

ASPECTOS DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS



Coordenadores
Pedro Jacob Christoffoleti
Marcelo Nicolai

**Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas aos
Herbicidas
(HRAC-BR)**

4ª Edição
2016

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

Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas / coordenação de Pedro Jacob Christoffoleti e Marcelo Nicolai. -- 4. ed. -- Piracicaba : ESALQ, 2016.
262 p. : il.

ISBN: 978-85-86481-55-0

1. Plantas daninhas - Resistência 2. Herbicidas I. Christoffoleti, P.J., coord. II. Nicolai, M., coord. III. Título

CDD 632.58
C556a4

ASPECTOS DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS

LISTA DE AUTORES

Acácio Gonçalves Netto

Mestrando ESALQ - USP

Alexandre Ferreira da Silva

Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo - Sete Lagoas (MG)

Alexandre Gemelli

Doutorando Universidade Estadual de Maringá - UEM

Anderson Luís Cavenaghi

Professor Centro Universitário de Vázea Grande - UNIVAG

Arthur Arrobas Martins Barroso

Doutorando UNESP – Jaboticabal (SP)

Caio Antonio Carbonari

Professor UNESP - Botucatu (SP)

Caio Augusto de Castro Grossi Brunharo

Doutorando University of California, Davis (CA-USA)

Danilo Carvalho Pereira da Silva

Graduando ESALQ-USP

Décio Karam

Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo - Sete Lagoas (MG)

Denis Fernando Biffe

Professor Adjunto Universidade Estadual de Maringá - UEM

Diego Fraga

Doutorando da Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Dionísio Luiz Pisa Gazziero

Pesquisador da Embrapa Soja - Londrina (PR)

Dirceu Agostinetto

Professor Adjunto da Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Edivaldo Domingues Velini

Professor UNESP - Botucatu (SP)

Ednaldo Alexandre Borgato

Mestrando ESALQ - USP

Edson Ricardo de Andrade Junior

Pesquisador do IMA - Cuiabá (MT)

Eliezer Antonio Gheno

Doutorando Universidade Estadual de Maringá - UEM

Fernando Adegas

Pesquisador da Embrapa Soja - Londrina (PR)

Giovanna Larissa Gimenes Cotrick Gomes

Pesquisadora Colaboradora UNESP - Botucatu (SP)

Gizella Potrich Leal Maymone

Monsanto - São Paulo (SP)

Gustavo Gross Belchior

Monsanto - São Paulo (SP)

Hudson Kagueyama Takano

Mestrando Universidade Estadual Maringá - UEM

Jamil Constantin

Professor Associado Universidade Estadual de Maringá - UEM

José Claudionir Carvalho

Syngenta - São Paulo (SP)

Leandro Tropaldi

Pesquisador Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP

Leandro Vargas

Pesquisador da Embrapa Trigo - Passo Fundo (RS)

Marcel Sereguin Cabral de Melo

BAYER - Paulínia (SP)

Marcelo Nicolai

Agrocon - Santa Bárbara d'Oeste (SP)

Marcelo Rodrigues Alves de Figueiredo

Doutorando Colorado State University (CO-USA)

Pedro Jacob Christoffoleti

Professor ESALQ-USP

Pedro Luis da Costa Aguiar Alves

Professor UNESP - Jaboticabal (SP)

Rafael de Prado Amián

Professor Titular da Universidade de Córdoba (Espanha)

Rafael Romero Mendes

Mestrando Universidade Estadual de Maringá - UEM

Ramiro Fernando López-Ovejero

Monsanto - São Paulo (SP)

Ricardo Travasso Raimondi

Mestrando Universidade Estadual de Maringá - UEM

Rubem Silvério de Oliveira Júnior

Professor Universidade Estadual de Maringá - UEM

Saul Jorge Pinto de Carvalho

Professor IFSULDEMINAS – Campus Machado (MG)

Scott Nissen

Professor e Pesquisador Colorado State University (CO-USA)

Sebastião Carneiro Guimarães

Professor Associado UFMT – Cuiaba (MT)

Thiago Oliveira

BAYER - Paulínia (SP)

Todd Gaines

Professor Assistente Colorado State University (CO-USA)

Os autores são os responsáveis pelas informações e opiniões aqui descritas, sem qualquer responsabilidade para a Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR).

ÍNDICE

PREFÁCIO	9
1 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS: TERMOS E DEFINIÇÕES IMPORTANTES.	11
2 - CRITÉRIOS PARA RELATO DE NOVOS CASOS DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS.	33
3 - RESISTÊNCIA MÚLTIPLA E CRUZADA: CASOS NO BRASIL E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS.	43
4 - BIOLOGIA E GENÉTICA DAS PLANTAS DANINHAS RESISTENTES A HERBICIDAS NO BRASIL.	59
5 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS INIBIDORES DA ACCase (Grupo A)	77
6 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS INIBIDORES ACETOLACTATO SINTASE (ALS) (Grupo B)	99
7 - MECANISMO DE AÇÃO E RESISTÊNCIA DOS HERBICIDAS INIBIDORES DO FOTOSSISTEMA II (FSII) (Grupo C)	119
8 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS ATUANTES NO FOTOSSISTEMA I (FS I) (Grupo D)	133
9 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS INIBIDORES DA PROTOX (Grupo E)	151
10 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS INIBIDORES DA SÍNTESE DE CAROTENOIDES (Grupo F)	165
11 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS INIBIDORES DA EPSPs (Grupo G)	177
12 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS INIBIDORES DA GLUTAMINA SINTETASE (GS) (GRUPO H)	193

13 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS INIBIDORES DA FORMAÇÃO DOS MICROTÚBULOS E A HERBICIDAS INIBIDORES DA DIVISÃO CELULAR (Grupos K₁ e K₃)	207
14 - RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS ANÁLOGOS DAS AUXINAS (Grupo O)	219
15 - ASPECTOS GERAIS DO MANEJO DE PLANTAS DANINHAS RESISTENTES A HERBICIDAS NOS SISTEMAS DE PRODUÇÃO ENVOLVENDO AS CULTURAS DE MILHO E SOJA.	229
16 - ASPECTOS GERAIS DO MANEJO DE PLANTAS DANINHAS RESISTENTES A HERBICIDAS NA CULTURA DE ALGODÃO.	237
17 - PERSPECTIVAS NA EVOLUÇÃO DOS CASOS DE RESISTÊNCIA NO BRASIL: NOVOS CONCEITOS SOBRE A RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS.	251

PREFÁCIO

A resistência de plantas daninhas a herbicidas atingiu níveis que causaram danos econômicos bastante representativos na última década. A 3ª edição deste livro foi divulgada em 2008 com o intuito de fornecer informações sobre a problemática da resistência e cumpriu seu papel no sentido de abordar o tema e disponibilizar o assunto de forma acessível. Contudo novos desafios surgiram no campo de prevenção e manejo da resistência, principalmente aqueles ligados à carência de opções de herbicidas viáveis no atual cenário da agricultura brasileira.

Nos últimos oito anos foi observado o surgimento de biótipos de plantas daninhas resistentes ao herbicida glifosato para espécies novas como capim-amargoso (*Digitaria insularis*), buva (*Conyza sumatrensis*), capim-branco (*Chloris polydactyla*), caruru palmeri (*Amaranthus palmeri*) e capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*). Encontraram-se biótipos de espécies de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da PROTOX e herbicidas inibidores do FSII, o que não era observado no Brasil até então. Foram mostrados casos de resistência na região do Cerrado com grande dispersão e as ocorrências de espécies de plantas daninhas com biótipos portadores de resistência a mais de um mecanismo de ação (Resistência múltipla) aumentaram. Paralelamente não aumentaram as opções de herbicidas, ainda que mais eventos de transgenia para tolerância a herbicidas estejam disponíveis.

Devido a este cenário tornou-se pertinente a confecção da nova edição do livro “Aspectos de Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas”, fomentada pela Associação Brasileira de ação à Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas (HRAC-BR), denominada como 4ª edição atualizada e revisada, onde esta compilada a maioria das informações que se tem sobre a problemática da resistência, a situação brasileira de momento e a perspectiva de como deve seguir este fenômeno em nossos sistemas de produção. Para tanto houve grande aumento no número de autores convidados e instituições envolvidas, inclusive com colaborações internacionais.

A função deste material é esclarecer sobre este tema tão atual, mutável e controverso que é a resistência de plantas daninhas focando nos conceitos e definições envolvidos na compreensão do tema, bem como divulgar as classificações e agrupamentos de herbicidas, discorrer sobre os principais mecanismos de ação de herbicidas do mercado brasileiro, mostrar os trabalhos de pesquisa conduzidos no Brasil e no mundo e frisar a necessidade da prevenção do problema, bem como a orientação para o manejo da resistência de plantas daninhas a herbicidas já instalada nas áreas.

Christoffoleti & Nicolai, 2016

CAPÍTULO 1

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS: TERMOS E DEFINIÇÕES IMPORTANTES

Pedro Jacob Christoffoleti
Marcelo Nicolai
Ramiro Fernando López-Ovejero
Ednaldo Alexandre Borgato
Acácio Gonçalves Netto
Marcel Sereguin Cabral de Melo

1.1. Suscetibilidade, tolerância e resistência

A suscetibilidade de uma espécie de planta daninha a um determinado herbicida é definida como o grau de injúria ou morte da planta que é observado após a aplicação de um produto, sendo esta uma característica inata de cada espécie. Portanto, existem diversos graus de suscetibilidade das plantas daninhas a herbicidas apresentando alterações com efeitos marcantes no crescimento e desenvolvimento, como resultado da incapacidade de suportar a ação do herbicida (Christoffoleti et al., 2000). A tolerância é a habilidade inata de uma espécie de planta daninha em sobreviver e se reproduzir após a aplicação do herbicida na dose recomendada, que seria letal para outras espécies, mesmo demonstrando injúrias. No entanto, não existe um processo de seleção imposto pelo herbicida para tornar a planta tolerante, ou seja, as plantas tolerantes possuem naturalmente a capacidade de sobreviver à aplicação do herbicida desde a primeira aplicação, sendo isto o que as diferencia das espécies descritas como resistentes. Uma idéia simples que auxilia na diferenciação entre resistência e tolerância é a própria presença do biótipo suscetível, ou seja, se há um biótipo suscetível com pronunciada diferença de C_{50} ou GR_{50} é resistência, se não há, é tolerância. Para exemplificar, destaca-se como exemplo o 2,4-D que controla as espécies de caruru (*Amaranthus* spp.), no entanto, a planta daninha capim-colchão (*Digitaria ciliaris*) é tolerante ao 2,4-D, sem que houvesse um processo de seleção.

A Sociedade Americana de Ciência das Plantas Daninhas ou Weed Science Society of America (WSSA) definiu resistência de plantas daninhas a herbicidas como a habilidade hereditária de uma planta sobreviver e se reproduzir, após exposição a uma dose de herbicida normalmente letal para o biótipo selvagem da planta (Heap, 2016). A resistência pode ocorrer de forma natural (selecionada em populações de plantas daninhas de ocorrência natural no campo através do uso de herbicida) ou induzida por técnicas como engenharia genética ou seleção de variantes produzidas por culturas de tecidos ou mutagênese (Heap, 2016). Heap (2016) ressalta a importância da definição científica x definição agrônoma de resistência de plantas daninhas a herbicidas. A definição científica de resistência assume que a resistência é determinada por uma diferença estatística na resposta a aplicação de um herbicida entre duas populações da mesma espécie, sendo esta característica herdável.

Entretanto, esta definição não leva em consideração a dose recomendada do herbicida, pois, embora duas populações podem estatisticamente diferir em suas respostas a um herbicida, isso não necessariamente implica que o herbicida não controle a “resistente” na dose recomendada de campo. Em outras palavras o biótipo pode ser considerado resistente por esta definição, quando ocorrem aplicações em sub-doses (doses abaixo da recomendada), porém na dose utilizada normalmente no campo, o controle de ambos os biótipos é satisfatório.

Uma melhor definição para este termo seria que populações que apresentam respostas estatisticamente diferentes após aplicação de um herbicida, quando comparadas com a média das respostas de várias populações suscetíveis. Melo (2015), determinou uma dose discriminatória do herbicida glifosato para realizar um levantamento de populações resistentes de capim-amargoso (*Digitaria insularis*), após a análise e comparação de várias populações suscetíveis ao glifosato, oriundas de diferentes regiões do Brasil, estando esta dose dentro da recomendação de bula do produto.

Outra definição foi criada para ajudar a caracterização da resistência sendo esta a resistência agronômica, a qual determina que para classificar uma planta como resistente seja necessário que a população sobreviva à dose recomendada do herbicida em condições normais de campo. Heap (2016) ainda explica que existe um problema com o uso apenas da definição agronômica, pois a mesma pode variar de região para região, cultura em que o produto é aplicado e ainda questões econômicas que determinam a dose, o que poderia classificar a mesma população de uma espécie como suscetível em uma cultura e resistente na outra.

Outros fatores que podem influenciar esta definição seriam as condições climáticas que podem determinar uma falha de controle apesar da população avaliada não ser resistente ao herbicida. Portanto, para determinar se uma população é resistente é necessária uma mistura de ambas as definições. O conceito de resistência de plantas daninhas a herbicidas é definido por Heap e LeBaron como a capacidade evoluída de uma população previamente suscetível a um herbicida, de sobreviver e completar seu ciclo de vida após a aplicação do mesmo em sua dose recomendada em condição de campo (Heap, 2016).

Outra definição de resistência bem estruturada foi a descrita por Vencill, et al. (2012), a qual diz ser a capacidade hereditária de plantas para crescer e se reproduzir após o tratamento com um herbicida que teria sido fatal para todos menos um ou muito poucos indivíduos progenitores em uma população antecedente. Os autores ainda complementam que plantas daninhas resistentes a herbicidas podem ocorrer em culturas resistentes a herbicidas e culturas convencionais, como resposta à pressão de seleção a partir de um herbicida, o qual seleciona plantas com resistência genética natural ao mecanismo de ação do produto utilizado, favorecendo a sobrevivência e consequente reprodução. Isso aumenta o tamanho da população nas gerações seguintes, sendo este aumento potencializado pelo uso contínuo do mesmo herbicida nas gerações subsequentes.

1.2. Incidência e história da resistência de plantas daninhas a herbicidas

O primeiro caso reportado de resistência de plantas daninhas a herbicidas foi nos Estados Unidos da América do Norte na década de 1950. A planta daninha *Convolvulus arvensis*, uma planta folha larga, trepadeira e perene foi selecionada como resistente ao herbicida 2,4-D no estado do Kansas também nos Estados Unidos, em 1964, e *Senecio vulgaris* resistente a triazinas foi encontrado em 1970 no estado de Washington, Estados Unidos. No começo dos anos da década de 1980, o número de casos reportados aos herbicidas do grupo das triazinas começou a aumentar de forma sistemática nos Estados Unidos e no mundo. Atualmente as estatísticas de casos de resistência estão todas documentadas no “International Survey of Herbicide Resistant Weeds”, no site www.weedscience.org.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é hoje, com certeza, o maior desafio enfrentado na Ciência das Plantas Daninhas. Alguns mecanismos de ação têm maiores problemas que outros. O maior número de casos de biótipos resistentes é encontrado no mecanismo de ação dos inibidores da ALS (Grupo B). O segundo grupo com maior número de biótipos relatados no momento são os inibidores do fotossistema II (Grupo D). Claro que o número de casos é reflexo principalmente do maior uso do herbicida na agricultura, mas de uma certa forma alguns mecanismos de ação tem a tendência de selecionarem mais facilmente plantas daninhas resistentes que outros.

Os herbicidas inibidores da ALS (Grupo B) e da ACCase (Grupo A) parecem ser os grupos de maiores riscos, assim muito cuidado deve ser tomado nos planos de manejo com estes herbicidas. No entanto, o glyphosate é sem dúvida o herbicida de maior preocupação na atualidade, apesar de não ser o herbicida que mais facilmente seleciona resistência. O importante é considerar que baixo risco combinado com uso intensivo pode resultar alto risco potencial, sendo isso que está acontecendo com o glyphosate, ou seja, apesar do baixo potencial de seleção de populações resistente, seu uso intensivo tem tornado o caso mais preocupante na atualidade.

1.3. Por que os biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas existem?

A diversidade genética natural que existe nas populações de plantas daninhas é responsável pelo aparecimento da resistência, sendo que o herbicida não é o agente de criação da resistência, mas apenas de seleção.

A pressão de seleção imposta pelo herbicida é que permite que os indivíduos resistentes sobrevivam e produzam sementes, e assim ocupem os nichos disponíveis no ambiente, deixado pelas plantas suscetíveis que são controladas pelo herbicida.

Assim, a resistência é um jogo de números, em função de uma frequência inicial aleatória de indivíduos resistentes em uma população, resultante da diversidade genética, que em função da pressão de seleção imposta pelo herbicida torna a população de plantas daninhas resistente ao herbicida, pelo fato de apenas os indivíduos resistentes sobreviverem e se reproduzirem.

1.4. O Banco de sementes é base de tudo

O banco de sementes é a base ecológica para a pressão de seleção de plantas daninhas resistentes perpetuarem em uma área. O banco de sementes pode retardar o aparecimento de biótipos de plantas daninhas resistentes a um determinado herbicida. Quanto maior for o período de dormência das sementes das plantas daninhas, maior será o tempo necessário para esgotar o banco de sementes do biótipo suscetível no solo, mesmo que haja pressão de seleção muito forte. Portanto, a manutenção e o manejo de um banco de sementes diversificado no solo podem retardar o aparecimento de biótipos de plantas resistentes a um determinado herbicida, mantendo-se baixa a frequência desse biótipo, por um tempo maior (Christoffoleti et al., 2000). Quanto menor o período de dormência das sementes de uma espécie de planta daninha, mais rapidamente poderá ocorrer a mudança de biótipos dentro da população.

Quando um herbicida controla o biótipo suscetível, e este deixa poucos descendentes no banco de sementes para a geração seguinte, estas apresentam uma rápida

senescência, substituindo rapidamente o banco de sementes do biótipo suscetível pelo biótipo resistente (Christoffoleti & López-Ovejero, 2008). À medida que as sementes das plantas daninhas resistentes vão aumentando sua proporção no banco de sementes, as populações futuras irão tendo maior frequência de indivíduos resistentes e assim o herbicida deixa de ser efetivo. Segundo MacRae et al. (2008), plantas fêmeas de *Amaranthus palmeri* crescendo e competindo em meio a cultura do algodão chegam a produzir 460000 sementes por planta. Outra espécie que demonstra uma alta capacidade de produção de sementes e consequente aumento do número de propágulos no banco de sementes é a *Conyza canadensis*, podendo produzir até 200000 sementes por planta (Bhowmik & Bekech 1993).

Isso mostra que assim que ocorre o processo de seleção de biótipos resistentes e reprodução destes indivíduos, o banco de sementes possuirá uma grande quantidade de propágulos que terão o potencial de germinar e dominar a área nos anos subsequentes.

1.5. Falha de controle de plantas daninhas nem sempre significa resistência

A maioria das falhas de controle não são devidas ao processo de seleção de plantas daninhas resistentes a herbicidas. Antes de atribuir que uma planta daninha, que deveria ser controlada pelo herbicida, é resistente ao herbicida é importante eliminar outras possíveis causas de controle inadequado:

- 1) Tecnologia de aplicação do herbicida
 - a) Dose inadequada
 - b) Baixa cobertura do alvo ou incorporação insuficiente
 - c) Momento de aplicação inadequado (estádio da planta daninha)
 - d) Necessidade do adjuvante
 - e) Excesso de poeira na folha ou água de baixa qualidade usada na calda
 - f) Efeito de cobertura “guarda-chuva” nas aplicações em pós-emergência
 - g) Antagonismo entre dois ou mais herbicidas no tanque de pulverização; e outras causas.

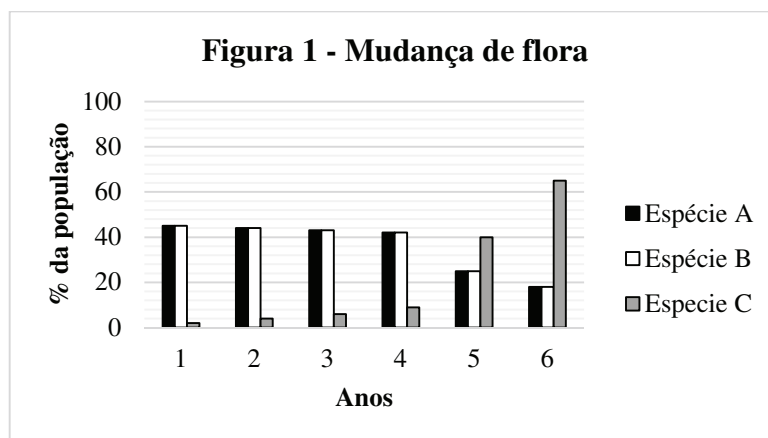
- 2) Solo e/ou condições climáticas
 - h) Umidade excessiva ou solo seco
 - i) Condições de preparo do solo no momento da aplicação
 - j) Adsorção dos herbicidas no solo e na matéria orgânica
 - k) Condições de estresse, tais como quente e seco
 - l) Período sem chuva após a aplicação para ativação do herbicida, e outras causas

1.6. Mudança da flora x Resistência de plantas daninhas a herbicidas

A mudança de flora é uma alteração ao longo do tempo da abundância relativa dentro de uma comunidade de plantas daninhas e pode ser definida como um fenômeno de mudança das espécies presentes no campo devido ao tratamento contínuo com um mesmo tipo de controle de plantas daninhas (Chueca et al., 2005). Normalmente, esta mudança está associada aos manejos realizados para a agricultura, podendo ser controles mecânicos ou mais comumente herbicidas. Normalmente, esta mudança está associada a um método de controle que é utilizado frequentemente na área, sendo geralmente um herbicida. Assim, espécies raras em uma comunidade, cujo herbicida aplicado repetitivamente não apresenta boa eficácia, passam a ser dominantes com o passar dos anos, mudando a flora daninha. Em muitas situações a mudança de flora acontece devido ao uso repetitivo de doses baixas de um mesmo herbicida, selecionando assim espécies de plantas daninhas de difícil controle, que acabam se tornando em populações dominantes na área. Estas populações não são resistentes aos herbicidas. Um exemplo de mudança de flora está representado no gráfico da figura 1.

No exemplo hipotético da figura 1, a espécie A e a espécie B são suscetíveis a um determinado herbicida, enquanto que espécie C é tolerante ao herbicida. As espécies A e B tinham uma abundância inicial de 47%, enquanto a espécie perfazia apenas 2% da população. Com o uso repetitivo do herbicida em particular as espécies A e B diminuíram em frequência ao longo do tempo, enquanto que a

espécie C, que é tolerante a este herbicida, aumentou sua população ao longo do tempo.



A resistência de plantas daninhas a herbicidas causa uma mudança na composição de biótipos dentro da população. Originalmente, indivíduos resistentes existem em baixas frequências dentro da população, no entanto, com a aplicação repetitiva do herbicida a proporção destes indivíduos aumenta, tornando a população resistente ao herbicida. Assim, a figura 1 pode ser entendida da mesma forma, no entanto, para os biótipos correspondentes.

A resistência é, portanto, uma mudança na composição intraespecífica de biótipos e a mudança de flora interespecífica. Essa mudança na flora de plantas daninhas e o aumento de espécies resistentes gera um grande desafio para o manejo, pois gera necessidade de adoção de novas estratégias, tais como a diversificação no uso de herbicidas, rotação de culturas e adoção de práticas culturais de manejo. Além disso, elementos destas estratégias incluem aumentar esforços por cientistas de universidades e da indústria para entender as percepções dos produtores quanto ao manejo de plantas daninhas e populações resistentes a herbicidas, implementar uma comunicação mais eficiente e programas de educação para os produtores, a publicação de estratégias de manejo elaboradas para mitigar e manejar populações de plantas daninhas resistente a herbicidas e realizar pesquisas

sobre as percepções dos produtores quanto ao manejo de plantas daninhas resistentes a herbicidas recomendado (Vencill, et al., 2012).

1.7. Manejo proativo e Manejo reativo

Duas filosofias para o manejo da resistência englobam a maioria das atividades existentes. A primeira filosofia indicada como "manejo reativo" pode ser melhor descrita pela expressão "usar a ferramenta até quebrar e encontrar uma nova ferramenta." Um exemplo de manejo reativo seria a utilização de um herbicida para controle de uma planta daninha até que este não seja mais eficiente, e, em seguida, utilizar outro herbicida (indiscriminadamente, com um mecanismo de ação diferente) para controlar a mesma espécie (Mueller, et al. 2005). Manejo reativo é simples e permite o uso do herbicida de menor custo e maior eficácia. O problema relacionado a esta filosofia é que a mesma assume que um novo herbicida com diferente mecanismo de ação, ou alguma estratégia de controle alternativo, estará disponível antes do desenvolvimento de biótipos resistentes ao herbicida que está sendo usado. Uma consideração séria e negligenciada é que o custo da futura alternativa de controle para os biótipos resistentes pode ser maior do que a estratégia de controle atual. A elevação do custo de herbicidas novos para o controle de espécies resistentes é esperada, uma vez as empresas cobram o preço que o mercado pode arcar para utilizar a nova tecnologia. Produtores muitas vezes não conseguem prever o potencial aumento dos custos para controlar as plantas daninhas após o desenvolvimento de uma determinada resistência.

A segunda filosofia, denominada "manejo proativo" pode ser descrita pela expressão "evitar quebrar a ferramenta, mantendo deste modo a eficácia da ferramenta". Por exemplo, o manejo proativo em relação a resistência ao herbicida utilizado inclui a rotação de culturas, uso de herbicidas com diferentes mecanismos de ação, utilização de controle mecânico quando possível e incluir estratégias de manejo integrado de plantas daninhas. Este manejo diferenciado pode aumentar o custo do manejo de plantas daninhas, porém pode valer a pena se o herbicida que será preservado é muito

valioso para o sistema de cultivo ou se não existem outros herbicidas que gerem o mesmo controle. Dessa forma a eficácia do produto pode ser preservada por vários anos e compensar os custos adicionais. Um exemplo de herbicida que deveria ser adotado um manejo proativo é o glifosato.

Um exemplo de herbicida que deveria ser adotado um manejo proativo é o glifosato. Cullpepper et al., (2009) calculou o aumento do custo para controlar a espécie *Amaranthus palmeri* nas lavouras de algodão e concluiu que passou de US\$ 81,00 para US\$ 129,00 por hectare, após o desenvolvimento de resistência ao glifosato. Outro exemplo de aumento do custo para controlar uma espécie resistente ao glifosato foi para buva, no Estado do Tennessee em lavouras de soja, onde este aumento foi de US\$ 28,42 por hectare (Mueller et al. 2005). O grande problema do manejo reativo é que o mesmo está fadado a exaurir as opções de controle através do uso de herbicidas, em determinados sistemas de produção. Sosnoskie e Cullpepper (2009) explicam que devido ao controle insatisfatório do *Amaranthus palmeri* resistente ao glifosato, proporcionado pelos outros herbicidas, os produtores de algodão do Estado da Georgia estão realizando o controle desta espécie através de capina manual ao custo de US\$ 57,00 por hectare, o que representa um aumento do custo de controle em torno de 475% quando comparado aos anos antes do desenvolvimento de resistência ao glifosato.

1.8. Fatores genéticos para a resistência de plantas daninhas a herbicidas

Há diversos fatores envolvidos no sucesso evolutivo das plantas daninhas resistentes a herbicidas, podendo ser, basicamente, biológicos, genéticos ou agronômicos.

Diversos são os fatores genéticos envolvidos. Nas últimas décadas, o avanço dos estudos de genômica e as aplicações na ciência das plantas daninhas e ecologia permitiu o melhor entendimento de como a variabilidade está relacionada com o potencial evolutivo e adaptativo das espécies (Jasieniuk et al., 1996; Jordan e Jannink, 1997). Os principais fatores genéticos envolvidos com a evolução da resistência de plantas daninhas a herbicidas incluem mutação,

seleção, características da herança, tipo de fecundação e fluxo gênico.

A variabilidade genética pode ser explicada pelas mutações genéticas. Elas ocorrem ao acaso durante o processo de divisão celular responsável pela formação dos gametas. São “erros” que acontecem naturalmente, e que resultam em alterações no DNA, e na expressão do caráter gênico, atribuindo à prole a característica da resistência (Jasieniuk & Maxwell, 1994).

Um dos principais fatores envolvidos na evolução da resistência é a frequência inicial. Entende-se por frequência inicial o número de indivíduos resistentes presente em uma população que não foi exposta à pressão de seleção do herbicida. Para algumas espécies e determinados herbicidas, este valor é conhecido. A frequência da resistência à inibidores da ALS em *Arabidopsis thaliana* e *Nicotiana tabacum* é estimado entre 1×10^{-9} e $2,7 \times 10^{-8}$, respectivamente (Harms & Dimaio, 1991; Saari et al., 1994). Quanto maior a frequência inicial do biótipo resistente, maior a probabilidade de aumentar a proporção de indivíduos resistentes na população em menor período de tempo, uma vez que aplicações repetidas do herbicida selecionador podem na predominância de populações resistentes (Vidal & Fleck, 1997; Jasieniuk et al., 1994).

Outros fatores evolutivos estão envolvidos com as características genéticas da herança. Na maioria dos casos, a resistência é determinada por genes dominantes localizados em um único locus (Jasieniuk e Maxwell, 1996), uma vez que heranças poligênicas necessitariam de diversas recombinações entre indivíduos ao longo de uma sequência de gerações para acumular a carga genética necessária para que os indivíduos expressem a resistência (Jasieniuk et al., 1994).

A dominância da herança genética também tem relações com o seu potencial evolutivo. Alelos dominantes podem ocorrer em maior frequência, uma vez que os genótipos heterozigotos também expressam a característica fenotípica (Charlesworth, 1992; James, 1965).

O fluxo gênico pode acelerar o processo de dispersão da resistência de uma população resistente para outra

suscetível vizinhas ou próximas. No caso de espécies alógamas, a dominância dos genes viabiliza a rápida dispersão da característica entre populações a cada geração (Charlesworth, 1992; James, 1965). Também, em espécies alógamas existe maior probabilidade de ocorrência de múltiplos mecanismos de resistência, pois a polinização cruzada permite maior recombinação gênica. Alelos recessivos têm maior chance de estabelecimento em espécies autógamas (Charlesworth, 1992).

Ainda, podem haver inúmeros alelos responsáveis por conferir resistência a um mesmo herbicida ou mecanismo de ação, podendo ser em diferentes níveis. A resistência à ALS, por exemplo, pode ser decorrente de alterações no sítio de ação da enzima. Isso ocorre devido a uma série de mutações na sequência de amino-ácidos que a enzima, e que dificultam o ajuste do herbicida, tais como: Ala122, Pro197, Ala205, Asp376, Arg377, Trp574, Ser653 e Gly654 (Heap, 2016).

1.8. Fatores Bioecológicos que Interagem no Desenvolvimento da Resistência

Os fatores bioecológicos determinantes no aparecimento de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas estão relacionados com as características da planta daninha. Sendo assim, não existe qualquer indicação de quais são as espécies, gêneros ou famílias botânicas de plantas daninhas resistentes aos herbicidas. Os gêneros com maior número de biótipos resistentes no mundo são: *Lolium*, *Echinochloa*, *Poa*, *Avena*, *Alopecurus*, *Amaranthus*, *Eleusine*, *Conyza* e *Kochia* (Heap, 2016). Sugere-se que esse seria um indicador de gêneros com potencial para se selecionar biótipos resistentes no Brasil.

As características bioecológicas das plantas daninhas que conduzem a um rápido desenvolvimento da resistência são: ciclo de vida curto, elevada produção de sementes, baixa dormência da semente, várias gerações reprodutivas por ano, extrema suscetibilidade a um determinado herbicida e grande diversidade genética (Christoffoleti et al., 1994; Vidal & Fleck, 1997; Vargas, 2003).

Sendo assim, estão diretamente relacionadas com aspectos biológicos como o tempo do ciclo de vida da espécie

de planta daninha, além do tamanho populacional. Frequências possivelmente baixas, as chances de variações em populações suscetíveis podem ser altas com alta taxa de fecundidade e grande tamanho populacional.

Algumas das características que não favorecem o desenvolvimento da resistência são: plantas daninhas de ciclo de vida longo; pressão de seleção incompleta pelos herbicidas; baixa adaptabilidade ecológica dos biótipos resistentes; dormência prolongada das sementes no solo; plantas daninhas perenes com tecidos de reprodução vegetativa. Os fatores envolvidos no lento desenvolvimento da resistência aumentam o número de biótipos suscetíveis na população.

O banco de sementes pode retardar o aparecimento de biótipos de plantas daninhas resistentes a um determinado herbicida. Quanto maior for o período de dormência das sementes das plantas daninhas, maior será o tempo necessário para esgotar o banco de sementes do biótipo suscetível no solo, mesmo que haja pressão de seleção muito forte. Portanto, a manutenção e o manejo de um banco de sementes diversificado no solo podem retardar o aparecimento de biótipos de plantas resistentes a um determinado herbicida, mantendo-se baixa a frequência desse biótipo, por um tempo maior (Christoffoleti et al., 2000).

O número ou densidade das plantas daninhas é muito importante porque, como se considera que plantas resistentes ocorrem naturalmente em populações de plantas daninhas, quanto maior a densidade dessas plantas, maior a chance de que alguns indivíduos resistentes estejam presentes (Kissmann, 2003).

1.9. Fatores Agronômicos que Interagem no Desenvolvimento da Resistência

Os fatores agronômicos que favorecem o rápido desenvolvimento da resistência estão relacionados com as características do herbicida e as práticas culturais. No caso dos herbicidas, alguns grupos químicos apresentam maiores riscos de desenvolvimento de resistência quando comparados com outros, principalmente aqueles que apresentam um único mecanismo de ação ou desintoxicação (especificidade).

A utilização de herbicidas com residuais prolongados ou herbicidas sem ação residual, mas aplicados repetidamente; o uso de herbicidas com alto grau de eficiência no controle do biótipo suscetível e; as aplicações de doses elevadas proporcionam uma pressão de seleção muito grande, favorecendo o desenvolvimento do biótipo resistente (Christoffoleti et al., 1994; Vidal & Fleck, 1997; Vargas, 2003).

Ainda, em regiões onde as condições ambientais não são favoráveis à decomposição do herbicida, a maior persistência do produto no solo favorecerá o processo de seleção de populações de plantas daninhas resistentes, sendo maior a pressão de seleção exercida sobre a população de plantas daninhas, principalmente se houver múltiplos fluxos de emergência de sementes no mesmo ano agrícola (Gazziero et al, 1998).

As sementes de plantas daninhas apresentam padrão de germinação que pode ser classificado em contínuo ou em fluxos (Egley & Willians, 1991). Se utilizarmos um herbicida com residual prolongado, a germinação/emergência desses fluxos será controlada pelo produto mesmo depois do fechamento da cultura, ocorrendo assim, uma pressão de seleção muito grande para o biótipo resistente, já que seria impedida a produção de sementes de plantas daninhas do biótipo suscetível. O ideal seria que o herbicida tivesse efeito apenas no período crítico de competição entre a cultura e as plantas daninhas e que os fluxos subsequentes fossem controlados apenas pelo sombreamento da cultura (Christoffoleti et al., 2000).

Como exemplo, aplicações de herbicidas com efeito residual prolongado, como as triazinas, proporcionam uma alta pressão de seleção, pois as germinações sucessivas das diversas gerações de plantas daninhas ficam expostas ao herbicida e, conseqüentemente, a população de plantas daninhas sobreviventes adquire uma proporção cada vez mais alta de indivíduos resistentes.

O uso de herbicidas de ação foliar sem atividade residual, como o paraquat, também impõe uma alta pressão de seleção se as aplicações forem feitas repetidamente sempre que as plantas daninhas emergirem (Christoffoleti et al., 1994).

Quando o herbicida é aplicado nas doses recomendadas, ocorre o controle apenas da população suscetível, sendo que o biótipo resistente consegue sobreviver, escapando da ação do herbicida e produzindo sementes. Se o herbicida é altamente eficiente no controle da planta suscetível, ou seja, controla 100% das plantas suscetíveis, apenas o biótipo resistente é que consegue produzir sementes e desta forma o banco de sementes do biótipo resistente tende a aumentar e o biótipo suscetível tende a diminuir, principalmente se o banco de sementes desta população for de curta duração (Christoffoleti & López-Ovejero, 2008) (Figura 2).

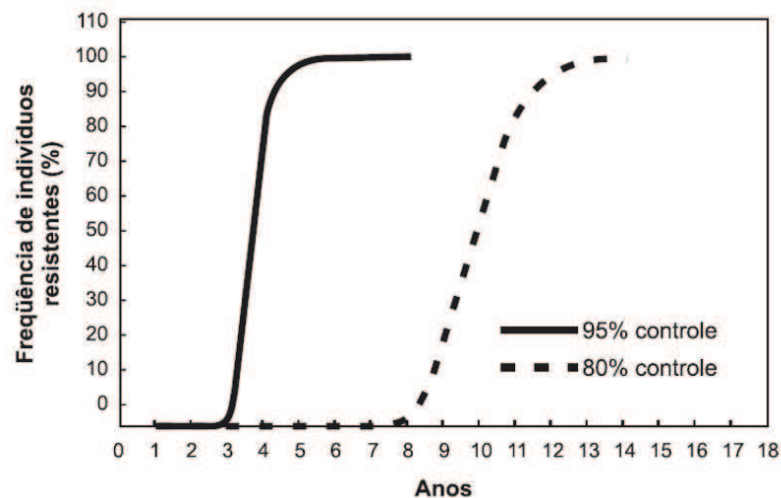


Figura 2. Predição do surgimento de plantas daninhas resistentes em função do grau de eficiência do herbicida (Fonte: Powles et al., 1997).

Torna-se evidente que doses elevadas de herbicidas proporcionam uma pressão de seleção muito grande sobre o biótipo resistente da planta daninha existente na área. Assim, áreas que recebem doses elevadas de herbicidas têm maior tendência a desenvolver biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas (Christoffoleti & López-Ovejero, 2008).

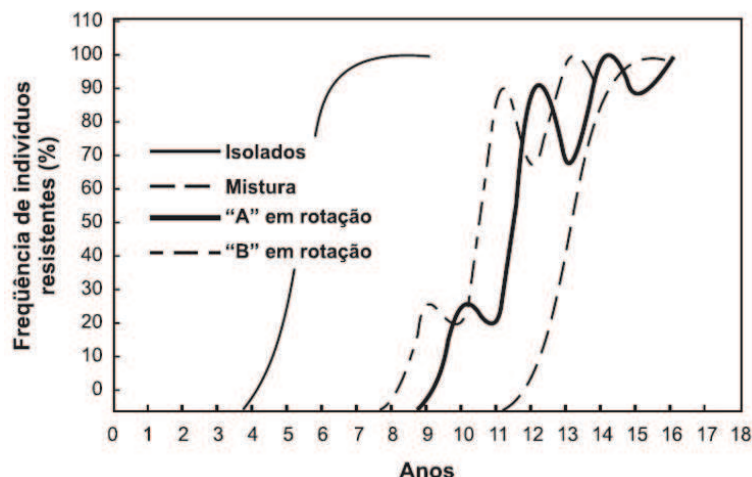


Figura 3. Predição do surgimento da resistência de plantas daninhas aos herbicidas dos grupos "A" e "B" quando aplicados continuamente isolados, em rotação de A e B ou em misturas (Fonte Powles et al., 1997).

Entre as práticas culturais que podem levar ao aparecimento de populações resistentes temos o manejo de plantas daninhas exclusivo com herbicidas; o uso repetitivo do mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação durante diversos anos agrícolas (Figura 6), falta de rotação de culturas (monocultura) e herbicidas; pouca utilização de controle mecânico de plantas daninhas ou a não eliminação dos escapes de controle do herbicida e não utilização de mistura ou sequência de herbicidas para controle de plantas daninhas em uma cultura (Christoffoleti et al., 1994; Vidal & Fleck, 1997; Gazziero et al., 1998; Vargas, 2003).

Se o mesmo herbicida é usado no manejo de plantas daninhas durante diversos anos agrícolas, a seleção do biótipo resistente tem maior probabilidade de ocorrência. É comum nos sistemas de monocultivo de áreas extensivas que certos herbicidas sejam preferencialmente aplicados no controle de plantas daninhas na cultura. Desta forma, o agricultor muitas vezes usa apenas um único herbicida nas diversas safras agrícolas. A aplicação sequencial de dois herbicidas diferentes, porém com o mesmo mecanismo de ação, tem um efeito semelhante à aplicação repetitiva de um

dos herbicidas isoladamente, pois ambos exercem pressão de seleção semelhante na população (Christoffoleti et al., 2000) (Figura 3).

Entre as características relacionadas ao sistema de cultivo, o plantio direto e o cultivo mínimo são amplamente utilizados por razões de conservação do solo e da água, porém favorecem o aparecimento de alguns tipos de plantas daninhas anuais e perenes. Isso ocorre porque o desenvolvimento de populações de plantas daninhas é facilitado a partir de sementes produzidas na cultura anterior, que são mantidas na superfície do solo. Este processo acelera o desenvolvimento de plantas daninhas resistentes porque a porção do banco de sementes recrutada para germinação é menor (Madsen & Jensen, 1998). Também, essa maior emergência de plantas daninhas justifica a utilização de herbicidas com efeito residual e de aplicação em pós-emergência, o que aumenta a pressão de seleção, sendo que no sistema convencional é menor devido a menor utilização de herbicidas (Boerboom, 1999).

Utomo & Susanto, citado por Mortimer & Hill (1999), demonstraram que diferentes sistemas de manejo conduzem a diferentes infestações de plantas daninhas. Comparando sistemas de plantio direto, cultivo mínimo e convencional, os autores observaram uma grande diferença entre as espécies dominantes no final do estudo, onde a composição da população inicial era a mesma. No plantio direto, logo nos primeiros anos de cultivo, houve um grande aumento de folhas largas, mostrando claramente a adaptação destas plantas daninhas ao sistema. Tal adaptação também é observada em função do herbicida usado na área.

Os três fatores principais que influenciam a resistência são: a pressão de seleção imposta pelo herbicida, a frequência inicial do gene resistente e a densidade da planta daninha. Sendo assim, a seguir é apresentada uma escala dos fatores de maior risco num sistema de cultivo e classifica o risco de resistência em baixo, médio e alto (Tabela 1). A lista pode ser utilizada por espécie de planta daninha onde um sistema de cultivo em sua forma mais simples é a condução de uma cultura numa área definida.

Tabela 1. Avaliação de risco de desenvolvimento de resistência por espécies alvo.

Opções de Manejo	Baixo	Moderado	Alto
Mistura ou rotação de herbicidas	>2 modos de ação	2 modos de ação	1 modo de ação
Formas de controle de plantas daninhas	Cultural, mecânico e químico	Cultural e químico	Somente químico
Uso de igual modo de ação por ciclo	Uma vez	Mais de uma vez	Muitas vezes
Sistema de Cultivo	Rotação plena	Rotação limitada	Sem rotação
Resistência Relativa ao Modo de Ação	Desconhecida	Limitada	Comum
Nível de Infestação	Baixo	Moderado	Alto
Controle nos 3 Anos Passados	Bom	Decrescente	Baixo

1.10. Modo de ação x mecanismo de ação x sítio de ação de um herbicida

O modo de ação de um herbicida descreve a sequência eventos que um herbicida é submetido até causar a morte da planta. Assim, inclui os processos de absorção, translocação, metabolismo e interação no sítio de ação. O mecanismo de ação por sua vez descreve a reação metabólica principal afetada pelo herbicida na planta. Já o sítio de ação é o exato local de inibição pelo herbicida, tais como a atividade de uma enzima ou um processo metabólico.

Os herbicidas são principalmente classificados de duas maneiras. Uma é pelas famílias que tem em comum estruturas químicas semelhantes e a outra, mais importante, pela atividade na planta. Mais de uma centena de herbicidas estão no mercado disponíveis para o controle de plantas daninhas, sendo que muitos têm a mesma forma de atuação nas plantas, ou seja, o mesmo mecanismo de ação, assim é muito útil a classificação dos herbicidas pelo mecanismo de ação.

1.11. Referências bibliográficas

- BHOWMIK, P.C. e BEKECH, M.M. Horseweed (*Conyza canadensis*) seed production, emergence, and distribution in no-tillage corn (*Zea mays*). **Agronomy (Trends in Agricultural Science)**, 1, 67–71. 1993.
- BOERBOOM, C.M. Nonchemical options for delaying weed resistance to herbicides in Midwest cropping systems. **Weed Technology**, v. 13, p.636-642, 1999.
- CHARLESWORTH, B. 1992. **Evolutionary rates in partially self-fertilizing species**. Am. Nat. 140: 126-148.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. e LÓPEZ-OVEJERO. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: definições, base esituação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. e LÓPEZ-OVEJERO (Org.) **Aspectos da resistência de plantas daninhas aherbicidas**. Piracicaba: HRAC, 2008, p. 9-29.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. Curvas de dose-resposta de biótipo resistente de *Brachiaria plantaginea* a herbicidas inibidores da ACCase. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.2, n.3, p.87-91, 2001.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R. e SILVA, C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v.12, n.1, p.13-20, 1994.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; MEDEIROS, D. e MONQUEIRO, P.A.; PASSINI, T. Plantas daninhas à cultura da soja: controle químico e resistência a herbicidas. In: CÂMARA, G.M.S. (Ed.) **Soja: tecnologia da produção**. Piracicaba: ESALQ, p.179-202. 2000.
- CHUECA, C.; CIRUJEDA, A.; DE PRADO, R.; DIAZ, E.; ORTAS, L.; TABERNER, A.; ZARAGOZA, C. **Colección de folletos sobre manejo de poblaciones resistentes en Papaver, Lolium, Avena y Echinochloa**. SEMh Grupo de Trabajo CPRH. p. 1. 2005.
- CORTEZ, M.G.; MADUREIRA, A. e OVEJERO, R.L. Resistência de *Digitaria* sp. a herbicidas inibidores da acetil coenzima A

- carboxilase (ACCase). In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23., Londrina, 2002. **Resumos...**Londrina: SBCPD/Embrapa Clima Temperado, p.191, 2002.
- CULPEPPER, A. S.; YORK, A. e MARSHALL, M. W. Glyphosate-resistant Palmer amaranth in the Southeast. Pages in T. M. Webster, ed. **Proceedings of the Southern Weed Science Society**. Orlando, FL: Southern Weed Science Society, v.62. p.371. 2009.
- EGLEY, G.H. e WILLIAMS, R.D. Emergence and periodicity of six summer annual weed species. **Weed Science**, v.39, p.595-600, 1991.
- GAZZIERO, D.L.P.; BRIGHENTI, A.M.; MACIEL, C.D.G.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; ADEGAS, F.S. e VOLL, E. Resistência de amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da enzima ALS. **Planta Daninha**. v.16, n.2, p.117-125, 1998.
- HARMS, C.T., e J.J. DIMAIO. 1991. UJ Primisulfuron herbicide-resistant tobacco jr cell lines. Application of fluctuation test ce design to *in vitro* mutant selection with 0 plant cells. **J. Plant Physiol.** 137: 513-519.
- HEAP, I.A. **Criteria for confirmation of the herbicide-resistant weeds.** Disponível em: <http://www.weedscience.org/Documents/ResistanceCriterion.pdf>. Acesso em: 15/07/2016.
- JAMES, J. W. Simultaneous selection for dominant and recessive mutants. **Heredity**, v. 20, p. 142-144, 1965.
- JASIENIUK, M., A.L. BRÛLÉ-BABEL, e I.N. MORRISON. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. **Weed Sci.** v. 44, n. 1, p. 176-193, 1996.
- JASIENIUK, M. e MAXWELL, B.D. Populations genetics and the evolution of herbicide resistance in weeds. **Phytoprotection**, v. 75, n. 4, p. 25-35, 1994.
- KISSMANN, K.G. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas.** Disponível em: http://www.hrac-br.com.br/arquivos/texto_resistencia_herbicidas.doc. Acesso em: 01/06/2016.
- MADSEN, K.H. e JENSEN, J.E. **Meeting and training on risk analysis of HRCs and exotic plants.** In: Curso sobre análise de risco da introdução de cultivares exóticas e plantas daninhas resistentes aos herbicidas. Piracicaba: ESALQ-USP, 1998.
- MACRAE, A.W.; CULPEPPER, A.S.; WEBSTER, T.M.; SOSNOSKIE, L.M. e KICHLER, J.M. Glyphosate-resistant Palmer amaranth competition with Roundup Ready cotton. In **Proceedings of the Beltwide Cotton Conferences**, p. 1696. 2008.

- MELO, M.S.C. **Levantamento de ocorrência, alternativas de manejo, mecanismos de resistência e herança genética do capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao herbicida glyphosate.** 2015. 108 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.
- MORTIMER, A.M. e HILL, J.E. Weed species shifts in response to broad spectrum herbicides in sub-tropical and tropical crops. In: THE 1999 BRIGHTON CONFERENCE, 11., Brighton, 1999. **Proceedings...** Brighton: British Crop Protection Council, 1999. v.11, p.425-436.
- MUELLER, T.C.; MITCHELL, P.D.; YOUNG, B.G.; CULPEPPER, A.S. Proactive Versus Reactive Management of Glyphosate-Resistant or -Tolerant Weeds. **Weed Technology**, v. 19, issue 4, p. 924-933, 2005.
- POWLES, S.B.; PRESTON, C.; BRYAN, I.B. e JUTSUM, A.R. Herbicide resistance: Impact and management. **Advances in Agronomy**, v.58, p.57-93, 1997.
- SAARI, L.L., COTTERMAN, J.C. e THILL, D.C. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. Pages83-139 in S.B. Powles and J.A.M. Holtum (eds.), **Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry**. Lewis Publ., Boca Raton, FL.1994.
- SOSNOSKIE, L.M. e CULPEPPER, A.S. Glyphosate-Resistant Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) Increases Herbicide Use, Tillage, and Hand-Weeding in Georgia Cotton. **Weed Science**, Lawrence, Vol. 62, April-June, No. 2, p. 393-402. 2014.
- UTOMO, M. e SUSANTO, H. Effect of long-term conservation tillage on soil properties and weed dynamics in Sumatra. In.: **Proceedings 16 th Asian-Pacific Weed Science Society Conference**, 1997, p.336-339.
- VARGAS, R. **Herbicide resistance**. The University of Arizona. Disponível em: <http://ag.arizona.edu/crops/pesticides/papers/herbresis.html>. Acesso em: 02/04/03.
- VENCILL, W.K.; NICHOLS, R. L.; WEBSTER, T.M.; SOTERES, J.K.; MALLORY-SMITH, C.; BURGOS, N. R.; JOHNSON, W.G. e MCCLELLAND, M. R. Herbicide Resistance: Toward an Understanding of Resistance Development and the Impact of Herbicide-Resistant Crops. **Weed Science**, Lawrence, v. 60, special issue, p. 02-30, 2012.
- VIDAL, R.A. e FLECK, N.G. Análise do risco da ocorrência de biotipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas. **Planta Daninha**, v.15, n.12, p.152-161, 1997.

CAPÍTULO 2

CRITÉRIOS PARA RELATO DE NOVOS CASOS DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS

Pedro Jacob Christoffoleti
Ednaldo Alexandre Borgato
Acácio Gonçalves Netto
Saul Jorge Pinto de Carvalho
Marcelo Nicolai

2.1. Introdução

Atualmente, uma das principais discussões acerca do manejo de plantas daninhas nas culturas agrícolas brasileiras ou mundiais é a seleção de biótipos resistentes a herbicidas. A extensão das áreas agrícolas detectadas com a presença de biótipos de plantas daninhas resistentes pode ser considerada de pequena escala quando comparada com a área agrícola total, mas tem aumentado consideravelmente nos últimos anos (López-Ovejero et al., 2006).

Para relatos e registro de resistência de um biótipo de planta daninha deve-se seguir os seguintes critérios:

2.2. Definição de resistência de plantas daninhas

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é definida como **“a capacidade inerente e herdável de determinados biótipos, dentro de uma população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição a doses de herbicidas que seriam letais a indivíduos normais (suscetíveis) da mesma espécie”** (Christoffoleti & López-Ovejero, 2008). Ao grupo de indivíduos possuidores de carga genética semelhante e pouco diferenciados da maioria dos indivíduos da espécie dá-se o nome de biótipo (Kissmann, 1997).

O aparecimento de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas está condicionado a uma mudança genética na população, imposta pela pressão de seleção, causada pela aplicação repetitiva do herbicida na dose recomendada, ou seja, trata-se de um fenômeno natural que ocorre espontaneamente nas populações, não sendo, portanto, o herbicida o agente causador, mas sim

selecionador dos indivíduos resistentes que se encontram em baixa frequência inicial (Christoffoleti & López-Ovejero, 2008; López-Ovejero et al., 2006).

2.2.1. Definição de resistência acadêmica

A definição acadêmica de resistência leva em conta que exista diferença estatística entre as respostas aos herbicidas na comparação entre os biótipos resistente e suscetível. Essa definição, no entanto, não se baseia em alguns pontos importantes a serem considerados. Um dos principais é ter como referência a dose recomendada do herbicida, uma vez que o biótipo resistente pode apresentar diferenças estatísticas em relação ao suscetível, porém ser controlado pela dose de campo recomendada pelo fabricante. Se uma determinada população de plantas daninhas for controlada de maneira eficaz pela dose de bula recomendada pelo fabricante não pode ser considerada resistente. Ainda, populações de diferentes locais podem ter valores de GR_{50} diferentes para um mesmo herbicida, estatisticamente diferentes entre si, uma vez que podem ocorrer variações naturais em diferentes populações de uma mesma espécie. Assim, o mais apropriado para o relato de um novo caso é que o biótipo resistente apresente diferenças em relação à média de várias outras populações suscetíveis (Heap, 2016).

2.2.2. Definição de resistência agronômica

A resistência agronômica classifica uma planta como resistente quando a mesma sobrevive à dose recomendada do herbicida sob condições normais de campo. Porém, assim como a definição acadêmica, não atende outras considerações fitotécnicas e edafoclimáticas importantes. Isso porque a dose recomendada de um determinado herbicida pode variar de acordo com a espécie a ser controlada ou estágio de desenvolvimento, tipos de solo (no caso de herbicidas pré-emergentes), entre diferentes regiões, e até mesmo entre diferentes culturas agronômicas. Essas variações deixam abertura para que, por exemplo, um determinado biótipo possa ser considerado resistente em determinada cultura, e suscetível em outra, ainda que a resposta ao herbicida de fato seja uma só. Ressalta-se,

também, que a dose recomendada está relacionada à espécie de planta daninha de mais difícil controle presente na infestação. Dessa forma, um determinado biótipo pode apresentar fator de resistência (R/S) de nível 4, por exemplo, e ainda assim ser controlado pela dose recomendada em outra situação (Heap, 2016).

2.3. Confirmação por meio de resultados obtidos por protocolos com base científica

Para confirmar um novo caso de resistência deve-se simular, o mais próximo possível, as condições normais de aplicação no campo em um ambiente controlado (câmara de crescimento, casa-de-vegetação, etc.). Para tanto, o mais recomendado é o procedimento de curvas de dose resposta (Ryan, 1970; Christoffoleti, 2002; Nielsen et al., 2004), para se determinar a dose que promove 50% de controle (C_{50} ou DL_{50}) ou de redução de massa (GR_{50}) de biótipos resistentes e suscetíveis (Christoffoleti, 2002; Burgos et al., 2013).

Uma faixa ampla de doses de herbicida deve ser utilizada, para incluir doses letais e sub-letais, tanto para os biótipos resistentes como para os suscetíveis (Heap, 1994). A resistência neste tipo de experimento é confirmada se houver diferença estatística na resposta ao herbicida entre o biótipo supostamente resistente e o biótipo suscetível. Modelos de regressão não lineares podem ser usados para comparar os resultados (Streibig, 1988; Brain & Cousens 1989; Seefeldt et al., 1995).

Neste ponto, ressalta-se a importância da aplicação do herbicida sobre as plantas a serem comparadas apresentando o mesmo estágio fenológico, visto que o desenvolvimento da planta pode interferir nestes parâmetros, conduzindo o pesquisador a resultados e conclusões por vezes equivocadas.

Para que esta metodologia de análise tenha resultados satisfatórios, bem como adequado ajuste dos modelos, há alguns detalhes que devem ser mencionados. O primeiro, e talvez um dos mais importantes, é a amplitude de doses. Em geral, o número mínimo de doses utilizado para o ajuste de curvas de dose-resposta é quatro, contudo recomenda-se o uso de pelo menos seis doses e os melhores ajustes são

obtidos com intervalos de oito ou mais doses (Moss, 1999; Seefeldt et al., 1995).

É fundamental que as doses sejam proporcionalmente superiores e inferiores à dose recomendada. Neste tipo de experimento, é muito importante a obtenção de controles máximos, os mais próximos possíveis de 100%; porém, é igualmente importante a obtenção dos controles baixos, principalmente aqueles próximos à C_{50} ou GR_{50} . Em geral, não se consegue ajuste dos dados às equações quando não são obtidos controles inferiores a 50%, justificando a importância das doses inferiores à recomendada, principalmente nos casos em que a planta daninha é muito sensível ao herbicida em estudo.

Por se tratar de modelos logarítmicos, recomenda-se que exista proporção geométrica entre as doses, pois isto proporciona a equidistância destas quando projetadas no eixo x . Esta medida não é uma regra, porém sua aplicação geralmente resulta em resultados satisfatórios. Para plantas daninhas com susceptibilidade mediana aos herbicidas, tem-se utilizado doses múltiplas de 2, por exemplo: 0D, 1/8D, 1/4D, 1/2D, D, 2D, 4D e 8D; em que D é a dose recomendada do herbicida. Para plantas daninhas mais sensíveis, principalmente para as condições de sub-dose, pode-se utilizar múltiplos de 4 ou 10.

A análise estatística deste tipo de experimento deve ser feita inicialmente por meio da aplicação do teste F na análise da variância. Identificando-se a diferença de resposta dos biótipos aos tratamentos herbicidas, realiza-se a análise de regressão não-linear. Os modelos mais utilizados para este tipo de análise são aqueles propostos por Streibig (1988) e Seefeldt et al. (1995), representados pelas Equações

1 e 2, respectivamente.

$$y = \frac{a}{\left[1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c\right]} \quad (1) \qquad y = P_{mín} + \frac{a}{\left[1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c\right]} \quad (2)$$

De posse dos valores de C_{50} ou GR_{50} , obtém-se o “Fator de Resistência - F” ou “Nível de Resistência - N”, que corresponde à razão entre o C_{50} ou GR_{50} do biótipo resistente e o C_{50} ou GR_{50} do biótipo suscetível. O fator de resistência ($F = R/S$) expressa o número de vezes em que a dose necessária para controlar 50% do biótipo resistente é superior à dose que controla 50% do biótipo suscetível (Hall et al., 1998).

O fator de resistência (FR) é calculado pelo quociente entre o GR_{50} do biótipo resistente e o GR_{50} do biótipo suscetível, e expressa o número de vezes em que a dose necessária para controlar 50% da população resistente é superior à dose que controla 50% da população suscetível (Hall et al., 1998; Christoffoleti, 2002). A resistência é confirmada quando $FR > 1,0$ (Saari et al., 1994).

Algumas controvérsias sobre a definição de resistência primariamente resultam de diferentes pontos de vista sobre o que se constitui a variação natural nas populações de plantas daninhas e o que é classificado como baixo nível de resistência. A questão mais importante deste documento é esclarecer o que se considera como limite para o baixo nível de resistência e o que é necessário para testarem-se tais casos.

2.4. Caracterização da herdabilidade da resistência da planta daninha ao herbicida

Os ensaios conduzidos para confirmação de resistência em condições de ambiente controlado (casa-de-vegetação) ou até mesmo de laboratório normalmente são feitos a partir de plantas que produtores relatam ter dificuldades de controle. Na maioria das vezes, a coleta dessas sementes ou estruturas de propagação vegetativa é feita massivamente no campo a partir de plantas que sobreviveram após aplicação do herbicida. Em inúmeros casos, no entanto, quando o ensaio é conduzido em condições controladas as plantas previamente coletadas podem ser controladas pelo herbicida. Isso pode ocorrer devido à alguns fatores não observados na etapa a campo, tais como: I. herbicida utilizado (modo e mecanismo de ação); II. planta daninha (espécie, tipo de planta daninha, estágio de desenvolvimento no momento da

aplicação, fluxos de germinação, nível de infestação elevada); III. fatores relacionados a tecnologia de aplicação do herbicida (bicos, pressão, velocidade, manobras, etc.); IV. condições meteorológicas (regime de chuvas e temperatura); V. condições edáficas (umidade, preparo, sorção, práticas agrícolas); VI. dados da cultura e; VII. tipo de plantio condições ambientais inapropriadas durante a aplicação do herbicida (excesso de vento, temperatura elevada, etc), ou uso inapropriado do herbicida (menor dose do herbicida, falta de adjuvante necessário, baixa pressão de pulverização, tanque de pulverizador com produtos que possuem antagonismo, etc) (CBRPH, 2000). Esses fatores podem resultar no escape de controle ou falhas de aplicação e, conseqüentemente, não atendendo à definição agrônômica. Segundo a WSSA, cerca de 90% de plantas que sobreviveram após exposição ao herbicida no campo podem ocorrer por essas razões. A resistência deve ser considerada somente após a eliminação das demais possibilidades (Moss, 1999).

Para confirmação da resistência, no entanto, é necessário que essa característica seja herdável, ou seja, transmitida de geração para geração. Assim, tanto os indivíduos parentais quanto a prole devem atender aos critérios descritos previamente. Alguns cuidados devem, então, ser tomados durante a coleta das plantas com suspeita de resistência a campo e com a condução de curvas-de-dose resposta, utilizada para confirmação da resistência e avaliação dos níveis de resistência (Burgos et al., 2013).

A coleta das sementes deve ser feita a partir de sub-amostras de diferentes plantas possivelmente resistentes, e constituir uma amostra para que a represente a suspeita de resistência observada no campo (Moss, 1999). Burgos et al. (2013) recomendam que com essas sementes sejam conduzidos experimentos de curva de dose-resposta, sugerindo repetições no espaço e no tempo.

A herança da resistência pode ser confirmada por meio de *screening* do herbicida na prole. Para isso, recomenda-se que nesse experimento sejam utilizadas doses discriminantes. Somente a dose recomendada pelo fabricante pode não ser suficiente para confirmar a resistência com confiabilidade e,

por essa razão, sugere-se o uso de mais de uma dose. Assim, é possível também avaliar a suscetibilidade de uma população com maior confiabilidade, além de ser possível avaliar a suscetibilidade entre diferentes populações. Caso poucas populações estejam sendo investigadas, recomenda-se se a condução de curvas de dose-resposta. Ainda, deve-se incluir uma população suscetível em cada experimento que tenha como objetivo a confirmação da resistência (Burgos et al., 2013).

