

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

VANESSA FRANCIELI VITAL SILVA

Resistência cruzada a herbicidas inibidores da ALS após aplicações em pré e  
pós-emergência de *Conyza sumatrensis*

MARINGÁ  
2019

VANESSA FRANCIELI VITAL SILVA

Resistência cruzada a herbicidas inibidores da ALS após aplicações em pré e pós-emergência de *Conyza sumatrensis*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias na Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de Concentração: Proteção de Plantas

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Júnior

MARINGÁ  
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

S586r	<p>Silva, Vanessa Francieli Vital Resistência cruzada a herbicidas inibidores da ALS após aplicações em pré e pós-emergência de <i>Conyza sumatrensis</i>. / Vanessa Francieli Vital Silva. -- Maringá, 2019. 54 f. : il., color., tabs., figs.</p>
	<p>Orientador(a): Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Área de Concentração: Proteção de Plantas, 2019.</p>
	<p>1. Plantas daninhas - Buva (<i>Conyza ssp</i>). 2. Imidazolinonas. 3. Sulfonilureias. 4. Trizolopirimidinas. 5. Pirimidinilbenzoatos. 6. Manejo. I. Oliveira Junior, Rubem Silvério de, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Área de Concentração: Proteção de Plantas. III. Título.</p>
	CDD 21.ed. 632.5

AHS-CRB-9/1065

# FOLHA DE APROVAÇÃO

VANESSA FRANCIELI VITAL SILVA

Resistência cruzada a herbicidas inibidores da ALS após aplicações em pré e pós-emergência de *Conyza sumatrensis*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## COMISSÃO JULGADORA

---

Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Junior  
Universidade Estadual de Maringá - UEM

---

Dr. Fernando Storniolo Adegas  
EMBRAPA Soja

---

Prof. Dr. Denis Fernando Biffe  
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Em: 25/02/2019

Local da defesa: Anfiteatro NAPD, Bloco I-45, Universidade Estadual de Maringá - Campus Sede

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela arte de viver.

Aos professores Rubem Silvério de Oliveira Jr., meu orientador, e Jamil Constantin, pela oportunidade da parceria de trabalho, confiança, amizade e todos os ensinamentos proporcionados durante esse tempo.

Às instituições de ensino e fomento à pesquisa, Universidade Estadual de Maringá e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo espaço e apoio ao desenvolvimento da pesquisa e concessão de bolsa.

Aos membros e egressos da equipe NAPD/UEM, pelo apoio na realização do trabalho, pela amizade e companheirismo ao longo desse tempo.

Ao NAPD/UEM por financiar meus materiais para os trabalhos desta dissertação.

Ao pesquisador da Embrapa Soja, Fernando Storniolo Adegas e ao professor Denis Biffe pela disposição, vontade de ajudar e pela participação na banca examinadora.

À empresa Bayer Brazil - Crop Science, na pessoa dos pesquisadores Dr. Ramiro Fernando López-Ovejero e Dr. Gilmar José Picoli, pela parceria, amizade e disponibilização de materiais para a realização deste trabalho.

Aos que estiveram me ajudando no desenvolvimento deste trabalho, em especial, Rafael Mendes, Andreia Kazumi e Jonas Henckes.

À minha família pela assistência, dedicação e amparo em todos os momentos.

A todos os meus amigos, em especial, Jéssica Leal, Layzza Roberta, Monique Barcelos, Aline Tonussi, Gledson Soares, Ramilton Ricardo e Felipe Cipriano, pela amizade de longa data.

Aos amigos que fizeram os dias em Maringá mais serenos, em especial, Andreia Kazumi, Nicole da Riva, Larissa Vinis, Karol Sanches, Lucas Caiubi, Jonas Henckes, Rafael Mendes.

À secretária do PGA-UEM, em especial, Érika Cristina Sato pelo apoio nos processos burocráticos do programa de pós-graduação em Agronomia.

