ Plantas do biótipo R não morreram com a aplicação de 1.440 g e.a ha⁻¹, indicando resistência ao herbicida; no entanto a EC50 estimada foi maior que as doses testadas, indicando que doses acima das utilizadas deveriam ser testadas para melhor compreensão dos resultados.

Cabe ressaltar que, apesar de ter ocorrido redução expressiva da massa fresca do biótipo S2 em doses abaixo daquelas recomendadas no campo (720 e 1.440 g e.a. ha⁻¹), deve lembrar-se de que o experimento foi realizado em ambiente controlado e em recipientes pequenos (300 mL), com recursos limitados, o que, comprovadamente, aumenta a sensibilidade das plantas à exposição aos herbicidas, independente da resistência. Portanto, doses menores de 720 g e.a. ha⁻¹, nas condições experimentais, certamente são mais eficientes, ou seja, promovem efeitos deletérios mais intensos, na redução do crescimento dos biótipos resistentes e susceptíveis em relação a condições de campo. Levando ainda em consideração que o biótipo R apresentou redução de menos de 30% na maior dose recomendada no campo, há evidência que o aumento de dose não será eficaz no controle desse biótipo.

A redução do crescimento de plantas expostas a glyphosate decorre da inibição da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintetase (EPSPS) que resulta em redução na síntese dos aminoácidos aromáticos (requeridos na síntese proteica), ácido indolacético, lignina e metabólitos secundários (que atuam na defesa da planta), além de carência de

compostos necessários à fixação de carbono (SERVAITES et al., 1987; LYDON; DUKE, 1989; SIEHL, 1997), o que resulta na morte da planta. No entanto, plantas resistentes apresentam mecanismos que impedem sua morte, como: (i) limitação na absorção e/ou na translocação do herbicida, (ii) mutação genética da enzima EPSPS, (iii) amplificação da expressão gênica da EPSPS, e (iv) degradação do glyphosate na planta.

É importante analisar ainda que o biótipo R apresentou EC50 acima das doses testadas no experimento, o que não permite afirmar certamente a ocorrência da resistência ao herbicida. No entanto, devido ao histórico de sobrevivência das plantas no campo após serem submetidas a doses maiores de 2.880 g e.a ha⁻¹, além do fato das plantas não terem morrido e terem a massa fresca reduzida em menos de 30% em doses de 1.440 g e.a ha⁻¹ no experimento, há evidências de que o biótipo R é resistente a glyphosate. Porém, a confirmação deverá ser feita com nova análise de dose-resposta, utilizando doses mais altas do que aquelas testadas neste experimento.

CONCLUSÃO

Há evidências de que o biótipo de buva proveniente de Campos Novos (R) seja resistente ao herbicida glyphosate, pois apresenta fator de resistência estimado de 143,1; enquanto que os biótipos de Lages (S1) e de Papanduva (S2) apresentam suscetibilidade diferencial ao herbicida, pois seus fatores de resistência são de 2,0 e 1,0, respectivamente.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão de bolsa de Mestrado à primeira, terceira e quarta autoras e ao CNPq pela bolsa de Produtividade em Pesquisa da sexta autora.

REFERÊNCIAS

- 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.
- CARVALHO, L. B. et al. Detection of sourgrass (*Digitaria insularis*) biotypes resistant to glyphosate in Brazil. **Weed Science**, v. 59, n. 2, p. 171-176, 2011.
- HEAP, I. International survey of herbicide resistant weeds. **Brazil**. Disponível em: <www.weedscience.com>. Acesso em: 09 mai. 2014.
- LYDON, J.; DUKE, S. O. Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants. **Pest Management Science**, v. 25, n. 4, p. 361-373, 1989.
- SERVAITES, J. C. et al. Glyphosate effects on carbon assimilation, ribulose biphosphate carboxylase activity, and metabolite levels in sugar beet leaves. **Plant Physiology**, v. 85, n. 2, p. 370-374, 1987.
- SIEHL, D. L. Inhibitors of EPSPS synthase, glutamine synthetase and histidine synthesis. In: ROE, R. M. et al. (Eds). **Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology**. IOS Press: Amsterdam, The Netherlands, 1997. p. 37-67.