2.5. Demonstração do impacto prático no campo da resistência da planta daninha ao herbicida.

Os casos de resistência devem ter importância prática para serem considerados pelo HRAC. Ressalta-se que variações naturais na resposta de herbicidas entre as populações de plantas daninhas, mas em casos em que doses recomendadas do herbicida mantêm eficácia adequada, não são aceitas pela associação para registrar como caso de resistência. Este critério se torna ainda mais crítico quando trata de casos em que a variação de controle entre diferentes populações é pequena. Sob o ponto de vista acadêmico pode ser considerado um caso de nível baixo de resistência de plantas daninhas a herbicidas, porém em nível agrônomo não pode ser caracterizado com resistência de plantas daninhas a herbicidas, mas sim apenas como variabilidade genética natural das plantas daninhas em seu grau de suscetibilidade (Heap, 2016).

Critério 5. Identificação botânica da espécie da planta daninha em análise, e não como resultado de uma seleção deliberada/artificial.

A caracterização de um biótipo de planta daninha resistente a herbicida deve ser feita depois de adequada identificação sistemática da planta daninha em nível de espécie e subespécie. Não é admitido qualquer relato onde dúvidas existam sobre a espécie em questão, pois diferenças de suscetibilidade existem entre espécies de mesmo gênero e, portanto, não devem ser caracterizadas como resistência, mas sim tolerância interespecífica. Isso acontece, por exemplo, no caso do capim-colchão (*Digitaria* spp.) em que

herbicidas inibidores do fotossistema II são eficazes no controle da maioria das espécies, mas *D. nuda* apresenta tolerância diferencial ao herbicida diuron (Dias et al., 2009; Tropaldi et al. 2014). Para ser classificada como planta daninha resistente a herbicidas, é necessária que seja feita a identificação da espécie devidamente, quando necessário. Casos de seleção deliberada para resistência a herbicidas, incluindo culturas resistentes a herbicidas de ocorrência voluntária, não devem ser incluídas como casos de registro (Heap, 2016).

2.6. Referência bibliográficas

- BRAIN, P. e R. COUSENS. 1989. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses. **Weed Res.** 29:93-96.
- BURGOS, N.R.; TRANEL, P.J.; STREIBIG, J.C.; DAVIS, V.M.; SHANER, D.; NORSWORTHY, J.K. e RITZ, C. Review: confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance. **Weed Science**, v.61, n.1, p.4-20, 2013.
- CBRPH (Comitê Brasileiro de Resistência de Plantas a Herbicidas). **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. É melhor prevenir do que remediar. Londrina: SBCPD, 2000. 32 p.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. e LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3.ed. Piracicaba: HRAC-BR, 2008. p. 3-30.
- 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, n.3, p.513-519, 2002.
- DIAS, A.C.R., NICOLAI, M. e CHRISTOFFOLETI, P.J. **Capim-colchão – Identificação e manejo na cultura da cana-de-açúcar**. Piracicaba, 68 p., 2009.
- HALL, L.M., STROME, K.M. e HORSMAN, G.P. Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false clover (*Gallium spurium*). **Weed Sci**, n. 46, p. 390-396, 1998.
- HEAP, I.A. **Criteria for confirmation of the herbicide-resistant weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org/in.asp>. Acesso em: 25/5/2016.
- Heap, I. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Online. Internet. Sunday, July 10, 2016. Available www.weedscience.org

- KISSMANN, K.G. **Plantas infestantes e nocivas** – Tomo I: Plantas inferiores e monocotiledôneas. São Paulo: BASF S.A., 1997. 824p.
- LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; ABREU, A.G.; GROMBONI-GUARATINI, M.T.; TOLEDO, R.E.B. e CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistance and differential susceptibility of *Bidens pilosa* and *B. subalternans* biotypes to ALS-inhibiting herbicides. **Scientia Agricola**, v.63, n.2, p.139-145, 2006.
- LÓPEZ-OVEJERO, R.F. **Resistência de populações da planta daninha. *Digitaria ciliaris* aos herbicidas inibidores da ACCase**. Piracicaba, 2006. 101p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- MOSS, S. **Detecting herbicide resistance**. 1999. 12p. Disponível em: <http://www.plantprotection.org/hrac/detecting.html>. Acesso em: 03/10/2006.
- NIELSEN, O.K.; RITZ, C. e STREIBIG, J.C. Nonlinear mixed-model regression to analyze herbicide dose–response relationships. **Weed Technology**, v.18, p.30-37, 2004.
- RYAN, G. F. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. **Weed Science**, v.18, p.614-620, 1970.
- SAARI, L. L.; COTTERMAN, J. C. e 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, 1994. 353 p.
- SEEFELDT, S.S.; JENSEN, J.E. e FUERST, E.P. Loglogistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, v.9, n.2, p.218-227, 1995.
- STREIBIG, J.C. Herbicide bioassay. **Weed Research**, v.28, n.6, p.479-484, 1988.
- TROPALDI, L.; VELINI, E.D.; CARBONARI, C.A.; ARALDI, R.; CORNIANI, N.; GIROTTO, M. e SILVA, I.P.F. Detecção da tolerância de diferentes espécies de capim-colchão a herbicidas inibidores do fotossistema II utilizando a técnica da fluorescência. **Ciência Rural**, online, disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/2015nahead/1678-4596-cr-0103_8478cr20140506.pdf> Acesso em 15/07/2016.

CAPÍTULO 3

RESISTÊNCIA MÚLTIPLA E CRUZADA: CASOS NO BRASIL E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS

Ednaldo Alexandre Borgato
Acácio Gonçalves Netto

3.1. Resistência múltipla e cruzada: Definições e alguns casos ocorrentes no Brasil

A resistência de plantas daninhas à herbicidas se refere aos mecanismos de resistência que um indivíduo possui, ou mesmo quanto aos herbicidas aos quais o indivíduo é resistente. Assim, surgem os conceitos de resistência múltipla e cruzada.

A resistência múltipla ocorre quando um indivíduo possui um ou mais mecanismos que conferem resistência a herbicidas com mecanismo de ação diferentes (Christoffoleti & López-Ovejero, 2008). No Brasil, os casos de resistência múltipla cresceram significativamente nos últimos anos (Tabela 1) mas, apesar da maior dificuldade de manejo, até o momento há relatos de biótipos resistentes à dois sítios de ações. A exemplo, foram documentados biótipos de *Conyza sumatrensis* resistente a inibidores da ALS e ao glifosato (Santos et al., 2014) e, mais recentemente, *Amaranthus palmeri* resistente ao glifosato e a inibidores da ALS (Carvalho et al., 2015; Gonçalves Netto et al., 2016), sendo que o biótipo recém introduzido ao País já possuía essas características.

A resistência cruzada ocorre quando biótipos de plantas daninhas são resistentes a dois ou mais herbicidas pertencentes a um mesmo mecanismo de ação, de grupos químicos diferentes. A exemplo de resistência cruzada relatado no Brasil, tem se o recente caso do *Amaranthus palmeri* resistente ao chlorimuron-ethyl (sulfoniluréia), imazethapyr (imidazolinona) e cloransulan-methyl (triazolopirimidina), pertencentes, respectivamente, aos grupos químicos das sulfoniluréias, imidazolinonas e triazolopirimidinas, inibidores da ALS (Gonçalves Netto et al.

2016). Ainda, foram reportados biótipos de *Amaranthus retroflexus* com resistência aos herbicidas trifloxysulfuron-sodium e pyriithiobac-sodium ocorrendo nos estados do Mato Grosso do Sul e Goiás (Francischini et al. 2014), e de *Fimbristylis miliacea* resistente aos herbicidas bispyribac-sodium, ethoxysulfuron, pyrazosulfuron-ethyl e penoxsulam em áreas de arroz no Sul do Brasil (Schaedler et al., 2013). No Brasil, poucos são os casos de resistência relatados em que não foi reportada a resistência cruzada (Tabela 2).

No Brasil, até o momento, os casos de resistência múltipla documentados não possuem resistência à mais de dois mecanismos de ação herbicida. Porém, no mundo há algumas espécies bastante relatadas com resistência a múltipla a diversos mecanismos de ação. *Amaranthus palmeri* planta nativa dos EUA (Sauer, 1957) foi classificada pela Weed Science Society of America (WSSA) como a espécie mais problemática no país. Em 2006 foi confirmada a presença de biótipo resistente a glifosato no estado da Geórgia (Culpepper et al., 2006). Desde então, diversos outros casos de resistência dessa espécie foram reportados, tais como: ALS + PSII + HPPD e ALS + EPSPS + PSII. Outra espécie problemática nos Estados Unidos é *A. tuberculatus*, sendo que Heap (2016) registra resistência múltipla à diversos mecanismos de ação: ALS + PSII + PPO; ALS + PSII + HPPD; ALS + PSII + PPO + EPSPS e ALS + PSII + HPPD + EPSPS.

Outro país que enfrenta dificuldades de manejo de biótipos com múltiplas resistências é a Austrália. Lá, biótipos de *Lolium perene* (spp. *multiflorum*) foram reportados possuindo resistência múltipla a ALS + ACCase + EPSPS e ALS + ACCase + Divisão celular (Heap, 2016). Outra espécie ainda mais problemática no país é *L. rigidum*, que já teve reportada resistência múltipla à mais de 7 sítios de ação diferentes, a saber, ALS + ACCase + Tubulina, ALS + ACCase + EPSPS + Tubulina, ALS + ACCase + PSII + PSI + EPSPS, ALS + ACCase + EPSPS, ACCase + PSI + EPSPS e ACCase + ALS + DOPX + Tubulina + Divisão Celular + Mitose + Lipídeo (Heap, 2016).

A resistência cruzada reduz as opções químicas de manejo, uma vez que os herbicidas de um mesmo mecanismo

de ação, mas pertencentes a diferentes grupos químicos, tornam-se ineficazes no controle do biótipo identificado. A resistência múltipla, por sua vez, é responsável por maior redução nas opções de controle químico, resultando em maior problemática de manejo, uma vez que torna inviável a utilização de herbicidas pertencentes aos mecanismos de ação aos quais o biótipo é resistente.

Para entender melhor as bases da resistência, considerando cada mecanismo de ação, se ordenadas pela dificuldade de controle com herbicidas, apresentariam a dispostas na seguinte ordem: Resistência isolada < Resistência cruzada < Resistência múltipla (Christoffoleti & López-Ovejero, 2008).

3.2. Casos de resistência múltipla e cruzada registrados no Brasil e situação mundial

O aparecimento de plantas daninhas resistentes a herbicidas no Brasil é recente, e o número de casos tem aumentado significativamente nos últimos anos. O primeiro relato brasileiro foi feito em 1993 reportando a resistência de biótipo de *Bidens pilosa* a herbicidas inibidores da ALS. Os últimos casos registrados relatam a ocorrência da resistência em diversas outras espécies e, muitas vezes, a resistência múltipla e/ou cruzada de espécies já reportadas anteriormente. Ainda, algumas espécies têm sido reportadas já com múltipla resistência.

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas foi relatada pela primeira vez no final da década de 60, associada com a aplicação intensiva de herbicidas pertencentes ao grupo químico das triazinas, sendo que a partir daí o número de casos registrados na *International Survey of Herbicide Resistant Weeds* (www.weedscience.org) tem aumentado rapidamente nos últimos anos (Heap, 2016).

Na Tabela 1 podem ser visualizados os casos de resistência no mundo relatado até julho de 2016, dividido por mecanismo de ação. No Brasil, os biótipos resistentes registrados são apresentados na Tabela 2 (resistência cruzada) e 3 (resistência múltipla). A cultura de soja é a que apresenta maior número de biótipos de plantas daninhas que desenvolveram resistência. Isto pode ser explicado porque

essa cultura é a principal consumidora de herbicidas, acumulando mais de 50% das vendas destes produtos.

Tabela 1. Espécies de plantas daninhas resistentes a herbicidas relatadas no site do HRAC até julho de 2016. Fonte: Heap, 2016.

Mecanismo de Ação	Grupo HRAC	Total
Inibidores da ALS	B	159
Inibidores do Fotossistema II	C1	73
Inibidores da ACCase	A	47
Inibidores da EPSPs	G	35
Auxinas sintéticas	O	32
Inibidores do Fotossistema I	D	31
Inibidores do Fotossistema II (uréias e amidas)	C2	28
Inibidores da tubulina	K1	12
Inibidores da Protox	E	10
Inibidores da síntese de lipídeos	N	10
Inibidores da síntese de aminoácidos de cadeia longa	K3	5
Inibidores do Fotossistema II (nitrila)	C3	4
Inibidores da síntese de carotenos	F1	4
Inibidores da síntese de carotenos (alvo desconhecido)	F3	4
Inibidores da síntese de celulose	L	3
Inibidores da tubulina	Z	3
Inibidores da HPPD	F2	2
Inibidores da DOXP	F4	2
Inibidores da glutamina sintetase	H	2
Inibidores da mitose	K2	1
Desconhecido	Z	1
Inibidores da divisão celular	Z	1
Inibidores da síntese de ácido nucleico	Z	1

A extensão de áreas agrícolas atualmente detectadas com presença de biótipos resistentes de plantas daninhas

pode ser considerada de pequena escala quando comparada com a área agrícola total, mas está aumentando em uma taxa elevada. Portanto, é importante que o assunto seja discutido, e que assim medidas de prevenção e manejo sejam adotadas para que os herbicidas sejam preservados para o controle eficaz e econômico na agricultura.

3.3. Mecanismos de resistência de plantas daninhas a herbicidas

A resistência é decorrente de variabilidades existentes entre as populações de plantas daninhas, que acontecem naturalmente (Jasieniuk & Maxwell, 1994). Após o uso repetitivo de um herbicida de um mesmo mecanismo de ação os biótipos resistentes são, então, selecionados e dão sequência no ciclo de vida, crescendo e se reproduzindo. Vale ressaltar que o herbicida não é responsável por gerar tais variabilidades, mas quando é utilizado atua como agente causador de pressão de seleção. Assim, as plantas suscetíveis são mortas e as plantas resistentes sobrevivem e se reproduzem sem competição das plantas suscetíveis no sistema agrícola (Christoffoleti & López-Ovejero, 2008).

Os mecanismos de resistência conhecidos até hoje estão compreendidos em duas categorias, descritas pela WSSA como *target-site resistance* (TSR) e *non-target-site resistance* (NTSR), traduzidas para o português como resistência específica e não-específica ou metabólica, respectivamente. Essa corresponde a alterações nos processos fisiológicos, metabólicos, ou até mesmo genético que os biótipos resistentes possuem, e primeira corresponde a alterações existentes no local de ação do herbicida.

Atualmente, existem pelo menos cinco mecanismos gerais que podem explicar a resistência a herbicidas e influenciar o modo de ação destes compostos:

- a) Alteração no sítio (local) de ação do herbicida;
- b) Amplificação gênica.
- c) Metabolização ou desintoxicação do herbicida;
- d) Absorção foliar e/ou translocação diferencial do herbicida;
- e) Sequestro ou compartimentalização do herbicida.

Tabela 2. Espécies de plantas daninhas com resistência cruzada a herbicidas detectadas no Brasil até julho de 2016. Fonte: Heap, 2016.

Espécie	Ano	Mecanismo de Ação
<i>Bidens pilosa</i>	1993	Inibidores da ALS (B)
<i>Euphorbia heterophylla</i>	1993	Inibidores da ALS (B)
<i>Bidens subalternans</i>	1996	Inibidores da ALS (B)
<i>Urochloa plantaginea</i> (= <i>Brachiaria plantaginea</i>)	1997	Inibidores da ALS (B)
<i>Sagittaria montevidensis</i>	1999	Inibidores da ALS (B)
<i>Sagittaria montevidensis</i>	1999	Inibidores da ALS (B)
<i>Cyperus difformis</i>	2000	Inibidores da ALS (B)
<i>Raphanus sativus</i>	2001	Inibidores da ALS (B)
<i>Digitaria ciliaris</i>	2002	Inibidores da ACCase (A)
<i>Eleusine indica</i>	2003	Inibidores da ACCase (A)
<i>Parthenium hysterophorus</i>	2004	Inibidores da ALS (B)
<i>Oryza sativa</i> var. <i>sylvatica</i>	2006	Inibidores da ALS (B)
<i>Amaranthus retroflexus</i>	2012	Inibidores da ALS (B)
<i>Raphanus raphanistrum</i>	2013	Inibidores da ALS (B)
<i>Ageratum conyzoides</i>	2013	Inibidores da ALS (B)
<i>Cyperus iria</i>	2014	Inibidores da ALS (B)
<i>Amaranthus palmeri</i>	2016	Inibidores da ALS (B)
<i>Digitaria insularis</i>	2016	Inibidores da ACCase (A)

Tabela 3. Espécies de plantas daninhas com resistência múltipla a herbicidas detectadas no Brasil até julho de 2016. Fonte: Heap, 2016.

Espécie	Ano	Resistência Múltipla a 2 Mecanismos de Ação
<i>Euphorbia heterophylla</i>	2004	Inibidores da ALS (B) e da Protox (E)
<i>Bidens subalternans</i>	2006	Inibidores da ALS (B) e do FSII (C)
<i>Echinochloa crus-galli</i> var. <i>crus-galli</i>	2009	Inibidores da ALS (B) e dos Mimetizadores de Auxina (O)
<i>Sagittaria montevidensis</i>	2009	Inibidores da ALS (B) e do FSII (C)
<i>Lolium perenne</i> ssp. <i>multiflorum</i>	2010	Inibidores da ACCase (A) e da EPSPs (G)
<i>Conyza sumatrensis</i>	2011	Inibidores da ALS (B) e da EPSPs (G)
<i>Amaranthus retroflexus</i>	2011	Inibidores da ALS (B) e do FSII (C)
<i>Amaranthus viridis</i>	2011	Inibidores da ALS (B), e do FSII (C)
<i>Amaranthus palmeri</i>	2016	Inibidores da EPSPs (G) e da ALS (B)

3.3.1. Alteração no sítio de ação do herbicida

O herbicida possui um local específico de atuação dentro da planta, podendo ser uma enzima ou proteína, onde sua ação resulta na dificuldade de ocorrência de um processo ou função particular dentro da mesma, ou seja, ocorre perda de afinidade do herbicida pelo local de ação. Esse local específico às vezes é alterado (alterações na conformação/forma) de maneira que a molécula herbicida torna-se incapaz de ligar-se apropriadamente ao local onde atua como agente inibidor, sendo assim impossibilitado de interromper/inibir os processos metabólicos em que atua e, consequentemente, de exercer sua ação fitotóxica.

Alguns exemplos de grupos de herbicidas que apresentam esse mecanismo de resistência são: Grupo A (inibidores de ACCase), Grupo B (inibidores de ALS), Grupo C (inibidores de Fotossistema II) e Grupo K (inibidores da formação de tubulina). Esse tipo de mecanismo apresenta menor interação com o ambiente (Vidal & Merotto Jr., 2001). No Brasil, foi observado esse mecanismo de resistência em *Bidens pilosa* (Christoffoleti & López-Ovejero, 2008) e *Euphorbia heterophylla* (Vargas et al., 1999) resistentes aos herbicidas inibidores da ALS, e *Brachiaria plantaginea* (Cortez, 2000) aos inibidores de ACCase.

Essa alteração no local de ação da enzima sobre a qual o herbicida atua é decorrente de trocas na sequência de aminoácidos que a constituem. No Brasil, Lamego et al. (2009) encontraram a mutação Trp574Leu (triptofano por leucina, na posição 574) em biótipos de *Bidens subalternans* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS, e Osuna et al. (2012) encontraram a substituição na Asp2078Gly (asparagina por glicina, na posição 2078) em biótipos de *Eleusine indica* resistentes a inibidores da ACCase. Recentemente, Takano et al. (2016) identificaram biótipos de *Eleusine indica* resistente ao glyphosate em biótipo do Brasil, sendo uma mutação na Pro106 que reduz a afinidade do herbicida com a enzima alvo, mecanismo de resistência também relatado em biótipo procedente do estado do Tennessee-EUA (Huffman et al., 2016).

Este é, possivelmente, o mecanismo de resistência que ocorre com maior frequência em populações de plantas

daninhas. Corriqueiramente, esse mecanismo confere aos biótipos nos quais é encontrado altos níveis de resistência, como é o caso, por exemplo, de diversas espécies resistentes aos inibidores da ALS e ACCase.

3.3.2. Amplificação gênica

Este mecanismo de resistência é o mais recém descoberto. É descrito pela presença de diversas cópias da sequência de DNA que codifica a expressão gênica de síntese da enzima relacionada à ação do herbicida. As plantas que possuem esse mecanismo de resistência conseguem, então, sintetizar inúmeras cópias da enzima sobre a qual o herbicida atua. Dessa forma, o herbicida não causa a morte da planta, uma vez que a dose utilizada é insuficiente para inibir todas essas cópias.

A amplificação gênica foi relatada pela primeira vez por Gaines et al. (2010), sendo encontrado em biótipos de *Amaranthus palmeri* resistente ao glyphosate. O biótipo de *A. palmeri* resistente descrito possui mais cópias da EPSPS que o biótipo suscetível, de forma que a concentração herbicida utilizada não foi capaz de inibir todas as enzimas presentes na planta, não tendo eficácia de controle. Esse mecanismo de resistência foi também observado em biótipos de *A. tuberculatus* (Chatam et al., 2015), *Lolium perene* (spp. multiflorum) (Salas et al., 2012) e *Kochia scoparia* (Jugulam et al., 2014) resistentes ao glyphosate.

Poucas espécies foram relatadas possuindo esse mecanismo de resistência, e até o momento, em todos eles o herbicida ao qual os biótipos são resistentes é o glyphosate. Há suspeitas de que a amplificação gênica esteja presente em mais espécies, e relacionadas à herbicidas de outros mecanismos de ação, uma vez que em inúmeros casos já relatados os mecanismos de resistência identificados não são responsáveis pelo nível de resistência observados.

3.3.3. Metabolismo e desintoxicação do herbicida

A resistência de biótipos de plantas daninhas pelo metabolismo do herbicida a compostos não fitotóxicos é um mecanismo de resistência em que a planta degrada o herbicida antes que este cause danos irreversíveis a ela.

Basicamente, duas enzimas estão envolvidas no processo, sendo elas, a monooxigenases do citocromo P450 e a Glutathione (reações de oxidação e conjugação).

Alguns exemplos de grupos de herbicidas que apresentam esse mecanismo de resistência são: Grupo A (inibidores de ACCase), Grupo B (inibidores de ALS), Grupo D (inibidores de Fotossistema I), Grupo C (inibidores de Fotossistema II), Grupo K (inibidores da divisão celular), Grupo O (auxinas sintéticas) e Grupo G (inibidores de EPSPs) (Vidal & Merotto Jr., 2001).

A velocidade de metabolização pode variar com a espécie, estágio de desenvolvimento da planta e com a temperatura a que está exposta, ou seja, depende do ambiente. Assim, uma mesma quantidade de herbicida aplicada a uma espécie pode tornar-se fitotóxica sob determinadas condições e não produzir nenhum dano em outras. Geralmente, a capacidade metabólica é regulada por diversos genes, o que diminui a chance de desenvolvimento desse tipo de mecanismo de resistência (Kissmann, 2003).

Biótipos de *Lolium rigidum* identificados na Austrália possuem esse mecanismo de resistência aos herbicidas inibidores da ALS e ACCase (Yu et al., 2009; Busi et al., 2010).

3.3.4. Absorção e/ou translocação diferencial (redução da concentração do herbicida no local de ação)

As plantas que possuem esse mecanismo de resistência possuem menor translocação do herbicida nos tecidos vegetais e/ou maior retenção foliar, fazendo com que a quantidade do herbicida que atinge o alvo não seja capaz de causar efeitos fitotóxicos significativos à planta. Constituem um grupo de mecanismos de resistência bastante relatados na literatura.

Recentemente, Brunharo et al. (2015) identificaram biótipos de *Chloris elata* absorção reduzida e maior retenção foliar de glyphosate, atribuindo-lhes um fator de resistência de 5,4. A planta daninha Buva (*Conyza bonariensis*) também possui a translocação diferencial como mecanismo de resistência ao glyphosate, uma vez que foi observado maior

acúmulo de glyphosate nas folhas dos biótipos resistentes das plantas tratadas (Ferreira et al., 2008; Cardinali et al., 2008).

A translocação reduzida de glyphosate foi observada, dentre outros, em biótipos de *Lolium rigidum* na Austrália (Yu et al., 2009) e em biótipos de *L. perenne* na Nova Zelândia (Ghanizadeh et al., 2016). Na Austrália, Goggin et al. (2016) observaram recentemente translocação reduzida de 2,4-D em biótipos de *Raphanus raphanistrum*.

3.3.5. Sequestro ou compartimentalização do herbicida

Algumas plantas têm capacidade de sequestrar os herbicidas sem que o mesmo alcance o local de ação na planta, em uma concentração suficiente para que ocorra o controle. Estas baixas concentrações podem ocorrer por causa da redução na retenção do herbicida pela superfície foliar, redução da absorção e/ou translocação na planta, ou pela ocorrência de fenômenos de sequestração em organelas celulares (ex: vacúolos). É um mecanismo pouco importante. Alguns exemplos de grupos de herbicidas que apresentam esse mecanismo de resistência são: Grupo A (inibidores de ACCase) e Grupo D (inibidores de Fotossistema I).

Para Powles & Preston (2006), a resistência tem sido causada em plantas resistentes ao glyphosate como resultado da redução na translocação do glyphosate para as regiões meristemáticas das plantas resistentes.

A Buva (*Conyza* spp.) resistente ao glyphosate é um dos casos mais conhecido de espécie que possui o sequestro do herbicida pelo vacúolo como mecanismo de resistência ao herbicida (Ge et al., 2009), ainda que mudanças de temperatura do ambiente resultem em alterações na sensibilidade do biótipo ao herbicida (Ge et al., 2010). Lasat et al. (1997) encontraram evidências que sustentam a hipótese de que *Hordeum glaucum* resistente ao paraquat é capaz de armazenar o herbicida nos vacúolos das raízes. Yu et al. (2010) observaram o sequestro de paraquat pelo vacúolo também em biótipo de *Lolium rigidum*.

3.4. Considerações finais

Os relatos de resistência múltipla no Brasil cresceram significativamente nos últimos anos. O maior número de casos

foi registrado em áreas de produção grãos, cereais e fibras, como reflexo da ausência de diversificação das práticas de manejo. Para a resistência cruzada, embora os herbicidas sejam de grupos químicos diferentes, estão envolvidos com os mesmos processos metabólicos ou até mesmo similares, mas muitas vezes decorrentes do mesmo mecanismo de resistência.

Embora os mecanismos de resistência sejam em pouco número conhecido, centenas de casos são relatados pelo mundo em inúmeras espécies distintas (Heap, 2016). Há conhecimento de diversos mecanismos de resistência presentes em uma mesma espécie conferindo resistência à herbicidas de mecanismos de ação distintos. Além disso, diversos mecanismos de resistência já foram relatados em uma única espécie, todos conferindo resistência a um só mecanismo de ação, como ocorre em *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate, que possui absorção e translocação reduzidas, e alterações no sítio de ação (Carvalho et al., 2012). Também, o mecanismo de resistência de diversas espécies reportadas ainda é desconhecido.

Dessa forma, é possível observar alta variabilidade entre populações, além de elevada capacidade evolutiva das plantas daninhas. Mesmo que a pesquisa tenha avançado significativamente, muito há que se aprender sobre aspectos biológicos, genéticos e evolutivos de cada espécie a fim de melhor entender como a resistência é selecionada e se dispersa entre diferentes populações, visando sua prevenção. Ou até mesmo entender os processos fisiológicos, bioquímicos e genéticos envolvidos com a resistência, a fim de tentar revertê-los.

A melhor forma para a prevenção da evolução da resistência, no entanto, é a associação de manejo químico e práticas culturais. É necessário que o manejo químico seja feito de uma forma mais complexa, com a diversificação dos mecanismos de ação utilizados, além das associações ou até mesmo o uso de aplicações sequenciais.

3.5. Referências bibliográficas

BRUNHARO, C.A.C.G.; PATTERSON, E.L.; CARRIJO, D.R.; MELO, M.S.C.; NICOLAI, M.; GAINES, T.A.; NISSEN, S.J. e

- CHRISTOFFOLETI, P.J. Confirmation and mechanism of glyphosate resistance in tall windmill grass (*Chloris elata*) from Brazil. **Pest Management Science**, 2016.
- BUSI, R.; VILA-AIUB, M.M.; e POWLES, S. Genetic control of a cytochrome P450 metabolism-based herbicide resistance mechanism in *Lolium rigidum*. **Heredity**, p. 1-8, 2010.
- CARDINALI, V.C.B.; DIAS, A.C.R.; MUELLER, T.C.; ABERCROMBIE, L.; STEWART JR.; C.N.; TORNISIELO, V.L. e CHRISTOFFOLETI, P.J. Shikimate accumulation, glyphosate absorptions and translocations in horseweed biotypes. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 109-118, 2015.
- CARVALHO, L.B.; ALVES, P.L.C.A.; GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; CRUZ-HIPÓLITO, H.E.; ROJANO-DELGADO, A.M. e DE PRADO, R. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 60, p. 615-622, 2012.
- CARVALHO, S.J.P.; GONÇALVES NETTO, A.; NICOLAI, M.; CAVENAGHI, A.L.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; e CHRISTOFFOLETI, P.J. Detection of glyphosate-resistant Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) in agricultural areas of Mato Grosso, Brazil. **Planta Daninha**, v. 33, n. 3, p. 579-586, 2015.
- CHATHAM, L.A.; WU, C.; RIGGINS, C.W.; HAGER, A.G.; YOUNG, B.G.; ROSKAMP, G.K. e TRANEL, P.J. EPSPS gene amplification is present in the majority of glyphosate-resistant Illinois waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) populations. **Weed Technology**, v. 29, p. 48-55, 2015.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P. J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3.ed. Piracicaba: HRAC-BR, 2008. p. 3-30.
- CORTEZ, M.G. **Resistência de biótipos de *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. a herbicidas inibidores da acetil coenzima A carboxilase**. 2000. 214p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.
- CULPEPPER, A. S., et al. Glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) confirmed in Georgia. **Weed Science**, v. 54, n. 4, p. 620-626, 2006.
- FERREIRA, E.A. et al. Glyphosate translocation in hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) biotypes. **Planta Daninha**, v.26, p.637-643, 2008.
- FRANCISCHINI, A.C.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R.S.; SANTOS, G.; FRANCHINI, L.H.M.; e BIFFE, D.F. Resistance of

- Amaranthus retroflexus* to Acetolactate synthase inhibitor herbicides in Brazil. **Planta Daninha**, v. 32, p. 437-446, 2014.
- GAINES, T. A. et al. Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. **Proceedings of National Academy of Sciences**, v. 107, p. 1029-1034, 2010.
- GE, X.; D'AVIGNON, D.A.; ACKERMAN, J.J.H.; DUNCAN, B.; SPAUR, M.B. e SAMMONS, R.B. Glyphosate-resistant horseweed made sensitive to glyphosate: low-temperature suppression of glyphosate vacuolar sequestration revealed by ³¹P NMR. **Pest Management Science**, v. 64, p. 1215-1211, 2010.
- GE, X.; D'AVIGNON, D.A.; ACKERMAN, J.J.H. e SAMMONS, R.B. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. **Pest Management Science**, v. 66, p. 345-348, 2009.
- GHANIZADEH, H., KC HARRINGTON, K.C. & JAMES, T.K.: Genetic inheritance of restricted herbicide translocation in a glyphosate-resistant *Lolium perenne* population. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, 2016. DOI: 10.1080/00288233.2016.1189438
- GOGGIN, D.E.; CAWTHRAY, G.R. e POWLES, S.B. 2,4-D resistance in wild radish: reduced herbicide translocation via inhibition of cellular transport. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 11, p. 3223-3235, 2016.
- GONÇALVES NETTO, A.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P. ; BORGATO, E. A. e CHRISTOFFOLETI, P. J. Multiple resistance of *Amaranthus palmeri* to ALS and EPSPS inhibiting herbicides in the state of Mato Grosso, Brazil. **Planta Daninha**, 2016. (no prelo)
- HEAP, I.A. **Criteria for confirmation of the herbicide-resistant weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org/in.asp>. Acesso em: 25/5/2016.
- HEAP, I. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Online. Internet. Sunday, July 10, 2016. Available www.weedscience.org
- HUFFMAN, J.L.; RIGGINS, C.W.; STECKEL, L.E. e TRANEL, P.J. The EPSPS Pro106Ser substitution solely accounts for glyphosate resistance in goosegrass (*Eleusine indica*) population from Tennessee, United States. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, p. 1304-1312, 2016.
- JASIENIUK, M. e MAXWELL, B.D. Populations genetics and the evolution of herbicide resistance in weeds. **Phytoprotection**, v. 75, n. 4, p. 25-35, 1994.

- JUGULAM, M.; NIEHUES, K.; GODAR, A.S.; KOO, D.H.; DANILOVA, T.; FRIEBE, B.; SEHGAL, S.; VARANASI, V.K.; WIERSMA, A.; WESTRA, P.; STAHLMAN, P.W. e GILL, B.S. Tandem amplification of a chromosomal segment harboring 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase locus confers glyphosate resistance in *Kochia scoparia*. **Plant Physiology**, v. 166, p. 1200-1207, 2014.
- KISSMANN, K.G. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 2003. Disponível em: http://www.hrac-br.com.br/arquivos/texto_resistencia_herbicidas.doc. Acesso em: 01/05/2016.
- LAMEGO, F. P.; CHARLSON, D.; DELATORRE, C.A.; BURGOS, N.R. e VIDAL, R.A. Molecular basis of resistance to ALS-inhibitor herbicides in greater beggarticks. **Weed Science**, v. 57, p. 474-481. 2009.
- LASAT, M.M.; DITOMASO, J.M.; HART, J.J. e KOCHIAN, L. Evidence for vacuolar sequestration of paraquat in roots of paraquat-resistant *Hordeum glaucum* biotype. **Physiologia Plantarum**, v. 99, p. 255-262, 1997.
- OSUNA, M.D.; GOULART, I.C.G.R.; VIDAL, R.A.; KALSING, A.; RUIZ SANTAELLA, J.P. e DE PRADO, R. Resistance to ACCase inhibitor in *Eleusine indica* from Brazil involves a target site mutation. **Planta Daninha**, v. 30, n. 3, p. 675-681, 2012.
- POWLES, S.B. e PRESTON, C. Evolved glyphosate resistance in plants: biochemical and genetic basis of resistance. **Weed Technology**, v. 20, n.2, 2006.
- SALAS, R.A.; DAYAN, F.E.; PAN, Z.; WATSON, S.B.; DICKSON, J.W.; SCOTT, R.C. e BURGOS, N.R. EPSPS gene amplification in glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perenne* spp. *multiflorum*) from Arkansas. **Pest Management Science**, v. 68, p. 1223-1230, 2012.
- SANTOS, G.; OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; FRANCISCHINI, A.C. e OSIPE, J.B. Multiple resistance of *Conyza sumatrensis* to chlorimuron-ethyl and to glyphosate. **Planta Daninha**, v. 32, n. 2, p. 409-416, 2014.
- SAUER, J.D. Recent migration and evolution of dioecious amaranths. **Evolution** v 11, pf. 11-31. 1957
- SCHAEGLER, C.E.; NOLDIN, J.A.; EBERHARDT, D.S.; AGOSTINETTO, D. e BURGOS, N.R. Globe fringerush (*Fimbristylis miliacea*) cross resistance to ALS-Inhibitor herbicides under field conditions in irrigated rice in the south of Brazil. **Planta Daninha**, v. 31, n. 4, p. 839-902, 2013.
- TAKANO, H.K.; OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; BRAZ, G.B.P. e GHENO, E.A. First report of glyphosate-resistant

- goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaernt) in Brazil. **Planta Daninha**, v. 34, n. 3, 2016. (no prelo)
- VARGAS, L.; SILVA, A.A.; BOREM, A.; REZENDE, S.T.; FERREIRA, F.A. e SEDIYAMA, T. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Viçosa: Edição dos autores, 1999. 131p.
- VIDAL, R.A. e MEROTTO JR, A. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: VIDAL, R.A.; MEROTTO JR., A. (Eds.). **Herbicidologia**. Porto Alegre: 2001. p.138-148,
- YU, Q., ABDALLAH, I., HAN, H., OWEN, M. e POWLES, S. Distinct non-target site mechanisms endow resistance to glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides in multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum*. **Planta**, v. 230, p. 713-723, 2009.
- YU Q., HUANG, S. e POWLES, S. Direct measurement of paraquat in leaf protoplasts indicates vacuolar paraquat sequestration as a resistance mechanism in *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 98, p. 104-109, 2010.

CAPÍTULO 4

BIOLOGIA E GENÉTICA DAS PLANTAS DANINHAS RESISTENTES A HERBICIDAS NO BRASIL

Diego Fraga
Alexandre Ferreira da Silva
Dionisio Gazziero
Dirceu Agostinetto
Décio Karam
Leandro Vargas

4. 1. Introdução

As diferenças na suscetibilidade de espécies de plantas daninhas a herbicidas têm sido atribuídas ao estágio de desenvolvimento da planta, à diferença na morfologia (área e forma do limbo, ângulos ou orientação das folhas em relação ao jato de pulverização), à anatomia foliar (presença de estômatos e tricomas, espessura e composição da camada cuticular) e às diferenças na absorção, translocação, compartimentalização, alteração no local de ação, superexpressão da enzima alvo e no metabolismo da molécula herbicida (Westwood et al., 1997; Vargas et al., 1999; Powles & Yu, 2010).

O aparecimento de biótipos resistentes é influenciado pela variabilidade genética entre plantas, tornando essa característica importante, pois determina a capacidade de resposta à seleção natural e às pressões impostas em função de técnicas de manejo utilizadas (Li et al., 2007). Dessa forma, além da utilização repetida do mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação, outros fatores podem estar associados com a evolução da resistência de plantas daninhas aos herbicidas como a adaptação, herança, nível de ploidia, fluxo gênico e frequência gênica (Maxwell & Mortimer, 1994). Assim, algumas espécies apresentam maior ou menor potencial de apresentarem problemas com relação à resistência.

4.2. Aspectos da biologia e genética do azevém

4.2.1. Biologia

O azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) é uma monocotiledônea pertencente a família Poaceae, de fecundação cruzada, com ciclo anual variando de 136 a 194 dias para espécies diploides (Vargas et al., 2007). É uma espécie rústica, de folhas finas adaptada às baixas temperaturas da região Sul do Brasil, desenvolvendo-se no inverno e na primavera, apresenta ciclo fotossintético C₃, e é fotoblástica positiva (Kissmann, 2007). O azevém é adaptado a diversas condições ambientais, altamente produtiva, com capacidade de rebrote e produção de afilhos, suportando pastoreio intensivo e, por isso, considerada excelente espécie forrageira (Carámbula, 2007). No entanto, em função da fácil dispersão e ressemeadura natural, tornou-se uma das principais plantas daninhas em lavouras de inverno e em pomares da região Sul do Brasil (Vargas et al., 2007). Em culturas de verão, como soja e milho, o azevém é problema, principalmente nos períodos iniciais de desenvolvimento. Estudos demonstram que uma planta de azevém por metro quadrado diminuiu a produtividade do trigo em 7,5kg ha⁻¹, ou cada a cada kg ha⁻¹ de matéria seca de azevém pode diminuir em 340g ha⁻¹ a produção da cultura (Kissmann, 2007). O azevém na mesma proporção de plantas que o trigo apresenta menor habilidade competitiva (Rigoli et al., 2008). Resultado semelhante foi verificado onde a cultura do trigo apresentou estatura 36% superior quando cultivado em competição com azevém (Lamego et al., 2015).

A campo tem-se observado biótipos resistentes ao glyphosate, inibidores da ALS e ACCase (Heap, 2016).

4.2.2. Genética

O azevém possui genótipo diploide, com 2n=14 cromossomos (Pereira et al., 2012), entretanto, buscando maior eficiência na produção de forragem e cobertura morta para o sistema de semeadura direta, foi desenvolvido o azevém tetraploide, com 4n=28 cromossomos (Oliveira, 2013). O azevém diploide é o mais utilizado pelos produtores (Farinatti et al., 2006).

No gênero *Lolium* há grande variabilidade entre populações selvagens e cultivadas, havendo ampla base genética caracterizada pela presença de espécies selvagens e semi-selvagens, criando cenário privilegiado ao melhoramento vegetal (Breese & Hayward, 1972). O azevém apresenta polinização cruzada, com disseminação rápida na população, via pólen (Vargas et al., 2007). O fluxo gênico (via pólen) é um processo que depende de vários fatores, como sistema de cruzamento das espécies, sincronismo floral, elevada compatibilidade, abundância de vetores e métodos de difusão de pólen, distância de movimentação do pólen e condições ambientais apropriadas para polinização cruzada (Carpenter et al., 2002).

O cruzamento entre indivíduos diploides ($2n$) e tetraploides ($4n$) surgem espontaneamente e resultam em indivíduos triploides ($3n$) viáveis, mas caracteristicamente estéreis devido à presença de cromossomos não pareados na meiose (Griffiths et al., 2013). O conhecimento do nível de ploidia e do modo de reprodução das espécies são informações importantes para determinar as estratégias de cruzamentos e condução de programas de melhoramento. Ainda, o nível de ploidia dos genótipos afeta a resposta das plantas daninhas aos herbicidas, havendo relatos que o azevém diploide apresenta suscetibilidade diferencial ao herbicida glyphosate, porém o tetraploide se mostra mais tolerante, fato que pode explicar o controle insatisfatório da planta daninha nas áreas de cultivo (Dors et al., 2010).

4.3. Aspectos da biologia e genética de buva

4.3.1. Biologia

O gênero *Conyza* é representado por aproximadamente 50 espécies, contendo plantas herbáceas anuais e bianuais habitando, principalmente, regiões tropicais e subtropicais (Lorenzi, 2000). As espécies *C. bonariensis*, *C. canadensis* e *C. sumatrensis*, conhecidas como buva ou voadeira, são as principais plantas daninhas do gênero e estão entre as mais problemáticas para manejo em sistemas agrícolas (Silva et al., 2014). *C. canadensis* é uma espécie anual ou bienal, nativa da América do Norte, enquanto *C. bonariensis* e *C.*

sumatrensis são espécies anuais da América do Sul (Lazaroto et al., 2008; Sansom et al., 2013).

As plantas de buva são da família Asteraceae, herbáceas, o hipocótilo e o epicótilo são imperceptíveis, de modo que as plântulas podem ficar em estágio de roseta no inverno até que a haste central se estenda, alcançando estatura de 0,5-2,0m, com panícula piramidal ramificada (Vidal et al., 2007; Sansom et al., 2013). Possui flores pequenas de coloração branca ou amarela pálida indistintas, com floração normalmente anual no verão, porém pode ser descrita como planta anual de inverno, germinando no final do outono até a primavera (Sansom et al., 2013).

A propagação das sementes é facilmente dispersa pelo vento e água (Lazaroto et al., 2008) a distâncias de pelo menos 500m a partir da população fonte (Constantin et al., 2013). As sementes são compostas por aquênio e papus, de tamanho diminuto (1-3 mm) (Dauer et al., 2006) e, iniciam seu processo germinativo quando dispostas em pequenas profundidades no solo (Canossa et al., 2007). A buva é planta daninha fotoblástica positiva (Yamashita et al., 2010) e o fotoperíodo de 12-13 horas de luz, combinado com temperatura de 20°C tornam o processo germinativo adequado para as sementes (Nandula et al., 2006).

A produção de sementes pode chegar até 200 mil por planta de buva, dependendo da espécie, sendo que *C. canadensis* produz em média 60 a 70 sementes por capítulo, enquanto que *C. bonariensis* produz até 400 sementes por capítulo (Thebaud & Abbott, 1995; Sansom et al., 2013).

A semente de buva não apresenta dormência, podendo germinar prontamente após a dispersão em condições de temperatura e umidade favoráveis, mantendo-se viáveis no solo por período relativamente longo (Constantin et al., 2013). Espécies com sementes menores apresentam mecanismos para evitar a germinação em profundidades inadequadas no solo (Guimarães et al., 2000) e iniciam o processo germinativo quando dispostas em pequenas profundidades no solo (Canossa et al., 2007).

A emergência da planta pode ocorrer ao longo de todo ano, porém na primavera sua incidência é maior (Buhler & Owen, 1997; Weaver, 2001), apresentando alta

adaptabilidade aos sistemas conservacionistas de solo como o sistema de semeadura direta, cultivo mínimo e áreas de frutíferas (Bhowmik & Bekech, 1993).

A introdução de culturas tolerantes ao glyphosate e a semeadura direta oportunizou o aumento da incidência desta espécie infestante nos campos de produção (Mitsuo & Carneiro, 2013). A elevada pressão de seleção ocasionada pelo uso repetitivo do glyphosate resultou no aparecimento de biótipos resistentes de *C. bonariensis* e *C. canadensis* a este herbicida e de *C. sumatrensis* com resistência múltipla ao glyphosate e aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) (Heap, 2016). A buva pode reduzir a produtividade de soja em até 36% (Trezzi et al., 2014). Na região Sul do Brasil, essas perdas podem ocorrer também em outras grandes culturas como trigo e milho (Vargas et al., 2007).

4.3.2. Genética

O gênero *Conyza* é hermafrodita, autopolinizável, com pequeno grau de polinização cruzada, mas preferencialmente autógama (Sansom et al., 2013). *C. canadensis* apresenta estrutura genética diploide, com número cromossômico $2n=18$, enquanto que *C. bonariensis* e *C. sumatrensis* são poliploides (Thebaud & Abbott, 1995). A habilidade de autopolinização da buva aliada a elevada produção de sementes, facilmente dispersas, são fatores que podem contribuir para boa adaptabilidade ecológica, sobrevivência de biótipos resistentes e altas infestações nos sistemas conservacionistas de solo (Moreira et al., 2007).

Outro aspecto importante que pode contribuir para boa adaptabilidade ecológica e para a sobrevivência de plantas de buva é o nível baixo de diferenciação genética encontrada entre as populações. A análise do polimorfismo de isoenzimas esterases, malato desidrogenases, e fosfatases ácidas evidenciou variabilidade genética alta dentro de populações de *C. bonariensis* e *C. canadensis* e, diferenciação genética baixa entre as populações de buva (Mangolin et al., 2012). Estes resultados levaram a proposição de que não há isolamento reprodutivo entre estas espécies, sendo que, a

falta de diferenciação genética pode indicar troca de alelos entre ambas as populações (Mangolin et al., 2012).

Quanto aos aspectos reprodutivos destas espécies, a expectativa seria de maior diferenciação entre elas, pois ambas são autocompatíveis e, aparentemente, não polinizadas por insetos (Thebaud et al., 1996). Desta forma, a hibridização (troca de alelos) entre as populações de *Conyza* contribui para aumentar a variabilidade genética dentro de cada população (Mangolin et al., 2012). Populações com variabilidade genética alta podem conter quantidade alta de variações adaptativas.

4.4 Aspectos da biologia e genética de caruru-palmeri

4.4.1. Biologia

O caruru-palmeri (*Amaranthus palmeri*) é uma planta daninha exótica encontrada no Brasil no ano de 2015 (Andrade Jr et al., 2015). Pertence ao gênero *Amaranthus*, que está incluído na família *Amaranthaceae*, que possui 75 espécies espalhadas pelo mundo (Ward et al. 2013). O caruru-palmeri se destaca por pertencer a um subgrupo do gênero *Amaranthus* composto por dez espécies dióicas, que são nativas somente na América do Norte (Steckel et al., 2007); todas as outras espécies são monóicas. Dentre as espécies dióicas somente caruru-palmeri e *A. tuberculatus* são consideradas daninhas, as outras espécies ocorrem mais em ambientes naturais e não causam problemas a agricultura (Jha et al., 2008). A espécie *A. tuberculatus* ainda não foi registrada no Brasil.

O caruru-palmeri é uma monocotiledônea nativa da região centro-sul dos Estados Unidos da América e norte do México adaptada as condições de clima árido (Sauer, 1957). Apresenta metabolismo C_4 , com capacidade de manter altas taxas fotossintéticas sob temperaturas mais altas, ao redor de 40°C, quando não há outros fatores limitantes (Mohseni-Moghadam et al., 2016). No entanto, o seu crescimento é praticamente suprimido, em valores abaixo de sua temperatura base de desenvolvimento (16,6°C) (Steinmaus et al., 2000). Em condições favoráveis de desenvolvimento o caruru-palmeri acumula 65% mais massa

de matéria seca que as outras espécies de caruru ocorrentes nos Estados Unidos, podendo crescer até 4,6 cm por dia (Sellers et al. 2003). Esta característica reforça a necessidade de acompanhamento constante da lavoura para que o herbicida seja aplicado no estágio ideal.

O número de sementes por planta varia, normalmente, entre 80.000 a 250.000 (Chahal et al. 2005), embora produções maiores que 600.000 sejam relatadas (Ward et al., 2013; Mohseni-Moghadam et al., 2016). As sementes são pequenas (1 a 2 mm), não possuem estruturas de adaptação específica à anemocoria, sendo, portanto, disseminadas a curtas distâncias por queda natural e ventos mais fortes. Além do vento, as sementes podem ser disseminadas por pássaros e mamíferos, esterco animal, canais de irrigação e trânsito de máquinas e implementos agrícolas etc.

As taxas de germinação das sementes produzidas variam entre 8 a 71%, sendo influenciada pela qualidade da luz, temperatura e umidade do solo (Steckel et al., 2004). No seu ambiente nativo o caruru-palmeri apresenta germinação oportunista, sendo documentada como possível de ocorrer no mesmo dia em que condições favoráveis de desenvolvimento são oferecidas, em contraponto a outras espécies do gênero que podem demorar vários dias para iniciar o processo germinativo (Steckel et al., 2004).

4.4.2. Genética

O caruru-palmeri possui genótipo diplóide, entretanto o número de cromossomos base pode variar entre $n=16$ e $n=17$, desta forma, é possível encontrar citotipos variáveis de $2n=32$ e $2n=34$ cromossomos (Gaines et al 2012; Rayburn et al., 2005). Baseado nos relatos de hibridação intra-específica do gênero *Amaranthus* o número igual de cromossomo não é pré-requisito para ocorra hibridação (Gaines et al. 2012). Entretanto, as progênes aparentam ser mais viáveis e férteis quando os parentais possuem o mesmo número de cromossomos (Ward et al. 2013). A estrutura floral, morfologia do grão de pólen, a sincronização do período de floração e tipo de estrutura floral podem influenciar na frequência de hibridação entre as espécies deste gênero.

Hibridação entre espécies do gênero *Amaranthus* tem sido amplamente reportada (Truco et al., 2005; Truco et al., 2007). Wetzel et al (1999), reportaram a transferência de genes de resistência a herbicidas inibidores da ALS via hibridação e retrocruzamentos entre *A. palmeri* e *A. tuberculatus*. Entretanto, Franssen et al (2001), Steinau et al (2003) e Truco et al (2007) reportaram níveis baixos de hibridação entre essas duas espécies com a produção de descendentes inviáveis ou estéreis. Gaines et al (2012), também, observaram níveis baixos (<0,2%) de hibridação intra-específica entre *A. palmeri* e *A. tuberculatus*, com níveis ainda menores (<0,01%) para formação de híbridos entre *A. palmeri* e *A. hybridus*. O maior nível de hibridação (>0,4%) ocorreu entre *A. palmeri* e *A. spinosus*. Este cruzamento produziu progênies F1 viáveis e férteis. Neste mesmo estudo os autores não obtiveram sucesso na hibridação de *A. palmeri* com *A. powelli* e *A. retroflexus*. Apesar do baixo índice de hibridação a possibilidade de fluxo gênico entre as espécies é algo que merece atenção especial, sobretudo a transferência de genes ligados a resistência ao glyphosate do *A. palmeri* para as outras espécies de *Amaranthus* presentes no Brasil.

4.5. Aspectos da biologia e genética do capim-amargoso

4.5.1. Biologia

A *Digitaria insularis* pertence a família Poaceae, ordem Gramineae, classe Monocotiledone. O gênero botânico *Digitaria* possui, aproximadamente, 360 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais nos diferentes continentes. No Brasil, são encontradas 26 espécies nativas e 12 espécies exóticas. Entre elas a *Digitaria insularis* distribuída na maioria dos ambientes agrícolas (Gemelli et al., 2012). É uma espécie herbácea, perene, ereta, ramificada, entouceirada, rizomatosa, de colmos estriados, com 50 a 150 cm de altura, panículas muito vistosas e elevado número de sementes. O sistema radicular é composto de curtos rizomas ramificados e fibrosos (Gazziero et al., 2015). Segundo Machado et al. (2006) essa espécie tem crescimento lento nos primeiros 45 dias após a emergência, época de formação dos primeiros rizomas, e intenso após esse período até 150 dias

até. O colmo é cilíndrico, com estrias longitudinais e longos entrenós, folhas com bainhas glabras ou levemente pilosas, sesseis e margens ciliadas (Kissmann, 2007; Gazziero et al., 2015).

É uma planta de ciclo fotossintético C₄, que se reproduz por sementes e rizomas, a partir dos quais se formam as touceiras. Floresce praticamente o ano todo em ampla faixa de fotoperíodo, ou seja, a indução floral se mostra pouco sensível a esse fator. As sementes são revestidas por muitos pelos, se dispersam pelo vento, por máquinas ou pelo homem (Kissmann, 2007; Lorenzi, 2000).

A emissão de panículas se inicia entre 63 a 70 dias (Machado et al., 2006), esses períodos podem variar dependendo das condições em que a planta se desenvolve. Suas sementes possuem alto potencial de germinação, sendo favorecidas pelas condições de temperaturas amplas e alternadas (Mondo et al., 2010).

Observações de campo têm mostrado que em mesma touceira, ocorreram vários fluxos de florescimento, sendo que cada fluxo pode produzir em média de 6,5 a 50 mil sementes por planta. Os fluxos de germinação e emergência estão correlacionados com os períodos de maior precipitação os quais ocorrem cerca de uma semana após as sementes encontrarem condições adequadas para germinar. Martins (2009) verificou que as sementes de ambos os biótipos se mostraram fotoblásticas neutras.

Digitaria insularis, popularmente conhecida como capim-amargoso, é planta daninha nativa das américas, encontrada em diferentes sistemas de produção, especialmente em lavouras perenes, beira de estradas e terrenos baldios. Pouco comum em áreas com movimentação do solo, aumentou sua disseminação com a ampliação do sistema de semeadura direta e, principalmente, com a seleção de biótipos resistentes ao glyphosate.

Trata-se de uma espécie de grande capacidade competitiva tanto para culturas anuais como para as perenes, sendo que Gazziero et al. (2012) relataram perdas de produtividade da soja de 23% e 44%, pela presença de 1 a 3 e 4 a 8 plantas m⁻², de capim-amargoso. Carvalho et al. (2011) observou que uma planta de capim-amargoso por cova do

cafeeiro reduz significativamente a taxa fotossintética, a absorção de nutrientes e, por consequência, o crescimento inicial da cultura.

4.5.2. Genética

Digitaria insularis possui genótipo diploide com $2n=36$ cromossomos (Gould&Soderstrom, 1967). Martins (2013) encontrou taxa polimórfica geral de 56,6% entre biótipos resistentes e suscetíveis, caracterizando alta dissimilaridade genética que pode ser explicado pela fecundação cruzada.

Foram identificados no Brasil biótipos de *Digitaria insularis* resistentes ao glyphosate (Carvalho et al, 2011). Como causas da resistência foram identificadas mutações nas posições 182 e 310 resultando na substituição de uma prolina por uma treonina e uma tirosina por uma cisteína, respectivamente, além de alterações na absorção, translocação e metabolismo do glyphosate pelos biótipos resistentes (Carvalho et al., 2012).

4.6. Aspectos da biologia e genética do capim-branco

4.6.1. Biologia

O capim-branco *Chloris elata* (sinonímia: *Chloris polydactyla*) também pertence à família Poaceae, ordem Gramineae, classe Monocotiledone. É uma espécie nativa do continente americano, porém, semelhante ao capim-amargoso, era encontrada de forma mais esparsa em áreas sem manejo, mas sua importância nas áreas de soja vem crescendo. É uma espécie herbácea, perene, ereta e ramificada, panículas vistosas e elevado número de sementes. Pode se reproduzir tanto por sementes quanto a partir de rizomas (Kissmann, 1997). Segundo Carvalho et al. (2005), *Chloris polydactyla* apresenta alta produção final de massa seca e sementes, podendo, assim, ser uma forte competidora por recursos do meio.

Desse modo, Barroso et al. (2014) observaram que ocorre competição entre a cultura da soja e *Chloris polydactyla* mesmo em baixas densidades de plantas daninhas (20 plantas m^{-2}), sendo que o crescimento das

plantas foi reduzido acima de 70%, demonstrando a grande importância desta espécie.

É uma planta de ciclo fotossintético C₄, que se reproduz por sementes. Floresce praticamente o ano todo em ampla faixa de fotoperíodo, ou seja, a indução floral se mostra pouco sensível a esse fator. As sementes são revestidas por muitos pelos, se dispersam pelo vento, por máquinas ou pelo homem (Kissmann, 2007; Lorenzi, 2000).

Além disso, há biótipos de *Chloris elata* (sinonímia: *Chloris polydactyla*) resistentes ao herbicida glifosato no Brasil em áreas de soja, com o primeiro relato em 2014 (Heap, 2016), o que pode explicar o rápido aumento em frequência e densidade da espécie (Barroso et al., 2014)

4.6.2. Genética

Pouco se sabe sobre os aspectos genéticos de *C. elata* devido à pouca importância econômica da espécie anterior à seleção de biótipos resistentes ao glyphosate. Brunharo et al. (2015) identificaram biótipos resistentes ao herbicida glyphosate em locais do Mato Grosso do Sul e Paraná.

Estudos laboratoriais indicaram como mecanismo de resistência a translocação diferencial e maior retenção foliar pelos biótipos resistentes, não sendo observadas mutações na sequência de genes que codificam a EPSPs (Brunharo et al., 2015).

4.7. Referências bibliográficas

- ANDRADE JUNIOR, E. R.; CAVENAGHI, A. L.; GUIMARÃES, S. C.; CARVALHO, S. J. P. Primeiro relato de *Amaranthus palmeri* no Brasil em áreas agrícolas no estado de Mato Grosso. **Circular Técnica, IMA-MT**, n. 19, pg. 1-8. 2015.
- BARROSO, A.A.M.; ALBRECHT, A.J.P.; ALBRECHT, L.P.; VILLETI, H.L.; ORSO, G.; CAVALLI, D.A.L.; FILHO, R.V. Competição entre a cultura da soja e a planta daninha *Chloris polydactyla*. **Cerrado agrociências**, n. 5, P.82-90, 2014.
- BHOWMIK, P. C.; BEKECH, M. M. horseweed (*Conyza canadensis*) seed production, emergence and distribution in no-tillage and conventional-tillage corn (*Zea mays*). **Agronomy**, v.1, p.67-71, 1993.

- BREESE, E. L.; HAYWARD, M. D. The Genetics basis of present breeding methods in 20 forage crops. **Euphytica Journal**, v.21, p.234-236, 1972.
- BRUNHARO, C.A.C.G. **Resistência da planta daninha capim-branco (*Chloris polydactyla*) ao herbicida glyphosate**. 2014. 154p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.
- BUHLER, D. D.; OWEN, M. D. K. Emergence and survival of horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, v.45, p.98-101, 1997.
- CANOSSA, R. S.; OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; BIFFE, D. F.; ALONSO, D. G.; FRANCHINI, L. H. M. Profundidade de semeadura afetando a emergência de plântulas de *Alternanthera tenella*. **Planta Daninha**, v.25, p.719-725, 2007.
- CARÁMBULA, M. **Pasturas y forrajes**. Potenciales y alternativas para producir forraje. Editorial Agropecuario Hemisferio Sur, Montevideo, Tomo I, 2007. 357p.
- CARVALHO, L. B., CRUZ-HIPOLITO, H. E., GONSALES-TORRALVA, F., ALVES, P. L. C. A., CHRISTOFFOLETI, P., DE PRADO, R. Detection of sougrass (*Digitaria insularis*) biotypes resistant to glyphosate in Brazil. *Weed science*, Champaign, V. 59, N. 2, p. 171-176, 2011.
- CARVALHO, L. B., ALVES, P. L. C. A., GONSALES-TORRALVA, F., CRUZ-HIPOLITO, H. E., ROJANO-DELGADO, A. M., DE PRADO, R., GIL-HUMANES, J., BARRO, F., DE CASTRO, M. D. Pool of resistance mechanism to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journarl of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, V. 60, N. 2, p. 615-622, 2012.
- CARVALHO, S.J.P., PEREIRA SILVA, R.F., LÓPEZ-OVEJERO, R.F., NICOLAI, M. e CHRISTOFFOLETI, P.J. Crescimento, desenvolvimento e produção de sementes da planta daninha capim-branco (*Chloris polydactyla*). **Planta Daninha**, v. 23, n.4, p. 603-609, 2005.
- CARPENTER, J.; FELSOT, A.; GOODE, T.; HAMMIG, M.; ONSTAD, D.; SANKULA, S. Comparative environmental impacts of biotechnology-derived and traditional soybean, corn, and cotton crops. **Council for Agricultural Science and Technology**. Ames: Iowa, 2002. 190p.
- CHAHAL, P. S.; AULAKH, J. S.; JUGULAM, M.; JHALA, A. J. Herbicide resistant palmer amaranth (*Amaranthus palmeri* S. Wats.) in the United States – mechanisms of resistance, impact and management. In: PRICE, A. (Ed.) **Herbicides, agronomic crops and weed biology**. Rijeka: Intech, 2015. p. 1-29.

- CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA, J. R. R. S.; OLIVEIRA NETO, A. M. **Buva: Fundamentos e recomendações para manejo**. Curitiba: Omnipax, 2013. 104p.
- DAUER, J. T.; MORTENSEN, D. A.; RUMSTON, R. Controlled experiments to predict horseweed (*Conyza canadensis*) dispersal distances. **Weed Science**, v.54, p.484-489, 2016.
- DORS, C. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; SANCHOTENE, D. M.; DIAS, A. C. R. MANFRON, P.A.; DORNELLES, S.H.B. Suscetibilidade de genótipos de *Lolium multiflorum* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.28, p.401-410, 2010.
- FARINATTI, L. H. E.; BRONDANI, I. L. A.; RESTLE, J.; CHIEZA, E. D.; ARBOITTE, M. Z.; KOEFENDER, I.; CATTELAN, J.; CEZIMBRA, J. M.; CHASSOT, R. C. **Avaliação de diferentes cultivares de azevém no desempenho de bezerras**. Santa Maria: Embrapa Clima Temperado, 2006. 16p.
- FRANSSSEN, A.S.; SKINNER, D.Z.; AL-KHATIB, K.; HORAK, M.J.; KULAKOW, P.A. Interspecific hybridization and gene flow of ALS resistance in *Amaranthus* species. **Weed Science**. V. 49, pg 598-606. 2001.
- GAINES, T. A.; WARD, S. M.; BEKUN, B.; PRESTON, C.; LEACH, J. E.; WESTRA, P. Interspecific hybridization transfers a previously unknown glyphosate resistance mechanism in *Amaranthus* species. **Evolutionary Applications**. v.5, p.29-38, 2012.
- GAZZIERO, D. L. P.; VOLL, E.; FORNAROLLI, D.; VARGAS, L.; ADEGAS, F. S. Efeitos da convivência do capim-amargoso na produtividade da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 28., **Resumos**. Campo Grande, MS. 2012.
- GAZZIERO, D. L. P.; LOLLATO, R. P.; BRIGHENTI, A. M.; PITELLI, R. A.; VOLL, E. **Manual de identificação de plantas daninhas da cultura da soja**. 2. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2015. 126 p.
- GEMELLI, A., OLIVEIRA JR, R., CONSTANTIN, J., BRAZ, G., JUMES, T., OLIVEIRA NETO, A., DAN, H., BIFFE, D. Aspectos da biologia de *Digitaria insularis* resistente ao glyphosate e implicações para o seu controle. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.11, n.2, p.231-240, 2012.
- GOULD, F. W.; SODERSTROM, T. R. Chromosome numbers of tropical american grasses. **Amer.J.Bot.** v.54, p.676- 683, 1967
- GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; CARROLL, S. B.; DOEBLEY, J. **Introdução à Genética**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 710p.