**OBRIGADA!**

## EPÍGRAFE

*"Só a semente que rompe sua casca  
é capaz de se atrever  
à aventura da vida"*

Khalil Gibran

## ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 1. Resistência cruzada em pré e pós emergência de <i>Conyza sumatrensis</i> aos inibidores da ALS	
Tabela 1 Procedência e identificação das amostras de sementes de populações de <i>Conyza sumatrensis</i> coletadas para os experimentos. Maringá, PR, 2017.....	9
Tabela 2 Tratamentos, produtos comerciais, grupos químicos e doses de herbicidas aplicados em biótipos de <i>Conyza sumatrensis</i> com suspeita de resistência. ....	10
Tabela 3 Critérios para a classificação das amostras de buva com relação à resistência a herbicidas após a interpretação dos resultados aos 28 dias após a aplicação. Maringá, PR, 2018. ....	11
Tabela 4 Populações de <i>Conyza sumatrensis</i> aos 28 DAA, classificadas quanto aos padrões de resistência cruzada aos herbicidas inibidores da ALS.....	14
Tabela 5 Parâmetros dos modelos, doses ( $\text{g ha}^{-1}$ ) para 50% e 80% de eficácia dos herbicidas chlorimuron, cloransulam e glyphosate aplicados em duas populações de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes. ....	16
Tabela 6 Fatores de resistência (FR) baseados no controle ( $\text{EC}_{50}$ ) ou na massa em relação a testemunha ( $\text{ED}_{50}$ ) em duas populações (62 e 334) de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes aos herbicidas chlorimuron e cloransulam. ....	19
Tabela 7 Porcentagem de controle de duas populações (S e 62) de <i>Conyza sumatrensis</i> submetidas à aplicação de chlorimuron e diclosulam em pré-emergência.....	21
Capítulo 2. Controle químico de buva com resistência cruzada aos inibidores da ALS	
Tabela 1 Nome comum, produto comercial, mecanismo de ação e doses utilizadas no Experimento 1.....	34
Tabela 2 Nome comum, produto comercial, grupos químicos e respectivas doses dos herbicidas inibidores da ALS utilizados para o controle de <i>Conyza sumatrensis</i> em pós-emergência.....	35
Tabela 3 Nome comum, produto comercial e respectivas doses dos herbicidas alternativos aos inibidores da ALS utilizados para o controle de <i>Conyza sumatrensis</i> em pós-emergência.....	36
Tabela 4 Porcentagem de controle aos 28 DAA de duas populações de <i>Conyza sumatrensis</i> após a aplicação de inibidores da ALS e herbicidas alternativos aplicados em pré-emergência.....	37

Tabela 5 Porcentagem de controle de três populações de <i>Conyza sumatrensis</i> após a aplicação de diferentes inibidores da ALS aplicados em pós-emergência.....	39
Tabela 6 Massa seca relativa (% em relação à testemunha sem herbicida) em três populações de <i>Conyza sumatrensis</i> após a aplicação de inibidores da ALS em pós-emergência.....	40
Tabela 7 Porcentagem de controle de <i>Conyza sumatrensis</i> após a aplicação de herbicidas alternativos aos inibidores da ALS em pós-emergência.....	42
Apêndices	
Tabela 1A Resumo da análise de variância e desdobramento para o experimento de dose-resposta com o herbicida chlorimuron aplicado em pós-emergência.....	48
Tabela 2A Resumo da análise de variância e desdobramento para o experimento de dose-resposta com o herbicida cloransulam.....	48
Tabela 3A Resumo da análise de variância e desdobramento para o experimento de dose-resposta com o herbicida glyphosate.....	49
Tabela 4A Resumo da análise de variância e desdobramentos para o experimento de chlorimuron aplicado em pré-emergência.....	50
Tabela 5A Resumo da análise de variância e desdobramentos para o experimento de diclosulam aplicado em pré-emergência.....	50
Tabela 1B Resumo da análise de variância e desdobramentos para o experimento de controle em pré-emergência.....	52
Tabela 2B Resumo da análise de variância e desdobramentos para o experimento de herbicidas inibidores da ALS aplicados em pós-emergência.....	53
Tabela 3B Resumo da análise de variância para o experimento de herbicidas alternativos aos inibidores da ALS aplicados em pós-emergência.....	54

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Curvas de dose-resposta para as variáveis % controle (à esquerda) e % massa (à direita) em três populações (S, 334 e 62) de *Conyza sumatrensis* resistentes aos herbicidas chlorimuron e cloransulam. A e D) chlorimuron; B e E) cloransulam; C e F) glyphosate.....17