- GUIMARÃES, S. C.; SOUZA, I. F.; PINHO, E. V. R. V. Efeito de temperaturas sobre a germinação de sementes de erva-de-touro (*Tridax procumbens*). **Planta Daninha**, v.18, p.457-464, 2000.
- HEAP, I. **International survey of resistant weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org>. Acesso em: 30 jun. 2016.
- JHA, P. **Biology and ecology of palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*)**. 2008, 296 f. Dissertation (Doctor in Philosophy, Plant and Environmental Sciences) – Graduate School of Clemson University, Clemson, USA, 2015.
- KISSMANN, K. G.; **Plantas infestantes e nocivas**. TOMO I. 3.ed. São Paulo: Basf Brasileira S.A., 2007. CD-ROM.
- KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: BASF, 1997. 825 p.
- LAMEGO, F. P.; REINEHR, M.; CUTTI, L.; AGUIAR, A. C. M.; RIGON, C. A. G.; PAGLIARINI, I. B. Alterações morfológicas de plântulas de trigo, aveia e nabo quando em competição nos estádios iniciais de crescimento. **Planta Daninha**, v.33, p.13-22, 2015.
- LAZAROTO, C.; FLECK, N.; VIDAL, R. Biologia e ecofisiologia de buva (*Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*). **Ciência Rural**, v.38, p.852-860, 2008.
- LI, R.; WANG, S.; DUAN, L.; LI, Z.; CHRISTOFFERS, M. J.; MENGISTU, L. W. Genetic diversity of wild oat (*Avena fatua*) populations from China and the United States. **Weed Science**, v.55, p.95-101, 2007.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 3.ed. Nova Odessa, 2000. 608p.
- MACHADO, A. F. L. et al. Análise de crescimento de *Digitaria insularis*. **Planta Daninha**, v.24, p.641-647, 2006.
- MACHADO, A. F. L. et al. Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de *Digitaria insularis*. **Planta Daninha**, v.26, n.1, p.1-8, 2008.
- MANGOLIN, C. A.; OLIVEIRA JR., R. S.; MACHADO, M. F. P. S. Genetic diversity in weeds. In: Fernandez, R.A. (Ed.), **Herbicides – Environmental Impact Studies and Management Approaches**. Rijeka, Croatia: Intech, p.223–248, 2012.
- MARTINS, J. F. et al. Efeito da profundidade de semeadura na emergência do capim-amargoso (*Digitaria insularis*). In CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 21. São José do Rio Preto, SP. 2009. **Resumos**. São José do Rio Preto, SP. 2009.
- MARTINS, J.F. **Aspectos ecofisiológicos e genético de biótipos de *Digitaria insularis* resistente e suscetível ao glyphosate**. 2013, 73p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade

- de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.
- MAXWELL, B. D.; MORTIMER, A. M. Selection for herbicide resistance. In: **Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994. p.1-25.
- MITSUO, O.; CARNEIRO, S. Resistência de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. **Revista Varia Scientia Agrárias**, v.3, p.189-215, 2013.
- MOHSENI-MOGHADAM, M.; KENT, C.; ASHIGH, J. **Palmer amaranth biology and management**. Las Cruces: New Mexico State University, 2016. 8p. (Guide, A-617).
- MONDO, V. H. V. et al. Efeitos da luz e temperatura na germinação de sementes de quatro espécies de plantas daninhas do gênero *Digitaria*. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, p.131-137, 2010.
- MOREIRA, M. S.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S. J. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Resistência de buva (*Conyza canadensis* e *C. bonariensis*) ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, p.157-164, 2007.
- NANDULA, V. K.; EUBANK, T. W.; KOGER, C. H.; REDDY, K. N. Factors affecting germination of horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, v.54, p.898-902, 2006.
- OLIVEIRA, Lucas Vargas. **Características morfológicas e estruturais de azevém**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 65f.2013.
- PEREIRA, R. C.; DAVIDE, L. C.; TECHIO, V. H.; TIMBÓ, A. L. O. Duplicação cromossômica de gramíneas forrageiras: uma alternativa para programas de melhoramento genético. **Ciência Rural**, v.42, p.1278-1285, 2012.
- POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in Action: Plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v.61, p.317-347, 2010.
- RAYBURN, A. L.; MCCLOSKEY, R.; TATUM, T. C.; BOLLERO, G. A.; JESCHKE, M. R.; TRANEL, P. J. Genome size analysis of weedy *Amaranthus* species. **Crop Science**, v.45, p.2557-2562, 2005.
- RIGOLI, R. P.; AGOSTINETTO, D.; SCHAEGLER, C. E.; DAL MAGRO, T.; TIRONI, S. Habilidade competitiva relativa do trigo (*Triticum aestivum*) em convivência com azevém (*Lolium multiflorum*) ou nabo (*Raphanus raphanistrum*). **Planta Daninha**, v. 26, p. 93-100, 2008.

- SANSOM, M.; SABORIDO, A. A.; DUBOIS, M. Control of *Conyza* spp. with Glyphosate – A Review of the Situation in Europe. **Plant Protection Science** v.49, p.44-53, 2013.
- SAUER, J.D. Recent migration and evolution of dioecious amaranths. **Evolution** v 11, pf. 11-31. 1957
- SELLERS, B. A.; SMEDA, R. J.; JOHNSON, W. G.; KENDIG, A.; ELLERSIECK, M. R. Comparative growth of six *Amaranthus* species in Missouri. **Weed Science**, v.51, p.329-333, 2003.
- SILVA, D. V.; FERREIRA, E. A.; CONCENÇO, G.; VARGAS, L.; SILVA, A. A.; GALON, L. Resistência de buva (*Conyza* spp.) ao glyphosate. In: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Pelotas: Editora UFPel, p.269-279, 2014.
- STECKEL, L. E., SPRAGUE, C.L.; STOLLER, E.W.; WAX, L.M. Temperature effects on germination of nine *Amaranthus* species. **Weed Science**, v.52, p.217-221, 2004.
- STECKEL, L. E. The dioecious *Amaranthus* spp.: here to stay. **Weed Technology**, v.21, p.567-570, 2007.
- STEINAU, A.N.; SKINNER, D.Z.; STEINAU, M. Mechanism of extreme genetic recombination in weedy *Amaranthus hybridus*. **Weed Science**, v 51, pg. 696-701. 2003.
- STEINMAUS, S. J., PRATHER, T. S.; HOLT, J. S. Estimation of base temperatures for nine weed species. **Journal of Experimental Botany**, v.51, p.275-286, 2000.
- THEBAUD, C.; ABBOTT, R. J. Characterization of invasive *Conyza* species (Asteraceae) in Europe: quantitative trait and isozyme analysis. **American Journal of Botany**, v.82, p.360-368, 1995.
- THEBAUD, C.; FINZI, A. C.; AFFRE, L.; DEBUSSCHE, M.; ESCARRE, J. Assessing why two introduced *Conyza* differ in their ability to invade Mediterranean old fields. **Ecology**, v.7, p.791–804, 1996.
- TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A.; PATEL, F.; MIOTTO, E. JR.; DEBASTIANI, F.; BALBINOT, A. A. JR.; MOSQUEN, R. Impact of *Conyza bonariensis* density and establishment period on soybean grain yield, yield components and economic threshold. **European Weed Research Society**, v.55, p.34-41, 2014.
- TRUCCO, F.; JESCHKE, M. R.; RAYBURN, A. L.; TRANEL, P. J. Promiscuity in weedy amaranths: high frequency of female tall waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) x smooth pigweed (*A. hybridus*) hybridization under field conditions. **Weed Science** v 53, p 46–54. 2005.
- TRUCCO, F.; ZHENG, D.; WOODYARD, A. J.; WALTER, J. R.; TATUM, T. C.; RAYBURN, A. L.; TRANEL, D. P. J. Nonhybrid

- progeny from crosses of dioecious *Amaranthus*: implications for gene-flow research. **Weed Science**, v 55, p 119–122. 2007.
- VARGAS, L.; MORAES, R. M. A.; BERTO, C. M. Herança da resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, p.567-571, 2007.
- VARGAS, L.; SILVA, A. A.; BORÉM, A.; REZENDE, S. T.; FERREIRA, F. A.; SEDIYAMA, T. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Viçosa, MG: Jard Produções Gráficas Ltda, 1999. 131p.
- VIDAL, R. A.; KALSING, A.; GOULART, I. C. G. R.; LAMEGO, F. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Impacto da temperatura, irradiância e profundidade das sementes na emergência e germinação de *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* resistentes ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, p.309-315, 2007.
- WARD, S. M.; WEBSTER, T.M.; STECKEL, L.E. Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*): a review. **Weed Technology**, v 27, p.12-27, 2013.
- WEAVER, S. E. The biology of Canadian weeds. 115. *Conyza canadensis*. **Canadian Journal of Plant Science**, v.115, p.867-875, 2001.
- WESTWOOD, J. H.; YERKES, C. N.; DEGENNARO, F. P.; WELLER, S. C. Absorption and translocation of glyphosate in tolerant and susceptible biotypes of field bindweed (*Convolvulus arvensis*). **Weed Science**, v.45, p.658-663, 1997.
- WETZEL, D. K.; HORAK, M. J.; SKINNER, D. Z.; KULAKOW, P. A. Transferal of herbicide resistance traits from *Amaranthus palmeri* to *Amaranthus rudis*. **Weed Science**, v 47, pg. 538–543. 1999.
- YAMASHITA, O. M.; GUIMARÃES, S. C. Biologia e resistência a herbicidas de espécies do gênero *Conyza*. **Ambiência**, v.7, p.383-398, 2010.

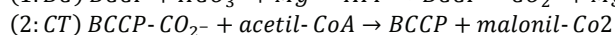
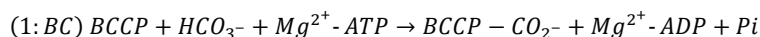
CAPÍTULO 5

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS INIBIDORES DA ACCase (Grupo A)

Ramiro Fernando López-Ovejero
Gustavo Gross Belchior
Gizella Potrich Leal Maymone

5.1. A ACCase e sua função fisiológica

Ácidos graxos são ácidos carboxílicos de longas cadeias alifáticas que desempenham importantes funções fisiológicas (armazenamento de energia, composição estrutural de membranas celulares, regulação hormonal *etc.*) nos organismos vivos. A acetil-CoA carboxilase (ACCase) é uma enzima ubíqua que, na dependência de biotina, catalisa duas reações irreversíveis que determinam o comprometimento da via de síntese de ácidos graxos. Ela é composta por três domínios funcionais: proteína carregadora de carboxil-biotina (BCCP ou BCC), biotina carboxilase (BC) e carboxil transferase (CT; subunidades α e β). Os domínios BC e CT são os responsáveis pelas atividades catalíticas, que dependem de ATP, Mg^{2+} e HCO_3^- , resultando na carboxilação de acetil-CoA para formação de malonil-CoA. A seguir estão representadas as duas reações citadas, catalisadas, respectivamente, pelas subunidades BC e CT (Nikolau et al., 2003, Sasaki & Nagano, 2004, Shorrosh et al., 1994):



A malonil-CoA é necessária para a síntese *de novo* de ácidos graxos que ocorre nos plastídeos, enquanto que a malonil-CoA citosólica é utilizada na elongação dos ácidos graxos de cadeia muito longa (VLCFAs) e metabólitos secundários de plantas, como flavonoides e suberinas (Harwood, 1988).

As plantas possuem isoformas plastídicas e citoplasmáticas de ACCases, sendo a primeira responsável

por mais de 80% da atividade total dessas enzimas nas folhas (Ashton et al., 1994, De Prado et al., 2004, Egli et al., 1993). Plantas da família Poaceae (gramíneas), possuem uma ACCase plastídica homomérica (ou eucariótica), na qual os domínios BCCP, BC e CT ficam localizados em uma proteína de cadeia polipeptídica única (Inclendon & Hall, 1997). As ACCases plastídica e citoplasmática de gramíneas tornam-se ativas quando homodimerizadas (Egli *et al.*, 1993, Zhang *et al.*, 2003). Já as demais plantas possuem, de maneira geral, a forma homomérica no citoplasma e uma forma heteromérica (ou procariótica) localizada nos plastídeos, sendo seus domínios codificados por diferentes genes que são expressos de forma coordenada (Sasaki & Nagano, 2004).

5.2. Herbicidas inibidores da ACCase

5.2.1 Classificação

Os herbicidas inibidores da ACCase foram introduzidos na agricultura a partir de 1978 (Powles & Yu, 2010), utilizados no controle de plantas daninhas gramíneas, em condições de pós-emergência, de culturas da classe das dicotiledôneas. A especificidade desse mecanismo de ação de herbicidas às plantas gramíneas se deve ao fato de que eles inibem, seletivamente, as ACCases plastídicas homoméricas, presentes apenas nessa família botânica de plantas, com algumas exceções. As formas heteromérica plastídica e homomérica citosólica da enzima não são inibidas por esses herbicidas, o que torna as dicotiledôneas naturalmente tolerantes a eles (Kukorelli et al., 2013). As exceções são alguns membros da família Geraniaceae e algumas espécies de brásicas e *Arabidopsis* (Kaundun, 2014), que possuem a forma homomérica da enzima em seus cloroplastos, sendo suscetíveis a estes herbicidas.

Essa classe de herbicidas está dividida em três grupos químicos principais: ariloxifenoxipropionatos (APPs), ciclohexanodionas (CHDs) e fenilpirazolinás (PPZ). APPs e CHDs foram introduzidos na agricultura há mais de 30 anos,

sendo que, o grupo químico PPZ apresenta um único herbicida, pinoxadem, lançado em 2006 (Hofer, 2006; Oliveira, 2011). Apesar das moléculas dos três grupos químicos consistirem de um esqueleto de carbono com substituintes polares, suas estruturas apresentam características distintas (Délye, 2005a).

5.2.2. Mecanismo de ação dos herbicidas inibidores da ACCase

Esses herbicidas bloqueiam a biossíntese de ácidos graxos, impossibilitando a formação de lipídeos e metabólitos secundários nas plantas suscetíveis. Como resultado, a integridade da membrana celular é afetada, acarretando no extravasamento de metabólitos intracelulares, e morte celular (Délye, 2005a; Kaundun, 2014). Esse processo se inicia quando os herbicidas são absorvidos pelas folhas e translocados para os pontos de crescimento (tecidos meristemáticos) através do floema, onde exercem sua função inibindo a atividade meristemática e restringindo o crescimento de novas folhas (Kukorelliet al., 2013). Sintomas necróticos aparecem nos pontos de crescimento depois de alguns dias, com descoloração inicial e posterior desintegração das folhas (Oliveira, 2011). A maior umidade relativa do ar está positivamente correlacionada à eficácia destes herbicidas, por favorecer a absorção e translocação do produto pela planta (Cieslik et al., 2013).

Estudos de cinética enzimática mostraram que APPs e CHDs são inibidores não competitivos quanto a ATP, Mg^{2+} e HCO_3 , mas apresentam inibição quase competitiva no que diz respeito ao substrato acetil-CoA. Isso sugere que, apesar deles se ligarem ao mesmo sítio catalítico no domínio CT, provavelmente atuam inibindo o passo de transcarboxilação (envolvendo o domínio CT) da reação, e não a carboxilação da biotina (envolvendo o domínio BC) (Burton et al., 1991; Hirai et al., 2002; Rendina et al., 1990; Roe et al., 1997).

Dados moleculares e bioquímicos claramente estabeleceram que, o domínio CT na ACCase homomérica

possui o sítio alvo de ligação de APPs e CHDs (Délye, 2005a), mesmo que estas se liguem em regiões distintas da interface do homodímero. Análises cinéticas também apontaram que os APPs e as CHDs apresentam dupla inibição, ou seja, a ligação de uma dessas classes de herbicidas impede a ligação de moléculas da outra (Rendina et al., 1990). Estudos com pinoxaden evidenciam que essa molécula se liga a um local muito similar ao tepraloxymid, apesar de suas estruturas químicas serem diferentes (Yu et al., 2010; Kaundun, 2014).

5.2.3. Mecanismos de resistência das plantas daninhas aos inibidores da ACCase

Plantas daninhas resistentes a herbicidas do Grupo A têm elevada relevância econômica devido à extensão da área infestada, ao número restrito de herbicidas com mecanismos de ação alternativos para seu manejo e porque esses herbicidas são a principal alternativa para o manejo de plantas daninhas de folhas estreitas resistentes ao herbicida glifosato. Segundo Devine (1997), os biótipos resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase podem surgir após seis a dez anos de pressão de seleção, principalmente nos sistemas onde a aplicação desse grupo de herbicidas é utilizada como a única ferramenta de manejo das gramíneas, sendo que esse fato está relacionado com a elevada frequência inicial (6^{-10} plantas) que apresenta o biótipo resistente na natureza (Vidal & Fleck, 1997). Os primeiros herbicidas deste grupo foram lançados no mercado no ano 1978, e os primeiros casos de resistência foram reportados quatro anos mais tarde, em 1982, para *Lolium rigidum* em um campo de trigo na Austrália (Heap & Knight, 1982). Atualmente, um total de 47 espécies resistentes já foram reportadas no mundo (Heap, 2016). Ainda, na Austrália, populações de *L. rigidum* já apresentavam resistência ao herbicida pinoxaden, lançado em 2006, em pesquisas feitas em 2003 e 2005 (Boutsalis et al., 2012). Até o momento no Brasil, foram reportadas cinco espécies com populações resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase:

Urochloa plantaginea (capim-marmelada), *Digitaria ciliaris* (capim-colchão), *Eleusine indica* (capim-pé-de-galinha), *Avena fatua* (Aveia-brava), *Lolium multiflorum* (azevém - também resistente ao glifosato) e *Digitaria insularis* (capim-amargoso) (Heap, 2016).

Diversos pesquisadores publicaram resultados de estudos, buscando elucidar o mecanismo de resistência de plantas daninhas a esses herbicidas e, assim como no caso de outros mecanismos de ação, o mecanismo de resistência de plantas daninhas aos inibidores da ACCase pode ser diretamente relacionado ao alvo (ACCase) ou metabólica. Assim, a seguir são descritas algumas destas pesquisas.

5.3.1. Resistência relacionada à ACCase

A resistência diretamente relacionada à ACCase pode ser causada (i) por mutações ou (ii) pelo aumento dos níveis de expressão da mesma.

5.3.1.1. Mutações que afetam a afinidade do herbicida pela enzima

Uma das propriedades que determina a eficácia de um herbicida é a afinidade que o mesmo tem pela enzima por ele inibida. Essa afinidade, por sua vez, é conferida pelas interações físico-químicas que ocorrem entre as moléculas envolvidas. Assim sendo, no caso de um inibidor da ACCase, é a interação entre a molécula do ingrediente ativo (APPs, CHDs ou DEN) e aminoácidos em posições específicas da cadeia polipeptídica do domínio CT da ACCase que determina a afinidade entre ambos e, consequentemente, a eficácia do inibidor. Portanto, se plantas daninhas sofrem mutações no gene que codifica a ACCase de forma a alterar um aminoácido em uma dessas posições específicas (mutação pontual), a afinidade original entre o inibidor e a enzima pode ser comprometida, resultando em uma menor eficácia do mesmo.

As mutações no gene que codifica a ACCase plastídica, e suas consequentes alterações na sequência primária da

enzima foram detalhadamente elucidadas (Délye, 2005b). Até o momento, 14 dessas alterações já foram descritas, tendo sido observadas principalmente nas posições dos aminoácidos 1781, 2027, 2041, 2078 e 2096 da cadeia polipeptídica, mas também nas posições 1999 e 2088¹ (Kaundun, 2014), e ocorrendo nas seguintes variações: I1781L/V/A/T, W1999C/L/S, W2027C, I2041N/V, D2078G, C2088R e G2096A/S² (Beckie & Tardif, 2012; Heckart et al., 2008; Kaundun, 2010; Kaundun et al., 2012; Kaundun et al., 2013).

Os estudos moleculares conduzidos mais recentemente evidenciaram que, a não ser pelas mutações D2078G e C2088R, que conferem um amplo espectro de resistência a todos os herbicidas testados (Cruz-Hipolito et al., 2011; Délye et al., 2008; Gherekhloo et al., 2012; Kaundun, 2010; Kaundun et al., 2012; Osuna et al., 2012; Scarabel et al., 2011; Yu et al., 2007), os níveis de resistência são dependentes não só das substituições de aminoácidos, mas também do número de alelos resistentes, da espécie da planta daninha, do estágio de crescimento da planta e das doses de uso recomendadas dos herbicidas no campo (Kaundun, 2014). Dessa forma, uma mesma mutação pode resultar em fenótipos contrastantes quanto à sensibilidade a um herbicida em espécies diferentes. É o caso da mutação I2041N, que confere resistência a cicloxydim em *Phalaris paradoxa*, mas não em *Alopecurus myosuroides* (Délye et al., 2008; Hochberg et al., 2009). O

¹Os númerosNNNN apresentados representam a posição de um aminoácido na cadeia proteica (polipeptídica) a contar do primeiro aminoácido da extremidade N-terminal da mesma.

²A notação XNNNNZ é tal que: (i) X é o aminoácido canônico (original, ou não substituído) localizado na posição NNNN, (ii) NNNN é a posição do aminoácido e (iii) Z é o aminoácido que substituiu o aminoácido canônico. As barras “/” indicam que mais de um substituto do aminoácido original X na posição NNNN já foi descrito. Aminoácidos: A: alanina, C: cisteína, D: ácido aspártico, G: glicina, I: isoleucina, L: leucina, N: asparagina, R: arginina, S: serina, T: treonina, V: valina, W: triptofano.

grau de homozigotidade foi determinante para o controle de *Lolium rigidum* com clethodim em um campo da Austrália, onde as doses de uso puderam combater plantas heterozigotas I1781L, mas foram ineficazes para o controle de plantas homozigotas (Yuet al., 2007).

Finalmente, vale ainda reforçar que a frequência das mutações no gene da ACCase em uma população é variável de acordo com a espécie, o local e a pressão de seleção exercida pelo herbicida utilizado na região em questão (Délyeet al., 2010).

5.3.1.2. Aumento dos níveis de expressão da enzima

A pressão seletiva conferida por um herbicida inibidor da ACCase pode levar a um aumento da atividade específica da enzima, ou seja, da proporção de atividade da enzima por massa de proteína total devido a uma maior taxa de expressão. Uma vez em maior quantidade, ela é capaz de catalisar as reações de síntese de ácidos graxos na presença da mesma quantidade de um inibidor que antes inibia a catálise, dado que este não mais bloqueia a ação fisiológica total da enzima em níveis incompatíveis com o metabolismo celular. Até o momento, dois casos dessa natureza foram reportados, um em *Sorghum halepense* nos EUA (Bradley et al., 2001), e outro em *Leptochloa chinensis* na Tailândia (Pornprom et al., 2006), sendo que, em ambos, a atividade específica da enzima estava três vezes aumentada.

5.3.2. Resistência metabólica

A resistência metabólica vem sendo cada vez mais reconhecida como o mecanismo de resistência predominante aos herbicidas inibidores da ACCase (Kaundun, 2014). Este tipo de resistência engloba uma gama de processos, como detoxificação, redução na penetração e deficiência na translocação dos herbicidas (Kaundun, 2014; Kukorelli et al., 2013, Powles & Yu, 2010). O nível de resistência resultante desses processos é relativamente menor, quando comparado à resistência relacionada à ACCase, e pode, algumas vezes,

ser controlado quando as plantas são tratadas na fase inicial de crescimento. Porém, a resistência metabólica está frequentemente presente em populações que já contêm algum tipo de resistência relacionada à ACCase conhecida.

A detoxificação ocorre quando a taxa de metabolização do herbicida aumenta, transformando o ingrediente ativo em uma molécula não tóxica através de oxidação, hidrólise ou redução (fase 1) e posterior conjugação do metabólito ao tripeptídeo glutationa, a um açúcar ou a um aminoácido (fase 2) (Délye, 2005a). Como consequência, a concentração do componente tóxico diminui e não é mais suficiente para causar dano às células. As enzimas envolvidas no metabolismo de herbicidas têm os seus níveis de expressão aumentados nos casos de resistência, em particular as enzimas citocromo P450 oxidase (envolvida na fase 1), e glutathione-S-transferase (envolvida na fase 2) (Brazier et al., 2002; Kaundun, 2014). A resistência decorrente do aumento de metabolismo já pôde ser comprovada em algumas espécies de plantas daninhas (Ahmad-Hamdani et al., 2012; De Prado et al., 2005; Bakkali, 2007; Menendez & De Prado, 1996).

Um grande número de genes está claramente envolvido no mecanismo de resistência baseado no metabolismo, sendo que, em muitas espécies de plantas daninhas, as atividades da citocromo P450 oxidase e da glutathione-S-transferase estão associadas à resistência a diferentes classes de herbicidas (Délye, 2005a; Powles & Yu, 2010). Vale ainda destacar que padrões de resistência cruzada associados à resistência metabólica são quase imprevisíveis, o que torna difícil o manejo baseado apenas na substituição de herbicidas com diferentes mecanismos de ação. Um dos maiores exemplos são as populações resistentes de *L. rigidum* baseadas no metabolismo pelo citocromo P450, que apresentam resistência a herbicidas com mecanismos de ação distintos, incluindo inibidores do fotossistema II, inibidores da ALS, da ACCase e inibidores de tubulina (Powles & Yu, 2010; Preston & Powles, 2002).

A Figura 1 traz um resumo esquemático e genérico onde podem ser observados os principais aspectos abordados até aqui neste capítulo.

5.4. Caracterização da resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ACCase no Brasil

Vários trabalhos têm sido conduzidos por pesquisadores Brasileiros, com o objetivo de esclarecer e caracterizar a resistência das espécies reportadas a este grupo de herbicidas no país. Como pode ser observado na Tabela 1, o fator de resistência exibido pelos biótipos resistentes das diferentes espécies é variável dentre os herbicidas, apesar do mecanismo de ação destes ser o mesmo, evidenciando diferentes níveis de resistência cruzada a esses herbicidas. Alguns autores, como Gazziero et al., 2004, afirmam que os resultados encontrados para um biótipo não necessariamente se expressam em outros, de outras populações. Assim, para *Urochloa plantagineae* e *Digitaria ciliaris* (Tabela 1) foi observada resistência aos herbicidas como fluazifop-p-butil, haloxyfop-methyl (APP) e sethoxydim (CHD), principalmente. Porém, houve controle satisfatório pelo clethodim e teproloxydim, comprovando, assim, que as populações estudadas apresentam resistência cruzada, principalmente aos APPs, o que não se aplica a todos os herbicidas CHDs. No entanto, isso não foi observado para as populações de *Eleusine indica* e *Lolium multiflorum*, nas quais foi observado um fator de resistência para o herbicida clethodim de 10,7 e 15,3, respectivamente.

Estudos de herança conduzidos por Betts et al. (1992) evidenciam que a resistência a inibidores da ACCase é controlada por um gene nuclear dominante ou semi-dominante e, dessa forma, os biótipos resistentes apresentam condições de deixar como descendentes indivíduos resistentes, independentemente do tipo de fecundação da espécie. Ainda, em alguns casos, sabe-se que o mecanismo de resistência para essas espécies está relacionado ao alvo (ACCase; Tabela 2). Todavia, estudos mostram que a adaptabilidade ecológica não é afetada nos biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase no Brasil (Tabela 2), o que indica que os mesmos

não apresentariam desvantagem de crescimento e na sua habilidade competitiva intra- e interespecífica na ausência da pressão de seleção (Devine, 1997).

5.5. Manejo de populações de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase

O controle de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas inibidores da ACCase nas culturas de soja, milho, algodão e trigo considerando apenas a tática química é um desafio. Isso se dá devido ao baixo número de herbicidas com mecanismo de ação alternativo disponíveis para essas culturas (Tabela 3). Assim é primordial que, para o controle dessas populações, seja adotado o manejo integrado de plantas daninhas (MIPD) através do uso de um conjunto de técnicas químicas e não químicas integradas e apropriadas no sistema de produção utilizado. O MIPD em uma propriedade deve ser levado em consideração em longo prazo devido ao banco de sementes. Um exemplo disso, é um trabalho conduzido por Galvan et al. (2015), que buscaram testar manejos de solo e de cultura como forma de reduzir a presença de azevém, mostrando que as sucessões de aveia preta/milho e trigo/soja, em dois anos, reduziram significativamente o banco de sementes na área. Ainda, Alexandrino (2015), com o objetivo de avaliar o impacto de diferentes sistemas de produção (incluindo a rotação de culturas, culturas de cobertura e aplicação de herbicidas com diferentes mecanismos de ação) no comportamento de plantas daninhas, observou que os manejos com rotação de culturas e herbicidas, a utilização da cobertura de aveia na entressafra, e evitando deixar a área em pousio, propiciaram a redução da população de plantas daninhas, notadamente para o azevém resistente ao glifosato. Assim, o mais recomendável na presença de biótipos resistentes a herbicidas do Grupo A é a rotação de culturas, o que permite utilizar herbicidas de diferentes mecanismos de ação, conforme sugerido na Tabela 3, dependendo da espécie presente na lavoura, com o objetivo de reduzir a infestação dos biótipos resistentes.

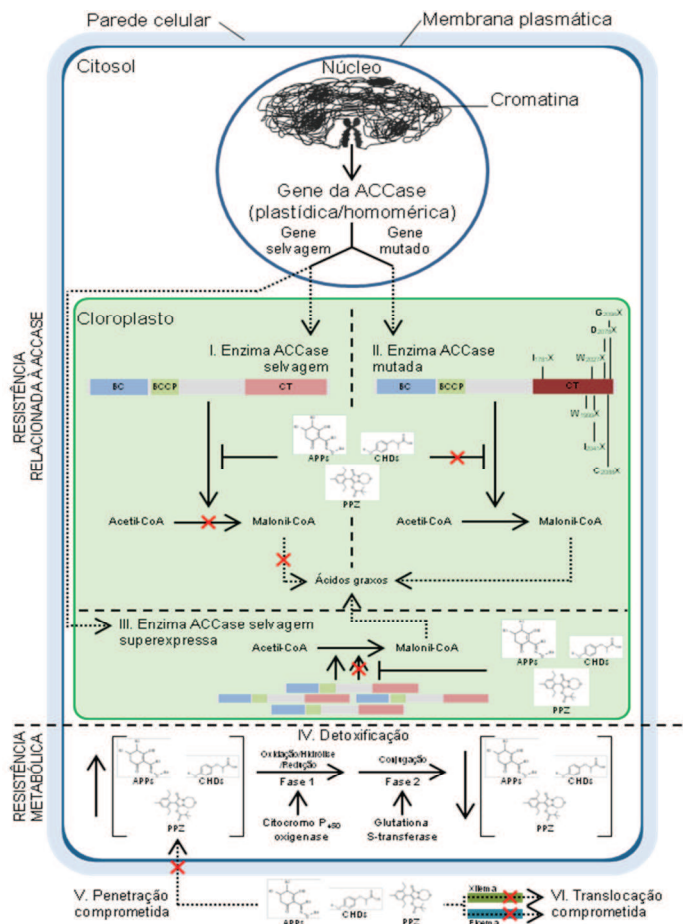


Figura 1. Representação esquemática dos principais aspectos envolvendo a resistência de gramíneas aos herbicidas inibidores de ACCase. A resistência de gramíneas a inibidores de ACCase pode se dar de diferentes formas. Aqui, os seguintes contextos são apontados: interação entre inibidores de ACCase e uma planta selvagem (I); resistência relacionada à ACCase causada por mutações (II) ou superexpressão da enzima selvagem (III); resistência metabólica causada por detoxificação (IV), penetração comprometida (V) ou translocação comprometida (VI).

Tabela 1. Caracterização dos casos de resistência de plantas daninhas reportados no Brasil aos herbicidas inibidores da ACCase.

Espécie resistente	Fator de resistência (R/S)		Fonte
	APPs	CHDs	
<i>Urochloa plantaginea</i>	Fenoxaprop-p-ethyl (16,0/ 5,2) Fluazifop-p-butyl (8,6/ 19,4) Haloxifop-methyl (5,4/1,7)	Sethoxydim (16,0/ 7,4)	(Christoffoleti; Khedi; Cortez, 2001, Gazziero <i>et al.</i> , 2000)
<i>Digitaria ciliaris</i>	Fluazifop-p-butyl (46,0) Propaquizafop (4,9) Haloxifop-methyl (4,6)	Sethoxydim (31,0)	(Lopez Ovejero, 2006)
<i>Eleusine indica</i>	Haloxifop-p-methyl (16,8) Fluazifop-p-butyl (6,7)	Sethoxydim (31,0/ 21,5) Clethodim (10,7)	(Vidal <i>et al.</i> , 2006) (Osuna <i>et al.</i> , 2012)
<i>Lolium multiflorum</i>	Fluazifop-p-butyl (1,32)	Clethodim (15,3)	(Vargas <i>et al.</i> , 2013)
<i>Avena fatua</i>	Clodinafop-propargyl (20,6)	-	(Alexandrino, 2015)
	Fenoxaprop-p-ethyl Haloxifop-p-methyl	-	(Heap, 2016)

Tabela 2. Principais características da resistência aos herbicidas inibidores da ACCase reportados no Brasil.

Espécie	Mecanismo de resistência	Adaptabilidade Ecológica
<i>Urochloa plantaginea</i>	Relacionado à ACCase - Cortez, 2000	Similar - (Heap, 2016)
<i>Digitaria ciliaris</i>	Desconhecido	Similar - (Lopez Ovejero, 2006)
<i>Eleusine indica</i>	Relacionado à ACCase – Osuna et al., 2012	Similar - (Heap, 2016)
<i>Lolium multiflorum</i>	Desconhecido	Similar - (Heap, 2016)
<i>Avena fatua</i>	Desconhecido	Menor - (Heap, 2016)
<i>Digitaria insularis</i>	Desconhecido	Similar – (Heap, 2016)

Tabela 3. Principais herbicidas alternativos registrados para o manejo das espécies reportadas como resistentes aos inibidores da ACCase nas culturas de soja, milho, algodão e trigo.

Soja
- <i>Urochloa plantaginea</i>: glifosato (G); glufosinato (H); imazetapir (B); imazapir + imazapique (B); paraquate (D); alacloro (K3); S-metolacloro (K3); trifluralina (K1); sulfentrazone (E); clomazona (F3). - <i>Digitaria ciliaris</i>: glifosato (G); trifluralina (K1). - <i>Eleusine indica</i>: glifosato (G); imazapir + imazapique (B); paraquate (D); alacloro (K3); S-metolacloro (K3); trifluralina (K1); sulfentrazone (E); clomazona (F3). - <i>Lolium multiflorum</i>: glifosato (G); glufosinato (H); paraquate (D); trifluralina (K1). - <i>Digitaria insularis</i>: glufosinato (H); paraquate (D)
Milho
- <i>Urochloa plantaginea</i>: glifosato (G); glufosinato (H); paraquate (D); nicossulfuron (B); tembotriona (F2); atrazina (C1); simazina (C1); alacloro (K3); trifluralina (K1); S-metolacloro (K3); isoxaflutol (F2). - <i>Digitaria ciliaris</i>: glifosato (G); atrazina (C1); tembotriona (F2); trifluralina (K1). - <i>Eleusine indica</i>: glifosato (G); glufosinato (H); paraquate (D); nicossulfuron (B); atrazina (C1); simazina (C1); alacloro (K3); trifluralina (K1); S-metolacloro (K3); isoxaflutol (F2). - <i>Lolium multiflorum</i>: glifosato (G); paraquate (D); trifluralina (K1). - <i>Digitaria insularis</i>: mesotrione (F); tembotrione (F)
Algodão
- <i>Urochloa plantaginea</i>: glifosato (G); glufosinato (H); paraquate (D); MSMA (Z); diurom (C2); S-metolacloro (K3); alacloro (K3); trifluralina (K1); clomazona (F3). - <i>Digitaria ciliaris</i>: glifosato (G); trifluralina (K1). - <i>Eleusine indica</i>: glifosato (G); glufosinato (H); MSMA (Z); paraquate (D); prometrina (C1); alacloro (K3); trifluralina (K1); diurom (C2); clomazona (F3); S-metolacloro (K3). - <i>Digitaria insularis</i>: glufosinato (H); prometrina (C)
Trigo
- <i>Urochloa plantaginea</i>: glifosato (G); paraquate (D). - <i>Digitaria ciliaris</i>: glifosato (G). - <i>Eleusine indica</i>: glifosato (G); glufosinato (H); paraquate (D); - <i>Lolium multiflorum</i>: glifosato (G); paraquate (D); iodossulfuron (B); piroxsulam (B). - <i>Digitaria insularis</i>: glufosinato (H); paraquate (D)

Giagro, março 2016 - no sistema não constam herbicidas registrados para o controle de *Avena fatua* (aveia-brava) nessas culturas.

É importante mencionar que, em alguns casos, para o manejo químico de biótipos resistentes a inibidores da ACCase poderiam ser utilizados herbicidas com o mesmo mecanismo de ação. Um exemplo disso é que os biótipos resistentes de *Brachiaria plantaginea* e *Digitaria ciliaris* foram reportados como resistentes a APPs e sethoxydim, mas não para clethodim (Tabela 1). No entanto, é importante ressaltar que (i) os resultados encontrados para uma população estudada podem não se expressar em outra e, assim, a recomendação pode ser diferente conforme o histórico da área (caso a caso); (ii) nunca se deve utilizar essa estratégia isoladamente, uma vez que podem ser empregados herbicidas pré-emergentes com mecanismo de ação diferente para diminuir a infestação seguidos da aplicação de um inibidor da ACCase em pós-emergência; (iii) deve-se considerar que, com o tempo, e quando utilizado como tática de manejo isolada, a pressão de seleção desses herbicidas continuará, o que poderá resultar em problemas para todos os herbicidas pertencentes a esse grupo químico.

Outra questão importante é o fato desse grupo de herbicidas ser fundamental para o manejo de populações de plantas daninhas resistentes ao glifosato, como *Lolium multiflorum*, *Digitaria insularis* e *Chloris elata*. No ano de 2010, o primeiro caso de resistência aos herbicidas glifosato e clethodim já havia sido reportado em *Lolium multiflorum* na região sul do Brasil (Heap, 2016). Essa questão é bastante alarmante, principalmente para o caso de *Digitaria insularis*, planta daninha adaptada a uma extensa área cultivada, e com a presença de populações resistentes ao glifosato nas diferentes regiões produtoras do Brasil. Atualmente, o manejo destas populações tem sido realizado principalmente com aplicações de herbicidas inibidores da ACCase na fase adulta da planta, inclusive em doses muitas vezes maiores do que as recomendadas, em aplicações sequenciais e como única ferramenta de controle (Adegas et al., 2014). Assim, existe a preocupação de que a pressão de seleção exercida acabe por levar à seleção de populações com resistência aos inibidores da EPSPS e da ACCase para *D. insularis* em um futuro muito próximo. Esse caso, bem como os demais apontados aqui, demonstram a importância de se introduzir uma maior

diversidade nas alternativas de manejo das populações que são resistentes ao glifosato, conseqüentemente aumentando a vida útil dos inibidores da ACCase.

5.6. Referências bibliográficas

- ADEGAS, F.S., GAZZIERO, D.L.P., VOLL, E. Resistência de *Avena fatua* aos herbicidas inibidores da ACCase. In: Agostinetto, D., Vargas, L., **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Pelotas. Editora UFPel. 2014 p. 349-356.
- AHMAD-HAMDANI, M.S. *et al.* Herbicide resistance endowed by enhanced rates of herbicide metabolism in wild oat (*Avena* spp.). **Weed Science**. Champaign, v. 61, p. 55-62, 2012.
- ALEXANDRINO, S.A. **Sistemas de produção com rotação de culturas, coberturas e herbicidas para redução e prevenção do desenvolvimento de plantas daninhas resistentes ao Glifosato**. Universidade de São Paulo, Escola de Agricultura Luiz de Queiroz, 141, Piracicaba, 2015.
- ASHTON, A.R., JENKINS, C.L.D., WHITFIELD, P.R. Molecular cloning of two different cDNAs for maize acetyl CoA carboxylase. **Plant Molecular Biology**. Orlando, v. 24, p. 35-49, 1994.
- BAKKALI, Y. Late watergrass (*Echinochloa phylllopogon*): mechanism involved in the resistance to fenoxaprop-P-ethyl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 55, p. 4052-4058, 2007.
- BECKIE, H., TARDIF, F.J. Herbicide cross resistance in weeds. **Crop Protection**. Guildford, v. 35, p. 15-28, 2012.
- BETTS, K.J. *et al.* Mechanism of inheritance of diclofop resistance in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*). **Weed Science**. Champaign, v. 40, p. 184-189, 1992.
- BOUTSALIS, P., GILL, G.S., PRESTON, C. Incidence of Herbicide Resistance in Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*) across Southeastern Australia. **Weed Technology**. Champaign, v. 26, p. 391-398, 2012.
- BRADLEY, K.W. *et al.* The mechanism of resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione herbicides in a johnsongrass biotype. **Weed Science**. Champaign, v. 49, p. 477-484, 2001.
- BRAZIER, M., COLE, D.J., EDWARDS, R. O-Glucosyltransferase activities toward phenolic natural products and xenobiotics in wheat and herbicide-resistant and herbicide-susceptible black-

- grass (*Alopecurus myosuroides*). **Phytochemistry**. Nova York, v. 59, p. 149-156, 2002.
- BURTON, J.D. Acetyl-Coenzyme A Carboxylase Inhibitors. In: Roe, M. R., Burton, J. D., Kuhr, R. J., **Herbicide Activity: Toxicology, Biochemistry and Molecular Biology**. IOs Press. 1997 p. 187-205.
- BURTON, J.D. *et al.* Kinetics of inhibition of acetyl-coenzyme A carboxylase by sethoxydim and haloxyfop. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. Nova York, v. 39, p. 100-109, 1991.
- CHRISTOFFOLETI, P.J., KEHDI, C.A., CORTEZ, M.G. Manejo da planta daninha *Brachiaria plantaginea* resistente aos herbicidas inibidores da ACCase. **Planta Daninha**. Viçosa, v. 19, p. 61-66, 2001.
- CIESLIK, L.F., VIDAL, R.A., TREZZI, M.M. Fatores Ambientais que Afetam a Eficácia de Herbicidas Inibidores de ACCase: Revisão. **Planta Daninha**. Viçosa, v. 31, p. 483-489, 2013.
- CORTEZ, M.G. **Resistência de biótipos de *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. a herbicidas inibidores da acetil coenzima A carboxilase**. Universidade de São Paulo, Escola de Agricultura "Luiz de Queiroz", 214, Piracicaba, 2000.
- CRUZ-HIPOLITO, H. *et al.* Mechanism of resistance to ACCase-inhibiting herbicides in wild oat (*Avena fatua*) from Latin America. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 59, p. 7261-7267, 2011.
- DE PRADO, J.L. *et al.* *Lolium rigidum*, a pool of resistance mechanisms to ACCase inhibitor herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 53, p. 2185-2191, 2005.
- DE PRADO, R., OSUNA, M.D., FISHER, A.J. Resistance to ACCase inhibitor herbicides in a green foxtail (*Setaria viridis*) biotype in Europe. **Weed Science**. Champaign, v. 52, p. 506-512, 2004.
- DÉLYE, C. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update. **Weed Science**. Champaign, v. 53, p. 728-746, 2005.
- DÉLYE, C., MATÉJICEK, A., MICHEL, S. Cross-resistance patterns to ACCase-inhibiting herbicides conferred by mutant ACCase isoforms in *Alopecurus myosuroides* Huds. (black-grass), re-examined at the recommended herbicide field rate. **Pest Management Science**. West Sussex, v. 64, p. 1179-1186, 2008.

- DÉLYE, C., MICHEL, S. 'Universal' primers for PCR-sequencing of grass chloroplastic acetyl-CoA carboxylase domains involved in resistance to herbicides. **Weed Research**. Oxford, v. 45, p. 323-330, 2005.
- DÉLYE, C. *et al.* Geographical variation in resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase-inhibiting herbicides across the range of the arable weed *Alopecurus myosuroides* (black-grass). **New Phytologist**. 186, 1005-1017, 2010.
- DEVINE, M.D. Mechanisms of resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors: a review. **Pesticide Science**. 51, 259-264, 1997.
- DEVINE, M.D. Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitors. In: Hirai, K., Wakabayashi, K., Boger, P., **Herbicide Classes in Development: Mode of Action, Targets, Genetic Engineering, Chemistry**. Berlin/Heidelberg. Springer-Verlag. 2002 p. 103-113.
- EGLI, M.A. *et al.* Characterization of maize acetyl-coenzyme A carboxylase. **Plant Physiology**. Belmont, v. 101, p. 499-506, 1993.
- GAZZIERO, D.L.P. *et al.* Resistência da planta daninha capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*) aos herbicidas inibidores da enzima ACCase na cultura da soja. **Planta Daninha**. Viçosa, v. 18, p. 169-184, 2000.
- GHHEREKHLOO, J., OSUNA, M.D., DE PRADO, R. Biochemical and molecular basis of resistance to ACCase-inhibiting herbicides in Iranian *Phalaris minor* populations. **Weed Research**. v. 52, p. 367-372, 2012.
- HARWOOD, J.L. Fatty acid metabolism. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. Palo Alto, v. 39, p. 101-138, 1988.
- HEAP, I. **International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. T Disponível em www.weedscience.org. Acessado em 25/03/2016
- HEAP, I., KNIGHT, R. A population of ryegrass tolerant to the herbicide diclofop-methyl. **Australian Journal of Agricultural Research**. Clayton South, v. 48, p. 156-157, 1982.
- HECKART, D. *et al.* 2008. ACCase resistant large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) in Georgia. 61st Southern Weed Science Society Annual Meeting. Jacksonville, FL
- HOCHBERG, O., SIBONY, M., RUBIN, B. The response of ACCase-resistant *Phalaris paradoxa* populations involves two different target site mutations. **Weed Research**. Oxford, v. 49, p. 37-46, 2009.

- HOFER, U. Pinoxaden – for broad spectrum grass weed management in cereal crops. **Journal of Plant Diseases and Protection**. Stuttgart, v. Special issue XX, p. 989-995, 2006.
- INCLEDON, B.J., HALL, C.J. Acetyl-coenzyme A carboxylase: quaternary structure and inhibition by graminicidal herbicides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. Nova York, v. 57, p. 255-271, 1997.
- KAUNDUN, S. An aspartate to glycine change in the carboxyl transferase domain of acetyl-CoA carboxylase is in part associated with resistance to ACCase inhibitor herbicides in a *Lolium multiflorum* population. **Pest Management Science**. West Sussex, v. 66, p. 1249-1256, 2010.
- KAUNDUN, S. Resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides. **Pest Management Science**. West Sussex, v. 70, p. 1405-1417, 2014.
- KAUNDUN, S. *et al.* Broad resistance to ACCase inhibiting herbicides in a ryegrass population is due only to a cysteine to arginine mutation in the target enzyme. **PLoS ONE**. São Francisco, v. 7, p. e39759: 39751-39759, 2012.
- KAUNDUN, S. *et al.* Role of a novel I1781T mutation and other mechanisms in conferring resistance to acetyl-CoA carboxylase inhibiting herbicides in a black grass population. **PLoS ONE**. São Francisco, v. 8, p. e69568: 69561-69510, 2013.
- KUKORELLI, G., REISINGER, P., PINKE, G. ACCase inhibitor herbicides – selectivity, weed resistance and fitness cost: a review. **International Journal of Pest Management**. Washington, v. 59, p. 165-173, 2013.
- LOPEZ OVEJERO, R.F. **Resistência de populações da planta daninha *Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel. A herbicidas inibidores da acetil coenzima A carboxilase (ACCase)**. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, p. 101, Piracicaba, 2006.
- MENENDEZ, J., DE PRADO, R. Diclofop-methyl cross-resistance in a chlorotoluron-resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. Nova York, v. 56, p. 123-133, 1996.
- NIKOLAU, B.J., OHLROGGE, J.B., WURTELE, E.S. Plant biotin-containing carboxylases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. Nova York, v. 414, p. 211-222, 2003.

- OLIVEIRA, R.S. Mecanismo de Ação de Herbicidas In: Oliveira, R. S., Constantin, J., Inoue, M. H., **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba. Omnipax.2011 p. 141-192.
- OSUNA, M. *et al.* Resistance to ACCase inhibitors in *Eleusine indica* from Brazil involves a target site mutation. **Planta Daninha**. Viçosa, v. 30, p. 675-681, 2012.
- PORNPROM, T., MAHATAMNUCHOKE, P., USUI, K. The role of altered acetyl-CoA carboxylase in conferring resistance to fenoxaprop-P-ethyl in Chinese sprangletop [*Leptochloa chinensis* (L.) Nees]. **Pest Management Science**. West Sussex, v. 62, p. 1109-1115, 2006.
- POWLES, S.B., YU, Q. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. **Annual Reviews Plant Biology**. Palo Alto, v. 61, p. 317-347, 2010.
- PRESTON, C., POWLES, S.B. Mechanisms of multiple herbicide resistance in *Lolium rigidum*. In: Yamaguchi, J. C. I., **Agrochemical Resistance: Extent, Mechanism & Detection**. New York. Oxford Univ. Press.2002 p. 150-160.
- RENDINA, A.R. *et al.*, **Kinetics of inhibition of ACCase by the aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione graminicides**. In: Brighton Crop Protection Conference: Weeds, Brighton.1989.p. 163-172.
- RENDINA, A.R. *et al.* Inhibition of acetyl-coenzyme A carboxylase by two classes of grass-selective herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 38, p. 1282-1287, 1990.
- SASAKI, Y., NAGANO, Y. Plant acetyl-CoA carboxylase: structure, biosynthesis, regulation, and gene manipulation for plant breeding. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**. Abingdon, v. 68, p. 1175-1184, 2004.
- SCARABEL, L. *et al.* Allelic variation of the ACCase gene and response to ACCase-inhibiting herbicides in pinoxaden-resistant *Lolium* spp. **Pest Management Science**. West Sussex, v. 67, p. 932-941, 2011.
- SHORROSH, B.S., DIXON, R.A., OHLROGGE, J.B. Molecular cloning, characterization, and elicitation of acetyl-CoA carboxylase from alfalfa. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v. 91, p. 4323-4327, 1994.

- VARGAS, L. *et al.* Dose-Response curves of *Lolium multiflorum* Biotypes Resistant and Susceptible to Clethodim. **Planta Daninha**. Viçosa, v. 31, p. 887-892, 2013.
- VIDAL, R.A., FLECK, N.G. Análise do risco da ocorrência de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas. **Planta Daninha**. Viçosa, v. 31, p. 887-892, 1997.
- VIDAL, R.A. *et al.* Resistência de *Eleusine indica* aos inibidores de ACCase. **Planta Daninha**. Viçosa, v. 24, p. 163-171, 2006.
- YU, L.P.C., KIM, Y.S., TONG, L. Mechanism for the inhibition of the carboxyltransferase domain of acetyl-coenzyme A carboxylase by pinoxaden. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. Washington, v. 107, p. 72-77, 2010.
- YU, Q. *et al.* Diversity of acetyl-coenzyme A carboxylase mutations in resistant *Lolium* populations: evaluation using clethodim. **Plant Physiology**. Belmont, v. 142, p. 547-558, 2007.
- ZHANG, H. *et al.* Crystal structure of the carboxyltransferase domain of acetyl-coenzyme A carboxylase. **Science**. Washington, v. 299, p. 2064-2067, 2003.

CAPITULO 6

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETOLACTATO SINTASE (ALS) (Grupo B)

Leandro Vargas
Fernando Adegas
Acácio Gonçalves Netto
Ednaldo Alexandre Borgato
Marcelo Nicolai
Pedro Jacob Christoffoleti

6.1 Introdução

Os herbicidas inibidores da ALS formam um dos mais importantes grupos de herbicidas comercializados na atualidade (Oliveira Jr., 2011), os mesmos ganharam popularidade na comunidade agrícola e tiveram seu uso aumentado gradativamente devido à elevada eficácia agrônômica no controle de diversas espécies, às baixas doses recomendadas, à baixa toxicidade aos mamíferos e à seletividade à várias culturas (Monquero et al., 2000). Contudo, o uso inadequado desta tecnologia levou ao aparecimento de 159 plantas daninhas resistentes, o que corresponde a mais de 30% de todos os casos de resistência no mundo, sendo dezoito casos com ocorrência no Brasil (Heap, 2016).

O uso contínuo de uma mesma molécula por diversos anos promove uma redução na população suscetível de uma determinada espécie à um herbicida, ao mesmo passo que ocorre o aumento da frequência biótipos resistentes. A frequência da presença dos genes que conferem a resistência de uma espécie a um determinado herbicida, está diretamente correlacionada com o período de tempo necessário para que se possa notar a presença de biótipos resistentes no local (Bahar et al., 2013), sendo que a frequência inicial de biótipos resistentes aos inibidores da ALS em uma população é considerada alta, devido a passibilidade desta enzima sofrer mutações pontuais em sua sequência genética (Nicolai et al., 2008).

No Brasil, as moléculas herbicidas classificadas no grupo B (inibidores da ALS) são 21 ingredientes ativos de uso agrícola e não-agrícola, compondo mais de 30 produtos e misturas comerciais (Rodrigues & Almeida, 2011).

6.2. Mecanismo de ação dos herbicidas inibidores da ALS

Christoffoleti (2008) explica que os herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) ou acetohidroxiácido sintase (AHAS) pertencem a diversos grupos químicos, dentre eles as sulfoniluréias (azimsulfuron, chlorimuron-ethyl, thoxysulfuron, metsulfuron-methyl, halosulfuron, flazasulfuron, pirazosulfuron-etil, nicosulfuron, oxasulfuron, cyclosulfamuron, trifloxysulfuron-sodium, iodosulfuron-methyl, oramsulfuron), imidazolinonas (imazamox, imazethapyr, imazapic, imazaquin, imazapyr), triazolopirimidinas (flumetsulan, diclosulan, cloransulam-methyl) e pirimidiloxitiobenzoatos (pyrithiobac-sodium, bispyribac-sodium).

Estes herbicidas apresentam como mecanismo de ação a inibição da síntese dos aminoácidos alifáticos de cadeia lateral: valina, leucina e isoleucina (Trezzi & Vidal, 2001). A via biossintética desses três aminoácidos apresenta em comum o uso de uma enzima chamada ALS, que participa na fase inicial do processo metabólico, catalizando uma reação de condensação (Christoffoleti et al., 2001).

Essa reação de condensação consiste na fusão de duas moléculas de piruvato, gerando o acetolactato ou na condensação de uma molécula de piruvato com uma molécula de 2-cetobutirato, formando 2-aceto-2-hidroxiбутirato, como o primeiro passo da biossíntese do aminoácido isoleucina.

Cada um destes produtos é convertido posteriormente por outras três reações, catalisadas pelas enzimas acetohidroxiácido isômero reductase (KARI), dihidroxiácido desidratase e aminotransferase, resultando em valina e isoleucina. Na biossíntese da leucina, o precursor da valina 2-ceto-isovalerato é ainda convertido em uma série de 4 reações que utilizam as enzimas 2-isopropilmalato sintase, isopropilmalato isomerase, desidrogenase e aminotransferase (Duggleby & Pang, 2000).

Os herbicidas inibidores da ALS impedem que estas reações de condensação aconteçam, provocando, como

consequência, o bloqueio na produção dos aminoácidos alifáticos de cadeia lateral (Figura 1).

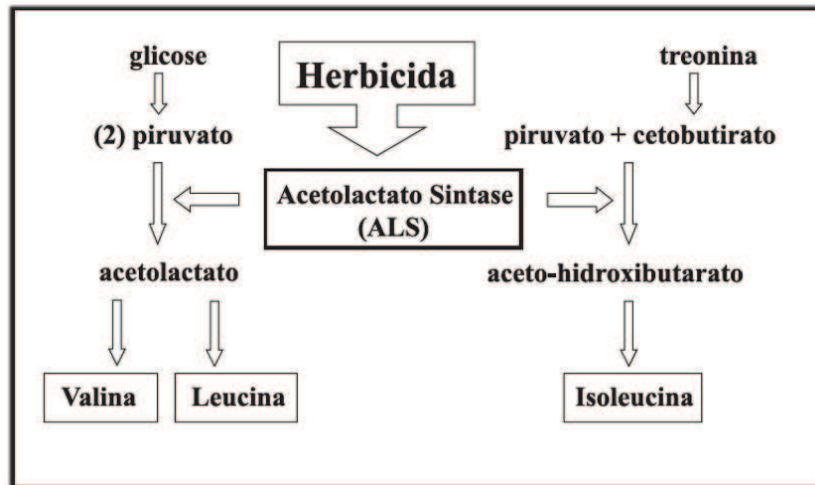


Figura 1. Rota metabólica responsável pela síntese dos aminoácidos valina, leucina e isoleucina; local de ação da enzima ALS, bem como, ponto de interferência dos herbicidas que atuam sobre o sistema.

Quando o herbicida se encontra presente dentro da célula de uma planta susceptível, ocorre uma inibição não competitiva pelo herbicida com o substrato, de tal maneira que não ocorre a formação do acetolactato, indispensável para que as demais reações prossigam e resultem na formação dos aminoácidos. A paralisação na síntese dos aminoácidos leva a uma interrupção na divisão celular e consequente paralisação do crescimento da planta (Kissmann, 2003a).

Os herbicidas inibidores da enzima ALS podem ser utilizados em pré e pós-emergência com vias de absorção radicular e foliar, já que há ingredientes ativos com translocação tanto pelo xilema como pelo floema, acumulando-se nos meristemas de crescimento.

Os sintomas da ação destes herbicidas são caracterizados pela clorose de folhas novas e a necrose de tecidos, o que ocorre entre sete e quatorze dias após a aplicação, apesar da interrupção no crescimento das plantas e

a morte das regiões meristemáticas ocorrerem logo após a aplicação (Rodrigues & Almeida, 2011).

Para Christoffoleti & López-Ovejero (2005), todos os herbicidas estão sujeitos à ação do ambiente antes de atingir o solo ou as plantas daninhas. Para os herbicidas aplicados em pré-emergência e residuais, a interação com as características físico-químicas do solo, após atingi-lo, é determinante para o sucesso do tratamento herbicida. Já os herbicidas pós-emergentes têm íntima ligação com o estágio de desenvolvimento das plantas daninhas, principalmente se estes herbicidas atuam sobre processos metabólicos, o que os torna mais tóxicos a plantas mais jovens, detentoras de tecidos meristemáticos, os quais são o centro da atividade biológica das plantas (Oliveira Jr., 2001).

Nicolai (2005) testou o controle de dois herbicidas inibidores da ALS, o nicosulfuron e a mistura comercial de foramsulfuron + iodosulfuron, em seis plantas daninhas e três diferentes estádios de desenvolvimento, e concluiu que para as aplicações em pós-emergência, deve ser respeitado o estágio mais inicial das plantas daninhas, pois é quando elas são mais facilmente controladas. Dessa forma, preconiza-se que os herbicidas inibidores da ALS, quando usados em pós-emergência, sejam aplicados em gramíneas antes do perfilhamento e em folhas largas com até seis folhas.

Ainda, deve-se observar intervalos mínimos de sete dias entre o uso de herbicidas inibidores da ALS e inseticidas organofosforados, bem como entre as adubações de cobertura nitrogenada, pois há a possibilidade de interações fitotóxicas entre estes insumos (Nicolai et al., 2006a; López-Ovejero et al., 2003).

6.3. Mecanismos de resistência a herbicidas inibidores da ALS

O primeiro caso registrado de resistência de plantas daninhas a herbicidas inibidores da ALS foi relatado por Mallory-Smith et al. (1990) e Priminiani et al. (1990), que identificaram biótipos resistentes de *Lactuca serriola* e em áreas cultivadas com trigo, nos Estados Unidos da América, em apenas cinco anos após a liberação comercial do herbicida Chlorsulfuron. No Brasil, em 1992, foi identificado o

primeiro caso de resistência, na cultura da soja, para a planta daninha leiteiro (*Euphorbia heterophylla*). Recentemente, Gonçalves Netto et al. (2016) confirmaram a existência de biótipos resistentes de caruru palmeri (*Amaranthus palmeri*) em áreas cultivadas com algodão, no norte do estado do Mato Grosso.

As formas pelas quais se pode explicar o desenvolvimento dos mecanismos de resistência de plantas daninhas a herbicidas são pelo menos três; a redução da concentração do herbicida no sítio de ação, a metabolização ou desintoxicação do herbicida a substâncias menos fitotóxicas e a perda de afinidade do herbicida pelo local de ação na enzima (López-Ovejero et al., 2004). No caso dos biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas inibidores da ALS, o mecanismo de resistência corresponde a alteração do gene responsável pela codificação da ALS, conforme relatado por Shaner (1991). A sequência de aminoácidos da enzima ALS é alterada, de tal forma que estes herbicidas não conseguem mais provocar a inibição não competitiva, assim a planta resistente produz os aminoácidos alifáticos de cadeia lateral mesmo com a presença do herbicida no local de ação, caracterizando-se como a perda da afinidade do herbicida pelo local da ação na enzima. Christoffoleti et al. (1997) e Vargas et al. (1999) observaram esse mecanismo respectivamente para picão-preto (*Bidens pilosa*) e leiteiro (*Euphorbia heterophylla*) resistentes a herbicidas inibidores da ALS, no Brasil.

Em todos os casos de resistência estudados até o momento, a resistência aos inibidores da ALS tem sido atribuída a mudanças na sequência dos aminoácidos em uma das cinco regiões conservadas da enzima; ou seja, nos aminoácidos 122, 197, 205, 574 e 653 (Sathasivan et al., 1990). A ALS é uma enzima composta de 670 aminoácidos e esta sequência é codificada por um gene nuclear. As cinco regiões conservadas podem sofrer mutações pontuais na sequência das bases aminadas, sendo que os cinco loci passíveis de mutação que resultam em resistência são simples e semi-dominantes, o que determina a alta frequência inicial dos biótipos resistentes.