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUÇÃO GERAL .....	3
CAPÍTULO 1. Identificação da resistência cruzada aos inibidores da ALS aplicados em pré e pós-emergência de buva ( <i>Conyza sumatrensis</i> ).....	4
INTRODUÇÃO.....	7
MATERIAL E MÉTODOS.....	9
1. “Screening” de populações.....	9
2. Experimentos de dose-resposta.....	11
2.1 Aplicação de chlorimuron, cloransulam e glyphosate em pós-emergência..	12
2.2 Aplicação de chlorimuron e diclosulam em pré-emergência .....	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	14
1. “Screening” de populações.....	14
2. Experimentos de dose-resposta .....	15
2.1 Aplicação de chlorimuron, cloransulam e glyphosate em pós-emergência .	15
2.2. Aplicação de chlorimuron e diclosulam em pré-emergência .....	21
CONCLUSÕES .....	24
REFERÊNCIAS .....	25
CAPÍTULO 2. Controle químico de buva com resistência cruzada aos inibidores da ALS....	29
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS.....	34
1. Experimento em Pré-emergência .....	34
2. Experimento em Pós-emergência.....	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
1. Experimento em Pré-emergência .....	37
2. Experimento em Pós-emergência.....	38

CONCLUSÕES .....	44
REFERÊNCIAS .....	45
APÊNDICE A. RESUMO DE ANÁLISES DE VARIÂNCIA PARA OS EXPERIMENTOS DO CAPÍTULO 1.....	47
APÊNDICE B. RESUMO DE ANÁLISES DE VARIÂNCIA PARA OS EXPERIMENTOS DO CAPÍTULO 2. ....	51

## RESUMO GERAL

VITAL SILVA, V.F., M.Sc. Universidade Estadual de Maringá (UEM), Fevereiro de 2019.  
**Resistência cruzada a herbicidas inibidores da ALS após aplicações em pré e pós-emergência de *Conyza sumatrensis*.** Orientador: Prof. Dr. Rubem Silvério de Oliveira Jr.

A seleção de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ALS é um fenômeno que ocorre na maioria das regiões produtoras do Brasil. Nos últimos anos, reclamações relacionadas às falhas de controle de buva após a aplicação de chlorimuron têm sido cada vez mais frequentes em lavouras do Paraná. À despeito disso, grande parte dos herbicidas que são utilizados como alternativa ou complemento ao chlorimuron também pertencem ao mecanismo dos inibidores da ALS. Até o momento não há informações sobre a ocorrência de resistência cruzada dentro ou entre os grupos químicos dos herbicidas inibidores de ALS e nem com relação ao uso destes herbicidas em pré-emergência. Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar a possível existência de populações de *Conyza sumatrensis* com resistência cruzada aos inibidores da ALS, bem como avaliar herbicidas alternativos para o controle destas populações. Primeiramente, um “screening” com os herbicidas chlorimuron, cloransulam e diclosulam foi realizado em várias populações de buva com a finalidade de procurar resistência cruzada (RC). O segundo passo foi identificar os possíveis padrões de RC por meio de curvas de dose-resposta realizadas em pré e pós-emergência. Por fim, foram avaliados diversos herbicidas em pré e pós-emergência para o controle de buva com resistência cruzada aos inibidores da ALS. Os resultados comprovaram que em pelo menos duas populações (62 e 334) de *Conyza sumatrensis* ocorre resistência cruzada, em níveis elevados, aos herbicidas chlorimuron (sulfonilureias) e cloransulam (triazolopirimidinas) aplicados em pós-emergência. A população 62, com base nos resultados obtidos em pré-emergência, também apresentou resistência cruzada aos herbicidas chlorimuron e diclosulam. Mediante tais resultados, confirmou-se que a população 62, oriunda de Medianeira (região Oeste do Estado do Paraná) constitui o primeiro relato de buva no Brasil que, além de apresentar resistência cruzada aos inibidores da ALS, também apresenta resistência a estes herbicidas em duas modalidades de aplicação (pré e pós-emergência). Há opções eficientes de controle químico tanto em pré quanto em pós-emergência para o manejo da população 62.

**Palavras-chave:** Buva. Imidazolinonas. Sulfonilureias. Triazolopirimidinas. Pirimidinil-benzoatos. Manejo.

## GENERAL SUMMARY

VITAL SILVA, V.F., M.Sc. State University of Maringá (UEM), February 2019, **Cross-resistance to ALS inhibitors after pre and post-emergence applications of Sumatran fleabane.** Advisor: Prof. PhD. Rubem Silvério de Oliveira Jr.

The selection of weed biotypes resistant to ALS inhibitor herbicides is a phenomenon that occurs in most producing regions of Brazil. In recent years, complaints related to fleabane control failures after application of chlorimuron have been increasingly frequent in crops in Paraná and most of the herbicides that are used as an alternative or complement to chlorimuron also belong to the mechanism of ALS inhibitors. To date there is no information on the occurrence of cross-resistance within or between the chemical groups of the ALS inhibitor herbicides nor with regard to the use of these herbicides in pre-emergence. Therefore, the objective of this work was to investigate the possible existence of populations of Sumatran fleabane with cross-resistance to ALS inhibitors, as well as to evaluate alternative herbicides for the control of these populations. First, a screening with the chlorimuron, chloransulam and diclosulam herbicides was carried out in several buff populations to find those with suspected cross resistance (RC). The second step was to identify the possible CR patterns by means of pre and post-emergence dose-response curves. Finally, several pre and post-emergence herbicides were evaluated for fleabane control with cross-resistance to ALS inhibitors. The results showed that at least two populations (62 and 334) of Sumatran fleabane cross-resistance occurs at high levels in relation to the application of chlorimuron (sulfonylureas) and chloransulam (triazolopyrimidines) in post-emergence. Population 62, based on pre-emergence results, also showed cross-resistance to chlorimuron and diclosulam herbicides. Based on the results, it was confirmed that the population 62, from Medianeira (Western region of the Paraná state) was the first report in Brazil of fleabane with cross-resistance to ALS inhibitors in the two modalities of application (pre and post-emergence). There are efficient options for pre and post-emergence chemical control for population management 62.

**Keywords:** Sumatran fleabane. Imidazolinones. Sulfonylurea. Triazolopyrimidine. Pyrimidinyl-benzoate. Management.

## INTRODUÇÃO GERAL

A elevada dependência e a utilização inadequada de herbicidas constituem o motivo pelo qual a resistência a herbicidas, atualmente, é o tema mais relevante na área da Ciência das Plantas Daninhas. A resistência ocorre por meio de um processo de seleção, em que indivíduos suscetíveis são eliminados, enquanto indivíduos resistentes, presentes em baixa frequência na população, se reproduzem e aumentam a sua frequência.

A buva (*Conyza* spp.) é uma planta daninha que se encontra disseminada praticamente em todas as regiões agrícolas do Brasil e a sua importância está relacionada ao aumento da pressão de seleção imposta pelo uso intensivo e subsequente dos mesmos herbicidas ou diferentes herbicidas, mas com o mesmo mecanismo de ação.

No passado, a buva era considerada uma espécie secundária, que não oferecia riscos às lavouras, porém com a comprovação de biótipos com resistência ao glyphosate, esta planta daninha passou a se destacar pela dificuldade de controle. Após a seleção de biótipos de buva resistentes ao glyphosate, muitos agricultores passaram a adotar outros herbicidas em associação ao glyphosate para mitigação dos baixos resultados de controle. Este fato levou à seleção de populações de *Conyza sumatrensis* com resistência múltipla a glyphosate e ao chlorimuron.

Nos últimos anos, reclamações relacionadas às falhas de controle de buva após a aplicação de chlorimuron têm sido cada vez mais frequentes em lavouras do Paraná. Possivelmente, tais falhas de controle estão relacionadas ao aumento da seleção de populações desta planta daninha resistentes ao chlorimuron. Uma das principais alternativas de herbicidas utilizados nessas áreas com resistência ao chlorimuron tem sido as triazolopirimidinas (diclosulam e cloransulam).

Até o momento não existem relatos sobre a existência de resistência cruzada dentro ou entre os grupos químicos dos herbicidas inibidores de ALS, nem com relação ao uso destes herbicidas em pré-emergência em populações de buva. Em função da intensidade de uso dos herbicidas inibidores da ALS e da relevância destes herbicidas dentro dos sistemas de manejo de plantas daninhas no Brasil, o presente trabalho teve como objetivo investigar a possível existência de populações de *Conyza sumatrensis* com resistência cruzada aos inibidores da ALS e avaliar herbicidas com diferentes mecanismos de ação para empregá-los nos sistemas de manejo destas populações.