A herdabilidade do alelo que confere resistência aos herbicidas inibidores da ALS é uma característica semi-dominante, permitindo a sobrevivência de indivíduos homozigotos e heterozigotos (Mallory-Smith et al., 1990), podendo também ser disseminada por meio dos grãos de pólen e sementes, aumentando assim o fluxo gênico que confere resistência para áreas adjacentes.

Christoffoleti (1993) constatou por meio de pesquisas conduzidas em casa-de-vegetação e campo, que não há diferenças na adaptabilidade ecológica de biótipos resistentes e suscetíveis aos herbicidas inibidores da ALS, portanto a mutação responsável pela resistência destes biótipos de plantas daninhas não resultou em custo genético para o biótipo resistente.

Dentre todos os grupos químicos de herbicidas, o grupo B (Inibidores da ALS) é o que mais apresenta casos de resistência documentados, o que é devido as seguintes razões (Tranel & Wright, 2002):

- O uso repetitivo na agricultura devido à ampla série de recomendações possíveis destes herbicidas, nas mais diversas culturas;
- A maioria dos herbicidas inibidores da ALS apresenta eficácia elevada sobre as plantas daninhas, atingindo níveis de controle próximos de 100%, o que leva a produção de sementes apenas dos biótipos resistentes;
- Muitos herbicidas inibidores da ALS apresentam residual prolongado no solo e conseqüentemente aumentam a pressão de seleção para biótipos resistentes;
- A alta frequência inicial de biótipos resistentes devida a características genéticas, conforme discutido anteriormente;
- A adaptabilidade ecológica dos biótipos suscetíveis e resistentes aos herbicidas inibidores da ALS é igual, garantindo a produção de sementes dos escapes das pulverizações;
- A maioria dos casos de resistência aos herbicidas inibidores da ALS estudada apresenta resistência cruzada aos diversos grupos químicos de herbicidas que tem este mesmo mecanismo de ação.

Ainda, trabalhos conduzidos por López-Ovejero et al. (2006) verificaram que biótipos de *B. pilosa* resistentes a

herbicidas inibidores da ALS são menos tolerantes que biótipos resistentes de *B. subalternans*, havendo ocorrência de resistência cruzada aos herbicidas inibidores da ALS do grupo das sulfoniluréias e imidazolinonas para ambas as espécies de picão-preto. Isso indica que certas espécies resistentes de plantas daninhas levam vantagem sobre outras, acelerando ainda mais o surgimento de problemas no manejo, ocasionados pela presença de resistência em áreas comerciais.

Casos de resistência múltipla ALS-Protox, ALS-FSII, ALS-Mimetizadores de Auxina, ALS-EPSPs, no Brasil (Heap, 2016) chamam atenção para a recomendação de um mesmo mecanismo de ação para o controle de biótipos resistentes como acontece principalmente na cultura da soja. López-Ovejero et al. (2004) indica a resistência múltipla como a mais complexa situação para o manejo de resistência, pois em algumas culturas, excetuando-se os dois mecanismos de ação, não há outras alternativas químicas para o controle de determinadas espécies de plantas daninhas.

6.4. Herbicidas alternativos aos herbicidas inibidores da ALS

Os inúmeros casos de surgimento de biótipos resistentes de plantas daninhas a herbicidas inibidores da ALS em áreas cultivadas no Brasil levaram ao estudo de alternativas para o controle dos escapes destas plantas. A utilização de outros herbicidas, com diferentes mecanismos de ação, posicionados da mesma forma que os herbicidas inibidores da ALS ou em momentos diferentes do desenvolvimento das culturas, tornaram-se a alternativa mais viável para o manejo da resistência.

Contudo, conforme já discutido anteriormente, o mau uso desta prática e a carência de outros herbicidas seletivos levou ao surgimento de biótipos com resistência cruzada. As pesquisas elaboradas para obtenção de posicionamento de herbicidas já existentes no mercado a fim de se caracterizarem como alternativos para manejo de plantas daninhas resistentes correspondem a grande parte dos esforços no campo de estudos da resistência.

O manejo do complexo *Bidens pilosa* - *B. subalternans* resistente aos herbicidas inibidores da ALS foi analisado por Penckowski et al. (2004a). Com o objetivo de avaliar alternativas de controle de *B. pilosa* e *B. subalternans* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja, instalaram um experimento no município de Palmeira (PR) na safra de 2002/2003. As melhores alternativas de controle de *B. pilosa* e *B. subalternans* foram as aplicações sequenciais de fomesafen (125+125), lactofen (72+72) e acifluorfen (102+102) e que em pelo menos uma das aplicações sequenciais fez-se associação de bentazon (480 g i.a. ha⁻¹). A primeira aplicação foi realizada com as plantas de picão-preto no estágio máximo de 2 a 4 folhas e a segunda aplicação ocorreu com intervalo de 12 dias.

Ainda, Penckowski et al. (2004b) com o objetivo de avaliar alternativas de controle de *B. pilosa* e *B. subalternans* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS com herbicidas pré-emergentes e de sua necessidade de complementação com tratamentos em pós-emergência na cultura da soja, instalaram um experimento no município de Palmeira (PR) na safra de 2002/2003. No experimento foi observado que nenhum dos pré-emergentes avaliados: clomazone (900 g i.a. ha⁻¹), sulfentrazone (400), metribuzin (480) e flumioxazin (60) controlou de forma satisfatória *Bidens pilosa*/*Bidens subalternans* resistentes aos inibidores da ALS, sendo que todos precisaram de complementações com herbicidas pós-emergentes como fomesafen (250); bentazon (720); lactofen (240); fomesafen + bentazon (125 + 480) ou lactofen + bentazon (72 + 480).

Em outra situação, avaliando-se em casa-de-vegetação a eficácia de diferentes herbicidas sobre as plantas daninhas *Bidens pilosa* e *Bidens subalternans* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS, Nicolai et al. (2006b) concluíram que os tratamentos herbicidas compostos por lactofen, clomazone, sulfentrazone, glyphosate, flumiclorac, bentazon, (acifluorfen + bentazon), metribuzin, fomesafen, diclosulam + clomazone e cloramsulam + lactofen, nas doses recomendadas em bula, são eficazes para o manejo das espécies citadas. Observa-se neste trabalho o uso não só de herbicidas recomendados para a cultura da soja, mas também

de moléculas recomendadas para o trabalho em dessecações de pré-semeadura, culturas usadas em rotação com a soja e para a cultura da soja geneticamente modificada para tolerância ao glyphosate. Ainda, é mostrada a resistência cruzada dos biótipos de *Bidens pilosa* e *Bidens subalternans* aos herbicidas nicosulfuron, imazethapyr e chlorimuron-ethyl.

Para Braz *et al.* (2011) o controle em pós-emergência de *Bidens pilosa* resistente foi nulo com o tratamento pyriithiobac-sodium em doses até 84 g i.a. ha⁻¹, ao passo que o uso de glyphosate e amônio glufosinato, em doses de 640 e 300 g i.a. ha⁻¹ respectivamente, foram totalmente eficazes quando aplicados isoladamente e também quando cada desseccante foi associado ao pyriithiobac-sodium, indicando a associação de moléculas, quando não antagônica e seletiva à cultura, como uma ferramenta para o manejo de plantas daninhas resistentes.

No caso do amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*) resistente aos herbicidas inibidores da ALS, Fornarolli *et al.* (2002) observou a campo que o herbicida lactofen foi eficiente em uma única aplicação, quando a população foi inferior a 50 plantas m², porém quando a população foi superior a 100 plantas m² somente as aplicações sequenciais com 72 ou 120 g ha⁻¹ foram eficazes. Para Buzatti & Jacquép (2002), os tratamentos com lactofen (0,75; 0,375/ 0,375 L ha⁻¹) e fomesafen (1,0; 0,5/0,5 L ha⁻¹) apresentaram controle superior a 90% e as aplicações sequenciais destes produtos foram superiores à aplicação única, sem rebrota de plantas de *E. heterophylla*. Na aplicação sequencial, a primeira aplicação pode ser realizada com a planta daninha de 2 a 4 folhas, seguida de mais uma aplicação 8 a 10 dias depois da primeira (Buzatti & Jacquép, 2002; Penckowski, 2002). Os mesmos resultados da aplicação sequencial foram observados por Roman (2001).

Gelmini *et al.* (2001), estudando alternativas de prevenção e manejo de *Euphorbia heterophylla* resistente aos herbicidas inibidores da ALS, em condições controladas, observou que os herbicidas fomesafen (250 g ha⁻¹), lactofen (120 g ha⁻¹), flumiclorac-pentil (40 g ha⁻¹), glufosinato de amônio (150 g ha⁻¹) e glyphosate (180 g ha⁻¹) controlaram eficientemente ambos os biótipos. Outros produtos que

apresentaram alto índice de controle foram sulfentrazone ($1,2 \text{ L ha}^{-1}$), acifluorfen e bentazon + acifluorfen (Gazziero et al., 1998; Cerqueira et al., 2002).

Vidal & Merotto Jr. (1999), com os objetivos de avaliar a ocorrência de resistência aos herbicidas inibidores da ALS em vários biótipos de *Euphorbia heterophylla* e avaliar a ocorrência de resistência múltipla a herbicidas com atividade em outros locais de ação, instalaram vários experimentos nos quais foram observados que um biótipo de Passo Fundo apresentou resistência cruzada aos herbicidas do grupo B (inibidores da ALS) e foi suscetível aos do grupo G (inibidores de EPSPs - glyphosate), grupo O (mimetizadores de auxina - 2,4-D, dicamba), grupo D (inibidores dos fotossistemas I), grupo C (inibidores do fotossistema II - paraquat e atrazine) e grupo E (inibidores da Protox - fomesafen e lactofen).

Outra alternativa interessante para o manejo dessa planta daninha, é o cultivo da cultura da soja geneticamente modificada, tolerante ao herbicida glyphosate. Marochi & Zagonel (2002), avaliando o efeito do glyphosate aplicado em pós-emergência na cultura da soja Roundup Ready sobre *E. heterophylla* resistente aos herbicidas inibidores da ALS, observaram que o glyphosate ($480, 960$ e $1440 \text{ g.e.a. ha}^{-1}$) promoveu controle total.

Trezzi et al. (2004), testaram herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *E. heterophylla* com resistência múltipla a herbicidas inibidores da ALS e da PROTOX, no Estado do Paraná. Observaram que os herbicidas paraquat, trazina+simazina, glyphosate, 2,4-D, sulfentrazone e flumioxazin são altamente eficazes para o controle dos biótipos resistente e suscetível de *E. heterophylla*.

A rotação da cultura da soja com o milho é mais uma alternativa, tanto para retardar o surgimento de biótipos resistentes quanto como alternativa para o manejo de biótipos já existentes. Para o controle de *E. heterophylla* resistente aos herbicidas inibidores da ALS, a aplicação de atrazina (+ óleo) é o mais eficaz e recomendado para esta situação (Penckowski, 2002). Contiero et al. (2004) e Oliveira Jr. et al. (2004), indicaram que a mistura comercial de foramsulfuron + iodosulfuron, com a adição de atrazina + óleo mineral é uma

alternativa para o controle de *E. heterophylla* e *B. pilosa* resistente aos herbicidas inibidores da ALS.

Costantin et al. (2004) testaram a aplicação em pré-emergência de isoxaflutole para o controle de *B. pilosa* resistente aos herbicidas inibidores da ALS, com complementação com pós-emergentes, concluindo que somente isoxaflutole já é eficiente para o controle da resistência citada. Scarpari et al. (2006) testou os pós-emergentes da cultura do milho para o controle de *Bidens pilosa* resistente aos herbicidas inibidores da enzima ALS e, além de concordar com Penckowski (2002), indica o uso de mesotrione como alternativa para o *B. pilosa*. É importante salientar que em todos os trabalhos citados, os herbicidas inibidores da ALS testados foram ineficazes para o controle *E. heterophylla* e *B. pilosa* resistentes, em função da resistência cruzada destas plantas daninhas.

O biótipo resistente de *Sagittaria montevidensis* ao grupo B (herbicidas inibidores de ALS), planta daninha aquática na cultura do arroz irrigado, surgiu no litoral de Santa Catarina. Como alternativa de controle foi indicado o bentazon, com amplo sucesso (Kissmann, 2003b; Cerqueira et al., 2002). Em áreas onde a resistência foi detectada, Noldin & Eberhardt (2002) recomendam evitar a semeadura do arroz no cedo, que favorece a planta daninha e torna mais difícil o seu controle; efetuar o preparo final do solo imediatamente antes da semeadura do arroz; a densidade de semeadura do arroz deve ser aquela recomendada ou maior, para aumentar a capacidade de competição do arroz com a planta daninha; limpar os equipamentos de preparo do solo e da colheita ao sair de uma área infestada com sagitária resistente; não utilizar herbicidas em pré-semeadura do arroz; não utilizar os herbicidas para os quais a resistência foi confirmada; nenhum dos herbicidas atualmente indicados para aplicação em benzedura em arroz irrigado é eficiente no controle de sagitária resistente; o herbicida propanil apresenta controle entre 70 e 90% da planta daninha resistente; evitar que as plantas resistentes produzam sementes e; eliminar as plantas de sagitária após a colheita por meio de roçada, gradagem ou com herbicidas não-seletivos.

A planta daninha *Raphanus sativus* (nabiça) pertence à família *Brassicaceae*. No ano de 2001 foram observados biótipos desta planta daninha com resistência aos herbicidas do grupo B (inibidores da ALS) na cultura do trigo. A nabiça apresenta resistência principalmente aos herbicidas chlorimuron-ethyl, cloransulam-methyl, imazethapyr, metsulfuron-methyl e nicosulfuron (Heap, 2016), o que determina que esta daninha possui resistência cruzada aos diferentes grupos químicos dos inibidores da ALS. Theisen (2004) identificou um biótipo de *Raphanus sativus* em lavouras de trigo resistente a herbicidas do grupo B, comprovando a existência da resistência cruzada aos herbicidas deste grupo e determinando também que o glyphosate, o 2,4-D e o bentazon são alternativas para manejo dessa planta daninha na cultura do trigo.

Gazziero (2006) identificou biótipos de losna-branca (*Parthenium hysterophorus*) resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS. A resistência aos herbicidas pertencentes aos grupos químicos das imidazolinonas (imazethapyr), triazolopirimidinas (cloransulam-methyl) e sulfonilureias (chlorimuron-ethyl e iodosulfuron-methyl-sodium mais foramsulfuron) comprova o fato dessa resistência ser cruzada aos herbicidas desses grupos químicos. Em relação ao herbicida 2,4-D, que apresenta mecanismo de ação diferente da inibição da enzima ALS, ocorreu alto índice de controle de ambos os biótipos de losna-branca avaliados, confirmando que a alteração do mecanismo de ação do herbicida é uma importante alternativa para manejar áreas com problemas de resistência.

O *Lolium multiflorum*, conhecido como azevém, é uma poacea anual, herbácea de clima temperado. O azevém é utilizado na alimentação animal como forrageira e também pode ser usado como cobertura vegetal. É considerado uma das mais problemáticas plantas daninhas em cereais de inverno em todo o mundo. No Brasil, consiste em problema principalmente nas lavouras de trigo, nas quais é cultivada em expressiva área de dois milhões de hectares (Conab, 2013).

Atualmente, as duas principais moléculas disponíveis no mercado para o controle seletivo de azevém em trigo continuam pertencendo a esses mecanismos, que são o

iodosulfurom-metílico e o clodinafope-propargil, inibidores de ALS e ACCase, respectivamente. No entanto, para ambas já existe relato de casos de resistência (Heap, 2016), representando ameaça para o futuro desses sistemas de produção. Os inibidores de ALS são os mais preferidos pelos produtores, porque são utilizados em baixa taxa de ingrediente ativo por área, possuem amplo espectro de controle de plantas daninhas, seletividade para muitas culturas, atividade residual no solo e baixa toxicidade para mamíferos. Schneider et al. (2015) citam os herbicidas paraquat e amônio glufosinato como alternativas para o controle da resistência de azevém.

A importância da Buva (*Conyza* ssp.) como infestante em áreas agrícolas cresceu significativamente nos últimos anos, atribuindo a essa planta daninha o posto de uma das mais importantes em áreas cultivadas no Brasil e no mundo. Este crescimento em importância decorre tanto do fato de que ela é uma espécie cujo controle é naturalmente difícil, quanto à seleção de biótipos resistentes a herbicidas e, em especial, ao glifosato (Constantin et al., 2013).

No Brasil, já foram identificadas e catalogadas algumas espécies do gênero *Conyza*, também conhecidas como buva ou voadeira. No entanto, as espécies que mais têm sido relacionadas à ocorrência de casos de resistência aos herbicidas são *C. bonariensis*, *C. canadenses* além de uma terceira espécie que também preocupa produtores e pesquisadores é *Conyza sumatrensis*, identificada no estado do Paraná por pesquisadores da Universidade Estadual de Maringá (Santos et al., 2012).

Os trabalhos nos quais foram identificadas as populações de *C. sumatrensis* no Brasil (HUEM, 2013) e os seus casos de resistência foram realizados nos anos de 2011 e 2012 pela Universidade Estadual de Maringá (Santos et al., 2012). Os pesquisadores comprovaram que biótipos de *C. sumatrensis* coletados no estado do Paraná possuem resistência singular e múltipla aos herbicidas glyphosate e chlorimuron, e ainda resistência múltipla ao glyphosate e chlorimuron-ethyl.

Santos et al. (2015) em trabalho para identificação de alternativas de controle para biótipos de *Conyza sumatrensis*

com múltipla resistência a ALS e EPSPs concluíram que os tratamentos com os herbicidas 2,4-D, amônio glufosinato além de paraquat+diuron, atrazina e tembotrione isolados ou em associação obtiveram controle satisfatório nos biótipos testados.

O mais recente caso de resistência aos herbicidas inibidores da ALS relatado no Brasil, por Gonçalves Netto et al. (2016), aponta biótipos de caruru palmeri (*Amaranthus palmeri*) como portadores de resistência cruzada aos diferentes grupos químicos dos herbicidas com mecanismos de ação pertencentes ao grupo B, além de resistência múltipla aos herbicidas inibidores da ALS e EPSPs. Neste trabalho, os biótipos de caruru palmeri mostram-se resistentes aos herbicidas imazethapyr, cloransulam-methyl, chlorimuron-ethyl.

6.5. Referências bibliográficas

- BAHAR, F. A.; AGA, F. A.; SINGH, P.; QUYOOM, S.; LONE, B. A.; ANSAR-UL-HAQ, S. Development of Herbicide Resistance, Mechanism and its Management. **Research Journal of Agricultural Sciences**, USAB-Tm: Timisoara, v. 4, n. 3, p. 321-328, 2013.
- BRAZ, G. B. P.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; DAN, H. A.; NETO, A. M. O.; SANTOS, G.; TAKANO, H. K. Herbicidas alternativos no controle de *Bidens pilosa* e *Euphorbia heterophylla* resistentes a inibidores de ALS na cultura do algodão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 10, n. 2, p. 74-85, 2011.
- BUZATTI, W.J.S.; JACQUEP, P. *Euphorbia heterophylla* resistente aos herbicidas inibidores da ALS no Paraguai, em plantio direto e alternativa de controle. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23., Londrina, 2002. **Resumos...** Londrina: SBCPD/Embrapa Clima Temperado, 2002. p.194.
- CERQUEIRA, M.S.; VAN SATEN, M.L.; BEGLIOMINI, E. Quadro atualizado da situação das WRs no sul do Brasil e alternativas BASF para seu manejo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23., Londrina, 2002. **Resumos...** Londrina: SBCPD/Embrapa Clima Temperado, 2002. p.205.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: SIMPÓSIO SOBRE HERBICIDAS E

- PLANTAS DANINHAS, 1., Dourados, 1997. **Palestras...** Dourados: EMBRAPA, 1997. p.75-94.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; KEHDI, C. A.; CORTEZ, M. G. Manejo da planta daninha *Brachiaria plantaginea* resistente aos herbicidas inibidores da ACCase. **Planta Daninha**: Viçosa, v. 19, n. 1, p. 61-66, 2001.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO **Dinâmica dos herbicidas aplicados na cultura da cana-de-açúcar**. São Paulo: BASF, 2005. 49p.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: SIMPÓSIO SOBRE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS, 1., Dourados, 1997. **Palestras...** Dourados: EMBRAPA, 1997. p.75-94.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. **Growth competitive ability, and fitness of sulfonyleurea resistant and susceptible**. Fort Collins, 1993. 198p. Dissertation (Ph.D), Colorado State University.
- CONAB. Companhia Brasileira de Abastecimento. 2013. Disponível em:
<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina_objcmsconteudos=3#A_objcmsconteudos> Acesso em: 23 jun. 2016.
- CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R.S.; OLIVEIRA NETO, A.M. **Buva: fundamentos e recomendações para manejo**. Curitiba: Omnipax Editora, 2013.
- CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JÚNIOR, R.S.; PAGLIARI, P.H.; CARREIRA, S.A.M.; ALONSO, D.G. Aplicação sequencial de isoxaflutole + [foramsulfuron + iodosulfuron methyl sodium] no controle de picão resistente a inibidores da ALS. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, São Pedro, v.10, Suplemento, p.261, 2004.
- CONTIERO, R.L.; CABEDA, R.; GIORDANI FILHO, J.L. Eficiência e seletividade do herbicida foramsulfuron + iodosulfuron methyl sodium em mistura com atrazina no controle de *Euphorbia heterophylla* resistente a herbicidas inibidores da ALS. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, São Pedro, v.10, Suplemento, p.263, 2004.
- DUGGLEBY, R.G.; PANG, S.S. Acetohydroxyacid Synthase. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v.33, n.1, p.1-36, 2000.
- FORNAROLLI, D.A.; MORAES, V.J.; CAETANO, E. Alternativas de controle para *Euphorbia heterophylla* resistente aos herbicidas inibidores da ALS, em diferentes densidades populacionais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS

- DANINHAS, 23., Londrina, 2002. **Resumos...** Londrina: SBCPD/Embrapa Clima Temperado, 2002. p.204.
- GAZZIERO, D.L.P.; BRIGUENTI, A.M.; VOLL, E. Resistência cruzada da losna-branca (*Parthenium hysterophorus*) aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase. **Planta Daninha**. v.24, n.1, p. 157-162, 2006.
- GAZZIERO, D.L.P.; BRIGUENTI, A.M.; MACIEL, C.D.G.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; ADEGAS, F.S.; VOLL, E. Resistência de amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da ALS. **Planta Daninha**. v.16, n.2, p. 117-125, 1998.
- GELMINI, G.A.; VICTÓRIA FILHO, R.; NOVO, M.C.S.S.; ADORYAN, M.L. Resistência de biótipos de *Euphorbia heterophylla* aos herbicidas inibidores da ALS utilizados na cultura da soja. **Bragantia**, v.60, n.2, p.93-99, 2001.
- GONÇALVES NETTO, A.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S. J. P.; BORGATO, E. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Multiple Resistance of *Amaranthus palmeri* to ALS and EPSPs Inhibiting Herbicides in the State of Mato Grosso, Brazil. **Planta Daninha**, 2016. (no prelo)
- HEAP, I. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <www.weedscience.com>. Acesso em: 17 jul. 2016.
- HUEM, HERBÁRIO VIRTUAL DA FLORA E DOS FUNGOS. Disponível em: <<http://inct.splink.org.br>> Acesso em: 17 jul. 2016.
- KISSMANN, K.G. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Disponível em: http://www.hrac-br.com.br/arquivos/texto_resistencia_herbicidas.doc. Acesso em: 17/07/2016a.
- KISSMANN, K.G. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas: visão da indústria**. Disponível em: http://www.hrac-br.com.br/arquivos/Resistencia_herbicidas-visao_da_industria.doc. Acesso em: 17/07/2016b.
- LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; ABREU, A.G.; GROMBONE-GUARATINI, M.T.; TOLEDO, R.E.B.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistance and differential susceptibility of *Bidens pilosa* and *B. subalternans* biotypes to ALS inhibiting herbicides. **Scientia Agricola**, v.63, n.2, p.139-145, 2006.
- LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; VARGAS, L. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. In: VARGAS, L.; ROMAN, E.S. (Ed.) **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 185-214.

- LÓPEZ OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M.; BARELA, J.F. Manejo de plantas daninhas na cultura do milho. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO-NETO, D. (Ed.). **Milho: estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 2003. p. 47-79.
- MALLORY SMITH, C.A.; THILL, D.C.; DIAL, M.J. Identification of sulfonyleurea herbicide resistant prickly lettuce (*Lactuca seriola*). **Weed Technology**, v.4, p.787-790, 1990.
- MONQUEIRO, P.A.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; DIAS, C.T.S. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja (*Glycine max*). **Planta Daninha**, v.18, n.3, p.419-425, 2000.
- MAROCHI, A.I.; ZAGONEL, J. Alternativa de controle de biótipos de *Euphorbia heterophylla* resistente aos herbicidas inibidores da ALS, com o sistema Roundup Ready. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23., Londrina, 2002. **Resumos...** Londrina: SBCPD/Embrapa Clima Temperado, 2002. p.202.
- NICOLAI, M. **Desempenho da cultura de milho (*Zea mays*) submetida a aplicação de herbicidas pós-emergentes, em diferentes situações de manejo**. Piracicaba, 2005. 96p. Dissertação (mestrado em agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo.
- NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; LÓPEZ OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Aplicação conjunta de herbicidas e inseticidas na cultura do milho. **Bragantia**, v. 65, n.3, p. 413-420, 2006a.
- NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; VARGAS, L. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS (Grupo B). In: CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ OVEJERO, R. F.; NICOLAI, M.; VARGAS, L.; CARVALHO, S. J. P. de; CATANEO, A. C.; CARVALHO, J. C.; MOREIRA, M. S. **Aspectos de Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas**. 3.ed. Piracicaba: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR), 2008. cap. 2, p. 35-49.
- NICOLAI, M.; SCARPARI, L.G.; MOREIRA, M.S.; CARVALHO, S.J.P.; GROMBONE- GUARATINI, M.T., TOLEDO R.E.B.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Alternativas de manejo para as populações de *Bidens pilosa* e *Bidens subalternans* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., Brasília, 2006b. **Resumos Expandidos...** Brasília: SBCPD, 2006. 4p. (CD-ROM).

- NOLDIN, J.A.; EBERHARDT, D.S. **Manejo da sagitária resistente aos herbicidas inibidores da ALS em arroz irrigado**. Florianópolis: Epagri/GMC, 2002.
- OLIVEIRA JR., R.S. Seletividade de herbicidas para culturas e plantas daninhas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J. (Ed.). **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba Agropecuária, 2001. p.291-314.
- OLIVEIRA JR, R.S.; CONSTANTIN, J.; PAGLIARI, P.H.; CARREIRA, S.A.M.; FRAMESQUI, V.P. Alternativas de manejo químico em milho safrinha para plantas daninhas resistentes a inibidores da ALS. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, São Pedro, v.10, Suplemento, p.261, 2004.
- OLIVEIRA Jr., R. S. de. Mecanismo de ação dos herbicidas. In: OLIVEIRA Jr., R. S. de; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. Cap. 7, p. 141-192.
- PENCKOWSKI, L.H. Resistência de plantas daninhas. Qual será a próxima? **Informativo Fundação ABC**, Castro, n.19, p.13-15, 2002.
- PENCKOWSKI, L.H.; PODOLAN, M.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Alternativas de controle em pós-emergência para picão-preto resistente aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, São Pedro, v.10, Suplemento, p.260, 2004a.
- PENCKOWSKI, L.H.; PODOLAN, M.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Alternativas de controle de picão-preto resistente aos herbicidas inibidores da ALS com herbicidas pré e pós emergentes. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, São Pedro, v.10, Suplemento, p.260-261, 2004b.
- PRIMINIANI, M.M.; COTTERMAN, J.C.; SAARI, L.L. Resistance of sulfonylurea and imidazolinone herbicide. **Weed Technology**, v.4, p.169-172, 1990.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6.ed. Londrina, 2011. 667p.
- ROMAN, E.S. Eficácia de misturas de herbicidas no controle de um biótipo de *Euphorbia heterophylla* tolerante aos herbicidas inibidores da ALS, na cultura da soja. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.2, n.1, 2001.
- SANTOS, G. *et al.* Resistência múltipla ao glyphosate e ao chlorimuron-ethyl em biótipos de *Conyza sumatrensis*. **Dissertação**. Disponível em: <http://www.pga.uem.br/teses_p.php> Acesso em: 17 jul. 2016

- SANTOS, G. *et al.* Buva com resistência múltipla a herbicidas é identificada como *Conyza sumatrensis*. **Informe técnico PGA-UEM**, v. 1, n. 1, p.1-3, 2012.
- SANTOS, F. M.; VARGAS, L.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; MARTIN, T. N.; MARIANI, F.; SILVA, D. R. O. Herbicidas alternativos para o controle de *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. H. Walker resistentes aos inibidores da ALS e EPSPs. **Revista Ceres**, v.62, n.6, p. 531-538, 2015.
- SATHASIVAN, K.; HAUGHN, G.W.; MURAI, N. Nucleotide sequence of a mutante acetolactate synthase gene from an imidazolinone-resistant *Arabidopsis thaliana* var. Columbia. **Nucleic Acids Res**, v.18, p.2188, 1990.
- SCARPARI, L.G.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Manejo de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) resistente aos herbicidas inibidores da ALS, com herbicidas pós-emergentes na cultura de milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., Brasília, 2006. **Resumos Expandidos...** Brasília: SBCPD, 2006. 4p. (CD-ROM).
- SHANER, D. L. Mechanisms of resistance to acetolactate synthase/acetohydroxyacid synthase inhibitors. In: CASELEY, J.C.; CUSSANS, G.W.; ATKIN, R.K. (Ed.) **Herbicide resistance in weeds and crops**. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 27-43.
- SCHNEIDER, T.; VARGAS, L.; AGOSTINETTO, D. Alternative control of ryegrass biotypes resistant to clethodim. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.14, n.3, p.243-247, 2015.
- THEISEN, G. Identificação de nabo (*Raphanus sativus*) resistente aos herbicidas inibidores da ALS. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, São Pedro, v.10, Suplemento, p.262, 2004.
- TRANEL, P.J.; WRIGHT, T.R. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: What have we learned? **Weed Science**, v.50, p.700-712, 2002.
- TREZZI, M.M.; FELIPPI, C.L.; MATTEI, D.; SILVA, H.L.; CARNIELETO, C.E.; FERREIRA A.J. Alternativas de controle químico para manejar biótipos de *Euphorbia heterophylla* com resistência simultânea a herbicidas inibidores da ALS e da PROTOX. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, São Pedro, v.10, Suplemento, p.265, 2004.
- TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Herbicidas inibidores da ALS. In: VIDAL, R. A.; MEROTTO JR, A. (Ed.). **Herbicidologia**. Porto Alegre: 2001. p. 25-36.

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

VIDAL, R.A.; MEROTTO JR, A. Resistência de amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da ALS. **Planta daninha**, v.17, n.3, p.367-373, 1999.

CAPÍTULO 7

MECANISMO DE AÇÃO E RESISTÊNCIA DOS HERBICIDAS INIBIDORES DO FOTOSISTEMA II (FSII) (Grupo C)

Alexandre Gemelli
Hudson Kagueyama Takano
Rafael Romero Mendes
Eliezer Antonio Gheno
Ricardo Travasso Raimondi
Denis Fernando Biffe
Jamil Constantin
Rubem Silvério de Oliveira Jr.

7.1. Introdução

Os herbicidas, cujo mecanismo de ação é a inibição do fotossistema II (FSII) constituem, até os dias atuais, um grupo de herbicidas de grande uso na agricultura, principalmente por apresentarem seletividade a uma ampla gama de culturas, e efeito residual no solo para controle de plantas daninhas. No Brasil, esses herbicidas são registrados para diversas culturas agrícolas, incluindo cereais, oleaginosas e culturas perenes (Oliveira Jr. et al., 2011).

O mecanismo de ação desses herbicidas envolve basicamente a competição com a plastoquinona (PQ), pelo sítio de ligação do complexo de proteína D1 dentro do fotossistema II. Isso inibe o transporte de elétrons, impedindo a formação de NADPH e ATP, e consequentemente o ciclo de redução de carbono. Por fim, ocorre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), em decorrência do excesso de energia no FSII (Powles & Yu, 2010).

Desde o início da sua utilização (década de 50), 105 casos de plantas daninhas resistentes aos inibidores do FSII foram reportados até hoje, sendo 73, 28 e 4 casos de resistência para os grupos C1, C2 e C3, respectivamente. No Brasil, existem quatro relatos de resistência a esses herbicidas, sendo todos de resistência múltipla junto com os inibidores da ALS (Heap, 2016).

Senecio vulgaris foi a primeira planta daninha descrita como resistente aos herbicidas inibidores do FSII, identificada em viveiros de produção de mudas de pinus nos Estados Unidos da América do Norte, com resistência a atrazine e simazine, ambos pertencentes ao grupo C1 (Ryan, 1970). No Brasil, o primeiro caso de resistência a este mecanismo de ação foi identificado em uma população de *Bidens subalternans* resistente à atrazine, em lavouras de soja e milho no estado do Paraná (Gazziero et al., 2008). Além do picão-preto, as espécies resistentes aos herbicidas inibidores do FSII no Brasil são: *Sagittaria montevidensis*, *Amaranthus retroflexus* e *A. viridis* (Heap, 2016).

Os mecanismos que conferem a resistência nos biótipos relatados, no Brasil, ainda não foram elucidados. No entanto, mundialmente, em um grande número de casos, o mecanismo de resistência está relacionado com mutações no gene *psbA*, com consequente alterações da sequência de aminoácidos da proteína D1, e do sítio de ligação dos herbicidas inibidores FSII (Masabni & Zandstra, 1999; Mechant et al., 2008; Perez-Jones et al., 2009; Elahifard et al., 2013; Li et al., 2014; Thiel & Varrelmann, 2014; Dumont et al., 2016). A resistência causada por este mecanismo é comumente chamada na língua inglesa de '*target site resistance*'.

A resistência via *target site mutation* é herdada maternalmente, pois o gene *psbA*, o qual codifica a proteína D1 do FSII, está localizado no cloroplasto. Isto significa que os genes de resistência se disseminam somente maternalmente pela semente, e não via pólen (Aper et al., 2010). A mutação mais comum é a substituição do aminoácido serina, na posição 264, por uma glicina (Ser-264-Gly), conferindo resistência cruzada às triazinas.

Por ser o mecanismo mais comum em diversos biótipos e espécies, em diferentes países, acredita-se que a resistência a este grupo de herbicidas tenha sido selecionada de forma independente, ao redor do mundo (Hirschberg & McIntosh, 1983; Goloubinoff et al., 1984). Praticamente todas as espécies e biótipos resistentes às triazinas, relatados no mundo, cujo mecanismo foi elucidado, apresentam como causa da resistência a substituição Ser-264-Gly do gene *psbA* (Powles & Yu, 2010).

No caso específico das triazinas, a substituição Ser-264-Gly é uma das poucas mutações que inibe a ligação da triazina à proteína D1, mas não impede que a plastoquinona se ligue à proteína D1 na ausência do herbicida. Com esta mutação, uma ponte de hidrogênio é removida, a qual é fundamental para a ligação do herbicida (Lancaster & Michel, 1999; Oettmeier, 1999; Wilski et al., 2006). Esta mutação, no entanto, mesmo proporcionando elevado fator de resistência, reduz a capacidade da planta em realizar fotossíntese, gerando custo metabólico para as plantas que carregam essa característica (Gronwald et al., 1989).

Para outros herbicidas inibidores do FSII, além das triazinas, a mutação Ser-264-Gly não confere resistência, sendo reportadas diversas outras mutações para os diferentes grupos: Ser-264-Tre em *Portulaca oleracea* L. resistente a triazinas e ureias (Masabni & Zandstra, 1999); Val-219-Iso em *Poa annua* L. resistente a triazinonas e ureias (Mengistu et al., 2000); Asp-266-Tre em *Senecio vulgaris* L. resistente a nitrilas (Park & Mallory-Smith, 2006); Fen-255-Iso em *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. resistente a triazinonas (Perez-Jones et al., 2009); Leu-218-Val em *Chenopodium album* L. resistente a triazinonas (Thiel & Varrelmann, 2014). O Quadro 1 resume os casos de mutações relatados mais recentemente.

Em condições controladas, além das substituições já encontradas em várias espécies vegetais (Quadro 1), foram relatadas em uma espécie de algas verdes (*Chlamydomonas reinhardtii*) outras substituições de aminoácidos para as mesmas posições, tal como Ser₂₆₄Lys. Os indivíduos com esta substituição exibiram extrema resistência a triazinas e triazinonas, mas baixa ou nenhuma para os herbicidas do grupo químico das uréias (Wilski et al., 2006).

Os mecanismos de resistência que não são relacionados ao sítio de ação do herbicida, ou seja, mecanismos de resistência *non-target site*, envolvem a metabolização do herbicida por meio da conjugação com glutatona (GSH), onde os conjugados se tornam inativos, mais hidrofílicos, menos móveis na planta e mais suscetíveis a processos secundários de conjugação como destoxificação e/ou compartimentalização (Martinoia et al., 1993; Powles & Yu, 2010).

Quadro 1. Casos mais recentes de espécies de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores do fotossistema II com respectivas mutações no gene *psbA*.

Mutação	Espécie	Herbicida	Autor
Leu ₂₁₈ Val	<i>Chenopodium album</i>	C1 (metamitron, metribuzin)	Thiel e Varrelmann (2014)
Val ₂₁₉ Ile	<i>Poa annua</i>	C1, C2 (metribuzin, diuron)	Mengistu et al. (2000)
	<i>Kochia scoparia</i>	C2 (Diuron)	Mengistu et al. (2005)
	<i>Amaranthus powellii</i>	C2 (Linuron)	Dumont et al. (2016)
Ala ₂₅₁ Val	<i>Chenopodium album</i>	C1 (metamitron)	Mechant et al. (2008)
Phe ₂₅₅ Ile	<i>Capsela bursa-pastoris</i>	C1 (hexazinona)	Perez-Jones et al. (2009)
Phe ₂₅₅ Val	<i>Rumex acetosella</i> L.	C1 (hexazinona)	Li et al. (2014)
Ser ₂₆₄ Gly	<i>Chenopodium album</i>	C1 (metamitron, atrazine)	Mechant et al. (2008)
	<i>Echinochloa colona</i>	C1 (metribuzin, ametryn)	Elahifard et al. (2013)
	<i>Poa annua</i>	C1 (amicarbazone)	Perry et al. (2012)
Ser ₂₆₄ Thr	<i>Portulaca oleraca</i>	C1, C2 (atrazine, linuron)	Masabni; Zandstra (1999)
Asn ₂₆₆ Thr	<i>Senecio vulgaris</i>	C3 (bromoxynil)	Park e Mallory-Smith (2006)

Gronwald et al. (1989) encontraram duas vezes mais glutatona conjugada com atrazine (GS-atrazine) nas folhas de biótipos de *Albutilon theophrasiti*, os quais apresentaram dez vezes mais resistência a atrazine em relação a biótipos suscetíveis. A catálise desse tipo de conjugação está relacionada com a maior expressão da enzima glutatona-S-transferase (GST). Para *A. theophrastis* resistentes, existe 4,4 vezes mais atividade da GST nas folhas em relação a indivíduos suscetíveis (Anderson & Gronwald, 1991).

Plantas de *Sonchus oleraceus* coletadas de áreas de produção de milho no norte da Espanha foram descritas como resistentes e também apresentaram maior atividade da GST. Dentre vários biótipos, aqueles que não apresentavam mutação como mecanismo de resistência, foram observados com 4,5 vezes mais atividade da GST (Fraga & Tasende, 2003). Esse mesmo mecanismo de conjugação também foi observado em plantas de *Lupinus angustifolius* resistentes ao metribuzin (Pan et al., 2012) e em *Amaranthus tuberculatus* (Ma et al., 2013).

A detoxificação do herbicida pode ocorrer, pela formação de metabólitos que alteraram a conformidade da molécula herbicida, tornando-o não tóxico, como por exemplo, com transformações de N-desmetilação da molécula de chlorotoluron em *Lolium rigidum* resistente (Burnet et al., 1993).

Outra família de enzimas importante na metabolização de moléculas é a do citocromo P450 mono-oxigenases, as quais são capazes de transformar uma gama de produtos químicos em moléculas mais polares ou solúveis, reduzindo ou suprimindo a toxicidade (Letouzé & Gasquez, 2003). A maior atividade dessa enzima foi constatada em plantas de *Lupinus angustifolius* com resistência ao metribuzin (Pan et al., 2012) *Alopecurus myosuroides* resistente às ureias (Letouzé e Gasquez, 2003) e *A. tuberculatus* com resistência ao metribuzin (Ma et al., 2013).

A limitação da translocação de herbicidas também é um dos mecanismos de resistência *non target site* dos inibidores do FSII. Em estudos com *A. theophrasiti*, (Gray et al., 1996) afirmam que a redução na translocação também contribui para a menor sensibilidade destas plantas a atrazine. Em

certos casos, a translocação da atrazine pode ficar restrita ao caule e as raízes, alcançando a folha apenas em baixas concentrações (Gronwald et al., 1989). Em biótipos de *T. arvensis* resistentes a diuron, a concentração do herbicida foi maior no caule e pecíolos em relação às folhas, no biótipo resistente, evidenciando a menor capacidade de translocação deste herbicida no biótipo resistente (De Prado et al., 1990).

7.2. Adaptabilidade ecológica das plantas daninhas resistentes aos inibidores do FSII

Estudos da adaptabilidade ecológica dos biótipos resistentes em relação aos susceptíveis, ou *fitness cost* da resistência aos herbicidas inibidores do FSII, são amplamente relatados na literatura científica. Contudo, a maioria deles são baseados em biótipos resistentes através de mecanismos *target site*, apesar de haverem muitos casos de resistência via mecanismos *non target site* (Vila-Aiub et al., 2009). Isto se deve, principalmente, ao fato de que os padrões de herança da resistência via *target site* usualmente são mais simples. Normalmente é um único gene que determina a resistência, apresentando dominância completa ou parcial. Enquanto que os mecanismos *non target site* são mais complexos, possivelmente derivados de mecanismos coordenados por vários genes (Huffman et al., 2015). Além disso, indivíduos com resistência múltipla tendem apresentar baixo ou nenhum *fitness cost* (Vogwill et al., 2012).

A substituição dos aminoácidos Ser-264-Gly do gene *psbA* de plantas de canola é a responsável pela resistência desta espécie à triazinas. Esta modificação faz com que o FSII das plantas resistentes seja totalmente inibido sob condições de excesso de luz enquanto que o FSII do biótipo selvagem é apenas parcialmente inibido, sob as mesmas condições ambientais (Van Rensen & Vredenberg, 2011). Isto demonstra que a resistência através desta mutação gera um custo metabólico, traduzido pela menor adaptabilidade às variações de luz do ambiente.

O custo da resistência ou *fitness cost* para a resistência às triazinas proporcionada pela substituição Ser-264-Gly descrita por diversos trabalhos, extensamente revisados por Vila-Aiub et al. (2009). Estes autores concluem que o *fitness*

cost para este caso é mais uma exceção do que uma regra, dado às inúmeras considerações a serem feitas em relação às condições ambientais e respostas à estresses abióticos, para se quantificar o *fitness cost* de um determinado caso de resistência. Uma das premissas para a quantificação do *fitness cost* é a necessidade de que tanto o biótipo resistente, quanto o suscetível sejam provenientes da mesma população, o que pode ser difícil de se conseguir devido ao longo tempo entre a seleção do primeiro indivíduo resistente e a constatação científica da resistência.

É compreensível que as reações luminosas da fotossíntese, as quais foram naturalmente selecionadas e otimizadas durante a evolução, sejam muito eficientes e que a mutação que gera a resistência às triazinas reduza a atividade fotossintética das plantas (Vila-Aiub et al., 2009). Entretanto, não se pode deixar de lado a possibilidade de que o custo da resistência possa ser totalmente ou parcialmente suprimido por uma seleção concomitante de mecanismos que melhorem o crescimento e o desenvolvimento do biótipo resistente, estando ou não estritamente relacionados ao gene da enzima alvo.

Neste sentido, (Darmency et al. (2015) identificaram biótipos de *Alopecurus myosuroides* resistentes à herbicidas inibidores da ACCase, cuja mutação asp-2078-gly reduz a afinidade da enzima pelo substrato em 50%. Porém, esta mutação causa um *fitness cost* baixo. Estes autores encontraram duas possíveis causas. Eles evidenciaram que os indivíduos suscetíveis da população que deu origem ao biótipo mutante (2078-gly) apresentavam *fitness* melhor do que os indivíduos de outras populações, sejam eles suscetíveis ou resistentes através de outras mutações.

A segunda explicação é que o número de gerações ocorridas desde o aparecimento do primeiro indivíduo resistente até a constatação científica da resistência tenha sido suficiente para a seleção outras características favoráveis ao desenvolvimento, as quais compensariam, pelo menos parcialmente, o *fitness cost*.

7.3. Perspectivas de usos de culturas transgênicas resistentes aos inibidores do FSII no Brasil e implicações na resistência

Até o momento não há perspectiva de lançamentos de culturas com eventos de transgenia ligados aos herbicidas inibidores do FSII. O provável *fitness cost* gerado pela resistência poderia, em tese, representar cultivares menos produtivas ou menos competitivas. Isso por si só poderia desencorajar o desenvolvimento de cultivares resistentes aos inibidores do FSII. No contexto prático, no manejo outonal de *Conyza* spp resistentes ao glyphosate e inibidores da ALS, após a colheita do milho safrinha, os inibidores do FSII poderiam ser utilizados com mais liberdade, caso houvessem cultivares de soja resistentes a este mecanismo de ação. Porém, o controle de soja resistente à FSII (soja voluntária) no milho safrinha seria seriamente comprometido, visto que atrazine é o principal herbicida utilizado para o controle da soja RR na cultura do milho safrinha. Além disso, já foram relatados casos de *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* resistentes à atrazine (Quadro 2).

7.4. Riscos potenciais no Brasil de seleção da resistência aos inibidores do FSII em milho e cana

Nas áreas agrícolas onde há o cultivo sucessivo de soja e milho safrinha, os herbicidas inibidores do FSII são utilizados comumente apenas uma vez ao ano, com a tradicional aplicação de atrazine no milho safrinha. Assim, o baixo número de aplicações anuais de herbicidas deste mecanismo de ação, aliado ao fato de a resistência a atrazine ser de herança materna e o provável *fitness cost*, podem ser o motivo pelo qual não foram relatados muitos casos de resistência a estes herbicidas no Brasil, ou o motivo pelo qual tais biótipos não apresentaram capacidade competitiva suficiente para que passassem a predominar nas áreas onde foram identificados.

Novos relatos de *Bidens subalternans* resistente à atrazine não foram descritos a partir de 2006, provavelmente, porque outros herbicidas como o tembotrione e o glyphosate (milho RR) passaram a fazer parte do manejo de plantas daninhas na cultura do milho. No entanto, estão em fase de

elaboração resultados que indicam que biótipos de *Bidens pilosa* com resistência múltipla a inibidores da FS II e a inibidores da ALS também já são encontrados em áreas de produção de grãos no Brasil

Já na cultura da cana, as prováveis explicações para os poucos casos de resistência encontrados podem ser o maior número de opções de mecanismos de ação para o controle das plantas daninhas, frequente uso de mistura de herbicidas com mecanismos de ação diferentes e diversas modalidades de aplicação. O preparo do solo na renovação do canavial e a colheita de cana crua também pode contribuir na redução da infestação de plantas daninhas de semente pequena, tal como as espécies do gênero *Amaranthus*. Por fim, o forte poder competitivo da cana-de-açúcar pode ter suprimido a disseminação de biótipos resistentes que apresentassem *fitness cost*.

Contudo, é importante considerar que em outros países já foram selecionados biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores do FSII, e, em muitos casos, tais espécies são também de ocorrência comum em áreas de cultivo de milho e cana-de-açúcar no Brasil (Quadro 2). Dentre estas se destacam a buva (*Conyza bonariensis* e *C. canadensis*), o leiteiro (*Euphorbia heterophylla*), o capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) e o capim-colchão (*Digitaria sanguinalis*).

Quadro 2. Espécies de plantas daninhas, de ocorrência frequente no Brasil, que já apresentam relatos de resistência aos inibidores do FSII no país e no mundo. Adaptado de (Heap, 2016).

Espécie	Grupo químico (ingrediente ativo)	Países com relatos de resistência
<i>Amaranthus hybridus</i>	C1/5 (atrazine)	França, Israel, Itália, África do Sul, Espanha; Suíça; EUA
<i>Amaranthus retroflexus</i>	C1/5 (atrazine, prometrina, metribuzin, simazine e terbacil) C2/7 (linuron)	Brasil, Bulgária, Canadá; China; República Tcheca; França; Alemanha; Grécia; Itália; Polónia; Servia; Espanha; Suíça; EUA Bulgária, Canadá
<i>Amaranthus viridis</i>	C1/5 (atrazine, prometrina)	Brasil
<i>Bidens subalternans</i>	C1/5 (atrazine)	Brasil
<i>Conyza bonariensis</i>	C1/5 (atrazine e simazine)	Espanha, Israel
<i>Conyza canadensis</i>	C1/5 (atrazine e simazine)	Bélgica, República Tcheca; França; Israel; Espanha; Suíça; Reino Unido; EUA
<i>Cyperus difformis</i>	C2/7 (propanil)	EUA
<i>Digitaria sanguinalis</i>	C1/5 (atrazine)	França; Polónia; República Tcheca
<i>Echinochloa colona</i>	C2/7 (propanil), C1/5 (atrazine)	Costa Rica; Colômbia; Guatemala; Panamá; Venezuela Austrália; Iran
<i>Echinochloa crus-galli</i>	C1/5 (atrazine)	EUA; Canadá; França; República Tcheca; Polónia
<i>Eleusine indica</i>	C2/7 (propanil) C1/5 (metribuzin)	Grécia; EUA; Sri Lanka; Itália; Filipinas EUA
<i>Euphorbia heterophylla</i>	C2/7 (linuron)	Equador
<i>Lolium rigidum</i>	C1/5 (atrazine e simazine)	Austrália
<i>Polygonum convolvulus</i>	C1/5 (atrazine)	Austrália; Alemanha
<i>Portulaca oleracea</i>	C1/5 e C2/7 (atrazine e linuron)	EUA
<i>Raphanus raphanistrum</i>	C1/5 (atrazine e simazine)	Austrália

7.5. Referências bibliográficas

- Anderson, M.P.; Gronwald, J.W. Atrazine Resistance in a Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) Biotype Due to Enhanced Glutathione S-Transferase Activity. **Plant Physiology**. v.96, n.1, p.104-109, 1991.
- APER, J. et al. The origin of herbicide-resistant *Chenopodium album*: analysis of genetic variation and population structure. **Weed Research**. v.50, n.3, p.235-244, 2010.
- Burnet, M.W.M. et al. A mechanism of chlorotoluron resistance in *Lolium rigidum*. **Planta**. v.190, n.2, p.182-189, 1993.
- Darmency, H. et al. Fitness cost due to herbicide resistance may trigger genetic background evolution. **Evolution**. v.69, n.1, p.271-278, 2015.
- De Prado, R. et al. Differential toxicity of simazine and diuron to *Torilis arvensis* and *Lolium rigidum*. **Weed Research**. v.30, n.3, p.213-221, 1990.
- DUMONT, M. et al. Identification of a psbA Mutation (Valine219 to Isoleucine) in Powell Amaranth (*Amaranthus powellii*) Conferring Resistance to Linuron. **Weed Science**. v.64, n.1, p.6-11, 2016.
- ELAHIFARD, E. et al. Characterization of triazine resistant biotypes of junglerice (*Echinochloa colona*) found in iran. **Australian Journal of Crop Science**. v.9, n.8, p.1302-1308, 2013.
- Fraga, M.I.; Tasende, M.G. Mechanisms of resistance to simazine in *Sonchus oleraceus*. **Weed Research**. v.43, n.5, p.333-340, 2003.
- GAZZIERO, D.L.P. et al. Identificação de biótipo de picão-preto (*Bidens subalternans*) resistente atrazine. Em: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 30, 2008, Rio Verde. **Resumos**. Londrina, 2008. p.316-317.
- GOLOUBINOFF, P. et al. Chloroplast-coded atrazine resistance in *Solanum nigrum*: psbA loci from susceptible and resistant biotypes are isogenic except for a single codon change. **Nucleic Acids Research**. v.12, n.24, p.9489-9496, 1984.
- Gray, J.A. et al. Increased Glutathione Conjugation of Atrazine Confers Resistance in a Wisconsin Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) Biotype. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. v.55, n.3, p.157-171, 1996.
- GRONWALD, J.W. et al. Atrazine resistance in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) due to enhanced atrazine detoxification. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. v.34, n.2, p.149-163, 1989.

- HEAP, I. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds.**
Disponível em: www.weedscience.com. Acesso em: 08 de Abril de 2016.
- HIRSCHBERG, J.; McINTOSH, L. Molecular basis of herbicide resistance in *Amaranthus hybridus*. **Science**. v.222, n.4630, p.1346-1349, 1983.
- Huffman, J. et al. Genetics and inheritance of nontarget-site resistances to atrazine and mesotrione in a waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) population from Illinois. **Weed Science**. v.63, n.4, p.799-809, 2015.
- LANCASTER, C.R.D.; MICHEL, H. Refined crystal structures of reaction centres from *Rhodospseudomonas viridis* in complexes with the herbicide atrazine and two chiral atrazine derivatives also lead to a new model of the bound carotenoid. **Journal of Molecular Biology**. v.286, n.3, p.883-898, 1999.
- Letouzé, A.; Gasquez, J. Enhanced activity of several herbicide-degrading enzymes: a suggested mechanism responsible for multiple resistance in blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). **Agronomie**. v.23, n.7, p.601-608, 2003.
- LI, Z. et al. Hexazinone Resistance in Red Sorrel (*Rumex acetosella*). **Weed Science**. v.62, n.3, p.532-537, 2014.
- Ma, R. et al. Distinct detoxification mechanisms confer resistance to mesotrione and atrazine in a population of waterhemp. **Plant Physiology**. v.163, n.1, p.363-377, 2013.
- MARTINOIA, E. et al. ATP-dependent glutathione S-conjugate 'export' pump in the vacuolar membrane of plants. **Nature**. v.364, n.6434, p.247-249, 1993.
- MASABNI, J.G.; ZANDSTRA, B.H. A serine-to-threonine mutation in linuron-resistant *Portulaca oleracea*. **Weed Science**. v.47, n.4, p.393-400, 1999.
- MECHANT, E. et al. Target Site Resistance to Metamitron in *Chenopodium album* C. **Jornal of Plant Diseases and Protection**. v.21, n. especial, p.37-40, 2008.
- MENGISTU, L.W. et al. psbA Mutation (valine 219 to isoleucine) in *Poa annua* resistant to metribuzin and diuron. **Pest Management Science**. v.56, n.3, p.209-217, 2000.
- MENGISTU, L.W. et al. A psbA mutation in *Kochia scoparia* (L) Schrad from railroad rights-of-way with resistance to diuron, tebuthiuron and metribuzin. **Pest Management Science**. v.61, n.11, p.1035-1042, 2005.

- OETTMEIER, W. Herbicide resistance and supersensitivity in photosystem II. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**. v.55, n.10, p.1255-1277, 1999.
- OLIVEIRA Jr., R.S. Mecanismos de ação de herbicidas. In: Oliveira Jr., R.S. et al. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax Editora, 2011, p.141-192.
- Pan, G. et al. Non-target site mechanism of metribuzin tolerance in induced tolerant mutants of narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.). **Crop and Pasture Science**. v.63, n.5, p.452-458, 2012.
- PARK, K.W.; MALLORY-SMITH, C.A. psbA mutation (Asn266 to Thr) in *Senecio vulgaris* L. confers resistance to several PS II-inhibiting herbicides. **Pest Management Science**. v.62, n.9, p.880-885, 2006.
- PEREZ-JONES, A. et al. Molecular analysis of hexazinone-resistant shepherd's-purse (*Capsella bursa-pastoris*) REVEALS A NOVEL psbA mutation. **Weed Science**. v.57, n.6, p.574-578, 2009.
- PERRY, D.H. et al. Triazine-Resistant Annual Bluegrass (*Poa annua*) Populations with Ser264 Mutation Are Resistant to Amicarbazone. *Weed Science*. v.60, n.3, p.355-359, 2012.
- POWLES, S.B.; YU, Q. Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. **Annual Review of Plant Biology**. v.61, n.1, p.317-347, 2010.
- RYAN, G.F. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. **Weed Science**. v.18, n.5, p.614-616, 1970.
- THIEL, H.; VARRELMANN, M. Identification of a new PSII target site psbA mutation leading to D1 amino acid Leu 218 Val exchange in the *Chenopodium album* D1 protein and comparison to cross-resistance profiles of known modifications at positions 251 and 264. **Pest Management Science**. v.70, n.2, p.278-285, 2014.
- Van Rensen, J.J.S.; Vredenberg, W.J. Adaptation of photosystem II to high and low light in wild-type and triazine-resistant Canola plants: analysis by a fluorescence induction algorithm. **Photosynthesis Research**. v.108, n.2-3, p.191-200, 2011.
- Vila-Aiub, M.M. et al. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. **New Phytologist**. v.184, n.4, p.751-767, 2009.
- Vogwill, T. et al. The experimental evolution of herbicide resistance in *Chlamydomonas reinhardtii* results in a positive correlation between fitness in the presence and absence of herbicides.

Journal of Evolutionary Biology. v.25, n.10, p.1955-1964, 2012.

WILSKI, S. et al. Herbicide binding in various mutants of the photosystem II D1 protein of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Pesticide Biochemistry and Physiology.** v.84, n.3, p.157-164, 2006.

CAPÍTULO 8

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS ATUANTES NO FOTOSSISTEMA I (FS I) (Grupo D)

José Claudionir Carvalho
Arthur Arrobas Martins Barroso
Pedro Luis da Costa Aguiar Alves
Rafael de Prado Amián

8.1. Herbicidas atuantes no FSI: Mecanismo de ação

Os herbicidas diquat e paraquat são os membros mais importantes desse grupo e são quimicamente designados de compostos bipyridílicos. A atividade herbicida do diquat foi descoberta na Inglaterra em 1955 e do paraquat alguns anos mais tarde. Ambos, atualmente, são usados em mais de 84 países como herbicidas, dessecantes de culturas e também em áreas não agrícolas (Syngenta, 2016a).

O diquat e o paraquat são cátions fortes, com rápida adsorção e absorção pela folhagem. Chuvas após 30 minutos da aplicação não afetam suas atividades. As plantas morrem em torno de dois a três dias e sua ação é mais rápida na luz do que no escuro. Praticamente não há translocação do herbicida na planta. Suas moléculas são fortemente adsorvidas por colóides inorgânicos do solo, especialmente argilas (Syngenta, 2016a).

O paraquat é um herbicida não seletivo, usado extensivamente na preparação de solo para produção de soja, milho e outras culturas anuais em programas de cultivo reduzido; nas entrelinhas de culturas perenes; em jato dirigido nas culturas do milho, algodão e cana-de-açúcar e, também, na dessecação da soja, feijão e batata. Controla plantas daninhas de folhas estreitas e largas. O diquat é mais utilizado na dessecação de culturas anuais, para uniformização de maturação e antecipação da colheita, além do controle eficaz de plantas daninhas de folhas largas e, em menor extensão, de folhas estreitas em pré- semeadura (Syngenta, 2016a).

A fotossíntese é uma reação de transformação energética que ocorre em plantas. Nela, a energia solar é transformada em energia química que será utilizada para

síntese de carboidratos, essenciais à manutenção do organismo. O fotossistema I (FSI), um complexo proteico envolvido no processo de fotossíntese, atua na transferência de elétrons que irá reduzir o NADP^+ à NADPH (Taiz & Zeiger, 2013). Hawkes, em 2014, relatou que paraquat é um herbicida de contato, de ação rápida, que na presença da luz atua no cloroplasto, capturando elétrons do FSI. O paraquat aceita um elétron para produzir um radical reduzido, que reage rapidamente com O_2 para gerar radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Essa produção rápida de íons superóxido supera os mecanismos de proteção endógenos.

O radical superóxido é transformado em oxigênio e peróxido de hidrogênio pela ação da superóxido dismutase (SOD) cloroplástica (Figura 1). O peróxido reage com íons superóxido pela intermediação de ferro livre, originando radicais hidroxila. Esses radicais são altamente reativos e combinam-se com macromoléculas, tais como lipídeos de membranas, DNA, proteínas e carboidratos. A reação dos radicais hidroxilas com lipídeos insaturados produz uma reação em cadeia que, uma vez iniciada, propaga-se através da peroxidação lipídica. O dano da membrana plasmática, na sequência, libera clorofila livre, que é um poderoso fotossensibilizador e gerador de oxigênio singleto reativo ($^1\text{O}_2$) na presença de luz. Estas espécies de oxigênio reativo rapidamente causam a ruptura das membranas celulares que causam extravasamento de água a partir das células das plantas e resultam em rápida dessecação foliar. Os sintomas iniciais visíveis característicos da ação do herbicida são murchamento e cloroses internervais, que começam em poucas horas sob condições de elevada temperatura e iluminação. Esses sintomas evoluem para tecidos dessecados, cloróticos e necrosados, culminando com a morte da planta.

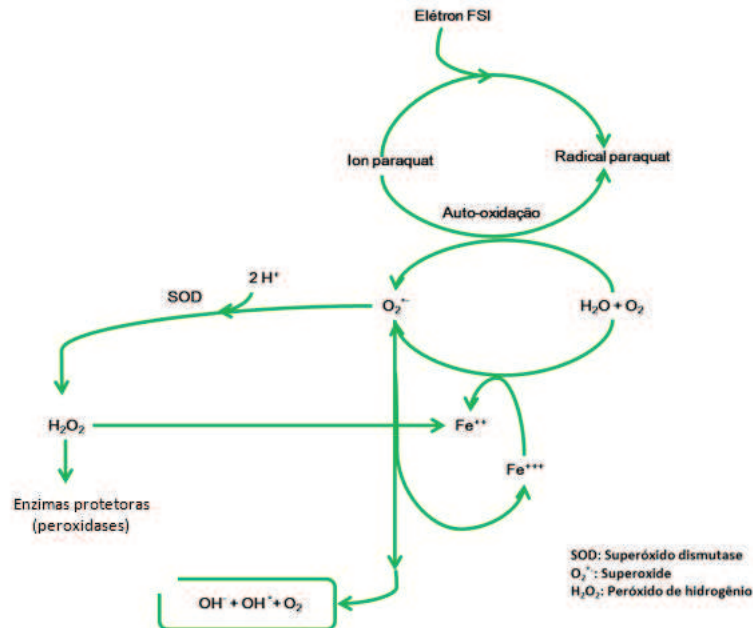


Figura 1. Mecanismo de ação do paraquat (Adaptado de Hess & Weller, 2000).