## CAPÍTULO 1

Identificação da resistência cruzada aos inibidores da ALS aplicados em pré e pós-emergência de buva (*Conyza sumatrensis*)

Identificação da resistência cruzada aos inibidores da ALS aplicados em pré e pós-emergência de buva (*Conyza sumatrensis*)

**RESUMO** - A resistência de plantas daninhas a herbicidas tem causado grandes problemas na agricultura brasileira, principalmente em relação à ineficácia dos tratamentos herbicidas utilizados. O objetivo deste trabalho foi investigar a possível existência de populações de *Conyza sumatrensis* com resistência cruzada aos inibidores da ALS. Para isso, 20 populações coletadas na safra 2016/2017 foram semeadas e cultivadas em casa-de-vegetação. Experimentos de dose-resposta foram realizados com os herbicidas chlorimuron (pré e pós-emergência), cloransulam (pós-emergência) e diclosulam (pré-emergência) em gerações F1 de três populações resistentes. Os resultados comprovaram resistência cruzada em níveis elevados com relação aos herbicidas chlorimuron e cloransulam aplicados em pós-emergência de duas populações (62 e 334) de *C. sumatrensis*. A partir dos resultados obtidos em pré-emergência, foi confirmado que a população 62 também apresenta resistência cruzada aos herbicidas chlorimuron e diclosulam. Conclui-se que a população 62, oriunda de Medianeira (região Oeste do Estado do Paraná) constitui o primeiro relato de buva no Brasil que, além de apresentar resistência cruzada a chlorimuron e cloransulam aplicados em pós-emergência, também apresenta resistência cruzada a chlorimuron e diclosulam aplicados em pré-emergência. No caso do chlorimuron, portanto, observou-se resistência nas duas modalidades distintas de aplicação (pré e pós-emergência).

**Palavras-chave:** Investigação. Dose-resposta. Chlorimuron. Diclosulam. Fator de resistência.

*Identification of cross-resistance to ALS-inhibitors applied in pre and post-emergence of  
Sumatran fleabane*

**ABSTRACT:** The resistance of weeds to herbicides has caused great problems in Brazilian agriculture, mainly in relation to the ineffectiveness of the herbicide treatments used. The objective of this work was to investigate the existence of populations of Sumatran fleabane with cross-resistance to ALS inhibitors. For this, 20 populations collected in the 2016/2017 seasons were planted and cultivated in greenhouse. Dose-response experiments were realized with chlorimuron (pre and post-emergence), cloransulam (post-emergence) e diclosulam (pre-emergence) in F1 generations of three resistant populations. The results obtained in this study concluded populations 62 and 334 present the same pattern (survived the applications of chlorimuron and chloransulam) of cross-resistance (CR) to the two chemical groups evaluated (sulfonylureas and triazolopyrimidines). The herbicides chlorimuron and diclosulam, applied in pre-emergence, presented low activity on the population 62, not preventing the germination of the seeds. The results obtained in the post-and pre-emergence experiments, it was confirmed that the population 62, from Medianeira (Western region of Paraná State), is the first report of fleabane cross-resistance to ALS inhibitors in Brazil.

**Keywords:** Investigation. Dose-response. Chlorimuron. Diclosulam. Resistance factor.

## INTRODUÇÃO

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas assume grande importância, principalmente em razão do limitado número de herbicidas alternativos que podem ser usados no controle dos biótipos resistentes. No Brasil, existem 50 relatos de plantas daninhas resistentes e a problemática está aumentando no decorrer do tempo (Heap, 2019).

Em áreas onde aplicações herbicidas de um mesmo mecanismo de ação se repetem por vários anos podem acontecer mudanças na flora infestante e, com o tempo, certos indivíduos, dentro da população são selecionados em função de sua maior resistência ao herbicida utilizado, dando origem às falhas de controle.

A presença de indivíduos resistentes é um fenômeno natural que ocorre espontaneamente nas populações, não sendo, portanto, o herbicida o agente causador, e sim selecionador destes indivíduos resistentes que se encontram em baixa frequência inicial (López-Ovejero et al., 2006).