8.2. Herbicidas atuantes no FSI: Mecanismo de resistência

A primeira planta daninha relatada como resistente ao paraquat e diquat foi cabelo-de-cão (*Poa annua*). Neste caso, o biótipo resistente foi selecionado ao paraquat por ser esse o único método de controle de plantas daninhas em um jardim próximo a Reading, Inglaterra. Plantas de *Poa annua* suscetíveis foram mortas com 0,1 a 0,2 kg ha⁻¹ de paraquat; entretanto, a planta resistente requereu mais do que 0,8 kg ha⁻¹ para apresentar o mesmo efeito (Hess & Weller, 2000). Essa resistência também foi relatada em populações de *Conyza bonariensis* crescendo em plantações de citros e vinícolas no Egito. Neste caso, o paraquat foi aplicado oito vezes por ano por mais de nove anos seguidos (Hess & Weller, 2000). Atualmente, no mundo, 31 espécies de plantas daninhas são relatadas como resistentes ao paraquat em 17 países (Heap, 2016).

A maioria dos estudos de resistência de plantas daninhas a paraquat não é recente. Muitos destes biótipos têm sido estudados para determinar o seu mecanismo de resistência. As plantas resistentes mais estudadas são, provavelmente, buva (*Conyza bonariensis*) e falsa-cevada (*Hordeum glaucum*). Cinco possíveis mecanismos de resistência têm sido propostos: 1. Penetração cuticular restrita, 2. Inativação de paraquat através de processos metabólicos, 3. Sítio de ação alterado, 4. Destoxificação enzimática de espécies reativas de oxigênio gerados pelo paraquat (ex. superóxido e peróxido de hidrogênio), e 5. Sequestro de paraquat na parede celular, citoplasma ou vacúolo (dificuldade de translocação para o sítio de ação no cloroplasto) (Fuerst & Vaughn, 1990).

O nível de resistência para *Conyza* tem alcançado até 650 vezes (Turcsányi et al., 1998). Biótipo de maria-pretinha (*Solanum nigrum*) tem sido relatado como moderadamente resistente (Chase et al. 1998a, b), no qual o mecanismo parece ser devido ao fluxo de elétron reduzido no FSI e, conseqüentemente, na redução da quantidade de superóxido produzido (Chase et al., 1998c). Como seria esperado, a acumulação de matéria seca no biótipo resistente foi menor do que no biótipo suscetível.

Alguns estudos indicam que a translocação do local de aplicação para as demais células é a responsável pela resistência ao paraquat em plantas. A diferença de translocação entre biótipos sugere a existência de um mecanismo de sequestro do herbicida. Norman et al. (1993) concluíram que a sensibilidade ao herbicida foi alterada em até 100 vezes entre biótipos, variando com o estágio da planta no momento da aplicação. Diferenças de translocação foram confirmadas em várias espécies nas quais o nível de translocação em folhas novas chegou a ser 60% inferior nos biótipos resistentes (Preston et al., 1992; Yu et al., 2007). Existem evidências de que o paraquat fica retido nos vacúolos das células, impedido de atingir seu sítio de ação (Jóri et al., 2007; Lasat et al., 1997; Hawkes, 2014). Esta retenção do herbicida em vacúolos dá-se pela alteração de transportadores de proteínas e agentes xenobióticos que

liberam mais lentamente o herbicida em plantas resistentes (Jo et al., 2004).

Uma interessante característica do mecanismo de resistência em *H. glaucum* foi sua marcada dependência à temperatura. Quando a temperatura decresceu, plantas suscetíveis (S) tornaram-se mais sensíveis ao paraquat, enquanto plantas resistentes (R) tornaram-se mais resistentes. Desse modo, a diferença na resposta de paraquat entre plantas S e R variou de um fator de 3 a 30°C para maior que 40 a 15°C (Lasat et al., 1996).

Outros mecanismos que elevam a tolerância ao paraquat foram encontrados em plantas, mas dificilmente explicam a totalidade da sua resistência. Estes estão associados a tolerância de plantas aos distintos estresses pela maior expressão de enzimas responsáveis pela desativação das espécies reativas de oxigênio (ROS), como, por exemplo, a SOD (Sziget & Lehoczki, 2003). Estudando estas alterações em modelos de plantas transgênicas, as diferenças de suscetibilidade ao herbicida em biótipos resistentes e suscetíveis encontradas foram sempre baixas (fator de resistência 4) e dificilmente explicaria a resistência encontrada a campo, que vai de 30 a 650 vezes quando compara-se o biótipo resistente com o suscetível (Hawkes, 2014; Turcsányi et al., 1998; Ye & Gressel, 1994).

Resistência múltipla de paraquat com glyphosate, amonio glufosinato ou inibidores da acetil-CoA carboxilase (ACCase) em populações de capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*) tem sido registrada (Jalaludim et al., 2015).

O primeiro relato de resistência de plantas daninhas a diquat foi com *Arctotheca calendula* na Austrália em 1986. Existem vários registros de biótipos com resistência cruzada a paraquat e diquat (Heap, 2016).

8.3. O manejo de resistência de plantas daninhas com paraquat

O azevém anual (*Lolium multiflorum*) é notório por apresentar biótipos resistentes à herbicidas. Por produzir um número muito grande de sementes geneticamente diversas a cada temporada, o processo de selecionar a resistência em

plantas individuais é relativamente rápido e com grande pressão de seleção. A dependência de um único mecanismo de ação de herbicida para controle do azevém anual já causou problemas na Austrália no passado. Por exemplo, o herbicida graminicida diclofop-methyl selecionou populações de azevém anual resistente em cereais e canola menos de quatro anos após a sua introdução, no final da década de 1970. A resistência às sulfoniluréias, tais como chlorimuron e metsulfuron-methyl, desenvolveu-se com rapidez ainda maior (Figura 2). A resistência do azevém anual ao glifosato foi registrada após 20 anos de seu uso, mas populações resistentes ao paraquat demoraram quase 50 anos para serem registradas (Yu et al., 2004). Por que não existem mais casos de resistência ao paraquat? Não se sabe, mas acredita-se que os genes de resistência são muito raros e/ou as plantas individuais que os possuem não tem boa adaptabilidade ao ambiente (Yu et al., 2004).

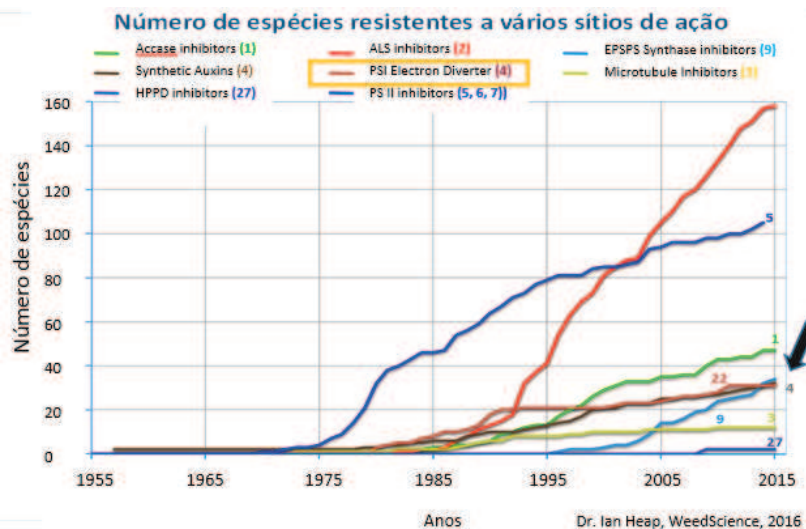


Figura 2. Evolução da resistência de plantas daninhas aos diferentes mecanismos de ação de herbicidas de 1955 a 2015 (Heap, 2016).

O fato do paraquat não ser geralmente usado como único meio de controle de plantas daninhas certamente é um fator a considerar. Geralmente, outros herbicidas são misturados com paraquat e herbicidas seletivo à cultura são utilizados posteriormente. Este é o ponto crucial para evitar a resistência de plantas daninhas a herbicidas: integrar o uso de herbicidas com diferentes mecanismos de ação e práticas culturais. Com a falta de herbicidas com novos mecanismos de ação, é fundamental utilizar adequadamente os existentes para preservá-los. O mecanismo singular de ação do paraquat é de inestimável importância para evitar a resistência de plantas daninhas.

A introdução do paraquat no Brasil ocorreu na década de 1970 e o produto sempre teve grande importância no controle de plantas daninhas no País, devido ao amplo espectro de ação, a praticidade de uso e a economicidade, sendo aplicado em milhões de hectares (Osipe & Adegas, 2015).

Até o momento, não existe nenhum relato de espécie de planta daninha resistente ao paraquat ou diquat no Brasil (Heap, 2016). Também não se observa diminuição de suscetibilidade de alguma espécie ao paraquat e, portanto, não existe alvo que requeira aumento de dose para efetivo controle. A provável causa dessa realidade deve ser atribuída a reduzida pressão de seleção de biótipos resistentes. Não é comum fazer várias aplicações sequenciais de paraquat isolado em uma mesma área por vários anos seguidos. A mistura pronta de paraquat e diuron é muito usada em pré-plantio, assim como aplicação de paraquat após glifosato em pré-plantio e glifosato após paraquat, já dentro de culturas geneticamente modificadas.

O maior uso de paraquat isolado no Brasil é em dessecação de soja em pré-colheita, antes da semeadura do milho ou do trigo. Dessa maneira, na sequência, aplicam-se herbicidas com outros mecanismos de ação, como os inibidores de FSII ou da enzima hidroxifenil piruvato dioxigenase (HPPD), seletivos a cultura do milho, ou inibidores da ACCase, na pré-semeadura da cultura do trigo. Uma das principais recomendações de manejo de populações resistentes em áreas agrícolas é a integração ao sistema de

manejo de herbicidas com mecanismo de ação diferenciado daquele em que a população foi pressionada para resistência (Powles & Holtum, 1994).

Assim, o paraquat é, sem dúvida, uma ferramenta essencial para o controle de plantas daninhas resistentes a outros grupos químicos. Devido às suas características, de amplo espectro de controle, ação rápida e compatível para uso em misturas, se encaixa perfeitamente no manejo de plantas daninhas, dando sustentabilidade ao sistema agrícola e contribuindo para o prolongamento da eficiência de outros herbicidas.

Constantin & Oliveira Junior (2005) enfatizaram que aplicações sequenciais em que foram pulverizados anteriormente herbicidas sistêmicos, como glyphosate e 2,4-D, e após 15 a 20 dias (na véspera ou na data da semeadura), herbicidas de contato, como paraquat ou, paraquat + diuron, proporcionaram maior eficiência no controle das plantas daninhas e permitiram a semeadura no limpo.

Para manejo de leiteiro (*Euphorbia heterophylla*), Vidal & Merotto (1999) observaram que o biótipo resistente aos inibidores de Aceto Lactato Sintase (ALS) foi suscetível ao paraquat (400g i.a./ha). Sendo assim, esse herbicida pode ser utilizado para o manejo dessa planta daninha resistente.

O uso de herbicidas alternativos de ação total, durante o manejo invernal em sistemas de plantio direto, pode constituir uma forma recomendável de manejo em áreas onde as populações de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*) apresentam resistência aos herbicidas inibidores da ACCase (Christoffoleti et al., 2001). Neste caso, o paraquat se adequa a essa prática, auxiliando a evitar o aparecimento de resistência em capim-marmelada.

Atualmente, com o uso intensivo de glyphosate e a adoção maciça do plantio direto, uma alternativa é a aplicação de glyphosate seguida por paraquat. Aplica-se glyphosate aos 10 a 15 dias antes da semeadura da cultura para permitir que o produto se transloque até as raízes. Já próximo a semeadura, paraquat é aplicado para o controle de um novo fluxo de germinação ou controle de plantas remanescentes ainda verdes (Werth, 2010).

Pesquisas sobre eficiência no manejo de espécies resistentes ao glifosato têm apresentado o paraquat como um dos herbicidas com os melhores padrões de resultado de controle, seja para o azevém-anual (*L. multiflorum*) (Roman et al., 2004; Vargas et al., 2005), seja para plantas do gênero *Conyza* (Vargas et al. 2007; Adegas et al. 2009) ou para capim-amargoso (*Digitaria insularis*) (Adegas et al, 2010a; Adegas et al., 2010b). Esses resultados comprovam a importância da utilização do paraquat como um complemento ao glyphosate, ou alternativa ao mesmo, na operação de manejo em pré-semeadura, o que torna este herbicida importante para a manutenção do sistema de plantio direto no Brasil (Osipe & Adegas, 2015).

Com a evolução das áreas plantadas de culturas resistentes ao glyphosate no Brasil, a presença de plantas voluntárias destas culturas no plantio em sucessão, torna-se cada vez maior, principalmente quando a cultura seguinte também é resistente a glyphosate, ou até mesmo em dessecação pré-colheita de culturas resistentes ao glyphosate. Nesses casos, o paraquat constitui-se como alternativa eficiente para controle dessa resteva (Christoffoleti, 2015).

O diquat é um dos herbicidas mais utilizados na dessecação de culturas, como as de soja, batata e feijão. Também pode ser utilizado em pré-plantio de culturas anuais ou nas entrelinhas de culturas perenes. Difere do paraquat por ter alta atividade contra espécies de folhas largas, mas é mais limitado no controle de folhas estreitas.

8.4. Interações do paraquat com outros herbicidas e implicações no manejo de resistência.

Ronchi et al (2002) citaram que, na maioria das vezes, as misturas de herbicidas são utilizadas com o objetivo de aumentar o espectro de controle das plantas daninhas. Além dessa vantagem, o uso de misturas de herbicidas permite reduzir as doses, o que implica menor risco de intoxicação da cultura, menor efeito residual no solo e redução nos custos de controle. Também, nas misturas, um herbicida pode melhorar a ação do outro, ou seja, pode ocorrer efeito sinérgico ou complementar da mistura, resultando em maior eficiência de

controle, mesmo sob variações das condições climáticas (Oliveira & Begazo, 1989a, b; Souza et al., 1985; Jordan & Warren, 1995).

Além disso, o uso de misturas de herbicidas com diferentes mecanismos de ação minimiza o risco de surgimento de plantas daninhas tolerantes e/ou resistentes (Vargas et al., 1999; Kruse et al., 2000). Essas vantagens decorrem da interação entre os herbicidas (Jordan & Warren, 1995). Segundo esses autores, interação é a relação de um herbicida na eficácia de um outro. Assim, quando dois ou mais herbicidas são aplicados juntos, os efeitos esperados sobre as plantas daninhas podem ser aditivos, sinérgicos e antagônicos, sendo os dois primeiros os mais explorados no controle de plantas daninhas.

O efeito sinérgico, ou seja, quando o efeito combinado de dois herbicidas é maior que o esperado pela soma dos efeitos desses herbicidas quando aplicados isoladamente, pode ser resultado do aumento da absorção foliar e da translocação desses herbicidas, da inibição do metabolismo destes na planta e de interações dos mecanismos de ação dos herbicidas envolvidos (Jordan & Warren, 1995).

Ronchi et al. (2002) concluíram que os tratamentos mais eficientes no controle de duas espécies de trapoeraba (*Commelina benghalensis*) e (*Commelina diffusa*), foram as aplicações sequenciais, com intervalo de 21 dias de paraquat + diuron seguida de carfentrazone-ethyl + glyphosate e de paraquat + diuron seguida de paraquat + diuron. Norsworthy et al. (2011) reportaram que a mistura com herbicidas inibidores do FS II, como diuron, atrazine ou metribuzin com paraquat proporcionou controle mais eficiente de milho voluntário, reduzindo a rebrota.

Inibidores de fotossíntese (FSII) bloqueiam o fluxo de elétron antes do local onde paraquat torna-se um radical livre pela aceitação de um elétron no FSI. Como seria esperado, plantas daninhas tratadas com doses baixas de inibidores de FSII mais paraquat atrasarão o aparecimento de sintomas fitotóxicos associados com paraquat. Assim, os inibidores de FSII em baixas doses desaceleram a fotossíntese de forma análoga à baixa intensidade luminosa durante a noite ou em

dias nublados. Isso permite que o paraquat transloque em maior quantidade antes de ser limitado por sua própria ação dessecante (Hess & Weller, 2000).

Um exemplo de como paraquat com diuron tornou-se uma opção importante no controle de plantas daninhas vem do Brasil. Na semeadura direta da soja, o excesso de dependência do glyphosate levou à mudança da flora e ao surgimento de plantas daninhas tolerantes e resistentes ao glyphosate em muitos campos. Agricultores pulverizam a mistura de paraquat com diuron antes da semeadura, para controlar plantas daninhas resistentes após uma pulverização com glyphosate. Essa prática preserva a eficiência do glyphosate, evitando o aparecimento de plantas daninhas resistentes (Syngenta, 2016b) (Figura 3).

Uma mistura de produtos é considerada antagônica quando a resposta resultante dessa é menor do que a resposta esperada pela somatória dos efeitos da aplicação isolada dos produtos (Green, 1989). Essa interação não é exclusiva herbicida/herbicida e pode ocorrer entre o herbicida e outras moléculas, como inseticidas, adjuvantes, fertilizantes foliares, etc.

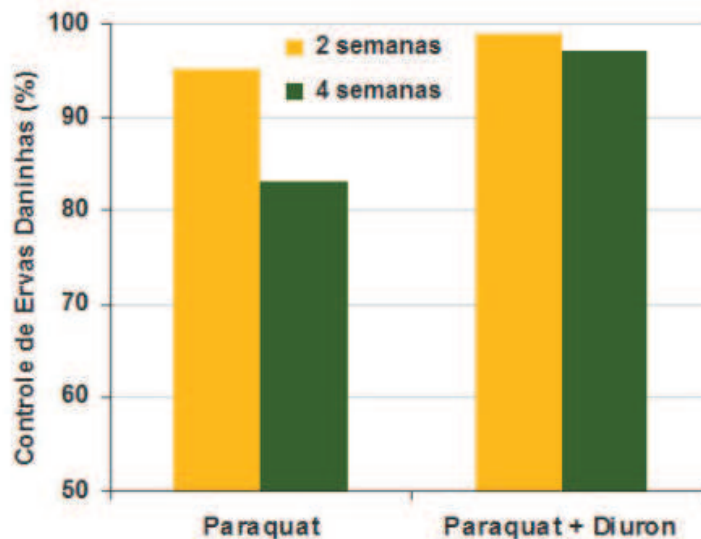


Figura 3. Efeito benéfico do diuron na mistura com paraquat (Syngenta 2016b)

Uma mistura de produtos é considerada antagônica quando a resposta resultante dessa é menor do que a resposta esperada pela somatória dos efeitos da aplicação isolada dos produtos (Green, 1989). Essa interação não é exclusiva herbicida/herbicida e pode ocorrer entre o herbicida e outras moléculas, como inseticidas, adjuvantes, fertilizantes foliares, etc.

Esse antagonismo pode ocorrer fora ou dentro do organismo vegetal; antes, durante ou depois da aplicação. O antagonismo pode ser bioquímico, quando se reduz a quantidade do produto que atinge o sítio de ação; competitivo, quando um produto impede a ação do outro por ocupar o mesmo sítio de ação; fisiológico, herbicidas com efeitos biológicos contrários ou químico, quando um herbicida reage com o outro e reduz a atividade de um deles ou ambos (Green, 1989).

Herbicidas de contato começam a agir em minutos, paralisam a translocação e matam a planta em dois a três dias. Os herbicidas sistêmicos necessitam translocar pela planta e completam sua ação em sete a dez dias. A mistura de paraquat com herbicidas sistêmicos como glyphosate, 2,4-D e dicamba, apresenta antagonismo porque a ação de paraquat é muito rápida e prejudica o desempenho do glyphosate. Inicialmente, os sintomas de controle observados são intensos; porém, esse controle reduz rapidamente devido ao rebrote das plantas, principalmente em monocotiledôneas e cyperáceas, como capim-colonião (*Panicum maximum*) e tiririca (*Cyperus rotundus*), respectivamente (Caballero, 2013) (Figura 4).

A mistura dos herbicidas que atuam no FSI com MCPA interage formando compostos menos fitotóxicos ao alvo (O'Donovan et al. 1983).

Paraquat em mistura com herbicidas seletivos residuais como metribuzin, chlorimuron e imazaquin também apresenta antagonismo. Paraquat em mistura com fomesafen superou o antagonismo com a adequação do adjuvante e uso de alto volume de calda (Hydrick & Shaw, 1994).

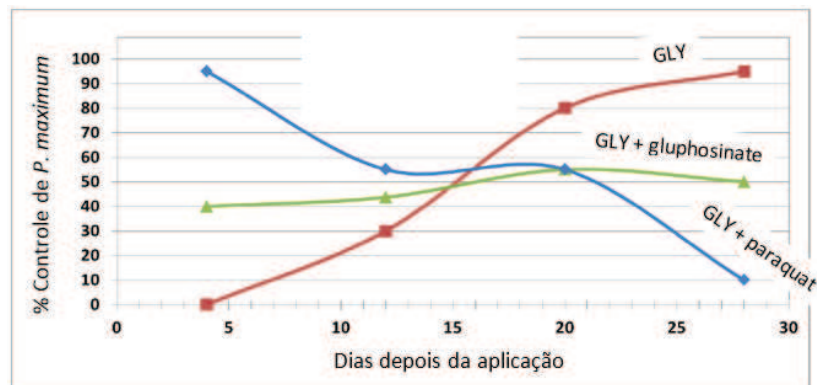


Figura 4. Glyphosate e misturas no controle de *Panicum maximum* (Caballero, 2013).

Com relação à qualidade da água da calda, a atividade do paraquat pode ainda ser afetada pela presença de cátions, como Ca^{2+} , Mg^{2+} e K^{+} , comumente presentes em águas duras (Norman & Fuerst, 1997). Vale ressaltar que existe uma ordem recomendada na mistura de produtos, que vai de grânulos dispersíveis em água (WG), pó solúvel em água (SP), pó molhável (WP), suspensão concentrada (SC), emulsão óleo em água (EW), emulsão de água em óleo (EO), concentrado para emulsão (EC), solução concentrada (SL) e, por fim, adjuvantes, óleos, etc. (Syngenta, 2016b).

Pela complexidade do assunto, o estudo das interações requer conhecimento amplo, incluindo fisiologia vegetal, bioquímica, botânica, ecologia e química dos produtos para possibilitar, assim, o entendimento do efeito resultante e explorar as vantagens do uso das misturas.

8.5. Referências bibliográficas

- ADEGAS, FS, GAZZIERO DLP, VOLL E. Resistência de biótipos buva (*Conyza* sp.) ao herbicida glyphosate, no Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 5.; MERCOSOJA 2009, Goiânia. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2009. Trabalho n° 100 (CD-ROM).
- ADEGAS, FS, GAZZIERO DLP, VOLL E, OSIPE R. Alternativas de controle químico de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glyphosate. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS

- PLANTAS DANINHAS, 27, 2010a, Ribeirão Preto. **Resumos**. Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. p. 756-760.
- ADEGAS, F. S.; GAZZIERO DLP, VOLL E, OSIPE, R. Controle em Pós-emergência de Capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glyphosate. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 31., 2010b, Brasília, DF. **Resumos**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 447-449.
- BABBS CF, PHAM JA, COOLBAUGH RC. Lethal hydroxyl radical production in paraquat-treated plants. **Plant Physiol.**, 90:1267-1270, 1989.
- BAILL VJA, DAVISON JG. The response of (U/II-C/IK/K.Varri-nsi.K to 2,4-D applied alone or in mixture with paraquat and aminotrole. **Proc. Br. Weed Control Conf**3.1: 295-298, 1976.
- JALALUDIM A, YU Q, POWELS SB. Multiple resistance across glufosinate, glyphosate, paraquat and ACCase inhibiting herbicides in an *Eleusine indica* population. **Weed Research**, 55, p. 82-89. 2015.
- BISHOP T, POWLES SB, CORNIC G. Mechanism of paraquat resistance in *Hordeum glaucum*. Paraquat uptake and translocation. **Australian Journal of Plant Physiology**, 14:539-547, 1987.
- CABALLERO MJL. Antagonismo de Glyphosate mezclado con Paraquat o glufosinato de amonio. **Tesis** Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 2013, 18 p.
- CHASE, CA, BEWICK, TA, SHILLING, DG. Characterization of paraquat resistance in *Solanum americanum* Mill. I. Paraquat uptake, translocation and compartmentalization. **Pest. Biochem, Physiol**, 60:13-22, 1998a.
- CHASE, CA, BEWICK, TA, SHILLING, DG. Characterization of paraquat resistance in *Solanum americanum* Mill. II. Evidence for a chloroplast mechanism. Paraquat uptake, translocation and compartmentalization. **Pest. Biochem., Physiol.**, 60:23-30, 1998b.
- CHASE, CA, BEWICK, TA, SHILLING, DG. Differential photosynthetic electron transport and oxidative stress in paraquat-resistant and sensitive biotypes of *Solanum americanum*. **Pest. Biochem., Physiol.**, 60:83-90, 1998c.
- CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JUNIOR, RS. Dessecação antecedendo a semeadura direta pode afetar a produtividade. **Inform. Agrônôm.**, Maringá, PR, n. 109, mar. 2005.
- CRISTOFFOLETI, PJ., KEHDI, CA, CORTEZ, MG. Manejo da Planta Daninha *Brachiaria plantaginea* resistente aos herbicidas Inibidores da ACCase. **Planta daninha** 19.1 (2001): 61-66.

- CRAFTS AS, CLEARY CW. Toxicity of arsenic, borax, chlorate, and their combinations in three California soils. **Hilgardia** 10:401-413, 1936
- FUERST E, NAKATANI H, DODGE A, PENNER D, ARNTZEN C. Paraquat resistance in *Conyza*. **Plant physiology**77:984–989, 1985.
- FUERST EP; VAUGHN, KC. Mechanism of paraquat resistance. **Weed Technol.** 4:150-156, 1990.
- GAZZIERO DLP. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, 33:83-92, 2015.
- GREEN JM, Herbicide antagonism at the whole plant level. **Weed Technol.**, 3:217-226, 1989.
- EPA. Environmental Protection Agency: Regulations. Disponível em: <https://www.regulations.gov>. Acesso em 12 abril 2016.
- HALL O, BKADY HA. Mixing herbicides alters their behavior in woody plants. **Proc. S. Weed Sci. Soc.** 24:255-262, 1971
- HART JJ, DITOMASO JM. Sequestration and oxygen radical detoxification as mechanisms of paraquat resistance. **Weed Science**, 42:277-284.
- HAWKES TR. Mechanisms of resistance to paraquat in plants. **Pest Management Science**, 70:1316-1323, 2014.
- Heap I. International Survey of Herbicide Resistant Weeds. **Weeds resistant to bipyridiliums**. Disponível em: <http://www.weedscience.org/Summary/MOA.aspx?MOAID=7>. Acesso em: 06 maio 2016.
- HESS, FD., Weller, SC. Mode of action in Photosystem I (Paraquat and Diquat). In: **Herbicide Action**, Purdue University, West Lafayette, Indiana. 2000, p. 210-224.
- HYDRICK DE, SHAW DR. Effects of tank-mix combinations of non-selective foliar and selective-soil applied herbicides on three weed species. **Weed Technology**, 8:129-133, 1994.
- JO J, WON SH, SON D, LEE BH. Paraquat resistance of transgenic tobacco plants over-expressing the *Ochrobactrum anthropi pgqA* gene. **Biotechnology Letters**26:1391–1396, 2004.
- JORDAN, T. N.; WARREN, G. F. Herbicide combinations and interactions. In: **Herbicide Action Course**. Indiana: Purdue University, 1995. p. 238-254.
- JÓRI B, SOÓS V, SZEGŐ D, PÁLDI E, SZIGETI Z, RÁCZ I, LÁSZTITY D. Role of transporters in paraquat resistance of horseweed *Conyza canadensis* (L.) Cronq. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 88:57–65, 2007.

- KOGAN M, PÉREZ-JONES A. **Herbicidas**. Fundamentos fisiológicos e bioquímicos do modo de ação. Universidad Católica do Chile. 2003. 333 pp.
- KRUZE ND, TREZZI MM, VIDAL RR. Herbicidas inibidores de EPSPs: revisão de literatura. **Rer. Bras. Herb.**, v.2, n.1, p. 139-146, 2000.
- LASAT M, DITOMASO J, HART J, KOCHIAN L. Evidence for vacuolar sequestration of paraquat in roots of a paraquat-resistant *Hordeum glaucum* biotype. **Physiology Plantarum**99:255–262, 1997.
- MARC V, PROCÓPIO SO, SILVA AG, VOLF MR, PIMENTEL FL. Interações entre herbicidas no controle de plantas voluntárias de milho resistentes ao herbicida glyphosate. **Interdisciplinar: Revista Eletrônica da UNIVAR**, 1:202-208, 2015.
- NORMAN MA, FUERST EP, Interactions of cations with paraquat in leaf sections of resistant and sensitive biotypes of *Conyza bonariensis*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 75:181-189, 1997.
- NORMAN MA, FUERST EP, Smeda RJ, Vaughn KC. Evaluation of paraquat resistance mechanisms in *Conyza*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**46:236–249, 1993.
- NORSWORTHY, J K *et al* (2011). Evaluation of combinations of paraquat plus photosystem II-inhibiting herbicides for controlling failed stands of maize (*Zea mays*). **Crop Protection**, 30, 307-310.
- O'DONOVAN JT, O'SULLIVAN PA, CALDWELL DC. Basis for antagonism of paraquat phytotoxicity to barley by MCPA dimethylamine. **Weed Research**, 23:165-172, 1983.
- OLIVEIRA, JÁ, BEGAZO, JCE. Inativação de herbicida do grupo das triazinas em solos cultivados com café. **Cafeicultura Moderna**, v. 2, n.6, p. 16-20, 1989a
- OLIVEIRA, JÁ, BEGAZO, JCE. Utilização de herbicidas pré-emergentes na cultura do café em formação (*Coffea arabica* L.). **Cafeicultura Moderna**, v.2, n. 20-25, 1989b.
- OSIPE, R. ADEGAS, F. Aspectos Biológicos e Econômicos do Uso dos Herbicidas a Base de paraquat no Brasil. 2015, p. 1-26. (não publicado).
- POWELS SB, HOWAT, PD. Herbicide Resistant Weeds in Australia. **Weed Technology**, 4 (1):178-185, 1990.
- PRESTON C, HOLTUM JA, Powles SB. On the mechanism of resistance to paraquat in *Hordeum glaucum* and *H. leporinum*: delayed inhibition of photosynthetic O₂ evolution after paraquat application. **Plant Physiology**100:630–636, 1992.

- ROMAN ES, VARGAS L, RIZZARDI MA, MATTEI RW. Resistência de Azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 301-306, 2004.
- RONCHI CP, SILVA AA, MIRANDA GV, FERREIRA LR, TERRA AA. Mistura de herbicidas para o controle de plantas daninhas do gênero Commelina. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.20, n.2, p. 311-318, 2002.
- ROSS MA, LEMBI CA. **Applied weed science**. 2 ed. New Jersey: Prentice hall, 1999.
- SOUZA JF, MELLESCCA, GUIMARÃES PTG. Plantas daninhas e seu controle. **Inf. Agropec.**, v.11, n.126, p. 59-65, 1985.
- SYNGENTA. Produtos e Soluções. Proteção de culturas. Disponível em:
http://www3.syngenta.com/country/pt/pt/produtos/Proteccao_de_culturas/Ordem_Mistura_Produtos/Pages/home.aspx. Acesso em 24 mar. 2016a.
- SYNGENTA. Produtos e Soluções. Gramoxone 200. Disponível em:
http://www3.syngenta.com/country/br/pt/produtosemarcas/controle-de-pragas-urbanas-e-de-jardim/produtos/Pages/Gramoxone200_.aspx. Acesso em 16 mar. 2016b.
- SZIGETI Z, LEHOCZKI E. A review of physiological and biochemical aspects of resistance to atrazine and paraquat in hungarian weeds. **Pest Management Science** 59:451-458, 2003.
- TAIZ L, ZEIGER E. **Fisiologia Vegetal**. 5ed. Porto alegre: Artmed, 2013. 918p.
- SUMMERS, LA. **The Bipyrдинium Herbicides**. Ac. Press, 1980. 449p.
- TURCSÁNYI, EG, DARKÓ, E, BORBÉLY G, LEHOCZKI E. The activity of oxyradical-detoxifying enzymes is not correlated with paraquat resistance in *Conyza Canadensis*(L.) Cronq. **Pestic. Bioch. Physiol.** 60:1-11;
- VARGAS L et al., Resistência de plantas daninhas a herbicidas. Viçosa-MG: Jard, 1999. 131p.
- VARGAS L, ROMAN ES, RIZZARDI, MA, SILVA, VC. Alteração das características biológicas dos biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) ocasionada pela resistência ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 153-160, 2005.
- VARGAS L, BIANCHI MA, RIZZARDI MA, AGOSTINETTO D.; DAL MAGRO T. Buva (*Conyza bonariensis*) resistente ao glyphosate na região sul do Brasil. **Planta Daninha**, v. 25, n. 3, p. 573-578, 2007.
- VILLA-AIUB, M M *et al* (2008). Glyphosate-resistant weeds of South American cropping systems: an overview (Ervs daninhas

- resistentes ao glyphosate dos sistemas de plantio Sul Americanos: uma visão geral). **Pest Management. Science**, 64, 366-371
- WAGGONER BS, MUELLER TC, BOND JA, STECKEL LE. Control of glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) with saflufenacil tank mixtures in no-till cotton. **Weed Techn.**, 25:310-315, 2011
- WERTH, J, WALKER S, BOUCHER, L & ROBINSON, G (2010). Applying the double knock technique to control *Conyza bonariensis*. **Weed Biol. and Management**, 10, (1), 1-8.
- YE B, GRESSEL J. Constitutive variation of ascorbate peroxidase activity during development parallels that of super-oxide dismutase and glutathione reductase in paraquat-resistant *Conyza*. **Plant Science** 102:147–151, 1994.
- YU Q, CAIRNS A, POWLES S. Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. **Planta**, 225: 499-513, 2007.

CAPÍTULO 9

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS INIBIDORES DA PROTOX (Grupo E)

Saul Jorge Pinto de Carvalho
Acácio Gonçalves Netto

9.1. Introdução

Os herbicidas inibidores da protoporfirinogênio oxidase (PROTOX) têm sido intensamente estudados nos últimos 40 anos; contudo, até a metade dos anos 80, o modo de ação deste grupo de compostos permanecia desconhecido. Ao contrário de outros herbicidas, os inibidores da PROTOX (também conhecidos em outros países como inibidores da PPO) possuem algumas vantagens para uso agrícola, tais como: baixa toxicidade a mamíferos, eficácia em baixas concentrações, amplo espectro de controle, ação rápida sobre as plantas daninhas e possibilidade de efeito residual no solo para controle de plantas daninhas em condição de pré-emergência. Ainda, quando comparados a outros mecanismos de ação, selecionam resistência de plantas daninhas em taxa significativamente menor (Hao et al., 2011; Salas et al., 2016).

De acordo com Heap (2016), no mundo, foram registradas apenas nove espécies de plantas daninhas com biótipos resistentes aos inibidores da PROTOX: *Amaranthus tuberculatus* (syn. *rudis*; 2001 - EUA); *Euphorbia heterophylla* (2004 - Brasil); *Amaranthus hybridus* (2005 - Bolívia); *Ambrosia artemisiifolia* (2005 - EUA); *Acalypha australis* (2011 - China); *Amaranthus palmeri* (2011 - EUA); *Descurainia sophia* (2011 - China); *Senecio vernalis* (2014 - Israel); e *Avena fatua* (2015 - Canadá).

Sabidamente, os herbicidas inibidores da PROTOX são importantes componentes no manejo de plantas daninhas em diversas culturas agrícolas, tais como: soja, feijão, cana-de-açúcar, algodão, café e arroz. Devido ao intenso

aparecimento de plantas daninhas resistentes a outros mecanismos de ação, comumente, os herbicidas inibidores de PROTOX são produtos indicados como alternativos, para auxiliar na prevenção e manejo destes casos (Vidal et al., 1999).

Atualmente, no Brasil, existem nove moléculas herbicidas classificadas no GRUPO E registradas para o controle de plantas daninhas em culturas agrícolas, principalmente para plantas daninhas da classe das dicotiledôneas; embora alguns herbicidas deste mecanismo de ação atuem em ciperáceas e monocotiledôneas. Os principais ingredientes ativos, disponibilizados de forma isolada, ou em misturas formuladas no Brasil, são: carfentrazone-ethyl, flumiclorac-pentyl, flumioxazin, fomesafen, lactofen, oxadiazon, oxyfluorfen, saflufenacil e sulfentrazone (Rodrigues & Almeida, 2011).

9.7.1. Mecanismo de ação dos herbicidas inibidores da PROTOX

Retzinger e Mallory-Smith (1997) classificaram os herbicidas inibidores da PROTOX em quatro grupos químicos: difeniléteres (acifluorfen, fomesafen, lactofen e oxyfluorfen), ftalimidas (flumiclorac e flumioxazin), oxadiazoles (oxadiazon) e triazolinonas (carfentrazone e sulfentrazone); que apesar de estruturas químicas diferenciadas, todos têm o mecanismo de ação em comum. A PROTOX é a última enzima comum das rotas de síntese do grupo heme e da clorofila (Hao et al., 2011). Em plantas, duas isoformas da PROTOX são codificadas por dois diferentes genes nucleares, PPX1 e PPX2. Estas isoformas diferem quanto à localização celular: PPO1 é encontrada nos plastídeos, enquanto PPO2 é encontrada nas mitocôndrias (Salas et al., 2016).

A rota metabólica da PROTOX também é chamada rota de síntese de porfirinas ou de tetrapirroles (Merotto Júnior & Vidal, 2001). Trata-se da enzima que converte o protoporfirinogênio-IX em protoporfirina-IX (Figura 1), por meio

de aromatização oxidativa, com exigência de oxigênio molecular (Matringe et al., 1989; Devine et al., 1993).

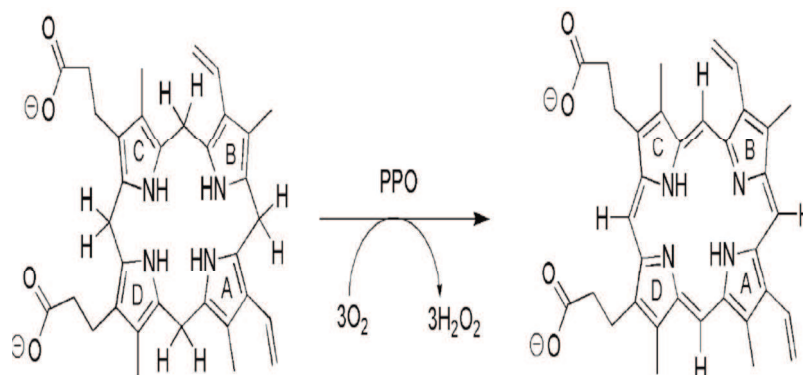


Figura 1. Reação de oxidação de protoporfirinogênio-IX em protoporfirina-IX em presença de oxigênio molecular e da PROTOX. Nesta reação, o oxigênio molecular é reduzido a peróxido de hidrogênio, com assimilação de seis elétrons (retirado de HAO et al., 2011).

Na presença do herbicida, tem-se a inibição competitiva da PROTOX, o que resulta em acúmulo de protoporfirinogênio-IX no cloroplasto (Camadro et al., 1991). O aumento da concentração de protoporfirinogênio-IX no cloroplasto promove sua difusão para o citoplasma, onde é rapidamente convertido para protoporfirina-IX por peroxidases insensíveis ao herbicida (Jacobs & Jacobs, 1993). No entanto, devido a sua elevada natureza lipofílica, a protoporfirina-IX não pode entrar novamente no cloroplasto (Lehnen et al., 1990). Desta forma, a reação da protoporfirina-IX com as enzimas Mg- e Fe-quelatases, localizadas nos cloroplastos, não ocorre, o que resulta na interrupção das rotas de síntese de clorofilas e compostos heme (Matringe et al., 1989).

A protoporfirina-IX é um pigmento fotodinâmico e seu acúmulo no citoplasma, quando em presença de luz e oxigênio molecular, origina oxigênio 'singlet' ($O^{\cdot}$). Esse radical

livre, altamente reativo, provoca a peroxidação dos lipídeos das membranas, levando a célula à morte (Becerril & Duke, 1989; Hao et al., 2011). Além disso, o rápido acúmulo de protoporfirina-IX observada em plantas tratadas com esse grupo de herbicidas sugere algum tipo de desregulação da via de biossíntese, que funciona como uma bomba de produção de radicais livres, acelerando o processo de aparecimento dos sintomas típicos. O esquema simplificado do mecanismo de ação dos inibidores da PROTOX está apresentado na Figura 2.

Por se tratar de um tetrapirrole fotodinâmico, o acúmulo de protoporfirina-IX no citoplasma caracteriza a dependência dos herbicidas inibidores da PROTOX quanto à disponibilidade de luz para que possam manifestar a ação herbicídica (Li et al., 2004). As partes das plantas atingidas morrem em dois ou três dias, sendo que os primeiros sintomas aparecem como manchas verde-escuras nas folhas, que progridem para necrose. Quando aplicados em pré-emergência, os sintomas aparecem por ocasião da emergência das plântulas (Rizzardi et al., 2008).

Em geral, a maioria dos herbicidas inibidores da PROTOX tem recomendação para aplicação em pós-emergência, contudo alguns também são aplicados em pré-emergência, visando, principalmente, o controle de dicotiledôneas. Os herbicidas inibidores da PROTOX podem penetrar nas plantas pelas raízes, caules ou folhas jovens. Dentro das folhas, possuem translocação baixa ou mesmo ausente, o que exige a aplicação com boa cobertura foliar (Rizzardi et al., 2008).

Os expressivos danos causados à estrutura foliar, em curto espaço de tempo, também contribuem para a baixa translocação dos herbicidas às demais partes da planta. Assim sendo, quando os inibidores da PROTOX são absorvidos pelas raízes ou caule, o transporte é predominantemente apoplástico (via xilema). Ainda, a partir do mecanismo de ação destes herbicidas, explica-se a necessidade de aplicação sobre plantas em adequado nível

de hidratação. Teoricamente, plantas bem nutridas e adequadamente hidratadas possuem maiores níveis de metabolismo celular, o que contribui para a melhor ação herbicídica.

Para potencializar o controle de plantas daninhas promovido pelas aplicações em pós-emergência, além da boa cobertura foliar, recomenda-se, em alguns casos, o uso de adjuvantes, bem como deve-se evitar aplicações em áreas com possibilidade de chuva em intervalo inferior a duas horas.

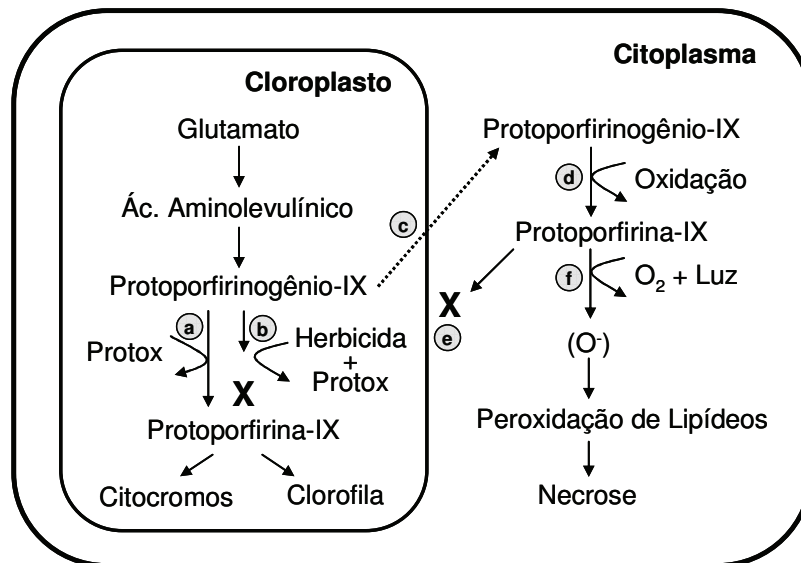


Figura 2. Esquema simplificado do mecanismo de ação dos herbicidas inibidores da protoporfirinogênio oxidase (PROTOX). Detalhes: a. Reação de conversão do protoporfirinogênio-IX em protoporfirina-IX; b. Presença do herbicida e inibição competitiva da PROTOX; c. Difusão do protoporfirinogênio-IX acumulado para fora do citoplasma; d. Oxidação do protoporfirinogênio-IX a protoporfirina-IX; e. Protoporfirina-IX não pode retornar ao citoplasma; f. Formação de oxigênio 'singlet', peroxidação dos lipídeos e necrose da célula (retirado de Carvalho & López-Ovejero, 2008).

O estágio de desenvolvimento das plantas daninhas também é uma característica importante a ser considerada, visto que os melhores resultados são obtidos com aplicações sobre plantas com 2 – 6 folhas. Em alguns casos, são relatados casos de antagonismo quando da aplicação conjunta de herbicidas inibidores da PROTOX e ACCase (graminicidas). Em geral, os inibidores da PROTOX possuem alta adsorção pela matéria orgânica do solo e, no caso de aplicações em pré-emergência, deve-se atentar para a adequação da dose a ser utilizada ao teor de matéria orgânica evidenciado pela análise de solo (Carvalho & López-Ovejero, 2008).

9.7.2. Mecanismos de resistência

A primeira planta daninha a manifestar resistência aos herbicidas inibidores da PROTOX foi uma espécie de caruru (*Amaranthus tuberculatus*), nos Estados do Kansas e Illinois (EUA), nos anos de 2001 e 2002, respectivamente (Heap, 2016). Em seguida, tem-se o relato de resistência de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), identificado em áreas produtoras de soja dos Estados brasileiros do Paraná e Santa Catarina, em 2003 (Trezzi et al., 2005). O relato mais atual envolve a espécie *Avena fatua*, no Canadá, que manifestou resistência múltipla a cinco mecanismos de ação, incluindo os inibidores da PROTOX (Heap, 2016).

Coincidentemente, boa parte dos biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da PROTOX foram encontrados em áreas de produção de soja e também manifestaram resistência aos herbicidas inibidores da ALS, caracterizando casos de resistência múltipla PROTOX-ALS (Heap, 2016). Provavelmente, esta observação é consequência da adoção de herbicidas inibidores da PROTOX como mecanismo de ação alternativo aos inibidores da ALS, e vice-versa, contribuindo para a seleção de resistência a ambos os mecanismos (Trezzi et al., 2014; Salas et al., 2016).

Shoup et al. (2003), conduziram trabalho em que foi avaliada a resistência de *A. tuberculatus* aos herbicidas inibidores da PROTOX e ALS. Inicialmente, observaram

injúrias foliares leves e redução do crescimento do meristema apical causadas pelos inibidores da PROTOX, contudo as plantas resistentes tiveram recuperação a partir dos 14 dias após aplicação (DAA). O biótipo de planta daninha resistente aos inibidores da PROTOX foi aproximadamente 34, 82, 8 e 4 vezes mais resistente aos herbicidas acifluorfen, lactofen, fomesafen e sulfentrazone, respectivamente, quando comparado com o biótipo suscetível. O biótipo resistente de *A. tuberculatus* também manifestou maiores níveis de resistência que o biótipo suscetível aos herbicidas thifensulfuron e imazethapyr (inibidores da ALS). Na Tabela 1 estão apresentados os níveis de resistência (GR_{50res} / GR_{50sus}) disponíveis na literatura para os biótipos de *A. tuberculatus* resistentes aos inibidores da PROTOX.

Tabela 1. Comparação dos biótipos de *Amaranthus tuberculatus* resistente e suscetível aos inibidores da PROTOX quanto aos valores de GR_{50} , e níveis de resistência (R/S).

Herbicidas	Valores de GR_{50}		R/S	Autores
	Resistente	Suscetível		
Acifluorfen	58,8	6,2	9,5	Li et al., 2004
	174,5	6,2	28,0	
	308,0	49,0	6,3	Falk et al., 2006
Lactofen	37,3	3,5	11,0	Li et al., 2004
	153,0	3,5	44,0	
	285,0	108,0	2,6	Falk et al., 2006
Fomesafen	406,0	165,0	2,5	Falk et al., 2006

Trezzi et al. (2005) comprovaram a ocorrência de biótipos de *E. heterophylla* resistentes aos herbicidas

inibidores da PROTOX (fomesafen) e ALS (imazethapyr), por meio de curvas de dose-resposta, em casa-de-vegetação. O fator de resistência para os biótipos de *E. heterophylla* foi de 62 e 39 (Trezzi et al., 2014). Ainda, controles insatisfatórios foram obtidos com aplicação dos herbicidas acifluorfen, lactofen, flumiclorac, nicosulfuron, cloransulan e metsulfuran sobre o biótipo resistente. Por consequência, levantaram a hipótese da existência de diferenças foliares entre as plantas resistentes e suscetíveis, que podem dificultar a absorção de fomesafen (Trezzi et al., 2009).

Com relação ao estágio de desenvolvimento, Falk et al. (2006) compararam a resposta de biótipos resistentes de *A. tuberculatus* quanto à aplicação de herbicidas inibidores da PROTOX em condição de pré e pós-emergência. Observaram que as aplicações em pré-emergência foram mais eficientes no controle do biótipo resistente, o que também foi observado por Shoup e Al-Khatib (2004). Ainda, Falk et al. (2006) concluíram que a resistência de biótipos de plantas daninhas aos inibidores da PROTOX torna-se mais expressiva a partir do estágio de 4-6 folhas.

Experimentos em casa-de-vegetação foram conduzidos para avaliar a resistência de *A. artemisiifolia* aos herbicidas inibidores da PROTOX e ALS. Constatou-se que os biótipos resistentes desta planta daninha não foram adequadamente controlados pelos herbicidas acifluorfen, carfentrazone, chlorimuron, cloransulam, flumiclorac, flumioxazin, fomesafen, halosulfuron, imazamox, imazapyr, imazaquin, imazethapyr, iodosulfuron, lactofen, metsulfuron, oxyfluorfen, primisulfuron, pyraflufen, pyriithiobac, sulfentrazone e trifloxysulfuron (Heap, 2016).

Em geral, a tolerância natural de espécies vegetais aos herbicidas inibidores da PROTOX está relacionada com o rápido metabolismo do herbicida nas plantas (comumente via citocromos P-450 ou conjugação com glutathiona), porém também pode haver menor absorção foliar ou radicular, menor translocação, super-produção ou insensibilidade enzimática e sequestração do herbicida.

Neste sentido, para avaliar a participação da atividade metabólica (P-450) na menor resposta dos biótipos resistentes de *A. tuberculatus* aos inibidores da PROTOX, Shoup et al. (2003) realizaram aplicação conjunta dos herbicidas com um inseticida organofosforado (malathion ou diazinon). Contudo, não foram observadas diferenças de danos causados pelos herbicidas entre as plantas que foram tratadas com os inseticidas e aquelas não-tratadas. Estes resultados sugerem que o metabolismo diferencial não está relacionado com a resistência aos inibidores da PROTOX.

Da mesma forma, Shoup e Al-Khatib (2005) não observaram diferenças quanto à absorção, translocação ou metabolismo dos herbicidas inibidores da PROTOX entre os biótipos resistente e suscetível de *A. tuberculatus*. Trabalhando com outros biótipos de *A. tuberculatus* resistentes aos inibidores da PROTOX, Li et al. (2004) observaram que o acúmulo de protoporfirina-IX no citoplasma celular das plantas resistentes tratadas com os herbicidas foi menor quando comparado às plantas suscetíveis.

Patzoldt et al. (2006), trabalhando com *A. tuberculatus*, demonstraram que a resistência aos inibidores da PROTOX foi resultado de um único mecanismo, a eliminação de apenas um aminoácido (Gly210) no gene PPX2L (perda de três nucleotídeos), que codifica as duas isoformas da enzima PROTOX. Lee et al. (2008) e Wuerffel et al. (2015), também trabalhando com *A. tuberculatus*, obtiveram a mesma conclusão. Segundo Patzoldt et al. (2006), o gene PPX2L é responsável por codificar ambas as isoformas da PROTOX (plastídica e mitocondrial), de forma que uma única alteração no gene confere resistência nos dois pontos de atuação do herbicida.

Com relação à *A. artemisiifolia*, Rousonelos et al. (2012) observaram segregação da resistência em razão de três plantas resistentes para uma suscetível, indicando tratar-se de resistência conferida por um único gene nuclear, com dominância incompleta. Neste caso, concluíram que a substituição do aminoácido arginina por leucina no códon

R98L, no gene PPX2, foi responsável pela insensibilidade enzimática da PROTOX, resultando na manifestação de resistência. Salas et al. (2016), trabalhando com *Amaranthus palmeri*, também identificaram a eliminação do aminoácido glicina, na posição 210 do gene PPX2, conferindo resistência ao biótipo.

9.7.3. Herbicidas alternativos

Na cultura da soja, a ocorrência de biótipos de plantas daninhas com resistência múltipla aos herbicidas inibidores da PROTOX e ALS reduz significativamente o número de herbicidas alternativos que podem ser utilizados neste manejo. Tradicionalmente, a inibição da PROTOX é o principal mecanismo de ação alternativo para áreas com ocorrência de biótipos de plantas daninhas resistentes somente aos inibidores da ALS. Contudo, com a manifestação de resistência múltipla, esta opção não é mais indicada. Também é importante considerar que os herbicidas inibidores da PROTOX são alternativas importantes para o controle de plantas daninhas dicotiledôneas resistentes ao glyphosate. Assim, a ocorrência de resistência múltipla ao glyphosate e inibidores da PROTOX se caracteriza como um grande problema ao produtor de soja.

Considerando somente a aplicação seletiva na cultura da soja, para *A. tuberculatus*, os melhores controles foram obtidos com os herbicidas alachlor, metribuzin e s-metolachlor (Shoup & AL-Khatib, 2004). Para *A. artemisiifolia*, o controle pode ser feito com bentazon (Heap, 2016). Para o caso identificado no Brasil (*E. heterophylla*), não foram encontrados relatos científicos de produtos com mecanismo de ação alternativo, controle satisfatório e registro para a cultura; porém, sabidamente, com o advento da soja transgênica resistente ao glyphosate, esta molécula tornou-se excelente opção de manejo.

Por consequência, uma das alternativas mais indicadas para contornar a problemática estabelecida é o cultivo de soja tolerante ao herbicida glyphosate. Este produto possui

mecanismo de ação diferente dos demais, e tem alcançado bom controle sobre plantas daninhas resistentes aos inibidores da ALS e PROTOX. Neste sentido, Falk et al. (2005) observaram que o glyphosate eliminou 98% das plantas de *A. tuberculatus* resistentes aos inibidores da PROTOX, aos 21 DAA. Resultados semelhantes foram obtidos por Shoup et al. (2003) e Shoup e Al-Khatib (2004) para *A. tuberculatus* e Trezzi et al. (2004) para *E. heterophylla*.

Outras alternativas viáveis para o manejo de plantas daninhas resistentes aos inibidores da ALS e PROTOX na cultura da soja são: a. manejo em condição de dessecação pré-semeadura; b. manejo em rotação ou sucessão com outras culturas, principalmente o milho. Para áreas de dessecação ou controle não-seletivo, os herbicidas 2,4-D, amônio-glufosinate, paraquat e diquat podem ser utilizados com controle satisfatório das plantas daninhas (Shoup et al., 2003; Trezzi et al., 2004; Heap, 2016). Em áreas de rotação soja-milho, os herbicidas atrazine e simazine podem ser utilizados para a obtenção de controle satisfatório do biótipo resistente aos inibidores da PROTOX (Trezzi et al., 2004; Heap, 2016).

Embora ainda existam algumas alternativas para o manejo de plantas daninhas resistentes a herbicidas, principalmente que contemplam os casos mais problemáticos, tais como a resistência múltipla, não se devem descartar medidas tradicionais de manejo e prevenção. Para tanto, destaca-se: uso de cultivo, rotação de culturas e herbicidas, limpeza do maquinário, aquisição de sementes de qualidade, etc.

9.7.4. Referências bibliográficas

BECERRIL, J.M.; DUKE, S.O. Protoporphyrin IX content correlates with activity of photobleaching herbicides. **Plant Physiology**, v.90, n.3, p.1175-1181, 1989.

- CAMADRO, J.M. et al. Kinetic studies on protoporphyrinogen oxidase inhibition by diphenyl ether herbicides. **Biochemical Journal**, v.277, n.1, p.17-21, 1991.
- CARVALHO, S.J.P.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da PROTOX (Grupo E). In.: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3.ed. Piracicaba: HRAC-BR, 2008. p.67-76.
- DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDKE, C. **Physiology of herbicide action**. New Jersey: P T R Prentice-Hall, 1993. 441p.
- FALK, J.S. et al. Survey of common waterhemp (*Amaranthus rudis*) response to PROTOX- and ALS-inhibiting herbicides in northeast Kansas. **Weed Science**, v.19, n.4, p.838-846, 2005.
- FALK, J.S. et al. PROTOX-resistant common waterhemp (*Amaranthus rudis*) response to herbicides applied at different growth stages. **Weed Science**, v.54, n.4, p.793-799, 2006.
- HAO, G.F. et al. Protoporphyrinogen oxidase inhibitor: an ideal target for herbicide discovery. **Chemistry in China**, v.65, n.12, p.961-969, 2011.
- HEAP, I. **The international survey of herbicide resistant weeds**. [acesso em: 15 de abr. 2016]. Disponível em: <http://www.weedscience.org>.
- JACOBS, J.M.; JACOBS, N.J. Porphyrin accumulation and export by isolated barley (*Hordeum vulgare*) plastids. **Plant Physiology**, v.101, n.4, p.1181-1187, 1993.
- LEE, R.M.; HAGER, A.G.; TRANEL, P.J. Prevalence of a novel resistance mechanism to PPO-inhibiting herbicides in waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*). **Weed Science**, v.56, n.3, p.371-375, 2008.
- LEHNEN, L.P. et al. Tissue and cellular localization of acifluorfen-induced porphyrins in cucumber cotyledons. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v.37, n.3, p.239-248, 1990.
- LI, J. et al. Physiological basis for resistance to diphenyl ether herbicides in common waterhemp (*Amaranthus rudis*). **Weed Science**, v.52, n.3, p.333-338, 2004.
- MATRINGE, M.J. et al. Protoporphyrinogen oxidase as a molecular target for diphenyl ether herbicides. **Biochemistry Journal**, v.260, n.1, p.231-235, 1989.
- MEROTTO JÚNIOR, A.; VIDAL, R.A. Herbicidas inibidores da PROTOX. In: VIDAL, R.A.; MEROTTO JÚNIOR, A. (Ed.). **Herbicidologia**. Porto Alegre, 2001. p.69-86.

- PATZOLDT, et al. A single codon deletion confers resistance to herbicides inhibiting protoporphyrinogen oxidase. **PNAS**, v.103, n.33, 12329-12334, 2006.
- RETZINGER, E.J.; MALLORY-SMITH, C. Classification of herbicides by site of action for weed resistance management strategies. **Weed Technology**, v.11, n.2, p.384-393, 1997.
- RIZZARDI, M.A. et al. Aspectos gerais do manejo e controle de plantas daninhas. In: VARGAS, L.; ROMAN, E.S. (Ed.). **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. p.107-131.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6. ed. Londrina, 2011. 697p.
- ROUSONELOS, S.L. Characterization of a common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) population resistant to ALS- and PPO-inhibiting herbicides. **Weed Science**, v.60, n.3, p.335-344, 2012.
- SALAS, R.A et al. Resistance to PPO-inhibiting herbicide in Palmer amaranth from Arkansas. **Pest Management Science**, v.72, n.5, p.864-869, 2016.
- SHOUP, D.E.; AL-KHATIB, K.; PETERSON, D.E. Common waterhemp (*Amaranthus rudis*) resistance to protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. **Weed Science**, v.51, n.2, p.145-150, 2003.
- SHOUP, D.E.; AL-KHATIB, K. Control of protoporphyrinogen oxidase inhibitor-resistant common waterhemp (*Amaranthus rudis*) in corn and soybean. **Weed Technology**, v.18, n.2, p.332-340, 2004.
- SHOUP, D.E.; AL-KHATIB, K. Fate of acifluorfen and lactofen in common waterhemp (*Amaranthus rudis*) resistant and protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. **Weed Science**, v.53, n.3, p.284-289, 2005.
- TREZZI, M.M. et al. Alternativas de controle químico para manejar biótipos de *Euphorbia heterophylla* com resistência simultânea a inibidores da ALS e da PROTOX. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 24., São Pedro, 2004. **Anais -Boletim Informativo SBPCD**. p.265. (Suplemento)
- TREZZI, M.M et al. Multiple resistance of acetolactate synthase and protoporphyrinogen oxidase inhibitors in *Euphorbia heterophylla* biotypes. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v.40, n.1, p.101-109, 2005.
- TREZZI, M.M. et al. Local de absorção de fomesafen como mecanismo de resistência em biótipo de *Euphorbia heterophylla*

- resistente aos inibidores da PROTOX. **Planta Daninha**, v.27, n.1, p.139-148, 2009.
- TREZZI, M.M. et al. Resistência de biótipos de *Euphorbia heterophylla* a herbicidas inibidores da ALS e da PROTOX. In.: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. (Eds.). **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Pelotas: UFPEL, 2014. p.255-268.
- VIDAL, R.A.; MEROTTO JÚNIOR, A.; FLECK, N.G. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas de menor risco para desenvolver problemas. CURSO DE MANEJO E RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS, 2., Ponta Grossa, 1999. **Anais...** Ponta Grossa: AEACG, 1999. p.68-72.
- WUERFFEL, R.J. et al. Distribution of the $\Delta G210$ protoporphyrinogen oxidase mutation in Illinois waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) and an improved molecular method for detection. **Weed Science**, v.63, n.4, p.839-845, 2015.

CAPITULO 10

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS INIBIDORES DA SÍNTESE DE CAROTENO (Grupo F)

Acácio Gonçalves Netto
Marcelo Nicolai
Pedro Jacob Christoffoleti

10.1. Introdução

Herbicidas inibidores da síntese de caroteno (Grupo F) pertencem a uma das mais novas classes de herbicidas disponíveis comercialmente. O grupo F é constituído de quatro subgrupos, a saber: Inibidores da PDS (F_1), Inibidores da HPPD (F_2), Alvo Desconhecido (F_3) e inibidores da DOX sintetase (F_4), e são utilizados basicamente nas culturas do milho, cana-de-açúcar e algodão.

Os herbicidas do grupo F registrados no Brasil estão distribuídos em três grupos químicos, sendo eles: tricetonas (mesotrione e tembotrione - F_2) isoxazoles (isoxaflutole - F_2) além das isoxazolidinonas (clomazone - F_4).

O clomazone, o primeiro herbicida importante deste grupo, foi descoberto em 1984 e usado pela primeira vez no estado americano de Iowa, em 1986.

A descoberta deste grupo de herbicidas, que incluem compostos como a mesotrione, tembotrione e isoxaflutole, é atribuído principalmente a observação de propriedades alelopáticas da planta escova-de-garrafa (*Calistemon* spp.) que causava albinismo em algumas espécies de plantas daninhas (Lee et al., 1997). Um outro aspecto interessante relacionado a herbicidas deste grupo diz respeito ao isoxaflutole, cuja atuação no controle das plantas daninhas depende da sua conversão à diquetonitrila. Este fato faz com que o isoxaflutole seja considerado um pró-herbicida.

São translocados apenas pelo floema, com excessão do herbicida amitrole (não registrado no Brasil) que é prontamente translocado tanto pelo xilema quanto pelo

floema. Sua ação herbicida varia de acordo com o grupo químico, podendo ser:

I – Subgrupo F_1 (ex.: norflurazon): ocorre da inibição da enzima fitoeno desaturase;

II – Subgrupo F_2 (ex.: mesotrione, tembotrione, temprazone e isoxaflutole): acontece a inibição da enzima 4-hidroxifenil-piruvato-dioxigenase (HPPD);

III – Subgrupo F_3 (ex.: amitrole): relacionado com mevalonato e o geranil-geranil pirofosfato, porém ainda não é bem esclarecidos (Lee et al., 1997).

IV – Subgrupo F_4 (ex.: clomazone): atuam inibindo a enzima deoxixilulose fosfato sintase (DXP sintase), responsável pela síntese de isoterpenoides, precursores básicos dos carotenoides.

No solo, o principal fator que determina a sorção desses herbicidas é o teor de matéria orgânica. A textura do solo e tem influências secundárias na sorção, e o pH praticamente não tem influências. A decomposição do herbicida acontece principalmente pela atividade de microrganismos do solo, enquanto que a hidrólise e fotólise tem menor grau de importância na degradação.

Outro fator importante a ser ressaltado é que alguns dos herbicidas deste grupo, como norflurazon, fluridone e principalmente o clomazone, que possui considerável pressão de vapor (Senseman, 2007) o que lhe atribui alta volatilidade comparado aos demais (Rodrigues & Almeida, 2011), quando aplicados em pré-emergência, podem causar fitotoxicidade em culturas vizinhas por deriva, em especial quando se trata de horti-frutis. Seu potencial para deriva é maior quando estes herbicidas não são incorporados ao solo.

10.2. Mecanismo e modos de ação

Os herbicidas do grupo F provocam a inibição da síntese de carotenóides, com posterior geração de estresse oxidativo, que destrói as membranas celulares, levando as plantas à morte (Kruse, 2001). O caroteno é um pigmento das plantas responsável, dentre outras funções, pela proteção da clorofila a foto-oxidação.

No subgrupo F_1 encontram-se as piridazinonas (norflurazon), as piridinecarboxamidas (diflufenican,

picolinafen) e o fluridone, os quais são exemplos de herbicidas que bloqueiam a síntese de carotenoides pela inibição da fitoeno desaturase. Sua inibição causa o acúmulo de fitoeno, fenômeno já observado para produtos como o fluridone (Kowalczyk-Schröder & Sandmann, 1992) e norflurazon (Sandmann & Böger, 1989).

Tricetonas, isoxazoles e pirazoles (F_2) são herbicidas que tem como característica inibir a enzima 4-hidroxifenil-piruvato-dioxigenase (HPPD), que é a responsável pela conversão do 4-hidroxifenil-piruvato à homogentisato. Esta é uma reação-chave na síntese de plastoquinona e sua inibição dá início aos sintomas de branqueamento nas folhas que emergem após a aplicação. Esses processos resultam de uma inibição indireta da síntese de carotenóides devido ao envolvimento da plastoquinona como co-fator da fitoeno desaturase (Senseman, 2007).

Amitrole (F_3) inibe o acúmulo de clorofila e de carotenoides na presença de luz, embora o sítio específico de atuação não tenha sido determinado. Aclonifen (F_3) (difeniléter) parece atuar de forma semelhante aos inibidores da síntese de carotenóides, mas o mecanismo exato de ação também não está elucidado.

Evidências recentes sugerem que o clomazone (F_4) é metabolizado para a forma 5-ceto-clomazone pelas hemoproteínas do sistema citocromo P-450 monoxigenase, tornando-se ativa como herbicida (Yun et al., 2005). A forma 5-ceto inibe a 1-deoxi-xilulose 5-fosfatase sintase (DOXP), um composto importante para a síntese de isoprenóides dos plastídeos (Ferhatoglu & Barret, 2006).

O sintoma mais característico encontrado quando se utiliza herbicidas inibidores da síntese de caroteno é o surgimento de folhagem branca após o tratamento, conhecido popularmente por “crescimento albino”. A planta continua crescendo por algum tempo, mas sem a produção de tecidos verdes, posteriormente este crescimento cessa e então começam a aparecer os sintomas de necrose. Esses herbicidas não afetam os carotenoides pré-existentes. Portanto os tecidos formados antes do tratamento não mostram os sintomas típicos de albinismo.

Embora o crescimento das partes novas seja branco, estes herbicidas não inibem diretamente a biossíntese de clorofila. A perda de clorofila é o resultado de sua destruição pela luz (fotooxidação), ou possivelmente pela falta de carotenóides indiretamente causando a interrupção indireta da biossíntese normal de clorofila e do desenvolvimento do cloroplasto (Bramley & Pallet, 1993). Um papel importante dos carotenóides é o de proteger a clorofila da fotooxidação. Depois da clorofila ser sintetizada e se tornar eletronicamente excitada pela absorção de fótons de luz, a mesma é transformada da forma *singlet* para a forma *triplet*, mais reativa. Normalmente a energia desta forma reativa de clorofila é dissipada por meio dos carotenóides. Quando os carotenóides não estão presentes, estas clorofilas no estado *triplet* iniciam reações de degradação, das quais está a destruição da clorofila. Portanto, sem a presença dos carotenóides, as clorofilas não são capazes de se manterem funcionais e estáveis (Oliveira Jr, 2001).

10.3. Utilização dos herbicidas do grupo F: seletividade e controle, sinergismo potencial e manejo de resistência

Os herbicidas inibidores da síntese de carotenos possuem grande importância para o manejo de plantas daninhas. A seletividade para culturas como milho, arroz e algodão associado ao amplo espectro de controle atribuem importância ao grupo de herbicidas.

Uma grande parte do uso comercial de inibidores HPPD ocorre em sistemas de produção de milho. Nos Estados Unidos, em 2010, aproximadamente 42% do total da área cultivada com milho em Illinois foi tratado com um herbicida inibidor de HPPD via solo ou de aplicação foliar (USDA, 2011). No Brasil, a cultura-da-cana de açúcar consome em grande volume esses herbicidas, com exceção do tembotrione.

As recomendações são basicamente:

- I- Mesotrione: milho (pós-emergência);
- II- Tembotrione: milho (pós-emergência);
- III- Isoxaflutole: milho (pré-emergência) e algodão (pós-emergência, jato dirigido);

IV- Clomazone: algodão (pré-emergência) e arroz (pré-emergência).

A seletividade desses herbicidas na cultura do milho tem sido atribuída à absorção reduzida, ao rápido metabolismo, e a insensibilidade enzimática, embora a importância relativa de cada um possa variar de acordo com o herbicida utilizado. Um trabalho realizado com C_{14} por Mitchell et al. (2001) mostrou que a absorção foliar de mesotrione foi entre 55% e 90% em três espécies de ervas daninhas sensíveis, enquanto que na cultura do milho a absorção foi de apenas 45%, 24 horas após o tratamento. Por outro lado, a absorção de topramezone e tembotrione pelo milho de 24 horas após o tratamento não diferiu da absorção das plantas daninhas suscetíveis, sendo cerca de 80% e 86%, respectivamente (Grossmann & Ehrhardt, 2007; Schulte & Köcher, 2009).

Além disso, inibidores de HPPD são, comumente, associados a herbicidas inibidores do FSII para aumentar a eficácia de controle das plantas daninhas, além do espectro de ação, em sistemas de produção de milho. Empregando a equação de Colby (Colby, 1967), alguns autores demonstraram que combinações de inibidores de HPPD e FSII têm efeitos sinérgicos no controle quando aplicados em pós-emergência (Abendroth et al., 2006; Hugie et al., 2008), ou em pré-emergência (Bollman et al., 2006).

Este sinergismo também foi detectado em algumas espécies de plantas daninhas. Apesar de resistente a inibidores do FSII, Sutton et al., (2002) constataram sinergismo entre mesotrione (56 g.i.a. ha⁻¹) e atrazina (126 g.i.a. ha⁻¹) no controle de *Amaranthus retroflexus*. Kruse et al. (2001) em trabalho realizado com associação de clomazone e metribuzin constaram também efeito sinérgico no controle de *Bidens pilosa*.

Com o avanço no número de casos de resistência aos inibidores da ALS e ao glyphosate observado nos últimos anos, os inibidores de carotenos desenvolvem papel fundamental no manejo de plantas daninhas em áreas de produção de grãos, cereais e fibras.

Levando em consideração que o manejo de plantas daninhas nas áreas com culturas RoundUp Ready, Liberty Link são baseados na utilização de praticamente um

mecanismo de ação, a utilização de herbicidas inibidores da síntese de caroteno, durante a safra de inverno, torna-se uma importante ferramenta pois pode quebrar a sequência do ciclo de reprodução de plantas daninhas resistentes/escapes.

10.4. Plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da HPPD

No mundo foram encontradas duas espécies resistentes a este grupo de herbicidas, todas resistentes aos herbicidas mesotrione, tembotrione, do grupo das tricetonas, e topramezone, do grupo das pirazolones, sendo que apenas os dois primeiros têm registro no Brasil. Os casos se concentram nos Estados Unidos, mais especificamente nos estados de Nebraska e Kansas, envolvendo *Amaranthus palmeri*, além dos estados de Illinois, Iowa, Missouri e Nebraska, envolvendo *Amaranthus tuberculatus*, sendo os mesmos, tanto o caso com *A. palmeri* quanto o com *A. tuberculatus*, relatados entre os anos de 2009 e 2011. Ainda não foi relatado nenhum caso envolvendo o herbicida isoxaflutole, do grupo químico das isoxazoles (Heap, 2016; Schultz et al., 2015; Jhala et al., 2014; McMullan & Green, 2011; Hausman et al., 2011). Acredita-se que a evolução da resistência das espécies de *Amaranthus* deve-se a probabilidade inerente da espécie em desenvolver resistências múltiplas a herbicidas (Bradley, 2013; Hausman et al., 2011; Legleiter & Bradley 2008).

10.5. Utilização como alternativa de controle a plantas daninhas resistentes

Os herbicidas inibidores da síntese de caroteno têm ganhado grande destaque no cenário brasileiro, e o seu uso vem sendo cada vez mais frequente, inclusive como alternativa de controle de espécies de plantas daninhas resistentes a herbicidas de outros mecanismos de ação.

Sutton et al., (2002) observaram que o herbicida mesotrione obteve ótimos resultados no controle de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ALS e FSII, sem deixar de ser seletivo a cultura do milho. O trabalho mostra que o herbicida mesotrione, na dose de 150 g ha⁻¹, obteve controle de plantas resistentes a FSII como, por exemplo, *Chenopodium álbum*, *Amaranthus* spp., *Solanum*

nigrum, bem como espécies de plantas daninhas com resistência acetolactase sintase (ALS), por exemplo *Xanthium strumarium*, *Amaranthus* spp e *Sonchus* spp. Estes resultados comprovam que os biótipos resistentes e suscetíveis das espécies citadas foram controlados pelo mesotrione. Scarpari et al. (2006) observaram que o mesotrione é uma alternativa de pós-emergência para o manejo de *Bidens pilosa* resistente aos herbicidas inibidores da ALS, na cultura do milho

Para Vidal et al. (1999) o herbicida isoxaflutole, indicados para aplicação no solo, pode ser utilizado nas culturas em sucessão, para minimizar a população de plantas resistentes a outros herbicidas, permitindo diversidade de estratégias para a prevenção de resistência. Costantin et al. (2004), por sua vez, indicaram a aplicação em pré-emergência de isoxaflutole como uma alternativa eficiente para controle de *Bidens pilosa* resistente a ALS. Ainda, o uso de mesotrione em milho é geralmente acompanhado de atrazina. Não raramente, por motivos de custo e agronômicos, o isoxaflutole tem seu uso em cana-de-açúcar complementado por ametrina. Estas práticas de manejo, que associam o uso de herbicidas, contribuem para redução da possibilidade de surgimento de biótipos resistentes.

No Brasil ainda não existem relatos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da HPPD, o que o torna uma ferramenta importante para o futuro seria a introdução de cultivares resistentes a herbicidas inibidores da HPPD. A capacidade que estes herbicidas possuem de controlar uma vasta gama de plantas daninhas, seja gramínea ou folha larga, levou as empresas a desenvolverem uma cultivar de soja resistente a estes herbicidas (Matringe et al. 2005; Young, 2009). A vantagem da soja resistente a HPPD é que as plantas daninhas resistentes a outros grupos de herbicidas podem ser controladas pelo herbicida isoxaflutole (Keller, 2013), proporcionando assim aos produtores um novo mecanismo de ação para combater ervas daninhas resistentes ao glifosato, controle amplo espectro de controle além atividade residual do solo. Outras empresas estão envolvidas no desenvolvimento de cultivares resistentes aos herbicidas isoxaflutole, mesotrione e glufosinato. Green et al.

(2011) sugere que herbicidas inibidores de caroteno possam ser a combinados com glifosato.

10.6. Considerações finais

No Brasil ainda não existem relatos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da HPPD, porém duas espécies (*Amaranthus palmeri* e *Amaranthus tuberculatos*) já apresentam resistência aos herbicidas mesotrione e tembotrione nos Estados Unidos. Como estes dois herbicidas estão sendo cada vez mais utilizados para o controle de plantas daninhas no Brasil, a pressão de seleção irá aumentar e consequentemente o risco de selecionar um biótipo resistente será maior.

Estes herbicidas são uma alternativa importante para o controle de plantas daninhas, e se a pressão de seleção for mantida através do uso contínuo, a resistência aos herbicidas logo tornará a ferramenta ineficaz.

Adotando técnicas de manejo, como rotação de herbicidas e planejamento de aplicação, pode-se prevenir a seleção de biótipos resistentes e assim manter os herbicidas inibidores da HPPD como uma importante ferramenta no controle das plantas daninhas no Brasil.

10.7. Referencias bibliográficas

- ABENDROTH, J. A.; MARTIN, A. R.; ROETH, F. W. Plant response to combinations of mesotrione and photosystem II inhibitors. **Weed Technol.**, v. 20, n. 1, p. 267-274, 2006.
- BOLLMAN, S. L.; KELLS, J. J.; PENNER, D. Weed response to mesotrione and atrazine applied alone and in combination preemergence. **Weed Technol.**, v. 20, n. 4, p. 903-907, 2006.
- BRAMLEY, P.M. PALLET, K.E. Phytoene desaturase: a biochemical target of many herbicides. **Proc. Brighton Crop Protection Conference, Weeds**. p.713-722, 1993.
- BRADLEY, K. W. Herbicide resistance in the Midwest: current status and impacts. **Weed Sci. Soc. Am. Abstr.** 271. Accessed November 15, 2013.
- COLBY, S. R. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations. **Weeds**, v. 15, n. 1, p. 20-22, 1967.
- CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR, R.S.; PAGLIARI, P.H.; CARREIRA, S.A.M.; ALONSO, D.G. Aplicação seqüencial de isoxaflutole + [foramsulfuron + iodosulfuron methyl sodium] no

- controle de picão resistente a inibidores da ALS. **Boletim Informativo SBPCD**, v.10, Suplemento, p.261, 2004.
- FERHATOGLU, Y. & BARRET, M., Studies of clomazone mode of action. **Pestic Biochem Physiol**, 85:7-14, 2006.
- GREEN, J. M.; OWEN, M. D. K. Herbicide-resistant crops: Utilities and limitations for herbicide-resistant weed management. **J. Agric. Food Chem.**, v. 59, n. 11, p. 5819-5829, 2011.
- GROSSMANN, K.; EHRHARDT, T. On the mechanism of action and selectivity of the corn herbicide topramezone: a new inhibitor of 4 hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. **Pest Manage. Sci.**, v. 63, n. 5, p. 429-439, 2007.
- HAUSMAN, N. E.; SINGH, S.; TRANEL, P. J.; RIECHERS, D. E.; KAUNDUN, S. S.; POLGE, N. D.; THOMAS, D. A.; HAGER, A. G. Resistance to HPPD-inhibiting herbicides in a population of waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) from Illinois, United States. **Pest. Manag. Sci.** 67:253–261, 2011.
- HEAP, I. **The international survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: <http://www.weedscience.org>. Acesso em: 14 de abril de 2016.
- HUGIE, J. A.; BOLLERO, G. A.; TRANEL, P. J.; RIECHERS, D. E. Defining the rate requirements for synergism between mesotrione and atrazine in redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*). **Weed Sci.**, v. 56, n. 2, p. 265-270, 2008.
- JHALA, A. J.; SANDELL, L. D.; RANA, N.; KRUGER, G. R.; KNEZEVIC, S. Z. Confirmation and control of triazine and 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase-inhibiting herbicide-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) in Nebraska. **Weed Technol.** 28:28–38, 2014.
- KELLER, R. 2013. FG72 soybeans resistant to an HPPD herbicide. Ag Professional. Disponível em: <<http://www.agprofessional.com/news/FG72-soybeans-resistant-to-an-HPPD-herbicide-189178531.html>>. Acesso em: 15 de Abril de 2016.
- KOWALCZYK-SCHRÖDER, S.; SANDMANN, G., Interference of uridone with desaturation of phytoene by membranes of the cyanobacterium *Aphanocapsa*. **Pest Biochem Physiol**, 42:7_12, 1992.
- KRUSE, N.D. Inibidores da síntese de carotenóides. In: VIDAL, R.A.; MEROTTO JÚNIOR, A. (Ed.). **Herbicidologia**. Porto Alegre, 2001. p.131- 122a.
- KRUSE, N. D.; VIDAL, R. A.; BAUMAN, T. T.; TREZZI, M. M. Sinergismo potencial entre inibidores do fotossistema II e da síntese de carotenóides. **Ciência Rural**. v.31, n.4, p.569-575, 2001b.

- LEE, D. L.; PRISBYLLA, M. P.; CROMARTIE, T. H.; DAGARIN, D. P.; HOWARD, S. W.; PROVAN, W. M. L.; ELLIS, M. K.; FRASER, T.; MUTTER, L. C. The discovery and structural requirements of inhibitors of p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. **Weed Sci.**, v. 45, n. 5, p. 601-609, 1997.
- LEGLEITER, T. R.; BRADLEY, K. W. Glyphosate and multiple herbicide resistance in common waterhemp (*Amaranthus rudis*) populations from Missouri. **Weed Sci.** 56:582–587, 2008.
- MATRINGE, M.; SAILLAND, A.; PELISSIER, B.; ROLLAND, A.; ZINK, O. p-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitor-resistant plants. **Pest Manag. Sci.**, v. 61, n. 3 p. 269-276, 2005.
- McMULLAN, P. M.; GREEN, J. M. Identification of a tal waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) biotype resistant to HPPD-inhibiting herbicides, atrazine, and thifensulfuron in Iowa. **Weed Technol.** 25:514–518, 2011.
- MITCHELL, G., BARTLETT, D. W.; FRASER, T.; HAWKES, T. R.; HOLT, D. C.; TOWNSON, J. K.; WICHERT, R. A. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. **Pest Manage. Sci.**, v. 57, n. 2, p. 120-128, 2001.
- OLIVEIRA JR, R.S.; Mecanismos de ação de herbicidas. In: Rubem Silvério de Oliveira Jr.; Jamil Constantin. (Org.). **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba, RS: Livraria e Editora Agropecuária, 2001, v. , p. 207-260.
- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 6.ed. Londrina: Edição dos Autores, 2011.
- SANDMANN, G.; BÖGER, P., Inhibition of carotenoid biosynthesis by herbicides. In: BÖGER, P.; SANDMANN, G. (Eds.), **Target sites of herbicide action**. Boca Raton, EUA: CRC Press, p. 25_44, 1989.
- SCARPARI, L.G.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Manejo de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) resistente aos herbicidas inibidores da ALS, com herbicidas pós-emergentes na cultura de milho. In. CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 25., Brasília, 2006. **Resumos Expandidos...** SBCPD: Brasília, 2006. 4 p. (CD-ROM).
- SCHULTE, W.; KÖCHER, H. Tembotrione and combination partner isoxadifen-ethyl—mode of herbicidal action. **Bayer CropScience Journal**, v. 62, n. 1, p. 35-52, 2009.
- SCHULTZ, J.L.; CHATHAM, L. A.; RIGGINS, C. W.; TRANEL, P. J.; BRADLEY, K. W. Distribution of herbicide resistances and molecular mechanisms conferring resistance in Missouri waterhemp (*Amaranthus rudis* Sauer) populations. **Weed Sci** 63:336–345, 2015.

- SENSEMAN, S.A. **Herbicide handbook**. 9.ed. Lawrence: Weed Science Society of America, 2007. 458p.
- SUTTON, P.; RICHARDS, C.; BUREN, L.; GLASGOW, L. Activity of mesotrione on resistant weeds in maize. **Pest Manage. Sci.**, v. 58, n. 9, p. 981-984, 2002.
- USDA/NASS. 2011. Statistics by Subject-Environmental. Disponível em:
<http://www.nass.usda.gov/Statistics_by_subject/Environmental/index.asp>. Acesso em: 01 de Abril de 2016.
- VIDAL, R.A.; MEROTTO JR, A.; FLECK, N.G. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas de menor risco para desenvolver o problema. CURSO DE MANEJO DA RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS, 2., Ponta Grossa, 1999. **Anais...** Ponta Grossa: AEACG, 1999. p.68-72.
- YOUNG, B. 2009. Recent and future soybean traits that impact weed management. Southern Illinois University. Indiana Certified Crop Advisor Conference Proceedings. Disponível em:
<<http://www.agry.purdue.edu/cca/2009/index.htm>>. Acesso em: 10 de abril de 2016.
- Yun, M.S.; Yogo, Y.; Miura, R.; Yamasue, Y. & Fischer, A.J., Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and -susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). **Pestic Biochem Physiol**, 83:107_114, 2005.

CAPÍTULO 11

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS INIBIDORES DA EPSPs (Grupo G)

Pedro Jacob Christoffoleti
Marcelo Nicolai
Marcel Sereguin Cabral de Melo
Danilo Carvalho Pereira da Silva
Caio Augusto de Castro Grossi Brunharo

11.1. Introdução

O glyphosate é o herbicida mais utilizado no mundo, e vem sendo aplicado há mais de 40 anos nos mais variados sistemas de produção. A adoção de culturas resistentes a este herbicida e a queda da sua patente no ano de 2000 podem ser citados como fatores decisivos para sua ampla aceitabilidade e adoção (Duke & Powles, 2008; Gianessi, 2004).

As plantas daninhas, como quaisquer outros seres vivos, estão continuamente evoluindo, portanto, sujeitas à seleção natural. A resistência de plantas daninhas a herbicidas nada mais é do que a seleção natural atuando em uma população selvagem devido à ação de um agente selecionador. O resultado dessa seleção, neste caso a presença de biótipos resistentes, vem sendo um dos maiores desafios nos sistemas agrícolas recentemente, sobretudo pelo fato de um número exponencial de novos casos de resistência terem sido reportados nas últimas décadas nos mais diversos sistemas de produção, associados principalmente à alta dependência de herbicidas (Jasieniuk et al., 2008). Até o momento, 977 biótipos de plantas daninhas em 65 países foram identificadas como sendo resistentes a herbicidas em pomares, lavouras, pastagens e áreas não agrícolas (Heap, 2016).

O conhecimento do mecanismo de resistência de plantas daninhas a herbicidas é necessário para a determinação de práticas de manejo que previnam a ocorrência de novos biótipos resistentes em outras áreas e, principalmente, para o estabelecimento de programas de

manejo preventivo à seleção de biótipos resistentes, além da determinação das práticas de controle das plantas resistentes já selecionadas (Merotto Jr. et al., 2010). Somente a partir da integração do conhecimento das características genéticas, bioecológicas e agronômicas, será possível fazer o planejamento adequado dos sistemas de produção como um todo para que a sustentabilidade do sistema agrícola seja atingida.

11.2. Mecanismo de ação e resistência ao glifosato

O glifosato tem como mecanismo de ação a inibição da 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) (EC 2.5.1.19), que é a responsável pela reação de conversão do chiquimato-3-fosfato e fosfoenolpiruvato em EPSP e fosfato inorgânico, na rota do ácido chiquímico (Geiger & Fuchs, 2002). Segundo Boudet et al. (1985), esta rota metabólica pode ser responsável por cerca de 20% de todo o fluxo de carbono e 35% de todos os compostos fenólicos produzidos na planta. A inibição da EPSPS resulta no acúmulo de ácido chiquímico nas plantas e na redução da biossíntese de aminoácidos aromáticos, como triptofano, tirosina e fenilalanina, fundamentais na alocação do carbono nas plantas, além de interferir na produção de flavonas, isoflavonas, antocianinas, taninos condensados, ligninas e outros compostos fundamentais para o desenvolvimento vegetal (Amrhein et al., 1980; Taiz & Zeiger, 2009).

A enzima EPSPs, segundo Velini et al. (2012), possui elevado nível de conservação entre espécies vegetais, ou seja, ela está presente em grande parte dos vegetais de uma forma pouco mutada nas regiões em que o herbicida atua, característica esta que confere ao glyphosate amplo espectro de ação sobre os vegetais e pouca seletividade.

Dentre as características do herbicida glyphosate que intensifica seu uso na agricultura está a capacidade de translocar das diversas partes do tecido vegetal para os meristemas, raízes e órgãos de propagação vegetativa, inibindo a ação da EPSPS (Amrhein et al., 1980). Os genes que expressam a EPSPs são mais ativos nos meristemas, seguidos por colmos, folhas maduras e cotilédones (Weaver & Hermann, 1997). Trabalho realizado por Feng et al. (2003)

evidenciou que existe íntima relação entre a expressão da EPSPs no tecido vegetal e a suscetibilidade ao glyphosate.

Os mecanismos que conferem a resistência de plantas daninhas ao glyphosate podem ser divididos em duas classes: (a) relacionados ao sítio de ação (chamada também de específica) e (b) não relacionados ao sítio de ação (chamada também de não-específica). No primeiro caso, o herbicida atinge o sítio de ação, mas não consegue inibir a enzima do biótipo resistente, como acontece com os biótipos resistentes ao glyphosate que possuem mutação na posição 106 da EPSPs, onde pode haver uma substituição do aminoácido prolina por uma serina, threonina, alanina ou leucina, mudando a forma com que o glyphosate se “acopla” à EPSPs (Perez-Jones et al., 2007; Funke et al., 2009). Há também casos em que o herbicida é capaz de realizar sua função, ou seja, inibir a ação da EPSPS, mas os biótipos resistentes possuem a habilidade de produzir mais EPSPS do que o glyphosate é capaz de inibir, conhecida como superexpressão gênica ou possuir um maior número de genes que codificam a EPSPS distribuídos no genoma da planta (Gaines et al., 2010). Quanto à resistência não relacionada ao sítio de ação, existem diversos mecanismos que conferem ao biótipo resistente a habilidade de sobreviver após uma aplicação de glyphosate: baixa absorção, baixa translocação, compartimentalização do herbicida no vacúolo e metabolismo do herbicida (Délye, 2011; YUAN et al., 2006).

Segundo revisão realizada por Shaner (2009), existem duas principais formas em que o glyphosate pode entrar na célula vegetal: uma seria baseada em um sistema ativo, podendo ter a ajuda de um carreador, e outra é realizada passivamente. Plantas de *Catharanthus roseus*, *Zea mays*, *Glycine max* e *Vicia faba*, foram submetidas a aplicações de glyphosate e mostraram que, a baixas concentrações, a entrada do glyphosate na célula podia ocorrer contra o gradiente de concentração que varia entre 3 a 50uM. Acima de 50uM, o glyphosate teve entrada linear na célula comparada com a concentração externa, mesmo com a adição de moléculas competidoras na entrada deste na célula, como fosfato de sódio (Denis & Delrot, 1993)

Alacón-Reverte et al. (2013), por exemplo, estudaram biótipos de capim-arroz (*Echinochloa colona*) oriundos do norte da Califórnia quanto a sua suscetibilidade ao glyphosate. Primeiramente, foi feito um experimento de dose-resposta e encontraram fator de resistência de 6,6, ou seja, a razão entre a dose de glyphosate necessária para reduzir o crescimento em 50% do biótipo resistente pelo suscetível foi 6,6 ou, em outras palavras, foram necessárias 6,6 vezes mais herbicida aplicado no biótipo resistente para igualar um dano de 50% causado ao biótipo suscetível. Em seguida, foi feito o experimento de acúmulo de chiquimato através da metodologia de Shaner et al. (2005), e esse fator de resistência se reduziu para 5,0, quando estes foram quantificados quatro dias após a aplicação de glyphosate. A metodologia de avaliação do acúmulo de chiquimato por meio de discos foliares é muito utilizada como um experimento complementar quando se intenciona descobrir o mecanismo de resistência ao glyphosate, uma vez que o não acúmulo de ácido chiquímico pode se correlacionar com a insensibilidade da EPSPs, indicando a possível mutação no gene que a codifica, ou mesmo amplificação gênica no código genético. Em seguida, com a finalidade de encontrar o mecanismo de resistência, foi realizado um experimento para avaliar a absorção e translocação do herbicida aplicado em uma folha para o restante da planta, e foi concluído que não havia diferenças nem na absorção nem na translocação entre os biótipos resistente e suscetível. Por fim, através de técnicas moleculares, foi realizado o sequenciamento parcial do gene que codifica a EPSPs, e foi encontrada uma mutação na posição 106, com substituição do aminoácido prolina por uma serina, mas esta substituição pode também ser por outro aminoácido, como threonina, alanina ou leucina (Perez-Jones et al., 2007; Preston et al., 2009). Essa mesma mutação é também documentada por Perez-Jones et al. (2007) na planta daninha *Lolium multiflorum*, em biótipos do Chile e EUA. Apesar desse mecanismo de resistência conferir baixo fator de resistência comparado com aquele que as culturas geneticamente modificadas possuem, as plantas daninhas com esse tipo de mutação são capazes de sobreviver após a

exposição à dose recomendada de campo (Padgett et al., 1996).

Segundo Shaner (2009), a absorção reduzida e consequente translocação diferencial pode ser devido a quatro fatores: (a) alteração do transportador de fosfato responsável por levar o glyphosate até o interior da célula por transporte ativo, podendo essa alteração ser total, ou seja, o transportador não mais reconhece o glyphosate; (b) evolução de um novo transportador que carrega o glyphosate para o vacúolo, prevenindo o glyphosate de atingir tanto o floema quanto o cloroplasto; (c) evolução de um novo transportador, que bombeia o glyphosate por transporte ativo para fora da célula diretamente para o apoplasto e; (d) evolução de um transportador na membrana do cloroplasto que bombeia o glyphosate para fora do cloroplasto, prevenindo que o herbicida atinja o sítio de ação. A absorção e/ou translocação diferencial pode conferir resistência a plantas daninhas com fatores de resistência que variam entre 3 e 10.

Xia et al. (2010) encontram um novo indício que fornece maiores elucidações de como a translocação diferenciada entre biótipos suscetíveis e resistentes ocorre. Utilizando-se de glyphosate marcado em seu átomo ^{31}P e NMR (Nuclear Magnetic Resonance), os autores avaliaram o comportamento do herbicida dentro de biótipos resistentes e suscetíveis de buva (*Conyza canadenses*) ao longo do tempo *in vivo*. Na avaliação de 24 horas após o tratamento dos biótipos com glyphosate, constatou-se a presença de 85% do herbicida dentro dos vacúolos do biótipo resistente, enquanto que apenas 15% foi constatado nos vacúolos do biótipo suscetível. Esses dados explicam a diminuta translocação observada por Feng et al (2004) em biótipos dessa mesma espécie. O transporte do citoplasma para o vacúolo, uma vez que a barreira do tonoplasto deve ser quebrada, é explicada pela existência de uma proteína carregadora em maior concentração/específica do biótipo resistente (Yuan et al., 2006).

No caso de mecanismos de resistência específica, o herbicida atinge o sítio de ação, mas não consegue inibir a enzima do biótipo resistente, como acontece com os biótipos resistentes ao glyphosate que possuem mutação na posição

106 da EPSPs, onde pode haver uma substituição do aminoácido prolina por uma serina, threonina, alanina ou leucina, mudando a forma com que o glyphosate se “acopla” à EPSPS (Perez-Jones et al., 2007; Preston et al., 2009; Funke et al., 2009). Há também casos em que o herbicida é capaz de realizar sua função, ou seja, inibir a ação da EPSPs, mas os biótipos resistentes possuem a habilidade de produzir mais EPSPs do que o glyphosate é capaz de inibir, conhecida como superexpressão gênica (Gaines et al., 2010).

11.3. Aspectos das principais plantas daninhas resistentes ao glifosato no Brasil

No Brasil, até o momento, foram confirmadas 41 espécies de plantas daninhas resistentes a herbicidas (Heap, 2016), que incluem os inibidores da ALS (Gazziero et al., 1998), inibidores da ACCase (Vidal et al., 2006; López-Ovejero et al., 2005), auxinas sintéticas (Andres et al., 2007), inibidores da EPSPs (Brunharo et al., 2015), inibidores da PPO (Trezzi et al., 2006) e inibidores do fotossistema II (Francischini et al., 2012).

Desde a ampla adoção de culturas geneticamente modificadas com resistência ao glyphosate, bem como a ampla adoção de um sistema agrícola dependente desse ingrediente ativo, biótipos resistentes ao glyphosate vêm sendo selecionados em culturas como milho, soja e pomares diversos. No Brasil, foram identificados biótipos de buva [*Conyza bonariensis* (L.) Cronquist] (Vargas et al., 2007), voadeira [*Conyza canadensis* (L.) Cronquist] (Lamego & Vidal, 2008; Moreira et al., 2007), avoadinha [*Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker] (Santos, 2012), azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) (Roman et al., 2004; Vargas et al., 2004), capim-amargoso [*Digitaria insularis* (L.) Fedde] (Carvalho et al., 2011), capim-branco (*Chloris elata* Desv.) (Brunharo et al., 2015), capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) (Takano et al., 2016).

Recentemente, Melo (2016) realizou mapeamento de capim-amargoso e avaliação da frequência com que populações dessa planta daninha resistentes ao glifosato estavam presentes nas principais regiões produtoras do Brasil. No total, 686 amostras foram analisadas, e populações

resistentes foram encontradas em 39 municípios em Paraná, 3 no estado de São Paulo, 2 em Minas Gerais, 1 em Goiás e 9 em Mato Grosso. O autor, ainda, estudou quais os mecanismos de resistência que possivelmente estão envolvidos na resistência de capim-amargoso ao glifosato provindos das regiões de Matão-SP, Campo Florido-MG e Diamantino-MT, e encontrou que a absorção e translocação diferencial, bem como mutação na posição 106 da EPSPS, não estão associadas ao mecanismo de resistência. Por outro lado, Carvalho et al. (2012), estudando uma população resistente de capim-amargoso proveniente do estado de São Paulo, encontraram que a menor absorção de herbicida, maior retenção de herbicida na folha tratada, metabolismo e mutação na EPSPS são os mecanismos de resistência de capim-amargoso ao glifosato.

As práticas de manejo adotadas pelos produtores estão diretamente relacionadas com a seleção de biótipos resistentes de plantas daninhas, assim como os seus mecanismos de resistência. O uso de doses de herbicida maiores do que as recomendadas geralmente elimina a maioria dos indivíduos presentes na população, mas seleciona alguns poucos e raros indivíduos que carregam genes que permitirão sua sobrevivência na presença do herbicida, como mutações na EPSPS. Por outro lado, o uso de baixas doses pode selecionar aos poucos genes que conferem baixa resistência a herbicidas, mas que com o tempo, especialmente em espécies de polinização cruzada, esses genes se acumulam na população, como é o caso dos mecanismos de resistência não específicos. Considerando-se que as práticas agronômicas adotadas pelos produtores, principalmente relacionadas às práticas de manejo adotadas, estão diretamente relacionadas com a seleção de biótipos resistentes e também o mecanismo de resistência destes mesmos biótipos, pode-se inferir que estas populações de capim-amargoso acima estudadas provavelmente foram selecionadas em sistemas de produção distintos.

Brunharo et al. (2015) estudaram 89 populações de capim-branco provenientes dos estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraná e Minas Gerais, e concluíram que duas populações eram resistentes ao glifosato, uma proveniente de

Paraná e outra de São Paulo, e estudaram a população de São Paulo em maiores detalhes para verificarem quais são os mecanismos de resistência ao glifosato. Os autores concluem que a absorção reduzida e a reduzida translocação para as partes vegetativas da planta estão relacionadas ao mecanismo de resistência desse biótipo, e mutação na posição 106 da EPSPS, aumento no número de cópias da EPSPS no genoma e superexpressão gênica da EPSPS não foram observadas. Esses resultados são semelhantes ao de Carvalho et al. (2012), que observaram que o biótipo resistente de capim-amargoso absorveu 12% menos glifosato que o biótipo suscetível. Estudando biótipos resistentes e suscetíveis de *Lolium rigidum*, Adu-Yeboah et al. (2014) descobriram que os biótipos resistentes, após 48 horas passadas dos tratamentos, retinham duas vezes mais ¹⁴C-glyphosate nas folhas tratadas do que os biótipos suscetíveis, e concluíram que este era o mecanismo de resistência desse biótipo.

11.4. Uso de culturas transgênicas para a resistência ao glifosato e implicações na resistência

A década passada vivenciou uma revolução mundial na maneira como se produzia alimentos, graças ao advento e ampla adoção de culturas geneticamente modificadas (Powles & Yu, 2010), com destaque para soja, milho e algodão resistente ao herbicida glyphosate. Este fenômeno resultou, entretanto, na dependência do manejo químico de pestes na agricultura, em especial o uso do glyphosate como principal forma de manejo das plantas daninhas.

Existem dois tipos de EPSPs documentadas na literatura, baseadas conforme sua sensibilidade ao glyphosate: a classe I é encontrada em todas as plantas e em algumas bactérias, e sua atividade é inibida sob baixas concentrações de glyphosate (Franz et al., 1997). A EPSPs classe II, encontrada também em espécies de bactérias, inclusive *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Agrobacterium* sp. Strain CP4, são dotadas da habilidade de continuar sua atividade catalítica mesmo na presença de altas concentrações do herbicida em questão (Dillet et al., 2008; Funke et al., 2005; Priestman et al., 2005). Essa maior

habilidade se dá devido a uma substituição na posição do gene que codifica a EPSPS, onde uma alanina é substituída por uma glicina. Essa substituição interfere fisicamente no acoplamento do glifosato junto com a EPSPS, de forma que o radical metil da alanina se colide com o oxigênio do grupo fosfórico do glifosato, evitando assim sua ação (Funke et al., 2005).

A primeira cultura agrícola liberada para a comercialização contendo o gene de resistência ao glifosato foi a soja, em 1998, seguida pelo milho e o algodão, ambos em 2008 (CTNBio, 2016). Essas culturas carregam o gene *cp4 epsps*, naturalmente presente em *Agrobacterium tumefaciens*, e codificam uma versão da proteína EPSPS que possui menor afinidade para o glifosato. A rápida adoção dessas culturas, porém outro lado, a alta dependência de um único mecanismo de ação para o manejo de plantas daninhas levou à seleção do primeiro biótipo resistente ao glifosato no Brasil, o azevém, em 2003 (Heap, 2016).

Nesse cenário, é imprescindível que novas medidas de controle sejam desenvolvidas. Na realidade, a palavra “nova” não é totalmente correta nesse contexto, podendo ser substituída por “esquecidas no passado”, como a utilização de herbicidas pré-emergentes na pré-semeadura/semeadura das culturas anuais, associação de herbicidas para a dessecação e utilização de herbicidas seletivos alternativos e/ou associados ao glyphosate, mesmo quando da adoção de culturas geneticamente modificadas para a resistência ao glyphosate. De modo geral, para evitar o surgimento de espécies resistentes em uma área agrícola é necessária a redução da pressão de seleção na população por meio de práticas agrícolas como rotação de culturas, rotação de herbicidas, associação de ingredientes ativos de diferentes mecanismos de ação, e tudo isso de nada adianta se não forem práticas coletivas e em conjunto com os agricultores da região, uma vez que certas espécies de plantas daninhas possuem sementes que são dispersas por muitos quilômetros (Inoue & Oliveira Jr., 2011).

Apesar de as associações de herbicidas juntamente com o glifosato ser uma das medidas de manejo mais adotadas por produtores, essas medidas não resultam em

total eliminação das possibilidades de seleção de biótipos resistentes. A associação de glifosato exclusivamente com herbicidas como paraquat, por exemplo, resultou na seleção de biótipos de azevém com resistência múltipla (Yu et al., 2007). Nesse contexto, o manejo integrado com técnicas culturais, mecânicas e manejo químico deve ser adotado. Neve et al. (2011), através de modelos matemáticos, mostrou que a rotação de culturas resistentes ao glyphosate com culturas resistentes a glufosinate ou cultivares convencionais reduz o número de aplicações de glyphosate durante o ano. Nesse estudo, as chances de surgimento de biótipos resistentes de Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) se reduziram em 50%, quando comparado com a utilização apenas de culturas resistentes ao glyphosate.

Johnson et al. (2012) estudaram diversas táticas visando reduzir a pressão de seleção sobre plantas daninhas em área semeada com soja transgênica para a resistência ao glyphosate, e concluíram que a aplicação de herbicidas em pré-emergência das plantas daninhas e da cultura seguidos por uma aplicação de glyphosate resultaram nos melhores tratamentos para o controle de plantas daninhas de folha larga (*Chenopodium album*, *Amaranthus rudis* e *Ambrosia trifida*) e não constatarem redução na produtividade da cultura.

11.5. Considerações finais

A existência de biótipos resistentes ao glifosato é, hoje, uma realidade nos sistemas de produção brasileiros, e o entendimento de como manejá-los e entendê-los é de extrema importância para que perdas na produtividade sejam evitadas. O glifosato é parte integrada dos sistemas de produção brasileiros, e sua utilização, sem dúvida, traz diversos benefícios aos produtores. Porém, esta ferramenta deve ser utilizada com consciência, sempre utilizando-o como parte do manejo de plantas daninhas, e não como ferramenta única.

11.6. Referências bibliográficas

ADU-YEBOAH, P.; MALONE, J. M.; GILL, G.; PRESTON, C. Reduced translocation in two glyphosate-resistant populations of Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*) from fence lines in south Australia. **Weed Science**, Lawrence, v. 62, p. 4-10, 2014.

- ALACÓN-REVERTE, R.; GARCÍA, A.; URZÚA, J.; FISCHER, A. Resistance to glyphosate in junglerice (*Echinochloa colona*) from California. **Weed Science**, Lawrence, v. 61, n. 1, p. 48-54, 2013.
- AMRHEIN, N.; DEUS, B.; GEHRKE, P.; STEINRUCKEN, H.C. The site of inhibition of the shikimate pathway by glyphosate, II: interference of glyphosate with chorismate formation in vivo and in vitro. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 66, p. 830-834, 1980.
- ANDRES, A. et al. Detecção da resistência de capim-arroz (*Echinochloa* sp.) ao herbicida quinclorac em regiões orizícolas do sul do Brasil. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 221-226, 2007.
- BOUDET, A.M.; GRAZIANA, A.; RANJEVA, R. Recent advances in the regulation of the prearomatic pathway. In: VAN SUMERE, C.F.; LEA, P. J. (Ed.). **Biochemistry of plant phenolics**. Oxford: Claredon Press, 1985. p. 135-159.
- BRUNHARO, C. A. C. G.; PATTERSON, E. L.; CARRIJO, D. R.; MELO, M. S. C.; NICOLAI, M.; GAINES, T. A.; NISSEN, S. J.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Confirmation and mechanism of glyphosate resistance in tall windmill grass (*Chloris elata*) from Brazil. *Pest Management Science*, Malden, DOI: 10.1002/ps.4205.
- CARVALHO, L.B.; ALVES, P.L.C.A.; GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; CRUZ-HIPOLITO, H.E.; ROJANO-DELGADO, A.M.; DE PRADO, R. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v. 60, p. 615-622, 2012.
- Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio. 2016. Disponível em: <http://ctnbio.mcti.gov.br/documents/566529/1684467/TabelasPlantas.pdf/c76ebc01-fa7d-4524-9c9b-92163393ce6d?version=1.0>. Acesso em: 01/04/2016.
- DÉLYE, C. Unravelling the genetic bases of non-target-site-based resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forthcoming decade. **Pest Management Science**, Malden, v. 69, p. 176-187, 2011.
- DENIS, M-H.; DELROT, S. Carrier –mediated uptake of glyphosate in broad bean (*Vicia faba*) via phosphate transporter. **Physiology Plantarum**, Stockholm, v. 87, p. 569-575, 1993.
- DILL, G.M.; JACOB, C.A.; PADGETTE, S.R. Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. **Pest Management Science**, Malden, v. 54, p. 326-331, 2008.

- DUKE, S.O.; POWLES, S.B. Glyphosate: a once in a century herbicide. **Pest Management Science**, Malden, v. 64, p. 319–325, 2008.
- FENG, P.C.C.; CHIU, T.; SAMMONS, R.D. Glyphosate efficacy is contributed by its tissue concentration and sensitivity in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v. 77, p. 83–91, 2003.
- FENG, P.C.; TRAN, M.; CHIU, T.; SAMMONS, D.; HECK, G.R.; CAJACOB, C.A. Investigation into GR horseweed (*Conyza Canadensis*): retention, uptake, translocation and metabolism. **Weed Science**, Lawrence, v. 52, p. 498-505, 2004.
- FUNKE, T.; HAN, H.; HEARLY-FRIED, M.L.; FISHER, M.; SCHONBRUNN, E. Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup ready crops. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 103, p. 13010-13015, 2005.
- FRANCISCHINI, A. C.; OLIVEIRA Jr., R.S.; CONSTANTIN, J. Primeiro relato de resistência a herbicidas em espécies de caruru no Brasil. **Informe técnico PGA-UEM**, Maringá, v. 1, n. 2, p. 1-4, nov. 2012.
- FRANZ, J.E.; MAO, M.K.; SIKORSKI, J.A. **Glyphosate**: a unique global herbicide. Washington: American Chemical Society. 1997. 678 p.
- GAINES, T.A.; ZHANG, W.; WANG, D.; BUKUN, B.; CHISHOLM, S.T.; SHANER, D.L.; NISSEN, S.J.; PATZOLDT, W.L.; TRANEL, P.J.; CULPEPPER, A.S.; GREY, T.L.; WEBSTER, T.M.; VENCILL, W.K.; SAMMONS, R.D.; JIANG, J.; PRESTON, C.; LEACH, J.E.; WESTRA, P. Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 107, p. 1029–1034, 2010.
- GEIGER, D.R.; FUCHS, M.A. Inhibitors of aromatic amino acid biosynthesis (glyphosate). In: BÖGER, P.; WAKABAYASHI, K.; HIRAI, K. (Ed.). **Herbicide classes in development**. Berlin: Springer-Verlag, 2002. p. 59-85.
- GIANESSI, L.P. Economic and herbicide use impacts of GR crops. **Pest Management Science**, Malden, v. 64, p. 124-245, 2004.
- GRAZIERO, D. L. P.; BRIGHETI, A. M.; MACIEL, C. D. G.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; ADEGAS, F. S.; VOLL, E. Resistência de amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da enzima ALS. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 16, p. 117-125, 1998.
- HEAP, I. **The international survey of herbicide resistance weeds**. 2014. Disponível em: <www.weedscience.com>. Acesso em: 07 abr. 2016.

- INOUE, M.H. OLIVEIRA JR., R.S. Resistência de plantas daninhas a herbicidas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.I. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 193-214.
- JASIENIUK, M.; AHMAD, R.; SHERWOOD, A.M.; FIRESTONE, J.L.; PEREZ-JONES, A.; LANINI, W.T.; MALLORY-SMITH, C.; STEDNICK, Z. Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in California: distribution, response to glyphosate, and molecular evidence for an altered target enzyme. **Weed Science**, Lawrence, v. 56, p. 496–502, 2008.
- JOHNSON, G.; BREITENBACH, F.; BEHNKEN, L.; MILLER, R.; HOVERSTAD, T.; GUNSOLUS, J. Comparison of herbicide tactics to minimize species shift and selection pressure in glyphosate-resistant soybean. **Weed Technology**, Lawrence, v. 26, p. 189-194, 2012.
- LAMEGO, F.P. VIDAL, R.A. Resistance to glyphosate in *Conyza bonariensis* and *Conyza canadensis* biotypes in Rio Grande do Sul, Brazil. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 26, p. 467–471, 2008.
- LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CARVALHO, S. J. P.; NICOLAI, M.; PENCKOWSKI, L. H.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Resistência de populações de capim-colchão (*Digitaria ciliaris*) aos herbicidas inibidores da acetil Co-A carboxilase. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, p. 543-549, 2005.
- MELO, M.S.C. **Levantamento de ocorrência, alternativas de manejo, mecanismos de resistência e herança genética do capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao herbicida glyphosate**. 2016. 108 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.
- MEROTTO JUNIOR, A.; KUPAS, V.R.; NUNES, A.L.; GOULART, I.C.G.R. Isolamento do gene ALS e investigação do mecanismo de resistência a herbicidas em *Sagittaria montevidensis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 11, p. 2381-2384, 2010.
- MOREIRA, M.S.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n. 1, p. 157-164, 2007.
- NEVE, P.; NORSWORTHY, J. K.; SMITH, K. L.; ZELAYA, I. A. Modeling glyphosate resistance management strategies for Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) in cotton. **Weed Technology**, v. 25, p. 335-343, 2011.
- PADGETT, S.R.; RE, D.B.; BARRY, G.F.; EICHHOLTZ, D.E.; DELANNAY, X.; FUCHS, R.L.; KISHORE, G.M.; FRALEY, R.T. New weed control opportunities: development of soybeans with

- Roundup Ready gene. In: DUKE, S.O. (Ed.). **Herbicide resistant crops**: agricultural, environmental, economic, regulatory, and technical aspects. Boca Raton: CRC Lewis, 1996. p. 53-84.
- PEREZ-JONES, A.; PARK, K.W.; POLGE, N.; COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH, C.A. Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. **Planta**, Berkeley, v. 226, p. 395-404, 2007.
- POWLES, S.B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 61, p. 317-347, 2010.
- PRESTON, P.; WAKELIN, A.M.; DOLMAN, F.C.; BOSTAMAN, Y.; BOUTSALIS, P. A decade of glyphosate-resistant *Lolium* around the world: mechanisms, genes, fitness, and agronomic management. **Weed Science**, Lawrence, v. 57, p. 435-441, 2009.
- PRIESTMAN, M.A.; FUNKE, T.; SINGH, I.M.; CRUPPER, S.S.; SCHONBRUNN, E. 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Staphylococcus aureus* is insensitive to glyphosate. **FEBS Letters**, Heidelberg, v. 579, p. 728-732, 2005.
- ROMAN, E.S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M.A.; MATTEI, R.W. Resistance of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) to glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, p. 301-306, 2004.
- SANTOS, G.; OLIVEIRA Jr.; R.S.; CONSTANTIN, J.; MACHADO, M.F.P.S. Buva com resistência múltipla a herbicidas é identificada como *Conyza sumatrensis* no Paraná. **Informe técnico PGA-UEM**, Maringá, v. 1, n. 1, p. 1-3, mar. 2012.
- SHANER, D.L.; NADLER-HASSAR, T.; HENRY, W.B.; KOGER, C.H. A rapid in vivo shikimate accumulation assay with excised leaf discs. **Weed Science**, Lawrence, v. 53, p. 769-774, 2005.
- SHANER, D.L. Role of translocation as a mechanism of resistance to glyphosate. **Weed Science**, Lawrence, v. 57, p. 118-123, 2009.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.
- TAKANO, H.K.; OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; BRAZ, G.B.P. e GHENO, E.A. First report of glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica* (L) Gaertn) in Brazil. **Planta Daninha**, v. 34, n. 3, 2016. (No prelo)
- TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A.; KRUSE, N. D.; NUNES, A. L. Bioensaios para identificação de biótipos de *Euphorbia heterophylla* com resistência múltipla a inibidores da ALS e PROTOX. **Planta Daninha**, v. 24, p. 563-571, 2006.
- VARGAS, L.; BIANCHI, M.A.; RIZZARDI, M.A.; AGOSTINETTO, D.; MAGRO, T. *Conyza bonariensis* biotypes resistant to the glyphosate in Southern Brazil. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, p. 573-578, 2007.

- VELINI, E.D.; CARBONARI, C.A.; TRINDADE, M.L.B.; GOMES, G.L.G.C.; MESCHEDE, D.K.; DUKE, S.O. Modo de ação do glyphosate. In: VELINI, E. D.; CARBONARI, C.A.; MESCHEDE, D.K.; TRINDADE, M.L.B. **Glyphosate**: uso sustentável. Botucatu: FEPAF, 2012. p. 39-66.
- VIDAL, R. A.; PORTES, E. S.; LAMEGO, F. P.; TREZZI, M. M. Resistência de Eleusine indica aos inibidores de ACCase. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, p. 163-171, 2006.
- WEAVER, L.M.; HERMANN, K.M. Dynamics of the shikimate pathway in plants. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 2, p. 346–351, 1997.
- XIA, G.; D'AVIGNON, S. A.; ACKERMAN, J. J. H.; SAMMONS, D. R. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. **Pest Management Science**, Malden, v. 66, p. 345-348, 2010.
- YUAN, J.S.; TRANEL, P.J.; STEWART JR., A.N. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 12, n. 1, p. 6-13, 2006.
- YU, Q.; CAIRNS, A.; POWLES, S. Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a Lolium rigidum biotype. **Planta**, v. 225, p. 499-513, 2007.

CAPÍTULO 12

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS INIBIDORES DA GLUTAMINA SINTETASE (GS) (Grupo H)

Thiago de Oliveira
Caio Augusto de Castro Grossi Brunharo

12.1. Introdução

O glufosinato de amônio (*2-Amino-4-(hydroxymethylphosphinyl) butyric acid ammonium salt*) é uma molécula amplamente adotada para o controle de plantas daninhas na agricultura devido ao seu amplo espectro de ação, em especial por ter a peculiaridade de se comportar como um substrato análogo ao glutamato, inibindo irreversivelmente a glutamamina sintetase. Recentemente, sua utilização vem aumentando devido à seleção de biótipos resistentes a herbicidas de amplo espectro de controle como o glifosato, onde o glufosinato funciona como um herbicida alternativo para o controle desses biótipos. Além disso, o desenvolvimento de culturas resistentes ao glufosinato, como aquelas da tecnologia Libert Link[®], também vêm estimulando a ampla adoção deste herbicida (Brunharo et al., 2014).

O nitrogênio é o constituinte primário de nucleotídeos e aminoácido e, após carbono, hidrogênio e oxigênio, o elemento mais abundante em plantas. A glutamina sintetase (GS; E. C. 6.3.1.2) é uma enzima chave em sua assimilação. Esta enzima catalisa a transferência de amônia para o glutamato, formando a glutamina, onde esta tem o seu nitrogênio transferido para o α -ketoglutarato e em seguida há formação de glutamato (Meek & Villafranca, 1980).

Pela primeira vez em 1988 o gene *pat*, encontrado na espécie *Streptomyces viridochromogenes*, foi introduzido em plantas de tabaco, conferindo a esta a resistência ao amônio glufosinato (Wohlleben et al., 1988). Este gene condensa a enzima N-acetyltransferase, que especificamente degrada o amônio glufosinato antes mesmo deste atingir seu sítio de ação, em uma reação de acetilação, formando compostos que

em seguida são metabolizados pelas plantas a compostos não-tóxicos.

O glufosinato é considerado um herbicida que resulta em baixa pressão de seleção sobre as plantas daninhas, em especial por não possuir atividade residual no solo (Moss & Rubin, 1993). Entretanto, o aumento de sua adoção, aliado à expansão da área agrícola em que este é utilizado, naturalmente resulta em pressão de seleção sobre biótipos que contém características que conferem adaptações ao novo ambiente (ambiente em que o herbicida funciona como agente seletor). Até o momento, duas espécies de plantas daninhas foram relatadas no mundo como resistentes ao glufosinato: capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) na Malásia (Jalaludin et al., 2010; Seng et al., 2010) e azevém (*Lolium perenne* L. ssp. *multiflorum*) nos Estados Unidos da América (Avila-Garcia et al., 2011).

Nesse novo contexto, formado pelo aumento da adoção de culturas transgênicas para a resistência ao glufosinato para o manejo integrado de plantas daninhas e a documentação da existência de biótipos resistentes ao glufosinato em outros países, o uso racional do glufosinato mais do que nunca é necessário visando o manejo integrado de plantas daninhas para diminuir a pressão de seleção sobre biótipos resistentes já presentes naturalmente na população.

12.2. Mecanismo de ação e resistência aos herbicidas inibidores da Glutamina Sintetase (GS)

O nitrogênio tem funções fundamentais na constituição de plantas, especialmente por formar aminoácidos, enzimas, proteínas, ácidos nucleicos e outros compostos intermediários que integram rotas metabólicas essenciais para o desenvolvimento e sobrevivência das plantas (Figura 1). A glutamina sintetase é uma enzima fundamental em sua assimilação, sendo uma enzima chave para a planta utilizar amônio, produzir aminoácidos e também participar na desintoxicação da amônia como metabólito resultante da redução do nitrato. A GS existe em duas formas: a citossólica e a cloroplástica (Guiz et al., 1979). A isoenzima cloroplástica é codificada pelo gene *GS2*, enquanto que a citossólica é codificada por 3 a 5 genes dependendo da espécie. A forma

Diagrama de síntese e metabolismo do Glutamato:

- Síntese de Glutamato:** 2-Oxoglutarato + NH₃ + ATP → Glutamato (via Glutamato sintase).
- Metabolismo do Glutamato:**
 - Glutamato → Glutamina (via Glutamina sintase).
 - Glutamina → Ácidos Nucleicos e Asparagina.
 - Glutamato → 2-Oxoglutarato (via Glutamato desidrogenase).
 - Glutamato → γ-Aminobutirato.
 - Glutamato → Arginina.
 - Glutamato → Prolina.
- Liberação de NH₃:** A conversão de Glutamato em 2-Oxoglutarato libera NH₃, que pode ser utilizado para a síntese de outros aminoácidos.

Apesar de o acúmulo de amônia nas células ser a consequência primária da inibição irreversível da GS, Krieg et al. (1990) descobriu que esta substância não causa diretamente a inibição do crescimento de plantas de Alfafa (*Medicago sativa*) em meio de cultura, mesmo quando submetidas a altos níveis de amônia no meio. Por outro lado, Lea (1991) reporta que a morte da planta é, na verdade,

causada pela consequência da falta de nitrogênio das células, como inibição da síntese de aminoácidos e, conseqüentemente, de proteínas, aumento de níveis tóxicos de glyoxylato e insuficiente regeneração de compostos intermediários em rotas metabólicas que são dependentes do nitrogênio.

Uma vez que os casos de resistência ao glufosinato de amônio são reduzidos quando comparados aos casos de resistência ao glifosato (Beckie, 2011), os mecanismos que conferem resistência aos biótipos selecionados não são amplamente conhecidos. Porém há de se notar que Avila-Garcia et al. (2012) documentam aspectos conclusivos quanto aos mecanismos que conferem resistência a um biótipo de azevém provindo do Oregon, EUA. Quando comparado ao biótipo suscetível, o biótipo resistance necessita 2.8 vezes mais glufosinato de amônio para ter seu crescimento reduzido em 50% (fator de resistência de 2.8). Neste caso, a GR_{50} do biótipo resistente foi de 0.45 kg i.a. ha^{-1} , e a dose de campo é de 0.5 kg i.a. ha^{-1} , onde pode-se inferir que o biótipo resistente teria a capacidade de sobreviver e se reproduzir após ser exposto à dose recomendada de campo. Por outro lado, os experimentos em questão foram realizados em estufa; portanto, a comparação direta entre os resultados obtidos em ambiente controlado e em um ambiente propício a diversas variações (como é o ambiente de campo) deve ser efetuada com cautela.

Avila-Garcia et al. (2012), após sequenciar o gene que codifica a enzima GS (GS2, cloroplástica), encontraram que o biótipo resistente de azevém ao glufosinato de amônio possui uma mutação pontual que causa a substituição do aminoácido ácido aspartico a asparagina na posição 171 da GS. Alteração no sítio de ação é um dos mecanismos de resistência mais comumente encontrados nos biótipos resistentes a herbicidas, uma vez que uma mudança no sítio de ação pode inviabilizar a interação apropriada entre este e o agente inibidor herbicida (Fuerst et al., 1986; Perez-Jones et al., 2007; Alacón-Reverte, 2013).

Jalaludin et al. (2010) e Seng et al. (2010) concluíram que biótipos resistentes de capim-pé-de-galinha em Malásia possuem fator de resistência que varia entre dois a oito vezes.

Seng et al. (2010) também relatam que este biótipo possui resistência múltipla a glufosinato de amônio e paraquat.

Recentemente, biótipo de capim-pé-de-galinha foi identificado na Malásia com resistência múltipla ao paraquat e amônio glufosinato (Seng et al., 2010). De acordo com os autores, a utilização repetitiva desses dois herbicidas vem acontecendo, tanto em combinação quanto isoladamente, pelo menos seis vezes ao ano desde 2006. Os mecanismos que conferem resistência a esse biótipo ainda não foram esclarecidos, apesar de este biótipo necessitar ser submetido a 3.4 vezes mais herbicida para ter seu crescimento inibido em 50% quando comparado ao biótipo suscetível (GR_{50r}/GR_{50s}) em condições de casa-de-vegetação, sendo a dose recomendada naquele país de 450 g. i.a. ha^{-1} .

A aplicação correta de herbicidas é essencial para evitar que o aparecimento de biótipos resistentes aconteça. A seleção de biótipos resistentes devido à exposição de populações de plantas daninhas a baixas doses de herbicidas é amplamente aceita e documentada na literatura (Busi & Powles, 2009; Neve & Powles, 2005; Norswothy, 2012), onde está relacionada à seleção de biótipos com mecanismos de resistência poligênica.

Existem evidências de que a eficácia do glufosinato de amônio é dependente das condições ambientais no momento de sua aplicação. Anderson et al. (1993), estudando as espécies *Setaria viridis* e *Hordeum vulgare*, relatam que a umidade relativa influencia a eficácia do glufosinato de amônio mais do que a temperatura do ambiente. Mersey et al. (1990), estudando as mesmas espécies que Anderson et al. (1993), concluíram que a susceptibilidade diferencial dessas ao glufosinato de amônio eram devidas diferenças na absorção e translocação do herbicida.

Interessantemente, Sellers et al. (2003), estudando a espécie *Abutilon theophrasti*, uma espécie que tem a habilidade de movimentar seus limbos foliares de acordo com o período do dia (a fim de incrementar a interceptação de radiação), descobriram que o momento da aplicação é influencia estatisticamente a eficácia do glufosinato de amônio. Quando aplicado próximo ao pôr-do-sol, sua interceptação diminuiu em 50% comparado ao controle. Além

da reduzida interceptação quando aplicado próximo ao fim do dia, de acordo com os autores, é possível que a eficácia reduzida do glufosinato de amônio seja devida à inativação da GS na ausência de radiação solar.