Nos últimos anos, com a crescente utilização de glyphosate em operações de manejo no sistema de plantio direto e no controle de plantas daninhas em culturas RR, problemas com biótipos resistentes a este mecanismo aumentaram. Entre os casos de resistência de plantas daninhas ao glyphosate, destaca-se o aumento dos relatos de buva (*Conyza* spp.), considerada uma das principais espécies de plantas daninhas ao redor do mundo.

Frente à constatação de plantas do gênero *Conyza* resistentes ao glyphosate, muitos agricultores passaram a utilizar os inibidores da ALS, que tinham como características positivas a elevada eficiência no controle de plantas daninhas dicotiledôneas e o baixo custo, especialmente o chlorimuron. No ano de 2011, como resposta ao uso contínuo do glyphosate e chlorimuron, foram relatados os primeiros casos de biótipos de buva com resistência múltipla aos inibidores da EPSPs e ALS (Santos et al., 2014).

Os herbicidas inibidores da ALS são essenciais nos programas de manejo, principalmente na demanda por atividade residual. Da mesma forma, alguns destes herbicidas são alternativas importantes para o controle de plantas daninhas resistentes ao glyphosate, como é o caso da buva (*Conyza* spp.).

Existem cinco grupos químicos de herbicidas que atuam na enzima ALS: imidazolinonas, sulfonilureias, sulfonanilidas, pirimidil-benzoatos e sulfonilamino-carboniltriazolinonas. Herbicidas que pertencem a este mecanismo de ação são bastante utilizados, em razão da baixa toxicidade para animais, alta seletividade para culturas e alta eficiência em baixas doses (Senseman, 2007).

A resistência aos herbicidas inibidores da ALS é determinada geneticamente a partir da alteração do gene responsável pela codificação desta enzima, que cataliza o primeiro passo da biossíntese dos aminoácidos leucina, isoleucina e valina. Além disso, existem posições múltiplas onde a enzima ALS pode sofrer mutações para conferir resistência. Essas mutações em diferentes locais são, provavelmente, responsáveis pelos padrões distintos de resistência cruzada aos herbicidas inibidores da ALS (Powles e Yu, 2010; Shaner, 2014).

A frequência inicial mais alta, de  $10^{-6}$  plantas por hectare, também ocorre nos biótipos resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS. Sendo assim, quanto maior a frequência inicial de biótipos resistentes, maior a probabilidade de aumentar a proporção de indivíduos resistentes na população em um menor período de tempo (Shaner, 2014). Outra particularidade da resistência a esses herbicidas é a herança nuclear. Nesse caso, a resistência é herdada e carregado pelo pólen (Powles e Yu 2010).

Tais características como a expressão da resistência, a frequência inicial, o tipo de herança e os custos quase nulos associados a essa resistência podem responder pelo desenvolvimento mais rápido de indivíduos resistentes, haja vista que existem relatos de resistência depois de apenas 5 anos consecutivos do uso de herbicidas inibidores da enzima ALS (Saari et al., 1994).

Uma vez que esse grupo de herbicidas é o que apresenta o maior número de casos de resistência no mundo, a utilização de inibidores da ALS deveria ser feita de forma cuidadosa e não repetitiva, de modo a evitar a pressão de seleção. Neste contexto, o uso em larga escala de herbicidas alternativos ao chlorimuron, tais como cloransulam e diclosulam, pode ter colaborado na seleção de plantas resistentes, visto que o uso foi intensificado a partir de 2011, após a confirmação de buva resistente ao chlorimuron.

Até o momento não há informações sobre a ocorrência de resistência cruzada dentro ou entre os grupos químicos dos herbicidas inibidores de ALS, nem com relação ao uso destes herbicidas em pré-emergência. Em função da relevância dos herbicidas inibidores da ALS dentro dos sistemas de manejo de plantas daninhas no Brasil, o presente trabalho teve como objetivo investigar a possível existência de populações de *Conyza sumatrensis* com resistência cruzada aos inibidores da ALS.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. "Screening" de populações

Foram coletadas sementes de buva em estágio de maturação fisiológica, sendo realizadas amostras compostas por cinco a dez plantas por local. Os locais de coleta foram propriedades cuja atividade principal é o cultivo de grãos e nas quais foram observadas falhas no controle de *Conyza sumatrensis* após a aplicação de herbicidas, na safra 2016/2017. As sementes foram acondicionadas em sacos de papel e identificadas quanto às coordenadas geográficas, o nome do produtor e/ou propriedade, o município e a data de coleta.