O metabolismo do glufosinato de amônio em plantas daninhas, apesar de existente, não é relatado na literatura como um mecanismo de resistência. Schuphan & Schmidt (2000) estudaram 20 diferentes espécies de plantas daninhas e encontraram metabólitos do glufosinato de amônio em todas as ocasiões, dos quais *3-(hydroxymethylphosphinyl)propionic acid* (MPP) e *2-hydroxy-4-(hydroxymethylphosphinyl)butanoic acid* (MHB) foram os metabólicos identificados. Por outro lado, Neto et al. (2000) não encontraram metabólitos do glufosinato de amônio quando analisando as espécies *Xanthium strumarium*, *Commelina diffusa* e *Ipomoea purpurea*.

12.3. Amônio Glufosinato e o Manejo de Plantas Daninhas Resistentes

O objetivo do manejo de plantas daninhas nas culturas é minimizar as perdas devido à interferência, beneficiar as condições de colheita, reduzir o incremento do banco de sementes de plantas daninhas, evitar a seleção de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas, e tudo isso com a menor contaminação ambiental possível e maior lucratividade. Pesquisas apontam que o manejo no sistema de produção pode inferir se haverá o aparecimento de biótipos resistentes devido à alteração no sítio de ação do herbicida ou na quantidade que atinge o sítio de ação. O uso de dosagens de herbicidas superiores às aquelas recomendadas em rótulo pode selecionar biótipos com resistência por alteração no sítio de ação do herbicida e doses abaixo da recomendada tendem a selecionar biótipos com a habilidade de diminuir a quantidade de herbicida que atinge o sítio de ação (Gardner et al., 1998).

A integração entre herbicidas pré-emergentes e pós-emergentes pode resultar em controle mais efetivo das plantas daninhas do que apenas uma aplicação em pós ou apenas uma aplicação em pré-emergência. Jones et al. (2001) chegaram à conclusão de que a aplicação da atrazina em milho resistente a amônio glufosinato na semeadura e amônio glufosinato complementando o controle das plantas escapes

em pós-emergência resultou em controle mais efetivo (maior que 94% de controle visual das plantas daninhas do que apenas a aplicação de amônio glufosinato em pós-emergência).

No Brasil, trabalhos envolvendo a utilização do amônio glufosinato em aplicações sequenciais a outros herbicidas tem mostrado eficiência no manejo de plantas daninhas em culturas perenes como café e citrus e também em culturas anuais como o milho, algodão e soja. Em citrus, em função do grande problema enfrentado com as infestações de espécies de buva [*Conyza bonariensis* (L.) Cronquist; *Conyza canadensis* (L.) Cronquist] resistente ao glifosato, procedeu-se o uso do amônio glufosinato como complemento do manejo normal dos pomares. Moreira et al. (2009) estudaram esta possibilidade e concluíram que o amônio glufosinato complementava o controle da buva resistente ao glifosato e ainda sugeriram que um pré-emergente devesse ser incluído no manejo para redução da pressão do banco de sementes. Ainda em citrus, Melo (2011) observou que o amônio glufosinato complementa o manejo da planta daninha capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente ao glifosato, quando a mesma sobrevive a aplicações de herbicidas inibidores da ACCase.

O uso de mais de um mecanismo de ação no controle de uma planta daninha problema é recomendado tanto para evitar o aparecimento de biótipos resistentes como para remediar a seleção já ocorrida, de modo que essa diversificação de modos de ação resulta na redução do banco de sementes do solo (Norsworthy et al., 2012). Dessa forma, com a evolução dos eventos de transgenia para herbicidas, deve-se considerar o estudo de programas de manejo que possam associar diferentes mecanismos de ação de herbicidas, em aplicações de pré e pós-emergência.

12.4. Uso de culturas geneticamente modificadas tolerantes aos herbicidas inibidores da Glutamina síntese

A primeira planta geneticamente modificada com resistência ao glufosinato de amônio foi produzida por De Block et al. (1987) a partir da incorporação do gene *bar*, encontrado em *Streptomyces hygroscopicus*, no genoma do

tabaco, onde este foi capaz de resistir. Este gene codifica a enzima PAT, capaz de metabolizar o glufosinato de amônio a co-produtos não-letais às plantas tratadas (Figura 2). Porém, a resistência ao glufosinato de amônio se dá anteriormente à De Block et al. (1987), com Donn et al. (1984), *in vitro*, conferindo resistência a células de alfafa por meio da super-expressão da produção da enzima GS.

De forma similar ao gene *bar*, o gene *pat*, isolado de *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 (Strauch et al., 1988), codifica a enzima phosphinothricin-N-acetyltransferase, que também catalisa uma reação de acetilação do NH₂ do amônio glufosinato, inativando-o, resultando na mesma forma inativa da Figura 2. Ambos os genes são altamente homólogos (Vasil, 1996) e são estruturalmente iguais, funcionalmente equivalentes e tem desempenho comparável em plantas transgênicas e, por fim, a enzima que é codificada por estes genes, a PAT, é também similar em ambos os casos (Wehrmann et al., 1996).

No Brasil, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) aprova a comercialização de algumas culturas transgênicas para a resistência ao glufosinato: soja (desde 2010), milho (desde 2007) e o algodão (desde 2008). Mais recentemente, novos eventos com resistência a múltiplos herbicidas vêm sendo regulamentados, como a comercialização da soja com resistência a herbicida auxínico e ao glufosinato de amônio no mesmo organismo e algodão e milho resistentes a glifosato e glufosinato de amônio.

A absorção do amônio glufosinato é realizada exclusivamente por tecidos verdes e raízes, enquanto que as partes lignificadas não funcionam como entrada do herbicida. Entretanto, de forma geral, o amônio glufosinato era amplamente utilizado em culturas perenes, operações de dessecação e em jato-dirigido. Contudo, após a introdução de culturas tolerantes a este herbicida, sua utilização se tornou amplamente adotada.

A utilização de culturas tolerantes a múltiplos mecanismos de ação propicia ao produtor novas oportunidades para manejo químico dentro da safra, especialmente quando da presença de biótipos resistentes,

como o capim amargoso (*Digitaria insularis*) e a buva (*Conyza spp.*). Porém, as vantagens dessas tecnologias não se limitam à estratégias reativas: segundo Neve et al. (2011), a rotação de herbicidas em uma dada safra chega a reduzir o risco de seleção de biótipos resistente em 50%.

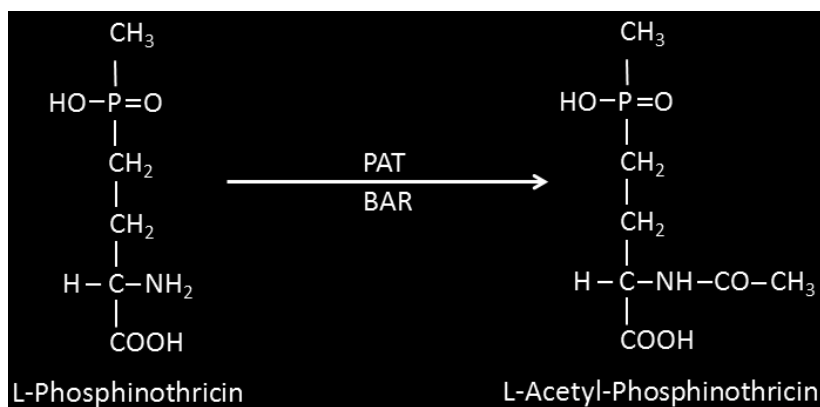


Figura 2. Interação entre PAT e glufosinato em culturas tolerantes.

Braz et al. (2012) analisaram a seletividade de algodão resistente ao glufosinato de amônio e relatam que, mesmo após três aplicações do herbicida, o algodão não teve produção de caroço afetada ou produção de fibra; os autores também notaram a ausência de sintomas visuais nas plantas ao final das avaliações, fatos que evidenciam a segurança para a utilização desta tecnologia.

Explorando opções de manejos químicos na cultura do algodão, Ben et al. (2012) testaram a utilização de herbicidas pré-emergentes, como o s-metolachor e o trifloxysulfuron-sodium, associados ao glufosinato de amônio. Os autores concluem que a utilização dos pré-emergentes estudados pode reduzir a necessidade de utilização do glufosinato de amônio consideravelmente, sem alterações no número de capulhos ou na produtividade do algodão em caroço.

O manejo de integrado de plantas daninhas, onde ferramentas químicas, mecânicas e culturais são empregadas, é sempre recomendado, principalmente para que a probabilidade de seleção de biótipos resistentes de plantas daninhas a herbicidas diminua. Apesar de um dos maiores

problemas ligados por produtores é o manejo de biótipos resistentes a herbicidas, a retirada dos herbicidas do sistema de produção é economicamente inviável. Nos EUA, estima-se que a retirada de herbicidas de sistemas de produção agrícola reduziria a produtividade em 20% (Gianessi & Reigner, 2007).

Com a liberação comercial de culturas geneticamente modificadas para a resistência ao glufosinato de amônio, produtores agora possuem uma alternativa para o manejo integrado de plantas daninhas, uma vez que a rotação de culturas bem como rotação de mecanismos de ação são indicados para preservar tecnologias bem como o manejo de da resistência de plantas daninhas a herbicidas.

12.5. Referências bibliográficas

- ALACÓN-REVERTE, R.; GARCÍA, A.; URZÚA, J.; FISCHER, A. J. Resistance to glyphosate in Junglerice (*Echinichloa colona*) from California. **Weed Science**, v. 61, p. 48-54, 2013.
- ANDERSON, D. M.; SWANTON, C. J.; HALL, J. C.; MERSEY, B. G. the influence of temperature and relative humidity on the efficacy of glufosinate-ammonium. **Weed Research**, v. 33, p. 139-147, 1993.
- AVILA-GARCIA, W. V.; MALLORY-SMITH, C. Glyphosate-resistant Italian Ryegrass (*Lolium perenne*) populations also exhibits resistance to glufosinate. **Weed Science**, v. 59, p. 305-309, 2011.
- AVILA-GARCIA, W. V.; SANCHEZ-OLGUIN, E.; HULTING, A. G.; Mallory-Smith, C. Target-site mutation associated with glufosinate resistance in Italian Ryegrass (*Lolium perenne* L. ssp. *multiflorum*). **Pest Management Science**, v. 68, p. 1248-1254, 2012.
- BECKIE, H. J. Herbicide-resistant weed management: focus on glyphosate. **Pest Management Science**, v. 67, p. 1037-1048, 2011.
- BEN, R.; INOUE, M. H.; CAVALCANTE, N. R.; MENDES, K. F.; DALLACORT, R.; SANTOS, E. G. Eficácia do glufosinato de amônio associado com outros herbicidas na cultura do algodão Liberty Link®. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 11, p. 249-257, 2012.
- BERNARD, S.M.; BLOM MØLLER, A. L.; DIONISIO, G.; KICHEY, T.; JAHN, T. P.; DUBOIS, F.; BAUDO, M.; LOPES, M. S.; TERCE-LAFORGUE, T.; FOYER, C. H.; PARRY, M. A. J.; FORDE, B. G.;

- ARAUS, J. L.; HIREL, B.; SCHJOERRING, J. K.; HABASH, D. Z. Gene expression, cellular localization and function of glutamine synthetase isozymes in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plant Molecular Biology**, v. 67, p. 89–105, 2008.
- BRAZ, G. B. P.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; RAIMONDI, M. A.; FRANCHINI, L. H. M.; BIFFE, D. F.; ARANTES, J. G. Z.; TAKANO, H. K. Seletividade do amônio-glufosinato isolado e em mistura com pyriithobac-sodium em algodoeiro transgênico LL[®]. **Planta Daninha**, v. 30, p. 853-860, 2012.
- BRUNHARO, C. A.C. G.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M. Aspectos do mecanismo de ação do amônio glufosinato: culturas resistentes e resistência de plantas daninhas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 13, p. 163-177, 2014.
- BUSI, R.; POWLES, S. Evolution of glyphosate resistance in a *Lolium rigidum* population by glyphosate selection at sublethal doses. **Heredity**, v. 103, p. 318–325, 2009.
- Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio. 2016. Disponível em: [http://ctnbio.mcti.gov.br/documents/566529/1684467/TabelasPlan tas.pdf/c76ebc01-fa7d-4524-9c9b-92163393ce6d?version=1.0](http://ctnbio.mcti.gov.br/documents/566529/1684467/TabelasPlan%20tas.pdf/c76ebc01-fa7d-4524-9c9b-92163393ce6d?version=1.0). Acesso em: 01/04/2016.
- DE BLOCK, M.; BOTTERMAN, J.; VANDEWIELE, M.; DOCKX, J.; THOEN, C.; GOSSELÉ, V.; MOVVA, N. R.; Thompson, C.; Montagu, M. V.; Leemans, J. Engineering herbicide resistance in plants by expression of a detoxifying enzyme. **The EMBO Journal**, v. 6, p. 2513-2518, 1987.
- DONN, D.; TISCHER, E.; SMITH, J. A.; GOODMAN, H. M. Herbicide-resistant alfalfa cells: an example of gene amplification in plants. **Journal of Molecular and Applied Genetics**, v. 2, p. 621-635, 1984.
- FUERST, E. P.; ARNTZEN, C. J.; PFISTER, K.; PENNER, D. Herbicide cross-resistance in triazine-resistant biotypes of four species. **Weed Science**, v. 34, p. 344–353, 1986.
- GARDNER, S.N.; GRESSEL, J.; MANGEL, M. A revolving dose strategy to delay the evolution of both quantitative vs. major monogene resistances to pesticide and drugs. **International Journal of Pest Management**, v.44, n.1, p.161-180, 1998.
- GIANESSI, L. P.; REIGNER, N. P.; The value of herbicides in U.S. crop production. **Weed Technology**, v. 21, p. 559-566, 2007.
- GUIZ, C.; HIREL, B.; SHEDLOFSKY, G.; GADAL, P. Occurrence and influence of light on the relative proportions of two glutamine

- synthetase in rice leaves. **Plant Science Letters**, v. 15, p. 271-277, 1979.
- HABASH, D.Z.; MASSIAH, A.J.; RONG, H.L.; WALLSGROVE, R.M.; LEIGH, R.A. The role of cytosolic glutamine synthetase in wheat. **Annals of Applied Biology**, v. 138, p. 83–89, 2001.
- JALALUDIN, A.; NGIM, J.; BAKAR, B.; ALIAS, Z. Preliminary findings of potentially resistant goosegrass (*Eleusine indica*) to glufosinate-ammonium in Malaysia. **Weed Biology Management**, v. 10, p. 256-260, 2010.
- JONES, C.A. CHANDLER, J. M.; MORRISON, J. E.; SENSEMAN, S. A.; TINGLE, C. H. Glufosinate combinations and row spacing for weed control in glufosinate resistant corn (*Zea mays*). **Weed Technology**, v.15, n.1, p.141–147, 2001.
- LAM, H. M.; COSCHIGANO, K.; SCHULTZ, C.; MELO-OLIVEIRA, R.; TJADEN, G.; NGAI, N.; HSIEH, H. M.; CORUZZI, G. Use of Arabidopsis mutants and genes to study amide amino acid biosynthesis. **Plant Cell**, v. 7, p. 887–898, 1995.
- KISHORE, G. M.; SHAH, D. M. Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. **Annual Review of Biochemistry**, v. 57, p. 627-663, 1988.
- KRIEG, L. C.; WALKER, M. A.; SENARATNA, T.; MCKERSIE, B. D. Growth, ammonia accumulation and glutamine synthetase activity in alfafa (*Medicago sativa* L.) shoots and cells treated with phosphinothricin. **Plant Cell Reports**, v. 9, p. 80-83, 1990.
- LEA, P.J. The inhibition of ammonia assimilation: a mechanism of herbicide action. In: Baker, N. R.; Percival, M. P. (eds.). **Herbicides**. New York/Amsterdam: Elsevier. p. 267-297, 1991.
- MEEK, T. D.; VILLAFRANCA, J. J. Kinect mechanism of *Escherichia coli* glutamine synthetase. **Biochemistry**, v. 19, p. 5513-5519, 1980.
- MELO, M.S.C. Alternativas de controle, acúmulo de chiquimato e curva de crescimento de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) suscetível e resistente ao glyphosate. 2011. 73 p. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- MERSEY, B. G.; HALL, J. C.; ANDERSON, D. M.; SWANTON, C. J. Factors affecting the herbicidal activity of glufosinate-ammonium: absorption, translocation, and metabolism in barley and green foxtail. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 90-98, 1990.

- MOREIRA, M.S.; MELO, M.S.C.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; Christoffoleti, P.J. Herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *Conyza bonariensis* e *C. canadensis* resistentes ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 167-175, 2010.
- MOSS, S.R.; RUBIN, B. *Herbicide-resistant weeds: a worldwide perspective*. **Journal of Agricultural Science**, v. 120, p. 141-148, 1993.
- NETO, F. S.; COBLE, H. D.; CORBIN, F. T. Absorption, translocation, and metabolism of ^{14}C -glufosinate in *Xanthium strumarium*, *Commelina diffusa*, and *Ipomoea purpurea*. **Weed Science**, v. 48, p. 171-175, 2000.
- NEVE, P.; POWLES, S. High survival frequencies at low herbicide use rates in populations of *Lolium rigidum* result in rapid evolution of herbicide resistance. **Heredity**, v.95, p. 485–492, 2005.
- NEVE, P.; NORSWORTHY, J. K.; SMITH, K. L.; ZELAYA, I. A. Modeling glyphosate resistance management strategies for Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) in cotton. **Weed Technology**, v. 25, p. 335-343, 2011.
- NORSWORTHY, J. K. 2012. Repeated sublethal rates of glyphosate lead to decreased sensitivity in Palmer amaranth. **CropManag.** doi:10.1094/CM-2012-0403-01-RS.
- PEREZ-JONES, A.; PARK, K.W.; POLGE, N.; COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH, C. Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. **Planta**, v. 226, p. 395–404, 2007.
- SELLERS, B. A.; SMEDA, R. J.; JOHNSON, W. G. Diurnal fluctuations and leaf angle reduce glufosinate efficacy. **Weed Technology**, v. 17, p. 302-306, 2003.
- SENG, C. T.; LUN, L. V.; SAN, C. T.; SAHID, I. B. Initial report of glufosinate and paraquat multiple resistance that evolved in a biotype of goosegrass (*Eleusine indica*) in Malaysia. **Weed Biology and Management**, v. 10, p. 229-233, 2010.
- SHUPHAN, C. J. I.; SCHMIDT, B. Glufosinate metabolism in excised shoots and leaves of twenty plant species. **Weed Science**, v. 48, p. 319-326, 2000.
- STRAUCH, E.; WOHLLENBEN, W.; PÜHLER, A. Cloning of the phosphinothricinN-acetyl-transferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü 494 and its expression in *Streptomyces lividans* and *Escherichia coli*. **Gene**, v.63, n.1, p.65-74, 1988.

- TAIRA, M.; VALTERSSON, U.; BURKHARDT, B.; LUDWIG, R. A. *Arabidopsis thaliana* GLN2-encoded glutamine synthetase is dual targeted to leaf mitochondria and chloroplasts. **Plant Cell**, v.16, p. 2048–2058, 2004.
- TOBIN A.K.; RIDLEY S. M.; STEWART G.R. Changes in the activities of chloroplast and cytosolic isoenzymes of glutamine synthetase during normal leaf growth and plastid development in wheat. **Planta**, v. 163, p. 544–548, 1985.
- VASIL, I.K. Phosphinothricin-resistant crops. In: Duke, S. O. (ed.). *Herbicide resistant crops*. **Boca Raton: CRC Press**, p.85-91, 1996.
- WEHRMANN, A.; VAN VLIET, A.; OPSOMER, C.; BOTTERMAN, J.; SCHULZ, A. The similarities of bar and pat gene products make them equally applicable for plant engineer. **National Biotechnology**, v.14, n.1, p.1274-1278, 1996.
- WOHLLEBEN, W.; ARNOLD, W.; BROER, I.; HILLEMANN, D.; STRAUCH, E.; PÜHLER, A. Nucleotide sequence of the *phosphinothricin N-Acetyltransferase* gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotina tabacum*. **Gene**, v. 70, p. 25-27, 1988.

CAPÍTULO 13

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS INIBIDORES DA FORMAÇÃO DOS MICROTÚBULOS E A HERBICIDAS INIBIDORES DA DIVISÃO CELULAR (Grupos K₁ e K₃)

Marcelo Figueiredo
Todd Gaines
Scott Nissen

13.1. Introdução

Herbicidas inibidores da formação de microtúbulos são compostos por cinco famílias diferentes, sendo a Dinitroanilina a classe mais conhecida neste grupo que se caracteriza por ter dois grupos funcionais nitro (NO_2) no anel fenil. O herbicida mais famoso deste grupo é a Trifluralina que é bastante utilizado para o controle de plantas daninhas em culturas de soja desde 1964. Outra família que pertence ao grupo dos inibidores de formação de microtúbulos é a Piridina, composta por um anel benzeno heterocíclico com um nitrogênio ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$). Tiazopir e Ditiopir são os únicos compostos desta família. A Benzoamida é uma classe também composta apenas por dois herbicidas: a Pronamida e o Tebutame. Essa família contém um benzeno ligado com um grupo de carbono em dupla ligação com um oxigênio e um nitrogênio. A penúltima família desse grupo é o Fosforoamidato, com os herbicidas Butamifos e Amiprofos-metil que têm um anel cíclico ligado a um diéster de fosfato. A última família, denominada ácido benzoico, contém somente um composto, o Clortal-dimetil (DCPA), sendo que a estrutura deste herbicida contém dois grupos carboxílicos ($-\text{COOH}$) acoplados a um anel de benzeno.

Os herbicidas inibidores da divisão celular são divididos em quatro famílias principais, o que define esta classe são os átomos de nitrogênio presentes em estruturas químicas. Os mais famosos são as Cloroacetamidas (ex.: Alaclor, Acetoclor

e Metolaclor) que possuem dois carbonos: um ligado a um nitrogênio e a um oxigênio em covalência e o outro com um cloreto. As Acetamidas pertencem à outra família que contém apenas três herbicidas (Napropamida, Naproanilida e Difenamida) que são compostos por um ácido acético (CH_3COOH) com uma amida (NH_2). Há ainda outra família pequena, o grupo das Oxiacetamidas, que possui apenas os herbicidas Flufenaceto e Mefenaceto. Estes contêm átomos de carbono ligados a oxigênio e ao nitrogênio. O último grupo dos inibidores da divisão celular contém complexos cíclicos com átomos de nitrogênio em sua estrutura (pelo menos quatro), sendo denominado Tetrazolinonas. Esse último grupo contém apenas os herbicidas Fentrazamida e Ipfencazone. Há outros compostos também classificados como inibidores da divisão celular, no entanto, eles não possuem famílias específicas, sendo: Anilofos, Cafenstrole, Pyroxasulfone e Piperofos.

13.2. Mecanismo de ação e resistência aos herbicidas inibidores da divisão celular

Herbicidas inibidores da divisão celular agem sobre a síntese de ácidos graxos de cadeia muito longa (AGCML). Estes compostos com mais de vinte átomos de carbonos são formados pelo alongamento de ácidos graxos de cadeia longa (C18 e C16) (Eckermann et al. 2003). Em plantas vasculares, os componentes AGCML são precursores da membrana plasmática e dos principais componentes da cera, cutina (folhas) e suberina (raízes) (Post-Beittenmiller, 1996). Estas estruturas são responsáveis pela impermeabilização, pela proteção contra danos mecânicos e contra a perda de água pela célula vegetal. Os AGCML também são importantes na diferenciação e polarização no processo de divisão celular.

Os AGCML são produzidos no retículo endoplasmático por uma classe de enzimas denominada alongases. Essas enzimas são capazes de condensar ácidos graxos de cadeia longa, permitindo a adição de carbono para o alongamento da cadeia (Böger, 2003). No geral, quatro diferentes enzimas são

utilizadas no processo sendo que uma mesma molécula de herbicida pode atuar em todas elas.

Os herbicidas inibidores da divisão celular atuam realizando reações covalentes ligando um de seus átomos de carbono a um sítio específico de cisteína presente na enzima elongase (Figura 1). Esta reação é variável dependendo da estrutura reativa inerente de cada família desta classe de herbicidas. No caso das Acetamidas, Cloroacetamidas ou Oxiacetamidas, o átomo de carbono reativo é criado pela clivagem de um Cl ou hidroxietericiclo presente nas suas estruturas (Figura 2 A e B). As Tetrazolinonas, por sua vez, se ligam à enzima eliminando o radical tetrazolinona ou triazol, dependendo do herbicida (Figura 2 C e D) (Böger, 2000).

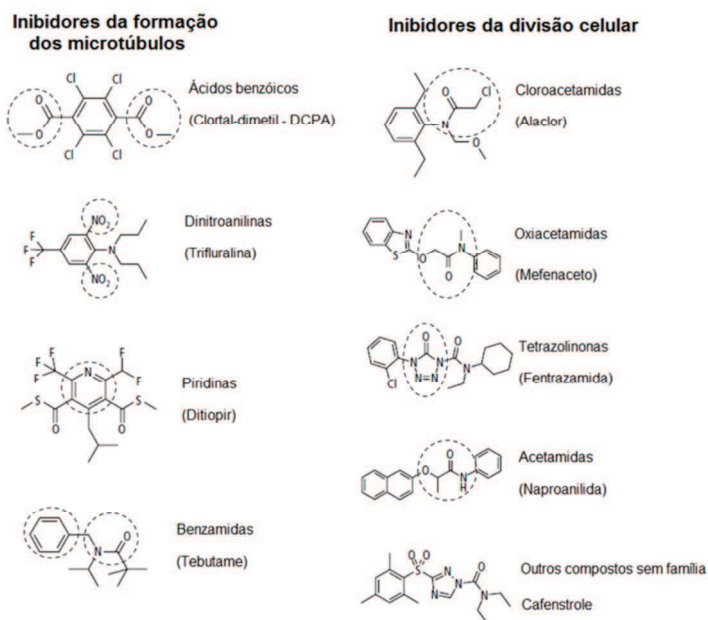


Figura 1. Características de cada uma das famílias que compõem os herbicidas inibidores da formação dos microtúbulos e os herbicidas inibidores da divisão celular. As áreas circuladas correspondem as estruturas químicas inerentes de cada família.

A ausência na produção de AGCML induz o crescimento anormal e a má formação dos cotilédones e folíolos, levando ao vazamento do tecido celular e posterior morte da planta.

Para a diversidade de enzimas que os herbicidas desta classe podem atuar, supõe-se que o desenvolvimento da resistência seja raro. Mutações no sítio de ação nesse caso são pouco prováveis de serem desenvolvidas, uma vez que podem ser letais para a planta. Outro ponto é que os herbicidas podem atuar em várias elongases envolvidas na formação do AGCML, necessitando de várias alterações enzimáticas para se desenvolver a resistência, o que é muito incomum (Böger, 2000; Eckermann et al, 2003).

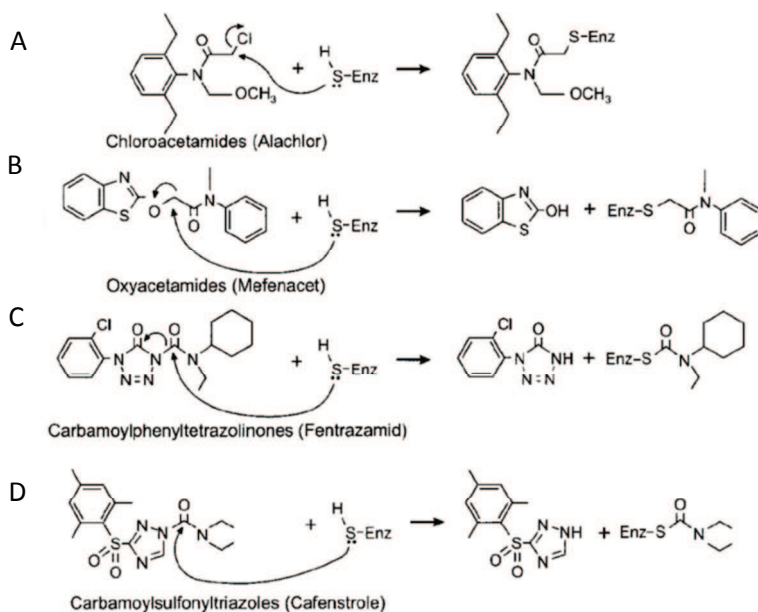


Figura 2. Reação entre a porção ativa dos herbicidas inibidores de AGCML com as enzimas elongases (Enz). As setas apontam a parte nucleofílica das enzimas presente em seus resíduos de cisteína, esse grupo é capaz de reagir com a região eletrofílica do herbicida. Essa reação faz com que parte do herbicida seja transferido para a cadeia da enzima, passando dessa forma para o estado inativo (Böger et al, 2000).

Há mais de cinquenta anos esta classe de herbicidas vem sendo utilizada em larga escala na agricultura em todo o mundo e apenas dez casos de resistência foram relatados até o ano de 2010. O caso mais recente foi reportado em 2015 (Heap, 2016). Em todos os casos, o mecanismo de resistência foi dado pela metabolização dos herbicidas em *Lolium rigidum* (Australia), *Echinochloa crus-galli* (China), *Avena fatua* (Canadá) e *Alopecurus myosuroides* (Alemanha). Ainda, relatou-se o aumento da atividade e da produção do citocromo P450 em todos os casos, bem como a conjugação da glutatona, glucose e aminoácidos pela a enzima glutatona-S-transferase (Busi, 2014).

Outro mecanismo de resistência interessante foi encontrado em *Avena fátua* no Canadá. Essa população é capaz de produzir altas quantidades de giberelina endógena, levando ao rápido desenvolvimento do meristema apical. Com isso, a planta evita a penetração de níveis elevados de herbicida no meristema durante as fases mais sensíveis do seu desenvolvimento, sendo capaz de se recuperar e sobreviver (Busi, 2014).

13.3. Mecanismo de ação e resistência aos herbicidas inibidores de formação de microtúbulos

O citoesqueleto é uma estrutura dinâmica que desempenha funções importantes, tais como a divisão celular, a formação de paredes de células e o transporte de organelas. O citoesqueleto é formado por três principais estruturas fibrosas: filamentos de actina, microtúbulos e filamentos intermediários. Entre essas estruturas, os microtúbulos são os principais alvos dos herbicidas das classes das dinitroanilinas, dos ácidos benzoicos, das piridinas e das benzamidas, pois são capazes de se ligarem nas tubulinas, que são as proteínas componentes dos microtúbulos (Fernandes et al, 2013). A tubulina é composta de duas proteínas globulares ligadas entre si, denominadas α -tubulina e β -tubulina (Figura 3). Os microtúbulos estão envolvidos em importantes processos celulares como

migração de cromossomos, diferenciação e formação da estrutura celular, orientação e organização das microfibrilas de celulose e a formação da parede celular.

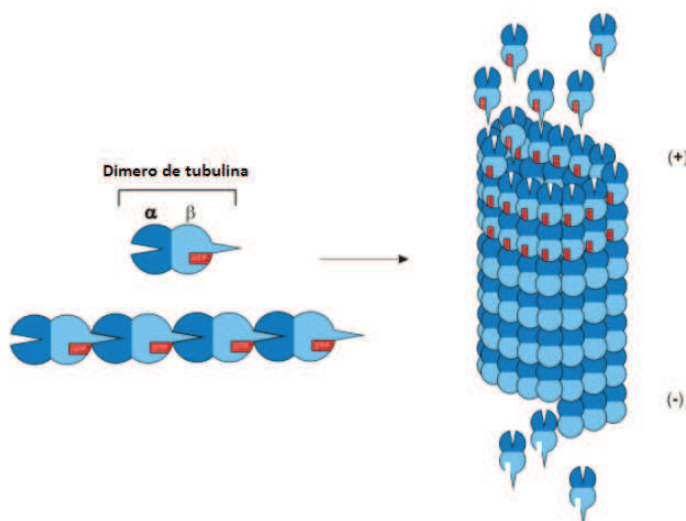


Figura 3. Dímeros de tubulina formando o microtúbulo (Fernandes et al, 2013).

Os herbicidas dessa classe atuam induzindo a despolimerização dos microtúbulos, levando a sua desconfiguração física e perda de função. Isto acontece porque o herbicida se liga diretamente aos heterodímeros de tubulina (Figura 4). O complexo formado pelo herbicida e a tubulina suprime o alongamento do microtúbulo até que a perda total de sua estrutura (Fernandes et al, 2013). Os herbicidas inibidores da formação de microtúbulos também podem alterar o equilíbrio de Ca^{2+} livre no interior de células vegetais, visto que a estrutura herbicida é capaz de receber um par de elétrons, devido ao grupo NO_2 que tende a ligar-se a um grupo polar da membrana celular, promovendo assim o colapso do potencial eletrônico entre o simplásto e o apoplásto (Whitaker & Larman 2001). A desestabilização do potencial interfere na permeabilidade da membrana plasmática e mitocondrial, gerando um alto efluxo de Ca^{2+} das

mitocôndrias e de apoplasto para o citoplasma. Os altos níveis de Ca^{2+} impedem a formação de microtúbulos, uma vez que esses somente se formam quando os níveis do íon estão em baixas concentrações na célula.

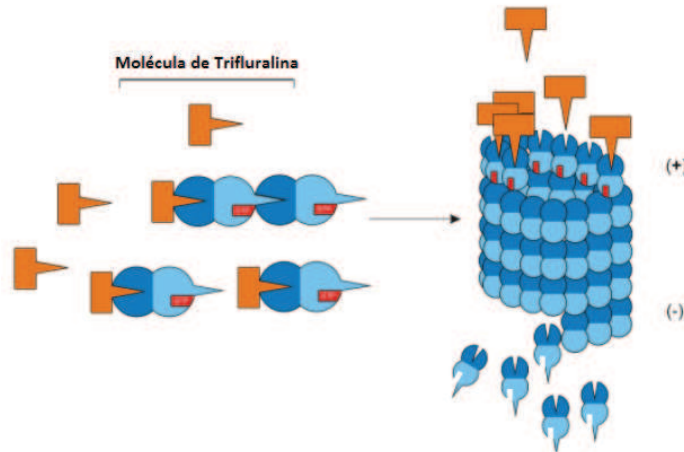


Figura 4. Complexo de ligação entre herbicida e tubulina impedindo a polimerização do microtúbulo (Fernandes et al, 2013).

A ação do herbicida impede a formação das fibras do fuso na divisão celular, prevenindo cromossomos de se moverem para o plano equatorial na fase de metáfase, causando aberrações como aneuploidia, anáfases multipolares, pontes de cromatina entre anáfase e a telófase, perda de material genético e má formação de parede celular na telófase (Figura 5) (Fernandes, et al. 2007). Em relação aos tecidos e aos órgãos da planta, os herbicidas causam inchaço meristemático, prejudicando dessa forma o alongamento da raiz e o crescimento da parte aérea, inibindo a germinação de sementes, a formação de radículas e de células de hipocótilo. O processo culmina em morte das plantas ainda no estado precoce de desenvolvimento.

Alguns estudos mostram que diversas plantas podem desenvolver resistência a dinitroanilinas por mutações nos pares de bases de aminoácidos que codificam a formação da proteína α -tubulina. Os estudos indicam que o aminoácido

treonina localizado na posição 239 da cadeia pode ser alterado para uma isoleucina, fazendo o grupo NO₂ dos herbicidas ficar incapaz de se ligar à tubulina (Anthony & Hussey, 1999). Outras mutações de aminoácidos nas posições 202, 136 e 125 que formam α -tubulina em *Alopecurus aequalis* conferem resistência a herbicidas dinitroanilinas.

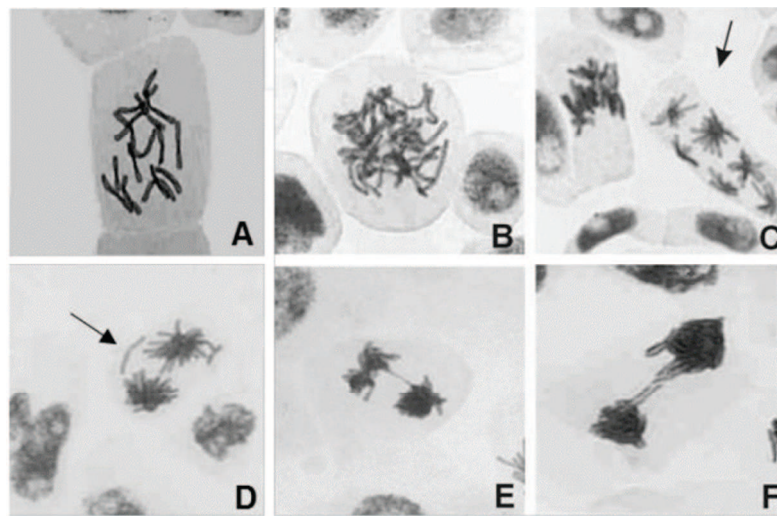


Figura 5. Células de *Allium cepa* tratadas com trifluralin. A) Cromossomos fora do plano equatorial na fase de metáfase; B) Célula apresentando poliploidia; C) Célula multipolar; D) Perda de material genético; E) Célula apresentando ponte de cromatina durante a divisão, F) Telófase com atraso cromossômico (Fernandes, et al 2007).

Estudos feitos com calos de milho transformados para super expressão de α -tubulinas também apresentaram resistência ao herbicida. Contudo, não há relatos na literatura de espécies de plantas daninhas que demonstrem este tipo de mutações (Anthony & Hussey 1998).

No geral, têm-se demonstrado que pequenas alterações na estrutura primária da tubulina podem apresentar drásticas mudanças na estabilidade dos microtúbulos, de modo que o

herbicida não consegue ter atuação eficiente. Assim, as mutações pontuais na α -tubulina são provavelmente o principal mecanismo de resistência para esse mecanismo de ação.

13.4. Potenciais dificuldades do uso dos herbicidas pré-emergentes no manejo da resistência em sistemas de produção conservacionistas

Via de regra, para o uso de herbicidas pré-emergentes é necessário considerar as propriedades do herbicida combinadas com as condições e as características do ambiente que está sendo aplicado. Volatilidade, solubilidade em meio aquoso, sorção em argila e matéria orgânica e o histórico de aplicação são as características que dominam o período residual e o efeito dos herbicidas pré-emergentes. Por outro lado, fatores ambientais como umidade, temperatura, classe de solo, matéria orgânica, pH e textura também são fatores essenciais a serem considerados.

Em sistemas de produção conservacionistas, a presença de restos culturais é um fator adicional e de grande complexidade, principalmente em sistemas com grande volume de palha. Para esses sistemas de produção, geralmente é necessário ajustar a dose do herbicida residual utilizado, porque a área de pulverização é usualmente desuniforme, visto que a palha atua como barreira física que varia ao longo da lavoura, de modo a apresentar áreas com alto volume e outras totalmente descobertas. Para as áreas de alto volume de palha, recomenda-se o incremento de 10 a 25% das doses comerciais utilizadas em campo, considerando-se os fatores acima citados.

Para áreas de plantio direto em que as populações de plantas daninhas já estão estabelecidas, os herbicidas pré-emergentes podem ser utilizados na linha de plantio caso a palhada for removida pela plantadora. Dessa forma, o herbicida terá maior eficiência no controle de plantas que o glifosato não conseguir controlar na aplicação em pós. Para

isso, deve-se sempre tomar cuidado com a seletividade e o posicionamento do herbicida ao ser aplicado.

13.5. Controle de gramíneas resistentes ao glifosato: potencial das Dinitroanilinas e das Cloroacetamidas

Para o controle de áreas infestadas resistentes a glifosato, existem diversos herbicidas do grupo das dinitronilinas e cloroacetanilidas que podem ser utilizados como alternativas de manejo, sobretudo em sistemas de produção de soja e de milho no controle de gramíneas como o capim amargoso (*Digitaria insularis*). Até o momento não foram reportados casos de resistência a essas classes de herbicidas no Brasil, por isso, provavelmente para os próximos anos esses produtos serão de grande valor para evitar o desenvolvimento de novos biótipos e para o combate das áreas já infestadas.

Na classe das Cloroacetamidas, o herbicida Acetoclor possui meia vida de seis a quatorze dias, podendo ser maior em temperaturas menores e em condição de seca. No caso de solos de textura arenosa, doses menores devem ser utilizadas. O herbicida Alaclor também apresenta bons resultados no controle contra gramíneas, devendo ser aplicado após a semeadura sobre solo úmido, caso contrário a sua eficiência é reduzida se não houver chuva no prazo de três dias. O residual deste herbicida é de seis a dez semanas. O herbicida Metalaclor, também da família das Cloroacetamidas, possui meia vida mais longa de quinze a cinquenta dias. Em sistemas de plantio direto, ele pode ser aplicado após a dissecação. Pode-se ainda utilizar as Cloroacetamidas em associação com atrazina ou cianazina para o controle de folhas largas como a buva.

Os herbicidas da classe das dinitroanilinas são indicados para a cultura da soja em pré-emergência para o controle de gramíneas. Os mais utilizados são a Trifluralina, a Orizalina e a Pendimentalina. Todos estes são herbicidas fortemente absorvidos por colóides presentes no solo, por isso, eles não são recomendados para uso em solos ricos em

matéria orgânica. Devido essa característica citada, esses herbicidas possuem alta persistência no solo, sendo sua degradação elevada com o aumento da umidade e da temperatura do solo. Os herbicidas, dependendo da formulação, podem ser volatilizados e fotodegradados rapidamente, sendo necessária a incorporação mecânica.

13.6. Referências bibliográficas

- ANTHONY, R. G., AND P. J. HUSSEY.. "Suppression of endogenous alpha and beta tubulin synthesis in transgenic maize calli overexpressing alpha and beta tubulins." *Plant J* . V. 16 (3) p. 297-304, 1998.
- ANTHONY, R. G., AND P. J. HUSSEY. "Dinitroaniline herbicide resistance and the microtubule cytoskeleton." *Trends Plant Sci* V. 4 (3) p. 112-116, 1999
- BUSI, R. 2014. "Resistance to herbicides inhibiting the biosynthesis of very-long-chain fatty acids." *Pest Manag Sci*. v. 70 (9) p. 1378-84.
- BÖGER P, Mode of action for chloroacetamides and functionally related compounds. *J Pestic Sci* v. 28(3) p. 324–329, 2003.
- BÖGER P, Mode of action for chloroacetamides and functionally related compounds. *J Pestic Sci* v. 28(3) p. 324–329 (2003).
- ECKERMAN, C., B. MATTHES, M. NIMTZ, V. REISER, B. LEDERER, P. BOGER, AND J. SCHRODER. 2003. "Covalent binding of chloroacetamide herbicides to the active site cysteine of plant type III polyketide synthases." *Phytochemistry* V. 64 (6) p. 1045-54.
- FERNANDES, T. C. C., MAZZEO, D. E. C., MARIN MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. v. 88, p. 252-259, 2007.
- FERNANDES, T. C. C., M. A. PIZANO, AND M. A. MARIN-MORALES. "Herbicides - Current Research and Case Studies in Use." 2013. Available <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/44986.pdf>
- HEAP, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. 2016. Available www.weedscience.org
- POST-BEITTENMILLER, D. "Biochemistry and molecular biology of wax production in plants." *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* v. 47 p.405-430

WHITAKER, M., AND M. G. LARMAN. "Calcium and mitosis."
Semin Cell Dev Biol v. 12(1) p.53-8, 2001.

CAPÍTULO 14

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS ANÁLOGOS DAS AUXINAS (Grupo O)

Marcelo Figueiredo
Todd Gaines
Scott Nissen

14.1. Introdução

Os herbicidas mimetizadores das auxinas são caracterizados pelo seu baixo peso molecular, uma vez que as moléculas que compõe essa classe são em sua maioria ácidos orgânicos que contêm um anel aromático e um grupo carboxilo, tal como a auxina natural, ácido indole-3-acético (IAA). Os herbicidas mimetizadores das auxinas são divididos em quatro classes diferentes: os ácidos fenoxi-carboxílicos (2,4-diclorofenoxiacético – 2,4-D), os ácidos benzóicos (dicamba), os ácidos pidínicos (picloram, clopiralide) e os ácidos quinoleíno-carboxílicos (quinclorac). As variações estruturais em cada molécula de herbicida influenciam a ligação de proteínas receptoras (Tan et al., 2007) e a taxa de degradação no interior da célula, conferindo assim as propriedades fitotóxicas dessa classe de herbicidas.

14.2. Mecanismo de ação

A atuação das auxinas na membrana plasmática tem sido controversa, principalmente com relação ao receptor Auxin Binding Protein (ABP1). Portanto, apenas os componentes incontestáveis pela ciência presentes nesta rota serão tratados na descrição dos mecanismos. Sabe-se que a atuação das auxinas na membrana induz a ativação da proteína cinase TMK na membrana plasmática que codifica o acionamento de uma proteína G, denominada RAC/ROP GTPase. Segundo Berken e Wittinghofer (2008), as proteínas G possuem papel chave na transdução de sinal nas células eucarióticas. RAC/ROPs são proteínas G específicas de plantas. Sua função é modular a coordenação espacial das células vegetais na organização do citoesqueleto, articulando

a disposição dos filamentos de actina e microtúbulos, que são estruturas que funcionam como “pilares de sustentação”.

A super ativação desse mecanismo pela presença dos herbicidas mimetizadores das auxinas altera os padrões do citoesqueleto levando a menor atividade dos lisossomos e da mitocôndria, que são reguladores do ambiente oxidativo do citosol (Rodriguez-Serrano et al., 2014). É suposto que esta atuação dos herbicidas sobre as estruturas do citoesqueleto de actina na célula leva ao sintoma de epinastia da planta.

Em nível de regulação gênica, as auxinas atuam na via do complexo proteico Skp1-Cullin-TIR/AFB ($SCF^{TIR/AFB}$) que regula o processo de expressão gênica relacionado com a ação das auxinas. No núcleo da célula vegetal, existem genes que são ativados somente na presença de auxinas por fatores de transcrição denominados ARFs (Auxin response factors). Esses, por sua vez, permanecem inativos, pois em condições normais estão ligados às proteínas repressoras chamadas AUX/IAAs. O complexo proteico $SCF^{Tir/AFB}$ é capaz degradar esses repressores e promover a ativação dos ARFs. Para que tal reação aconteça, a molécula de auxina se liga entre o complexo $SCF^{Tir/AFB}$ e o AUX/IAA, atuando como uma “cola molecular” e promove a degradação da proteína repressora. Esta, quando destruída, permite que os ARFs sejam ativados e os genes relacionados às respostas relacionadas à auxina, transcritos (Badescu & Napier, 2006; Tanet al., 2007; Sauer, 2013).

No processo de transcrição, dentre os vários RNAs mensageiros produzidos, dois possuem principal importância no efeito herbicida: o NCED-mRNA, que induz a biossíntese de ácido abscísico (ABA) e o ACS-mRNA, que induz a síntese de etileno. A produção desregulada desses hormônios promove a produção em larga escala de espécies reativas de oxigênio (EROs) alterando o estado redox intracelular e extracelular. A atuação dessas peroxidases e do H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) geram a reorganização da parede celular, ocasionando desidratação da matriz e saturação da parede, tornando-a endurecida, levando à redução do crescimento celular (Pereira et al., 2011). Devido à perda da estrutura da parede celular, EROs são capazes de penetrar profundamente na membrana de plasma, onde podem

interagir com fosfolípidos, promovendo dessa forma: 1) a insaturação de lipídeos da membrana plasmática, 2) o vazamento do citosol e 3) a morte celular.

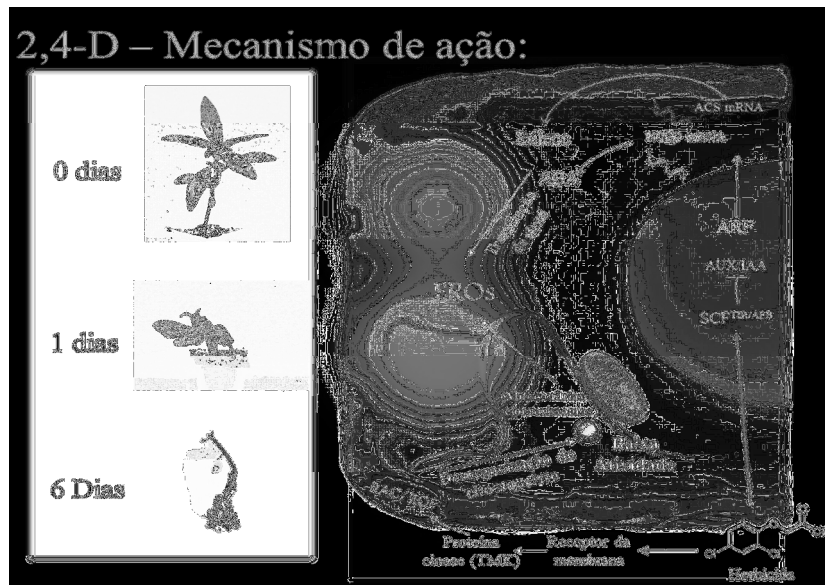


Figura 6. Mecanismo de ação de herbicidas análogos as auxinas. Abaixo o herbicida atuando na membrana e induzindo a desorganização do citoesqueleto, levando ao sintoma de epinastia comum da atuação desses herbicidas. Com isso, a atividade detoxificante das mitocôndrias e dos peroxossômos fica limitada levando ao acúmulo de EROs. Os herbicidas dessa classe também atuam no núcleo da célula, ativando o complexo proteico SCF^{TIR/AFB} e promovendo a destruição das proteínas repressoras (AUX/IAA) dos fatores de transcrição relacionados a ação das auxinas (ARF). O processo de transcrição dos ARFs resultará na produção de RNAs mensageiros que irão induzir a produção de etileno e ácido abscísico. A produção desregulada desses hormônios levará também ao acúmulo de EROs, ao fechamento de estômatos e ao colapso da membrana plasmática, com posterior murchamento e morte dos tecidos.

14.3. Mecanismos de Resistência

14.3.1. Alteração do sítio de ação

Mutações no sítio de ação podem levar a resistência aos herbicidas, uma vez que as mudanças na configuração estrutural ou nas interações eletrostáticas entre enzima e substrato podem fazer com que a enzima mantenha a capacidade de se ligar ao substrato original e não ao herbicida.

Para estudar como essas alterações no sítio de ação poderiam causar resistência, vários mutantes de *Arabidopsis* para os SCF receptores tir1-1, afb1, afb2, afb3 e afb5 foram aplicados com 2,4-D e Dicamba (Gleason et al., 2011). Apenas os receptores tir1 e afb5 conferiram maior tolerância ao herbicida Dicamba, enquanto que para o 2,4-D somente o receptor tir-1. Após dez horas da aplicação dos herbicidas, os autores notaram que vários genes relacionados com a síntese de ABA e etileno foram sub-expressos, provando desta maneira que as mutações específicas nos receptores poderiam levar a resistência aos herbicidas.

A grande questão relacionada à mutação enzimática desses receptores são os altos custos adaptativos que suas mudanças impõem. De fato, mudanças radicais nas enzimas que controlam os mecanismos bioquímicos, que são precisamente regulados, podem acarretar em ineficiência adaptativa para a maioria das espécies, uma vez que o herbicida não é a única condição adversa que as plantas devem enfrentar. Dessa maneira, as mutações podem causar resistência de alta especificidade podendo até impedir a total capacidade do herbicida de se ligar ao receptor. No entanto, essas mesmas mutações podem causar ineficiência nas funções normais responsáveis por manter e regular as funções básicas para a sobrevivência. No caso das auxinas, a desregulação dessas funções pode afetar o desenvolvimento vegetal drasticamente.

14.3.2. Transporte

Recentemente, novos estudos referentes a uma população de Nabiça (*Raphanus raphanistrum*) proveniente da Austrália demonstraram uma grande redução no transporte

de 2,4-D (Goggin, et al., 2016). Dessa maneira, o herbicida após a aplicação estaria sendo retido somente nos órgãos aplicados, permitindo assim a sobrevivência dos meristemas de crescimento da planta. Com o desenvolvimento de novas pesquisas, as alterações nos transportadores de auxinas presentes na membrana plasmática têm sido as principais suspeitas no mecanismo de resistência. Esses carregadores pertencem a uma ampla família denominada ATP-binding cassette – class B (ABCB). Têm-se especulado que as mutações presentes nas plantas resistentes poderiam diminuir a capacidade dos transportadores de se ligarem ao herbicida ou, simplesmente, que existam mecanismos secundários que inibem a produção desses transportadores na presença do herbicida. Segundo os autores, o sequenciamento de genes dos transportadores ABCB entre populações susceptíveis e resistentes de *Nabiça* serão realizadas e posteriormente comparadas para comprovação deste mecanismo (Schulz e Segobye, 2016).

14.3.2. Metabolismo

Os mecanismos para detoxificação de auxinas sintéticas são muito versáteis e contam com a atuação de enzimas para: reações de hidrólise, em que a molécula é quebrada ao reagir com água; reações de hidratação, em que uma hidroxila é adicionada a molécula e reações sintéticas, em que um grupo funcional (glucose por exemplo) é adicionado ao herbicida, permitindo posteriores reações para sua estabilização.

As principais enzimas relacionadas ao metabolismo de herbicidas mimetizadores de auxinas são os citocromos P450, que são responsáveis pelas reações de hidrólise e hidratação. As reações sintéticas, principalmente a adição de glucose, são catalisadas por UDP-glucosil-transferases. A conjugação pela adição de aminoácidos também é reportada na literatura, no caso a adição de grupo acetil por acetiltransferases.

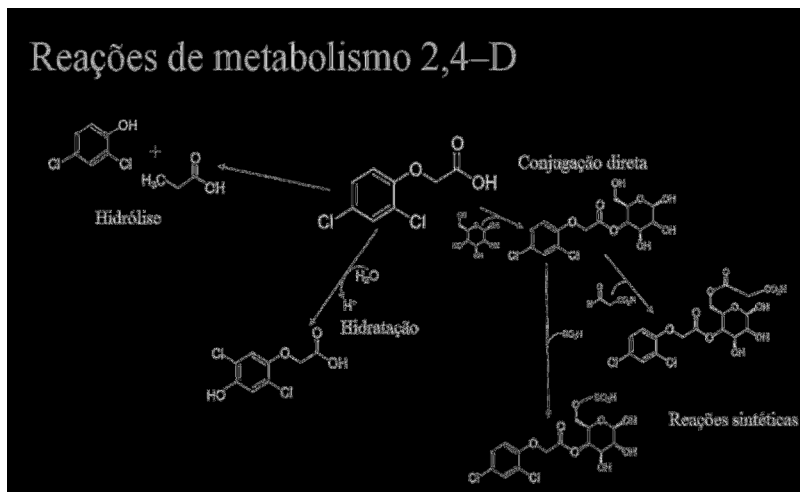


Figura 7. Reações de transformação do herbicida 2,4-D em plantas.

Em 1970, Hagin et al reportaram que o metabolismo era o principal mecanismo envolvido na tolerância ao herbicida 2,4-D em espécies gramíneas e também que a enzima responsável pela transformação seria uma P450. Outros trabalhos também mostraram o metabolismo como o mecanismo de resistência a herbicidas análogos a auxinas, selecionado em populações de *Galeopsis tetrahit* (Weinberg et al., 2006), *Carduus nutans* (Harrington & Woolley, 2006), *Kochia scoparia* (Keith et al., 2011) e *Stellaria media* (Coupland et al., 1990). No entanto, os estudos para determinar os metabólitos e as proteínas que estavam envolvidos no processo de detoxificação não foram ainda realizados, com exceção de Yajima et al. (2004), que ao estudarem uma população de *Synapsis arvensis* resistente ao herbicida Dicamba, reportaram uma super expressão da enzima peptidiprolil cis-trans isomerase, que proporcionava a hidroxilação do herbicida.

As mutações envolvendo mecanismos capazes de metabolizar pesticidas são em geral as primeiras a serem selecionadas quando certa população sofre pressão de seleção. Isso provavelmente ocorre em decorrência dos menores custos adaptativos, tendo em vista que ao induzir o aumento do número de cópias de genes relacionados a uma

determinada enzima para que essa seja super expressada, as populações resistentes não alteram as funções que as enzimas já desempenhavam originalmente, permitindo assim que o processo de detoxificação seja realizado com baixo custo energético.

14.4. Perspectiva de usos de culturas transgênicas resistentes aos análogos das auxinas, implicações da resistência e aplicação dos herbicidas no campo

É previsto que, em poucos anos, haja o lançamento de culturas transgênicas de soja, milho e algodão resistentes a herbicidas mimetizadores das auxinas como o 2,4-D ou o Dicamba. Companhias multinacionais escolheram esses dois herbicidas devido a sua eficiência no controle de plantas daninhas dicotiledôneas e pelo baixo número de casos de resistência encontrados, apesar desses herbicidas já serem utilizados por quase meio século. Além disso, essas tecnologias de culturas transgênicas apresentarão resistência para outros herbicidas como glifosato e alguns outros inibidores da AACase como quizalofop, fluazifop e diclofop. A resistência nessas culturas ocorre pela atuação da enzima ariloxialcanoato dioxigenase (ADD), uma enzima comum de bactérias de solo que são capazes de realizar a hidroxilação do radical fenoxi presente nos herbicidas citados acima, promovendo sua quebra.

O principal objetivo dessas novas tecnologias é implementar e facilitar o controle de plantas daninhas resistentes e tolerantes, promovendo a manutenção da prática de plantio direto, sobretudo em áreas em que o controle utilizando glifosato é ineficiente, de maneira a manter o controle de plantas daninhas eficiente e simples. Para limitar as condições para o desenvolvimento de resistência, herbicidas de pré-emergência residual também serão indicados antes do plantio. Contudo, essas tecnologias jamais devem ser utilizadas como a única solução para o controle de plantas daninhas, uma vez que é necessário manter a diversidade nas práticas de manejo. Os sistemas de produção são mais eficientes, produtivos e duráveis para o manejo de plantas daninhas quando se aplicam diversas técnicas, como controle químico, genético, cultural e não químico. Por certo

no futuro, o manejo integrado será a principal, senão a única solução para os problemas que hoje enfrentamos no controle de pragas como um todo.

No momento, existe certa apreensão sobre o uso dessas novas tecnologias, principalmente quanto aos seus efeitos na ecologia das plantas daninhas nos sistemas de produção. A preocupação fundamental relacionada à aplicação extensiva de herbicidas mimetizadores de auxinas é a questão de volatilização, que consiste no movimento do herbicida na forma de gás após ser evaporado, que pode se mover com o vento e atingir culturas susceptíveis. A evaporação de herbicidas é facilitada ao serem aplicados em condições de baixa humidade relativa do ar e sob altas temperaturas. Deriva é o movimento do herbicida aplicado na forma de minúsculas gotas carregadas pelo vento. A ocorrência de deriva está relacionada com a aplicação de herbicidas sob condições não ideais de vento ou ainda quando são utilizadas técnicas inadequadas de aplicação.

Para minimizar esses problemas, têm-se investido no desenvolvimento de novas formulações de 2,4-D em que não se utilizam aminas (isopropilamina, dimetilamina) que apresentam alta pressão de vapor, mas se utiliza sais como hidróxido de colina, que confere menor pressão de vapor à formulação final, diminuindo assim sua volatilização. Para diminuir a ocorrência da deriva, têm-se investido em adjuvantes que reduzem a capacidade das gotas de aplicação serem carregadas pelo vento, além disso, as técnicas de aplicação estão sendo desenvolvidas na forma de protocolos, com o intuito de minimizar esses problemas. Para culturas resistentes a Dicamba, têm-se desenvolvido formulações deste herbicida menos voláteis do que as convencionais e programas de aplicação focados em utilizar gotas mais grossas e com velocidade do vento no máximo de 15 km/h, como forma de se diminuir a deriva.

O uso de novas tecnologias é extremamente útil e necessário para o contexto que a produção agrícola se encaminha nos dias de hoje. Essas tecnologias são fruto de intensas pesquisas e de largos investimentos, que demonstram claramente o quanto o progresso científico nos permite avançar tanto no aperfeiçoamento do controle de

plantas daninhas quanto a lidar com as dificuldades que hodiernamente são uma realidade.

14.5. Referências bibliográficas

- BADESCU, G.O.; NAPIER R.M. Receptors for auxin: will it all end in TIRs **Trends in Plant Science**, London, v. 11, p. 217–223. 2006.
- BERKEN, A.; WITTINGHOFER, A. Structure and function of Rho-type molecular switches in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 46, p. 380–393, 2008.
- COUPLAND, D.; LUTMAN, P. J. W.; HEATH, C. Uptake, translocation, and metabolism of mecoprop in a sensitive and a resistant biotype of *Stellaria media*. **Pesticide Biochemistry and Physiology** v. 36, p. 61–67. 1990.
- GLEASON, C.; FOLEY, R.C.; SINGH, K.B. Mutant analysis in *Arabidopsis* provides insight into the molecular mode of action of the auxinic herbicide dicamba. **PLoS One**, v. 6, p. 17245, 2011.
- GOGGIN, D. E.; CAWTHRAY G. R., POWLES S. B. 2,4-D resistance in wild radish: reduced herbicide translocation via inhibition of cellular transport **J. Exp Bot.**, V. 67(11), p. 3223–3235, 2016.
- HAGIN, R. D.; LINSKOTT D. L.; DAWSON J. E. 2,4-D metabolism in resistant grasses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. V. 18, p. 848–850. 1970.
- HARRINGTON, K. C.; WOOLLEY, D. J. Investigations of how phenoxy-resistant *Carduus nutans* biotypes survive herbicide spraying. **New Zealand Journal of Agricultural Research** v. 49, p. 465–474, 2006.
- KEITH B. K.; KALININA, E. B.; DYER, W. E. Differentially expressed genes in dicamba-resistant and dicamba-susceptible biotypes. **Weed Biology and Management** v. 11, p. 224–234, 2011.
- PEREIRA C.S.; RIBEIRO, J.M.; VATULESCU, A.D.; FINDLAY, K.; MACDOUGALL, A.J.; JACKSON, P.A. Extension network formation in *Vitis vinifera* callus cells is an essential and causal event in rapid and H₂O₂-induced reduction in primary cell wall hydration. **BMC Plant Biology**, v. 11, p. 106, 2011.
- RODRIGUEZ-SERRANO, M.; PAZMINO, D.M.; SPARKES, I.; ROCHETTI, A.; HAWES, C.; ROMERO-PUERTAS, M.C.; SANDALIO, L.M. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid promotes S-nitrosylation and oxidation of actin affecting cytoskeleton and peroxisomal dynamics. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n.17, p. 4783–4793, 2014.

- SAUER, M.; ROBERT, S.; KLEINE-VEHN, J. Auxin: simply complicated. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 64, p. 2565–2577, 2013.
- SCHULZ, B.; SEGOBYE, K. 2,4-D transport and herbicide resistance in weeds, J. **Exp Bot.** V. 67(11), p. 3177–3179, 2016.
- TAN, X.; CALDERON-VILLALOBOS, L.I.; SHARON, M.; ZHENG, C.; ROBINSON, C.V.; ESTELLE, M.; ZHENG, N. Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase. **Nature**, v. 446, p. 640–645, 2007
- WEINBERG, T.; STEPHENSON, G. R.; MCLEAN, M. D.; HALL, J. C. MCPA (4-chloro-2-ethylphenoxyacetate) resistance in hemp-nettle (*Galeopsis tetrahit* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 54, 9126–9134, 2006.
- YAJIMA, W.; HALL, J. C.; KAV N. N. V. Proteome-level differences between auxinic-herbicide-susceptible and -resistant wild mustard (*Sinapsis arvensis* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** v. 52, 5063–5070, 2004.

CAPÍTULO 15

ASPECTOS GERAIS DO MANEJO DE PLANTAS DANINHAS RESISTENTES A HERBICIDAS NOS SISTEMAS DE PRODUÇÃO ENVOLVENDO AS CULTURAS DE MILHO E SOJA

Marcelo Nicolai
Pedro Jacob Christoffoleti

Quando se menciona o manejo de plantas daninhas em culturas como soja e milho, deve-se considerar que estas são produzidas no Brasil dentro de complexos e diversos sistemas de produção e são tratadas dentro de cada sistema como um ciclo de produção. Assim, quando se almeja a produção de soja, esta pode ser sucedida por milho, o qual seria encarado como safrinha, e depois, dependendo da região, a área pode ser explorada com uma cultura de inverno. Dessa forma, ocorre uma intensificação das práticas de manejo e no caso de plantas daninhas podemos ter situações em que as áreas de produção se tornem mais manejáveis. Ocorre que quando se aplica uma visão simplista do sistema ou se explora apenas uma cultura, ocorrem janelas que proporcionam, numa situação mais normal e aceitável, as reinfestações das áreas com as plantas daninhas de ocorrência normal, ainda que em pressão de infestação muito maior. Em situações onde se simplifica muito o sistema de produção quanto ao manejo de plantas daninhas, a resistência de plantas daninhas é um sintoma natural, observado com mais frequência na cultura da soja onde plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ALS, da ACCase e da EPSPs tem mais frequência (Christoffoleti et al., 2014).

Para um manejo de plantas daninhas adequado e bem sucedido, a primeira etapa de cada ciclo de produção é a dessecação das áreas para semeadura. Esta prática torna possível a diminuição da pressão de infestação de plantas daninhas oriundas de sementes e elimina restos de plantas daninhas com capacidade para propagação vegetativa (Constantin et al., 2009). Nesta etapa o uso do glifosato é fundamental, representando a principal ferramenta neste

processo e necessitando de ajuda para boa dessecação de plantas daninhas tolerantes e resistentes ao mesmo. Ainda, a colocação de herbicidas residuais neste processo auxilia a ação do glifosato e promovem a desinfestação almejada quanto a diminuição da pressão de infestação de certas espécies de plantas daninhas (López-Ovejero et al. 2013). A dessecação pode ser dividida em duas etapas espaçadas de duas semanas, onde na primeira é o glifosato o protagonista, tornando a área semeável pelo simples fato de se eliminar a cobertura vegetal que dificulta a semeadura, sendo auxiliado principalmente pelo 2,4-D ou herbicidas inibidores da PROTOX, como saflufenacil, flumioxazina e carfentrazone. Na segunda tem espaço uma complementação, com herbicidas de contato como diquat, paraquat ou amônio glufosinato, os quais complementaram a ação do glifosato sobre as plantas mais entouceiradas ou de mais difícil controle (aplique e plante). Seja junto com o glifosato ou na segunda etapa da dessecação, a inserção de produtos residuais como chlorimuron, metribizun, atrazina, imazethapyr, flumioxazina, diclosulan, sulfentrazone, clomazone, s-metolacclhor e outros ajudam na dianteira competitiva sobre as plantas daninhas “dentro da cultura” (Christoffoleti et al., 2008).

Com relação aos residuais utilizados na dessecação ou mesmo em pós-emergência das culturas, há de se considerar a capacidade dos mesmos em serem seletivos a cada cultivo obviamente, mas, tão importante quanto, deve-se entender qual a capacidade destes herbicidas em injuriar as culturas em sequencia, no fenômeno conhecido como “carry over” (Oliveira Jr. et al., 2011). Culturas como a soja tiveram seu ciclo de produção encurtado nos últimos dez anos, tornando mais comum injúrias as culturas semeadas em sequência como o milho, causadas por herbicidas seletivos e usados a soja. A dessecação é um momento vital no manejo de plantas daninhas dentro do sistema de produção de soja e milho, sendo fundamental sua realização, bem como a manutenção do tempo entre dessecação e semeadura, mesmo que as condições da região se mostrem proibitivas (Norsworthy et al., 2012). Ignorar esta etapa em função do operacional e o segundo maior entrave do sistema de produção citado,

responsável direto pelos problemas com plantas daninhas resistentes em meio a soja e também ao milho.

Após a etapa de dessecação e semeadura, existe a oportunidade de uso do pré-emergente, principalmente se não foi utilizado herbicida residual na dessecação normal ou no “aplique e plante” (López-Ovejero et al. 2013). Todo herbicida registrado como pré-emergente, para cada cultura, tem espaço, desde que considerado o alvo (planta daninha) e a composição do solo do local, principalmente quanto a argila e matéria orgânica (Christoffoleti et al., 2009; Jaremtchuk et al., 2009). Estas observações evitam as fitointoxicações e as reaplicações em áreas de resistência de plantas daninhas a herbicidas inibidores da ALS e do fotossistema II (FSII).

Se considerarmos a cultura da soja, os herbicidas residuais / pré-emergentes são diversos (clorimuron, imazethapyr, flumioxazina, diclosulan, sulfentrazone, clomazone, metribuzin, s-metolachlor, metsulfuron e trifluralina) (Rodrigues & Almeida, 2011) e serviram de base para o manejo de plantas daninhas como buva (*Conyza bonariensis* / *canadensis* / *sumatrensis*), capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*), capim-branco (*Chloris* spp) e capim-amargoso (*Digitaria insularis*), que são resistentes ao glifosato (Heap, 2016). A atrazina, presente nas recomendações oficiais de manejo de plantas daninhas em milho é outra ferramenta importantíssima nesse manejo (Nicolai et al., 2011).

O uso de glifosato em pós-emergência da cultura de soja ainda é uma ferramenta indispensável, pois maneja uma gama enorme de espécies infestantes, além de controlar velhos problemas de resistência nacionais, como o picão-preto (*Bidens pilosa* / *subalternans*), o capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*), o capim-colchão (*Digitaria ciliaris*) e o amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*) resistentes aos herbicidas inibidores da ALS ou ACCase (Ramires et al., 2010). É muito bem vindo o auxílio de herbicidas parceiros em pós-emergência para o glifosato, seja nos estádios vegetativos da soja normais de aplicação de herbicidas, v2, v4 ou v8, ou mais tarde na pré / pós-colheita, independentemente das possíveis fitointoxicações. Estes parceiros seriam clorimuron, imazethapyr, lactofen, fomesafen, bentazon,

quinclorac e todos os herbicidas inibidores da ACCase (Rodrigues & Almeida, 2011).

O milho possui dois produtos recomendados que são inibidores da síntese de carotenóides, grupo restrito de herbicidas, sem outras opções em pós-emergência seletiva. Assim, a despeito da possibilidade de uso de glifosato e amônio glufosinato em pós-emergência, o uso de mesotrione e tembotrione deve estar presente em uma programação de uso de herbicidas sustentável (Christoffoleti et al., 2014). Não se pode deixar de mencionar a questão das plantas voluntárias ou tigüeras. Cada sistema de produção no Brasil ter uma situação em que a semente caída na colheita das áreas comerciais gera uma planta que se tornara uma planta daninha no cultivo em sucessão, como observamos claramente com o milho geneticamente modificado para resistência a glifosato, nas áreas de soja RR (López-Ovejero et al., 2016). Tal situação demanda práticas de manejo voltadas a este problema como aumento do intervalo entre os ciclos de produção para aumento da janela de manejo destas plantas voluntárias, além claro do uso de herbicidas destinados a estes alvos (Christoffoleti et al., 2014).

Dentro de um sistema de produção, com o intuito de conservação de solo, eliminação de plantas daninhas e produção de grãos, existem as culturas de inverno ou de cobertura. Na região sul do Brasil, as culturas utilizadas são os chamados cereais de inverno, muitas vezes com intuito de produção de grãos. São exemplos disso o trigo, a cevada e o triticale. Ainda, a aveia, o centeio e o azevém servem de cobertura vegetal para geração de palhada no plantio direto (Tenedini & Feldmann, 2015). No Cerrado, o uso de sorgo, milheto, braquiária (*B. ruziziensis*) e girassol são os exemplos mais comuns. Todas estas culturas possibilitam a cobertura no solo no inverno, impedem as altas produções de sementes do pousio como vemos como a buva e ainda fazem uso, ainda que não freqüente, de herbicidas alternativos ao glifosato (Soares et al., 2012).

A pós-colheita da cultura da soja ou do milho, se não imediatamente seguidas por outras culturas como o próprio milho e soja ou alguma cobertura / cultura de inverno, deve ser incrementada com o uso de herbicidas pós-emergentes ou

com efeito residual. (Christoffoleti et al., 2012). Isso é uma tentativa de evitar a produção de sementes de plantas daninhas, resistentes ou não, e conseqüente incremento do banco de sementes das áreas, no pousio (Norsworthy et al., 2012).

Por fim, não deve ser esquecido que as boas práticas agronômicas nos dizem que culturas bem conduzidas quanto a sanidade e nutrição tem menos problemas com plantas daninhas. O uso de sementes de qualidade, a definição de orientações espaciais de semeadura (espaçamento) e variedades com ciclos mais precoce são estratégias de manejo de plantas daninhas integrado muito presentes nos sistemas de produção brasileiros. No tocante a questão de resistência de plantas daninhas, o manejo e principalmente a prevenção da mesma são preocupações constantes devido ao crescimento do problema e falta de engajamento do produtor devido a questão do custo. O produtor não entende o conceito de investimento no sistema de produção e isso é a principal barreira para um bom manejo de plantas daninhas. Assim, a continuidade das orientações técnicas dentro do sistema de produção de soja e milho é fundamental. É muito importante que se pense em prevenção do problema de resistência com algum tipo de investimento no sistema de produção, seja mediante variação de estratégias herbicidas (residual), seja com a diversificação do sistema de produção utilizando-se rotação de culturas, palhada e eliminação do pousio com manejo outonal. O glifosato deve ser auxiliado no manejo de plantas daninhas e não utilizado com única ferramenta, pois o tempo em que se fazia tal utilização já passou.

15.1. Referências bibliográficas

- CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R. S.; INOUEM. H.; ARANTES, J. G. Z.; CAVALIERI, S. D. Sistemas de dessecação antecedendo a semeadura direta de milho e controle de plantas daninhas. **Ciência Rural**, Santa Maria (RS), 2009, vol.39, n.4, pp.971-976.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M.; MELO, M. S. C. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. In: Aspectos da Biologia e Manejo de Plantas Daninhas /

- organizado por MONQUERO, P. A. - São Carlos: RiMa Editora, p 257 - 282, 2014.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M.; MELO, M. S. C.; OBARA, F. E. B.; LOPEZ-OVEJERO, R. F. Simulação de sistemas de manejo químico para *Digitaria insularis* resistente ao glifosato na cultura da soja RR: enfoque em residuais. In: **Anais** do Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 2012, Campo Grande. XXVIII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 2012. p. 222-227.
- CHRISTOFFOLETI, P. J.; LOPEZ-OVEJERO, R. F.; CARVALHO, S. J. P.; DAMIN, V.; NICOLAI, M. **Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2009. 72p.
- CHRISTOFFOLETI, P. J. et al. Glyphosate sustainability in South American cropping systems. **Pest. Manag. Science**, v. 64, n. 4, p. 422-427, 2008.
- HEAP, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. 2016. Available www.weedscience.org.
- JAREMTCHUK, C. C. et al. Residual effect of flumioxazin on weed emergence in soils of distinct textures. **Planta Daninha**, v. 27, n. 1, p. 191-196, 2009.
- LOPEZ-OVEJERO, R. F.; SOARES, D. J.; OLIVEIRA, N. C.; KAWAGUCHI, I. T.; BERGER, G. U.; CARVALHO, S. J. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Interferência e controle de milho voluntário tolerante ao glifosato na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 340-347, 2016.
- LOPEZ-OVEJERO, R. F.; SOARES, D. J.; OLIVEIRA, W. S.; FONSECA, L. B.; BERGER, G. U.; SOTERES, J. K.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Residual herbicides in weed management for glyphosate-resistant soybean in Brazil. **Planta Daninha**, Viçosa (MG), v. 31, p. 947-959, 2013.
- NICOLAI, M.; CARVALHO, S. J. P.; MELO, M. S. C.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Ocorrência e manejo de plantas daninhas resistentes a herbicidas na cultura de milho no Brasil. In: FANCELLI, A. L. (Ed). **Milho: Produção e Produtividade**. Piracicaba/SP: ESALQ/USP/LPV, p 59-90, 2011.

- NORSWORTHY, J. K. et al. Reducing the risks of herbicide resistance: best management practices and recommendations. **Weed Science**, v. 60, (sp 1), p. 31-62, 2012.
- OLIVEIRA JR, R. S., CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba, PR: Omnipax, 2011, p. 243-262.
- RAMIRES, A.C.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R.S.; GUERRA, N.; ALONSO, D.G.; BIFFE, D.F. Controle de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea grandifolia* com a utilização de glyphosate isolado ou em associação com latifolicidas. **Planta Daninha**, Viçosa (MG), vol.28, nº.3, p. 621 a 629, 2010.
- RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. (ed.). **Guia de herbicidas**. Londrina, PR: Edição dos autores, 6 Edição, 697 p, 2011.
- SOARES, D. J.; OLIVEIRA, W. S.; LOPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Control of glyphosate resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) with dicamba and 2,4-D. **Planta Daninha**, Viçosa (MG), v. 30, p. 401-406, 2012.
- TENEDINI, J. T.; FELDMANN, N. A. . UTILIZAÇÃO DE COBERTURAS DE INVERNO NA SUPRESSÃO DE AZEVÉM RESISTENTE AO GLYPHOSATE. In: **II Simpósio de Agronomia e Tecnologia de Alimentos (AGROTEC)**, 2015, Itapiranga. II Simpósio de Agronomia e Tecnologia de Alimentos (AGROTEC), 2015.

CAPÍTULO 16

ASPECTOS GERAIS DO MANEJO DE PLANTAS DANINHAS RESISTENTES A HERBICIDAS NA CULTURA DO ALGODÃO

Anderson Luís Cavenaghi
Edson R. Andrade Junior
Sebastião Carneiro Guimarães

A cultura do algodão é uma das mais sensíveis à interferência de plantas daninhas, as quais podem causar prejuízos durante todo o ciclo, reduzindo a quantidade e a qualidade da fibra. A menor competitividade da cultura se deve a características como maior espaçamento entrelinhas e crescimento lento da parte aérea nos primeiros estádios, agravados pelo longo ciclo (160 a 200 dias em média), necessidade agrônômica de manter a cultura com porte baixo (uso de reguladores de crescimento), exigência de lavoura limpa por ocasião da colheita e poucas opções de tratamentos herbicidas com amplo espectro e boa seletividade.

O manejo de plantas daninhas nesta cultura passou por mudanças significativas entre as safras dos anos de 2008 e 2016, condicionadas pela maior incidência de espécies daninhas resistentes a herbicidas e pelo aumento no valor da commodity soja, que acabou “deslocando” aproximadamente 70% do plantio da cultura no estado de Mato Grosso, maior produtor brasileiro, para os meses de janeiro e fevereiro (segunda safra).

As variedades de algodão cultivadas entre 2005 e 2010 foram, em sua maioria, convencionais, ou seja, sem resistência a herbicidas. Para estas variedades, os únicos herbicidas para controle de folhas largas, pós-emergentes seletivos para a cultura, eram pyriithiobac-sodium e trifloxysulfuron-sodium, ambos inibidores da ALS, o que acabou ocasionando o aumento da densidade e dispersão de biótipos de leiteiro (*Euphorbia heterophylla*) e picão-preto (*Bidens* spp.) resistentes a esse sítio de ação, selecionados na cultura da soja, normalmente cultivada nas mesmas áreas em rotação ou sucessão. Herbicidas pré-emergentes

utilizados na cultura apresentam bom controle para as plantas de picão-preto, porém, a dificuldade em controlar leiteiro nas áreas de algodão convencional, pela falta de herbicidas eficientes recomendados para esta cultura, impulsionou o uso de variedades transgênicas resistentes a glyphosate ou glufosinate-ammonium (Cavenaghi et al., 2015), aprovados para a comercialização pela CTNBIO no ano de 2008 (CTNbio, 2016).

Com uso de variedades transgênicas e o “deslocamento” do plantio da cultura do algodoeiro para os meses de janeiro e fevereiro, após a colheita da soja, a utilização de herbicidas pré-emergentes, comum quando o plantio ocorria em dezembro, diminuiu, e com isso reduziu também a quantidade de sítios de ação aplicados numa mesma safra. Essa forma simplificada de manejo foi responsável pelo aumento dos problemas com plantas daninhas resistentes a herbicidas em países como Estados Unidos da América e Austrália, onde o problema com resistência de plantas daninhas se agravou nos últimos anos, e mesmo assim, este também parece ser o caminho a ser percorrido no Brasil.

Um projeto de extensão intitulado “Monitoramento de plantas daninhas resistentes a herbicidas e difusão de medidas de controle no estado de Mato Grosso” vem sendo realizado em parceria pelo Instituto Mato-grossense do Algodão (IMAmt), pela UNIVAG-Centro Universitário de Várzea Grande-MT e pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Nesse projeto, biótipos de plantas daninhas, ocorrentes na cultura de algodão, com suspeitas de resistência a herbicidas, são testadas segundo protocolo simplificado para casos já registrados, e usando curvas de dose-resposta para novos casos. Nas Tabelas 1 e 2 estão reproduzidos os resultados obtidos nos anos 2013/14 e 2014/15, expressos como percentuais das amostras classificadas como resistentes (não foram controladas pelo dobro da dose de rótulo), tolerantes (não foram controladas pela dose de rótulo, mas o foram pelo seu dobro) ou suscetíveis (foram controladas pela dose de rótulo).

Tabela 1. Porcentagem das amostras classificadas como resistentes, tolerantes ou suscetíveis, na safra de 2013/2014. Fonte: IMA (dados não publicados).

Espécie de planta daninha	Ingrediente ativo	Resistentes	Tolerantes	Suscetíveis
*Pirão-preto (<i>Bidens subalternans</i>)	pyrithiobac-sodium	72,9	18,7	8,4
*Leiteiro (<i>Euphorbia heterophylla</i>)	trifloxysulfuron-sodium	45,9	37,8	16,3
**Caruru (<i>Amaranthus</i> sp.)	pyrithiobac-sodium	28,1	22,9	49,0
*Mentrasto (<i>Ageratum conyzoides</i>)	trifloxysulfuron-sodium	62,8	14,3	22,9
*Capim-pé-de-galinha (<i>Eleusine indica</i>)	clethodim/tepraloxym	68,3	7,3	24,4
Buva (<i>Conyza</i> spp)	glyphosate	78,6	---	21,4

*Todas as espécies foram controladas pela dose de 720 g e.a./ha de glyphosate.

**Duas amostras não foram controladas pela dose de 1.440g e.a./ha de glyphosate e foram identificadas como *Amaranthus palmeri*.

Tabela 2. Porcentagem das amostras classificadas como resistentes, tolerantes ou suscetíveis, na safra 2014/2015, segundo critério estabelecido no projeto. Fonte: IMA (dados não publicados).

Espécie de planta daninha	Ingrediente ativo	Resistente s	Tolerante s	Suscetíveis s
*Picão-preto (<i>Bidens subalternans</i>)	pyrithiobac-sodium	83,7	16,7	0,0
*Leiteiro (<i>Euphorbia heterophylla</i>)	trifloxysulfuron-sodium	100,0	0,0	0,0
*Caruru-rasteiro (<i>Amaranthus deflexus</i>)	pyrithiobac-sodium	42,1	12,0	45,9
Caruru-palmeri (<i>Amaranthus palmeri</i>)	glyphosate	100,0	0,0	0,0
*Mentraso (<i>Ageratum conyzoides</i>)	trifloxysulfuron-sodium	71,4	14,3	14,3
*Capim-pé-de-galinha (<i>Eleusine indica</i>)	clethodim/tepraloxym	65,2	10,4	27,1
Buva (<i>Conyza</i> spp.)	glyphosate	100,0	0,0	0,0

*Todas as espécies foram controladas pela dose de 720 g e.a./ha de glyphosate.

Os problemas com leiteiro e picão-preto resistentes a inibidores da ALS foram evidenciados pela grande quantidade de amostras recebidas e pelo alto índice de problema de controle verificado para estas espécies em todos os anos de realização do projeto (Andrade Jr. et al., 2013, 2014)

Além de leiteiro e picão-preto, espécies de caruru (*Amaranthus* spp.) e mentrasto não foram controladas com os herbicidas inibidores da ALS normalmente utilizados na cultura do algodão, e para mentrasto, este foi o primeiro relato de resistência no mundo. Francischini et al. (2012, 2013) também relataram a ocorrência de biótipos de caruru resistentes aos inibidores de ALS em regiões algodoeiras do Brasil, e alguns desses apresentaram também resistência a inibidores do fotossistema II.

Biótipos de capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*) resistentes aos herbicidas clethodim e tepraloxymid, ambos inibidores da ACCase, poderão se tornar grande problema nas áreas de produção de algodão, exigindo atenção especial porque já existem no mundo biótipos resistentes a vários sítios de ação incluindo glufosinate-ammonium e a glyphosate, dois dos principais herbicidas utilizados nessa cultura. Resistência de capim-pé-de-galinha a glyphosate já foi constatada no Brasil (Heap, 2016), e na Malásia, há um biótipo com resistência múltipla a quatro sítios de ação, ACCase, PS I, EPSPs e GS (Jalaludim et al., 2014).

Um dos maiores problemas do algodoeiro nos Estados Unidos da América, a planta daninha *Amaranthus palmeri*, foi identificada em Mato Grosso e relatada no ano de 2015 (Andrade Jr. et al., 2015a). Esta espécie de caruru apresentou resistência múltipla a herbicidas inibidores de ALS (Gonçalves Netto et al., 2016) e inibidores da EPSPs (glyphosate) (Carvalho et al., 2015). Nos Estados Unidos, há biótipos de *A. palmeri* com resistência simples a herbicidas de seis sítios de ação: inibidores da ALS, inibidores da EPSPs, inibidores da HPPD, inibidores de microtúbulos, inibidores do fotossistema II e inibidores da PROTOX (PPO). O manejo dessas populações se torna ainda mais complexo com a ocorrência de resistência múltipla, a qual já foi detectada para dois ou três desses mecanismos (ALS/EPSPs; PROTOX/ALS, PROTOX/EPSPs, ALS/EPSPs/FSII e ALS/FSII/HPPD). A

resistência de *Amaranthus palmeri* a inibidores da PROTOX (fomesafen) foi relatada em 2016 no estado do Arkansas (EUA) (Salas et al., 2016) para um biótipo que já tinha resistência à ALS. Os herbicidas inibidores da PROTOX podem ser excelentes alternativas para o controle de biótipos de *Amaranthus palmeri* resistentes a outros sítios de ação, e a perda de mais esta ferramenta pode dificultar ainda mais o controle desta espécie. Em Mato Grosso já foi identificado um biótipo de *Amaranthus retroflexus* com resistência a inibidores da PROTOX, aplicados em pós-emergência, em áreas de produção de soja.

Estes resultados evidenciam a necessidade de se adotar medidas integradas de controle que possam auxiliar no aumento da eficiência dos manejos utilizados. O controle cultural é de extrema importância e deve ser planejado buscando-se dar vantagens para o desenvolvimento das plantas da cultura desde a semeadura, ou seja, realizar o plantio no limpo, na época, densidade e espaçamentos recomendados e com fertilização e manejos fitossanitários adequados. Além destes cuidados, o uso de espécies que propiciem a formação de cobertura morta no momento da semeadura do algodão no mês de dezembro pode auxiliar na redução da densidade de plantas daninhas na área e o milheto (*Pennisetum glaucum*) e o capim-braquiária (*Brachiaria ruziziensis*) são consideradas as melhores opções para esta finalidade em áreas no cerrado.

Métodos preventivos, como a limpeza de maquinários, ganham importância quando consideramos que uma das principais características de espécies como buva, caruru, capim-pé-de-galinha e capim-amargoso (*Digitaria insularis*) é a produção de grande número de sementes pequenas. Para a espécie *Amaranthus palmeri*, já resistente ao herbicida glyphosate e inibidores da ALS, o procedimento de limpeza de colhedoras, entre outras exigências, passa a ser obrigatório em propriedades infestadas (INDEA-MT, 2015).

O método químico, representado pelo uso de herbicidas, tornou-se muito difundido e útil em várias culturas, sendo imprescindível nas grandes áreas algodoceiras, pelas vantagens como alta eficiência, rapidez na execução e menor emprego de mão-de-obra. A aplicação de herbicidas pode ser

feita em diferentes momentos, na dessecação em pré-semeadura, na pré-emergência, em uma ou mais aplicações de pós-emergência com produtos seletivos e na pós-emergência dirigida com produtos não seletivos.

A possibilidade de uso de herbicidas de amplo espectro como glyphosate e glufosinate-ammonium, em variedades específicas de algodoeiro, pode trazer maior eficiência, segurança e praticidade no controle das plantas daninhas, mas a preservação das vantagens dessa tecnologia demanda uso racional para evitar o aumento da seleção de espécies tolerantes e biótipos resistentes a estes herbicidas.

No Brasil, o uso exclusivo de glyphosate ou glufosinate-ammonium pode aumentar o número de espécies resistentes no caso do primeiro, como diminuir o tempo necessário para seleção de espécies resistentes para o segundo herbicida.

Outro fator importante a ser considerado é que, se a rotação de culturas for realizada com variedades resistentes aos mesmos sítios de ação (soja, milho ou qualquer outra cultura), e sempre os mesmos herbicidas aplicados nas áreas, o tempo necessário para surgimento de espécies resistentes será menor.

Ainda, o glyphosate sempre está entre os herbicidas utilizados na operação de dessecação para plantio, normalmente associado ao 2,4-D (demanda maior intervalo entre a aplicação e a semeadura), ao flumioxazin ou ao carfentrazone-ethyl. O próprio glufosinate-ammonium, o paraquat e o paraquat + diuron também podem ser utilizados neste momento. Neste grupo citado anteriormente são observados sete diferentes sítios de ação para serem alternados nesta operação: inibidor da EPSPs, mimetizador de auxina, inibidor da PROTOX, inibidor da GS, inibidor do transporte de elétrons no fotossistema I (PS I) e inibidor do elétron no fotossistema II (PS II).

Herbicidas utilizados anteriormente em variedades convencionais devem continuar sendo considerados no manejo de plantas daninhas, mesmo para variedades resistentes a herbicidas. A integração de diferentes métodos de controle e rotação de herbicidas que controlem as mesmas plantas daninhas e tenham diferentes sítios de ação é

fundamental para prevenir o aparecimento e manejar as plantas daninhas resistentes na cultura do algodão.

Desta forma, o uso de herbicidas pré-emergentes é imprescindível para o aumento desta diversidade. Os principais herbicidas (sítios de ação) utilizados em pré-emergência na cultura do algodão são clomazone (DOXP), diuron (PS II), s-metolachlor (VLCFA), prometryn (PS II) e trifluralin (microtúbulos). Ainda há a possibilidade do uso de pedimenthalin (microtúbulos), alachlor (VLCFA) e fomesafen (PROTOX) nesta modalidade. Além de oferecer alternativa de sítios de ação, as aplicações em pré-emergência garantem o desenvolvimento inicial livre da interferência e reduzem a densidade de plantas daninhas a serem controladas pelos herbicidas aplicados em pós-emergência.

Para as plantas daninhas picão-preto, caruru, mentrasto e capim-pé-de-galinha já resistentes a herbicidas utilizados em pós-emergência nesta cultura, como pyrithiobac-sodium, trifloxysulfuron-sodium, glyphosate, clethodim e tepraloxym, os herbicidas pré-emergentes devem obrigatoriamente fazer parte do manejo destas plantas, visando aumentar a eficácia de controle, por apresentarem ação em sítios distintos dos herbicidas mencionados.

Em pós-emergência, para o controle de gramíneas, os principais ingredientes ativos utilizados são o clethodim, o haloxyfop-methyl, o tepraloxym, o fluazifop-p-butyl, o sethoxydim, o quizalofop-p-ethyl e o quizalofop-p-tefuryl, ambos inibidores da ACCase. Estes herbicidas não controlam biótipos de capim-pé-de-galinha resistentes a inibidores da ACCase, problema agravado em áreas com algodoeiro resistente ao glufosinate-ammonium, pois esse herbicida não apresenta bom controle desta espécie. O glyphosate e o glufosinate-ammonium também podem ser utilizados para controle de gramíneas se a variedade for resistente a estes herbicidas.

Ainda em pós-emergência, os herbicidas pyrithiobac-sodium e trifloxysulfuron-sodium são os mais utilizados em variedades convencionais, e glufosinate-ammonium e glyphosate nas variedades a eles resistentes. Ainda não há relatos de biótipos com resistência a glufosinate-ammonium no Brasil.

Existe ainda a possibilidade de se realizar aplicação de herbicidas em jato dirigido, que permite o uso de herbicidas não seletivos, por meio do direcionamento da calda pulverizada para as folhas das plantas daninhas e para o solo, evitando-se as folhas da cultura (Cavenaghi et al., 2014). Diferentes herbicidas podem ser utilizados nesta modalidade, normalmente associando-se um herbicida residual a um herbicida pós-emergente não seletivo. Os ingredientes ativos mais utilizados são diuron, atrazine, ametrine, glyphosate, paraquat, glufosinate-ammonium, flumioxazin, carfentrazone-ethyl e MSMA. Portanto, considerando os herbicidas mais utilizados nesta modalidade temos os seguintes sítios de ação: inibidores do fotossistema II, inibidores da ESPs, inibidores do fotossistema I, inibidores da GS, inibidores da Protox e o herbicida MSMA cujo sítio de ação é ainda desconhecido.

Considerando os herbicidas registrados para a cultura do algodão existem doze possíveis sítios de ação, incluindo o herbicida MSMA (Rodrigues & Almeida, 2011), e a modalidade em que diferentes sítios de ação estão envolvidos, e menos se repetem, é em pré-emergência, confirmando a importância destes para o controle e prevenção do surgimento de plantas daninhas resistentes na cultura do algodão.

As tecnologias contidas nas sementes empregadas pelos produtores de algodão podem indicar, de certa forma, quais herbicidas pretendem-se utilizar no manejo de plantas daninhas. Na Tabela 3 são apresentadas as distribuições das tecnologias utilizadas no estado do Mato Grosso, nas safras 2011/2012 e 2015/16. A decisão sobre qual tecnologia utilizar pode ser influenciada principalmente pelos custos envolvidos, pela produtividade das variedades disponibilizadas nas tecnologias, pelos problemas a serem resolvidos no campo (praga, plantas daninhas etc.) e pela disponibilidade de sementes a serem comercializadas.

Tabela 3. Porcentagem de uso das tecnologias nas lavouras de algodão nas safras 2011/2012 e 2015/16 no estado do Mato Grosso. Fonte: IMA (dados não publicados).

Tecnologia	Safra 2011/2012	Safra 2015/2016
Convencional	66,5	1,5
WS	1,1	65,5
B2RF - RF - BGRR	1,1	11,7
LL	31,3	1,5
GL - GLT	-	19,8

WS – WideStrike; **B2RF** – Bollgard 2 Roundup Ready Flex; **RF** – Roundup Ready Flex; **BGRR** – Bollgard Roundup Ready; **LL** – Liberty Link; **GL** – GlyTol Liberty; **GLT** – GlyTol Liberty TwinLink

Na safra 2011/2012, a maior porcentagem observada (66,5) foi para variedades convencionais, ou seja, os herbicidas utilizados nestas áreas deveriam ser seletivos para a cultura em suas modalidades de aplicação. Desta forma, glyphosate e/ou glufosinate-ammonium, poderiam ser utilizados apenas antes da emergência da cultura ou em aplicação de jato-dirigido.

Em 2015/2016 houve predominância de variedades com tecnologia WS (65,5), que confere a resistência a lepidópteros. Porém, esta tecnologia suporta a aplicação de glufosinate-ammonium, prática comumente adotada pelos produtores, apesar de não recomendada pelos obtentores desta tecnologia pela possibilidade de ocorrência de fitotoxicidade.

O uso de variedades resistentes a glyphosate (B2RF – RF – GL – GLT) está aumentando gradativamente com o surgimento de novas variedades com essa tecnologia e falhas da tecnologia WS no controle das pragas alvo. Alguns fatores que limitam o crescimento mais acelerado do uso das variedades resistentes a glyphosate são os custos dos “royalties”, maior dificuldade no manejo de pragas (possui influência maior no “trait” a ser utilizado nas propriedades) e

pela exclusão do glyphosate no manejo dos restos culturais (destruição de soqueira).

A curto prazo serão lançadas variedades Bt com resistência somente a glufosinate-ammonium, atendendo a forte demanda dos produtores por essa opção, uma vez que as variedades LL atuais não possuem tecnologia Bt. Apenas a tecnologia GLT possuem as duas tecnologias citadas anteriormente, porém sempre atrelada à resistência a glyphosate.

A médio prazo será lançada a tecnologia Bollgard II Xtendflex Cotton, que confere a resistência a dicamba, glyphosate e glufosinate-ammonium na mesma variedade de algodão, sendo essa tecnologia de extrema importância para rotação de sítios de ação, e se bem utilizada será muito útil no manejo de espécies não gramíneas já resistentes ao glyphosate (buva, caruru), e principalmente na prevenção de novos casos de resistência.

A tecnologia Enlist é um lançamento que poderá ocorrer a longo prazo (sem estimativa de lançamento) e que confere a resistência ao herbicida 2,4-D, podendo estar ou não aliada a resistência a glyphosate e glufosinate-ammonium, com a mesma vantagem citada anteriormente (mais de um sítio de ação em um mesmo evento). Porém essa tecnologia trará um grande impasse na eliminação dos restos culturais do algodoeiro (destruição de soqueira), pois atualmente, quando se emprega o método de destruição química, o principal produto utilizado é o 2,4-D (Andrade Jr. et al., 2015b).

Sempre importante lembrar, não só nas tecnologias já disponíveis atualmente, mas também nas futuras, a importância da rotação de herbicidas com diferentes sítios de ação para reduzir a pressão de seleção de plantas daninhas resistentes, não apenas no manejo da cultura do algodão, mas no manejo de todo sistema (dessecação, cultivo anterior e posterior). Os novos eventos transgênicos, sempre devem ser encarados como mais uma ferramenta de manejo para controle de plantas daninhas e não como a solução definitiva para os problemas encontrados no campo. Caso contrário, sempre surgirão novos problemas ocasionados pelo mau uso das ferramentas disponíveis. Os “traits” também devem ser

rotacionados como forma de prevenção, pois os herbicidas utilizados também o serão.

Realizar observações sistemáticas das áreas, antes e após aplicação de herbicidas, para certificar-se da eficiência do tratamento aplicado, pode auxiliar na identificação de possíveis problemas de controle, principalmente se a resistência da espécie já for conhecida para o herbicida utilizado. Neste caso deve-se providenciar o controle efetivo das plantas remanescentes suspeitas de resistência, antes que essas produzam sementes ou outras estruturas de reprodução.

16.1. Referências bibliográficas

- ANDRADE JUNIOR, E.R.; CAVENAGHI, A.L.; GUIMARÃES, S.C. Resistência de plantas daninhas a herbicidas e resultados do primeiro levantamento em áreas algodoeiras de Mato Grosso. **Circular técnica**, nº 4, IMAmt, 2013. 8 p.
- ANDRADE JUNIOR, E.R.; CAVENAGHI, A.L.; GUIMARÃES, S.C. Levantamento de plantas daninhas com resistência a herbicidas em áreas algodoeiras de Mato Grosso. **Circular Técnica**, nº 10, IMAmt, 2014. 8 p.
- ANDRADE JUNIOR, E.R.; CAVENAGHI, A.L.; GUIMARÃES, S.C. Primeiro relato de *Amaranthus palmeri* no Brasil em áreas agrícolas no estado de Mato Grosso. **Circular Técnica**, nº 19, IMAmt, 2015a. 8 p.
- ANDRADE JUNIOR, E.R. et al. Destruição química da soqueira em variedades de algodão resistentes ao glyphosate. **Circular Técnica**, nº 17, IMAmt, 2015b. 8 p.
- CARVALHO, S. J. P. et al. Detection of glyphosate-resistant Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) in agricultural areas of Mato Grosso, Brazil. **Planta Daninha**, 33(3), 579-586, 2015.
- CAVENAGHI, A.L.; GUIMARÃES, S.C.; ANDRADE JUNIOR, E.R.; ANTUNES JUNIOR, M.Z. Manejo de plantas daninhas na cultura do algodão. In: MONQUEIRO, P.A. (Org.). **Manejo de plantas daninhas nas culturas agrícolas**. São Carlos: Rima Editora, 2014. p. 53-68.
- CAVENAGHI, A.L.; GUIMARÃES, S.C.; ANDRADE JUNIOR, E.R.; ANTUNES JUNIOR, M.Z. Plantas daninhas em grandes culturas e o problema da resistência a herbicidas. In: Sentelhas, P.C (Ed.). **Boletim de Pesquisa 2015/2016**. Santa Cruz do Sul, RS: Editora Gazeta, 2015. p. 232-251.
- COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA (CTNBIO). **Tabela Resumo de Plantas Aprovadas pela CTNBIO**,

2016. Disponível em: <<http://ctnbio.mcti.gov.br/documents/566529/1684467/Tabela+Resumo+de+Plantas+Aprovadas+pela+CTNBio/7a98283f-39e7-4548-8960-ad489b29e281?version=1.2>>. Acesso em: 02 jul. 2016.
- FRANCISCHINI, A.C. et al. Resistance of *Amaranthus retroflexus* to acetolactate synthase inhibitor herbicides in Brazil. **Planta Daninha**, 32(2): 437-446, 2014.
- FRANCISCHINI, A.C.; OLIVEIRA Jr., R.S. & CONSTANTIN, J. Primeiro relato de resistência a herbicidas em espécies de caruru no Brasil. **Informe Técnico PGA-UEM**, 1(2): 1-4, 2012.
- GONÇALVES NETTO, A.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; BORGATO, E. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J. . Multiple Resistance to EPSP-ALS Inhibiting Herbicides of Glyphosate-Resistant *Amaranthus palmeri* in the State of Mato Grosso, Brazil. **Planta Daninha**, 2016. (no prelo)
- HEAP, I.M. 2016. **International survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: <<http://www.wedescience.org>>. Acesso em: 02 jul. 2014.
- INDEA. Instrução Normativa INDEAMT nº 047/2015. **Diário Oficial**, nº 26576, p. 33, 2015. Disponível em: <HTTP://www.indea.mt.gov.br/download.php?!d=294243>. Acesso em: 15 jul. 2015.
- JALALUDIN, A., YU, Q., POWLES, S.B. Multiple resistance across glufosinate, glyphosate, paraquat, ACCase-inhibiting herbicides in a *Eleusine indica* population. **Weed Research**, v. 55, p. 82-89, 2014.
- RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de Herbicidas**. 6 ed. Londrina, 2011. 697 p.
- SALAS, R.A. et al. Resistance to PPO-inhibiting herbicide in Palmer amaranth from Arkansas. **Pest Management Science**, 72, p. 864-869, 2106.

CAPÍTULO 17

PERSPECTIVAS NA EVOLUÇÃO DOS CASOS DE RESISTÊNCIA NO BRASIL: NOVOS CONCEITOS SOBRE A RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS

Edivaldo Domingues Velini
Caio Antonio Carbonari
Giovanna Larissa Gimenes Cotrick Gomes
Leandro Tropaldi

17.1. Introdução

Ao longo do processo evolutivo, as plantas daninhas desenvolveram um amplo conjunto de características que as tornaram aptas a sobreviver a diversos tipos de estresses bióticos ou abióticos. Os métodos de controle que utilizamos na agricultura, incluindo os herbicidas, são processos que promovem estresses severos o suficiente para paralisar o crescimento ou matar as plantas daninhas. As comunidades de plantas daninhas podem se adaptar rapidamente aos métodos de controle. Pode ocorrer a seleção de espécies pouco sensíveis ou beneficiadas pelo método de controle ou a seleção de genótipos resistentes em populações originalmente sensíveis.

A seleção e dispersão de plantas com propagação vegetativa pelo uso da gradeação e do cultivo mecânico é um exemplo do benefício de uma prática de controle a uma espécie ou a um grupo de espécies. Outro exemplo é a seleção de espécies com sementes maiores pela presença de palha sobre o solo.

Em algumas situações o benefício pode ocorrer como resultado do uso de práticas que não têm por objetivo o controle. Merece destaque a capacidade das colheitadeiras mecânicas de grãos ou de cana-de-açúcar dispersar sementes de plantas daninhas. Apenas as espécies que produzem e retêm os frutos durante o período de colheita é que podem ser beneficiadas. São exemplos importantes, as convolvuláceas de caule volúvel e de ocorrência tardia em cana-de-açúcar ou culturas anuais.

Existem muitas exceções, mas, em geral, plantas daninhas produzem sementes pequenas e que demandam poucos recursos e poucos dias para a formação. A produção de sementes pequenas pode limitar a capacidade de germinar profundamente no solo ou em áreas cobertas com palha, mas pode facilitar a dispersão, contribuir para reduzir a duração do ciclo e para que seja possível produzir um elevado número de sementes. A produção de muitas sementes dificulta o controle e pode ampliar a diversidade genética da população, aumentando a probabilidade de ocorrência e seleção de genótipos resistentes.

Sobre a variabilidade genética em populações de plantas daninhas, tradicionalmente admitia-se que o conjunto de genes de uma determinada espécie era quase constante, uniformemente expresso e esporadicamente alterado por uma mutação. Hoje sabemos que apenas uma fração dos genes é expressa e que muitos genes estão envolvidos no controle da expressão de outros genes, sendo possível a produção de muitos fenótipos a partir de um único genótipo. Ou seja, a variabilidade fenotípica pode ser ainda maior do que a variabilidade genotípica que resulta da produção de um elevado número de sementes.

O splicing alternativo também pode contribuir para a variabilidade fenotípica. O Splicing é um processo que remove os íntrons e junta os éxons após a transcrição do RNA. Havendo variações no arranjo dos éxons, o que é chamado de splicing alternativo, diferentes proteínas podem ser produzidas. Possivelmente a maioria dos genes está sujeita a splicing alternativo. Duas enzimas fundamentais para a metabolização herbicidas em plantas daninhas são a P450 monooxigenases (P450) e a glutathione-S-transferase (GST). Essas enzimas também têm papel fundamental na desintoxicação de animais, com destaque para humanos. Em humanos está claro que os genes que codificam a produção das enzimas são sujeitos a splicing alternativo e esse fenômeno permite a formação de famílias de cada uma das enzimas, com maior ou menor afinidade aos diferentes substratos (Turman et al., 2006; Barbany et al., 2012). Mas ainda há um longo caminho até que o fenômeno seja

adequadamente avaliado em cada uma das espécies de plantas daninhas e também as cultivadas.

A expressão de um gene não é uma característica qualitativa. Dependendo das condições ambientais e dos promotores, diferentes níveis de expressão podem ser encontrados em plantas de um mesmo genótipo. Uma mesma sequência gênica também pode estar associada a diferentes promotores em diferentes genótipos, o que pode levar a níveis distintos de expressão do gene. O número de cópias dos genes também pode variar entre genótipos, alterando o número de unidades da proteína ou enzima presentes nas plantas. Tratando-se de genes que codificam proteínas que inativam ou ativam herbicidas, o nível de eficácia pode ser alterado pela maior ou menor expressão do gene. Tratando-se de proteína que constitui sítio de ação do herbicida, um maior nível de expressão pode demandar maior número de moléculas do herbicida (consequentemente maior dose) para que todas as unidades da proteína sejam inativadas.

Ainda é limitada a compreensão sobre a relevância das alterações epigenéticas para a diversidade fenotípica em plantas. Alterações epigenéticas podem levar à ocorrência de características que são estáveis ao longo de diversas divisões celulares, mas que não envolvem mudanças na sequência de DNA do organismo, sendo exemplos a metilação e a modificação pela histona.

Além dos aspectos discutidos, é de grande relevância conhecer o sistema reprodutivo e, consequentemente, a estrutura genética das populações de plantas daninhas. Plantas propagadas vegetativamente ou que produzem sementes apomíticas podem apresentar menor variabilidade. Nestes casos ocorre a formação e coexistência de clones que podem ser rapidamente selecionados.

Quando predomina a produção de sementes e a polinização é cruzada, o processo seletivo conduz à redução da frequência de genes desfavoráveis ou ao aumento da frequência de genes favoráveis. Os genes são reorganizados a cada geração e o que ocorre é uma adaptação contínua à pressão de seleção exercida pelo ambiente ou por um agente de controle.

Em espécies predominantemente autopolinizadas, a autofecundação conduz à formação de indivíduos com altas taxas de homozigose e com grande similaridade com as respectivas plantas ancestrais. Ocorrendo elevadas taxas de homozigose, os genótipos são bastante estáveis e aqueles que são resistentes aos métodos de controle podem ser rapidamente selecionados e se tornar predominantes se a pressão de seleção for mantida. As populações de plantas autógamias podem ser tão variáveis quanto as populações de plantas alógamas, mas a variabilidade resulta da presença de um elevado número de genótipos (com alta taxa de homozigose) que poderão transmitir de modo estável suas características à prole.

Infelizmente, muito pouco tem sido feito para conhecer os sistemas reprodutivos e as estruturas genéticas de populações de diferentes espécies de plantas daninhas suscetíveis ou resistentes aos métodos de controle. Muito de nossa dificuldade em prever ou prevenir novos casos de resistência resulta da falta dessas informações.

17.2. Mecanismos de resistência de plantas daninhas a herbicidas

Os mecanismos que explicam o desenvolvimento da resistência a herbicidas e influenciam o modo de ação destes compostos podem estar relacionados ou não com o sítio de ação (*target-site* e *non-target-site*). A resistência relacionada ao sítio de ação ocorre quando o herbicida alcança o sítio de ação em concentrações letais, mas existem mudanças na enzima/proteína alvo que limitam a ação do herbicida. A resistência não relacionada ao sítio de ação envolve mecanismos que minimizam a quantidade do herbicida ativo que alcança o sítio de ação.

Quando relacionada ao sítio de ação, a resistência pode ocorrer por uma mutação no gene que confere mudança de aminoácido em uma enzima alvo, evitando a ligação do herbicida; ou pode também ser conferida pela superexpressão da enzima alvo (amplificação ou mudanças em um promotor do gene). Já a resistência sem relação com o sítio de ação baseia-se na metabolização ou desintoxicação do herbicida a substâncias menos tóxicas; ou redução da concentração do

herbicida no local de ação pela reduzida absorção e/ou translocação ou pelo sequestro do herbicida no vacúolo.

Algumas das enzimas mais importantes envolvidas na metabolização de herbicidas em plantas são as citocromo P450 monooxigenases (P450) e a glutathione-S-transferase (GST). O mecanismo de resistência a herbicidas baseado na metabolização por estas enzimas é muito ameaçador, porque elas podem simultaneamente metabolizar herbicidas de diferentes mecanismos de ação, incluindo aqueles nunca utilizados (Powles & Yu, 2010).

Enquanto as mutações genéticas relacionadas ao sítio de ação podem ser identificadas mais precisamente, e em geral, implicam em um mecanismo de resistência bastante específico, os mecanismos não relacionados ao sítio de ação são menos conhecidos e têm ganhado importância nos últimos anos (Powles & Yu, 2010). Um dos maiores desafios da resistência de plantas daninhas a herbicidas no mundo é a ocorrência de indivíduos que acumulam diversos mecanismos de resistência, baseados ou não no sítio de ação.

O profundo conhecimento sobre as características bioquímicas, genéticas e moleculares da resistência de plantas daninhas a herbicidas deverá contribuir para racionalização do uso de herbicidas, desenvolvimento de novas tecnologias e estratégias de manejo de plantas daninhas mais sustentáveis.

17.3. Resistindo à resistência

A grande maioria dos trabalhos científicos que tratam da resistência de plantas daninhas a herbicidas, tratam da identificação de biótipos resistentes, desenvolvimento de curvas de dose-resposta, avaliação da resistência cruzada, seleção de herbicidas que mantêm a eficácia em genótipos resistentes a outros herbicidas. Um número menor de trabalhos procura desenvolver tecnologias que reestabeleçam a sensibilidade das populações resistentes. Contudo, os avanços recentes em bioquímica e genética vegetal podem permitir que essa alternativa seja comercialmente disponível em futuro próximo.

Embora as primeiras tentativas neste sentido correspondam ao uso de inibidores de enzimas que

promovem a degradação de herbicidas (Tardif & Powles, 1999; Preston & Powles, 1998; Christofer et al., 1994; Forthoffer et al., 2001), uma nova alternativa se abre com o domínio das tecnologias fundamentadas em RNA de interferência (RNAi). Os herbicidas exercem sua ação através da interação com proteínas sendo a grande maioria enzimas. Sendo possível desenvolver RNAi, o controle pode ser obtido pela redução da expressão do gene que produzirá uma determinada enzima ou proteína. O desenvolvimento de RNAs de interferência pode ser feita especificamente para reduzir a expressão de genes que induzem resistência. Podem ser genes relacionados ao maior metabolismo, à redução de absorção ou translocação ou ao aumento do nível de expressão do gene que codifica a proteína que é o sítio de ação de um herbicida. Um exemplo dessa última alternativa é o desenvolvimento da tecnologia experimental BioDirect para reestabelecer a suscetibilidade do *Amaranthus palmeri* ao glyphosate (Monsanto, 2016).

Ao nível de RNA a diversidade é muito maior do que ao nível proteico. Por exemplo, há seis combinações de três nucleotídeos que codificam a inclusão de uma leucina na sequência proteica. A simples troca entre essas seis opções pode representar variabilidade relevante aos níveis de DNA e RNA, sem que a sequência proteica seja alterada. Tomando como referencial, uma sequência de apenas sete aminoácidos demandaria um fragmento de RNA com 21 nucleotídeos para sua síntese. Ao nível de RNA o número possível de combinações considerando quatro nucleotídeos e 21 posições, é 3.436 vezes maior do que o número de combinações possíveis de sete aminoácidos.

17.4. Variabilidade das doses em condições de campo

As doses de defensivos agrícolas em condições de campo não são uniformes. A dose aplicada corresponde à dose média que seria observada no campo, na ausência de perdas por deriva. Os poucos trabalhos que tratam da variabilidade das doses de herbicidas em condições de campo (Gazziero et al., 2006; Souza et al., 2007) evidenciam que as deposições de herbicidas em plantas individualmente avaliadas, pode variar dezenas de vezes. A consequência

dessa variabilidade é a construção de uma infinidade de combinações de doses e pressões de seleção após a aplicação de um herbicida em uma dose previamente selecionada e que deveria ser uniforme. Mesmo quando se aplica uma sub-dose de um herbicida, algumas plantas receberão doses muito altas e acima da dose média esperada. Do mesmo modo, o uso de doses elevadas não é suficiente para garantir que não haverá plantas submetidas a sub-doses dos herbicidas.

Segundo Powles & Yu (2010), uma dose alta de um herbicida resulta em alta mortalidade das plantas que a recebem, mas pode selecionar genes de resistência raros capazes de desenvolver resistência de alto nível, no entanto, doses baixas de um herbicida (muitas plantas morrem, porém algumas sobrevivem), selecionam todos os possíveis genes de resistência, tanto aqueles que causam resistência de alto como de baixo nível.

As principais causas da variabilidade das doses unitárias de herbicidas em condições de campo são os movimentos verticais e horizontais da barra de aplicação e a proteção exercida pela palha ou por outras plantas. A análise das informações disponíveis em literatura (Gazziero et al., 2006; Souza et al., 2007) indica que a variabilidade das doses em campo pode ser expressiva o suficiente para que algumas plantas daninhas recebam doses baixas o suficiente para produzir efeitos horméticos, conforme será discutido a seguir.

17.5. Efeitos horméticos

O efeito estimulante causado por baixas doses de um composto tóxico é denominado hormesis, e tem sido relatado para baixas doses de herbicidas em plantas (Belz & Duke, 2014). Os efeitos horméticos dos herbicidas nas plantas foram observados por muitos pesquisadores na área de plantas daninhas para muitas variáveis, como crescimento, biomassa, altura, conteúdo de proteína, resistência a doenças. Comparando com a relação clássica entre a dose de uma toxina e a resposta resultante, a resposta hormética ou bifásica é caracterizada por um aumento na resposta em baixas doses, sendo que em altas doses ocorre a inibição (Belz et al., 2011).

A magnitude para a observação de respostas estimulantes em todos os campos da ciência e para diferentes compostos tóxicos e organismos, varia em média entre 30 e 60% acima da testemunha (Calabrese & Blain, 2005; Calabrese, 2008, 2010). Para herbicidas os valores encontrados na literatura variam entre 20 e 30% de estímulo em comparação com a testemunha sob condições controladas e de 10 a 25% em condições de campo. O glyphosate é o herbicida mais estudado com relação aos efeitos horméticos (Schanbenberger et al., 1999; Wagner et al., 2003; Velini et al., 2008; Cedergreen et al., 2009; Cedergreen e Olesen, 2010; Belz et al., 2011; Belz e Leberle, 2012; Carvalho et al., 2013; Belz e Duke, 2014).

No caso de plantas daninhas resistentes em função de baixas quantidades do herbicida que atingem o sítio de ação (absorção e/ou translocação reduzida ou aumento da inativação metabólica), a dose que causa hormese aumenta na proporção em que a dose tóxica aumenta (Belz & Duke, 2014). Este efeito hormético pode favorecer o desenvolvimento dos biótipos resistentes em uma população após a aplicação da dose recomendada do herbicida. Estudos recentes evidenciaram que doses sub-letais de glyphosate (90 a 360 g e.a. ha⁻¹) podem estimular e aumentar o florescimento, a produção de sementes e a altura das plantas em populações resistentes de *Conyza sumatrensis* (Gomes, 2014).

A antecipação do florescimento e aumento da produção de sementes em plantas daninhas resistentes ao glyphosate que não sejam controladas eficientemente com doses adequadas poderão apresentar uma maior habilidade competitiva do que as plantas suscetíveis em uma população, consequentemente, a mudança de composição da flora suscetível pela resistente ocorrerá em uma escala de tempo muito menor, com domínio das plantas resistentes em um curto espaço de tempo.

Vários trabalhos têm sido realizados com o objetivo de avaliar a adaptabilidade ecológica, ou seja, diferenças no crescimento, desenvolvimento, fenologia e produção de sementes e competitividade entre biótipos suscetíveis e resistentes de plantas daninhas (Shrestha et al., 2010;

Shrestha et al., 2014; Davis et al., 2009; Alcorta et al., 2011; Travlos & Chachalis, 2013). Por exemplo, avaliando biótipos resistentes e suscetíveis de buva (*Conyza canadensis*), Shrestha et al. (2010) observaram um acelerado desenvolvimento fenológico do biótipo resistente comparada com o suscetível, embora os dois biótipos tenham formado roseta no mesmo período, o biótipo resistente pendoou, formou os botões florais, floresceu e produziu sementes antes do biótipo suscetível. No entanto, pouco tem se investigado sobre os efeitos de herbicidas em populações resistentes de plantas daninhas quanto ao favorecimento à adaptabilidade ecológica.

A abordagem tradicional nos trabalhos de resistência já publicados é considerar que o aumento da resistência está associado à elevação da dose necessária para controlar os indivíduos de uma determinada população ou à elevação da probabilidade de sobrevivência dos indivíduos desta população em uma determinada dose. Um número maior de trabalhos que comprovem incrementos no desenvolvimento, na antecipação da fase reprodutiva e no aumento na produção de sementes também poderá contribuir para o melhor entendimento da rápida dispersão das populações de plantas daninhas resistentes a herbicidas.

17.6. Resistência: um problema coletivo.

Considerando a facilidade de dispersão de sementes, propágulos vegetativos ou do pólen de plantas daninhas, o desenvolvimento de resistência é um problema coletivo. Mesmo que um agricultor tome todos os cuidados para evitar o desenvolvimento de resistência, todo o seu esforço pode ser em vão, se os seus vizinhos não fizerem o mesmo. Portanto, os problemas com resistência também precisam ser tratados coletivamente.

Neste sentido destaca-se que os programas educacionais precisam alcançar a maioria dos produtores e não apenas alguns ou a minoria. Em um país com dimensões continentais, a única maneira de fazê-lo é através da educação a distância. Dispor de uma plataforma de educação a distância que atinja todas as propriedades agrícolas deve ser visto como uma prioridade nacional que certamente

contribuirá para minimizar problemas com resistência, com deriva e outros. Infelizmente, temas ligados à educação não têm sido incluídos em nossos eventos, assim como praticamente inexistem artigos no tema.

Releva informar que está prevista para 2016-2017, o primeiro satélite geoestacionário brasileiro com capacidade de levar internet de banda larga a locais que não dispõem de conexão física à rede mundial de computadores. Com o início da operação do satélite, programas educacionais de produtores fundamentados na educação à distância poderão ser tornar muito mais baratos e abrangentes.

17.7. Referências bibliográficas

- ALCORTA, M.; FIDELIBUS, M. W.; STEENWERTH, K. L.; SHRESTHA, A. Effect of vineyard orientation on growth and phenology of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, v. 59, n. 1, p. 55-60, 2011.
- BARBANY M, MORATA J, MEYER T, LOIS S, OROZCO M, DE LA CRUZ X. Characterization of the impact of alternative splicing on protein dynamics: the cases of glutathione S-transferase and ectodysplasin-A isoforms. *Proteins*, 80(9):2235-49, 2012.
- BELZ, R. G.; CEDERGREEN, N.; DUKE, S. O. Herbicide hormesis – can it be useful in crop production? **Weed Research**, v. 51, n. 4, p. 321–332, 2011.
- BELZ, R. G.; DUKE, S.O. Herbicides and plant hormesis. **Pest Management Science**, v. 70, n. 5, p. 698-707, 2014.
- BELZ, R. G.; LEBERLE, C. Low dose responses of different glyphosate formulations on plants. **Julius-Kühn-Arch**, v. 434, p. 427–434, 2012.
- CALABRESE, E. J. Hormesis is central to toxicology, pharmacology and risk assessment. **Human and Experimental Toxicology**, v. 29, n. 4, p. 249–261, 2010.
- CALABRESE, E. J. Hormesis: why it is important to toxicology and toxicologists. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 27, n. 7, p. 1451–1474, 2008.
- CALABRESE, E. J.; BLAIN, R. The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 202, n. 3, p. 289–301, 2005.
- CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A.; DUKE, S. O. Hormesis with glyphosate depends on coffee growth stage. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 85, n. 2, p.813-821, 2013.

- CEDERGREEN, N.; FELBY, C.; PORTER, J. R.; STREIBIG, J. C. Chemical stress can increase crop yield. **Field Crop Research**, v. 114, n. 1, p. 54–57, 2009.
- CEDERGEEN, N.; OLESEN, C. F. Can glyphosate stimulate photosynthesis? **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, n. 3, p. 140–148, 2010.
- CHRISTOPHER, J. T.; PRESTON, C.; POWLES, S. B. Malathion antagonises metabolism-based chlorsulfuron resistance in *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 49, n. 3, p. 172–182, 1994.
- DAVIS, V. M.; KRUGER, G. R.; STACHLER, J. M.; LOUX, M. M.; JOHNSON, W. G. Growth and seed production of horseweed (*Conyza canadensis*) populations resistant to glyphosate, ALS-inhibiting, and multiple (glyphosate+ALS-inhibiting) herbicides. **Weed Science**, v. 57, n. 5, p. 494–504, 2009.
- FORTHOFFER, N.; HELVIG, C.; DILLON, N.; BENVENISTE, I.; ZIMMERLIN, A.; TARDIF, F.; SALAÜN, J. P. Induction and inactivation of a cytochrome P450 conferring herbicide resistance in wheat seedlings. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 26, n. 1, p. 9–16, 2001.
- GAZZIERO, D. L. P.; MACIEL, C. D. G.; SOUZA, R. T.; VELINI, E. D.; PRETE, C. E. C.; OLIVEIRA NETO, W. Deposição de glyphosate aplicado para o controle de plantas daninhas em soja transgênica. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 173–181, 2006.
- GOMES, G. L. G. C. **Caracterização bioquímica e morfofisiológica de populações de buva (*Conyza* spp.) resistentes ao glyphosate**. 2014. 112p. Tese (Doutorado em Agricultura). Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, Botucatu.
- MONSANTO (2016). BioDirect: Sustainable Solutions for Agriculture. Disponível em: <http://www.monsanto.com/products/pages/biodirect.aspx>. Acesso em: Abril/2016.
- POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, p. 317–347, 2010.
- PRESTON, C.; POWLES, S. B. Amitrole inhibits diclofop metabolism and synergises diclofop-methyl in a diclofop-methyl-resistant biotype of *Lolium rigidum*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 62, n. 3, p. 179–189, 1998.
- SCHANBENBERGER, O.; KELLS, J. J.; PENNER, D. Statistical tests for hormesis and effective dosage in herbicide dose-response. **Agronomy Journal**, v. 91, n. 4, p. 713–721, 1999.

- SHRESTHA, A.; STEINHAEUER, K. M.; MORETTI, M. L.; HANSON, B. D.; JASIENIUK, M.; HEMBREE, K. J.; WRIGHT, S. D. Distribution of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) in Central California and their phenological development. **Journal of Pest Science**, v. 87, n. 1, p. 201-209, 2014.
- SHRESTHA, A.; HANSON, B. D.; FIDELIBUS, M. W.; ALCORTA, M. 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, n. 2, p. 147-153, 2010.
- SOUZA, R. T.; VELINI, E. D.; PALLADINI, L. A. Aspectos metodológicos para análise de depósitos de pulverizações pela determinação dos depósitos pontuais. **Planta daninha**, v. 25, n. 1, p. 195-207, 2007.
- TARDIF, F. J.; POWLES, S. B. Effect of malathion on resistance to soil-applied herbicides in a population of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). **Weed Science**, v. 47, n. 3, p. 258-261, 1999.
- 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, n. 2, p. 345-351, 2013.
- TURMAN CM, HATLEY JM, RYDER DJ, RAVINDRANATH V, STROBEL HW. Alternative splicing within the human cytochrome P450 superfamily with an emphasis on the brain: The convolution continues. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2(3):399-418, 2006.
- VELINI, E. D.; ALVES, E.; GODOY, M. C.; MESCHEDE, D. K.; SOUZA, R. T.; DUKE, S. O. Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 489-496, 2008.
- WAGNER, R.; KOGAN, M.; PARADA, A. M. Phytotoxic activity of root absorbed glyphosate in corn seedlings (*Zea mays* L.). **Weed Biology and Management**, v. 3, n. 4, p. 228-232, 2003.