Um total de 20 populações de *C. sumatrensis* foram avaliadas em casa de vegetação, no Centro Técnico de Irrigação da Universidade Estadual de Maringá, no período de maio a julho de 2017 (Tabela 1).

**Tabela 1.** Procedência e identificação das amostras de sementes de populações de *Conyza sumatrensis* coletadas para os experimentos. Maringá, PR, 2017.

Código da população	Município	Estado	Coordenadas geográficas da coleta	
			Latitude	Longitude
S	Engenheiro Beltrão	PR	23° 50' 23" S	52° 22' 49" O
62	Medianeira	PR	25° 17' 22" S	54° 02' 50" O
334	Maripá	PR	24° 30' 25" S	53° 43' 12" O
45	Juranda	PR	24° 45' 05" S	53° 30' 12" O
49	Campina da Lagoa	PR	24° 55' 17" S	53° 21' 35" O
52	Campina da Lagoa	PR	24° 57' 31" S	53° 19' 24" O
97	Campo Bonito	PR	25° 02' 02" S	54° 01' 42" O
98	Quedas do Iguaçu	PR	25° 25' 48" S	52° 56' 15" O
148	Peabiru	PR	23° 56' 31" S	52° 20' 43" O
149	Campo Mourão	PR	23° 53' 35" S	52° 21' 38" O
150	Campo Mourão	PR	23° 55' 00" S	52° 21' 20" O
152	Juranda	PR	24° 21' 28" S	52° 51' 12" O
153	Juranda	PR	24° 21' 07" S	52° 53' 38" O
240	São Jorge do Ivaí	PR	23° 29' 57" S	52° 19' 14" O
257	Florestópolis	PR	22° 58' 05" S	51° 21' 53" O
314	Goioerê	PR	24° 05' 23" S	53° 07' 01" O
336	Toledo	PR	24° 35' 21" S	53° 43' 13" O
341	Toledo	PR	24° 24' 14" S	53° 51' 29" O
362	Londrina	PR	23° 10' 56" S	51° 10' 57" O
392	Nova Aurora	PR	24° 23' 51" S	53° 21' 55" O

As amostras foram semeadas em bandejas contendo substrato comercial Carolina<sup>®</sup>, à 0,5 cm de profundidade e após a emergência das plântulas, as mesmas foram transplantadas para vasos de 0,2 L (7,0 x 7,0 x 8,0 cm). Para cada população foram utilizadas quatro repetições.

Estas populações receberam a aplicação em pós-emergência dos tratamentos herbicidas descritos na Tabela 2, no estágio de 4-6 folhas.

Normalmente, os trabalhos de avaliação de resistência são realizados com várias doses do herbicida, com a finalidade de construir uma curva que represente o comportamento de determinado biótipo. Entretanto, ao trabalhar com um número muito grande de amostras, a aplicação de várias doses torna-se inviável. Afim de otimizar os ensaios, optou-se pela realização de um *screening* de populações utilizando apenas uma dose de cada herbicida para discriminar as populações, o que também foi utilizado nos trabalhos de Rosenbaum e Bradley (2013), Owen et al. (2015) e Schultz et al. (2015). A dose discriminatória é definida como a dose capaz de resultar num controle mínimo de 80% do biótipo suscetível (Lopez Ovejero et al., 2017).

**Tabela 2.** Tratamentos, produtos comerciais, grupos químicos e doses de herbicidas aplicados em biótipos de *Conyza sumatrensis* com suspeita de resistência.

Herbicida	Produto comercial	Grupo químico	Dose (g i.a. ou e.a. ha <sup>-1</sup> )	Dose (g ou mL p.c. ha <sup>-1</sup> )
Chlorimuron	Classic <sup>1/</sup>	Sulfonilureia	20	80
Cloransulam	Pacto <sup>2/</sup>	Triazolopirimidina	33,6	40
Diclosulam	Spider 840 WG <sup>1/</sup>	Triazolopirimidina	25,2	30
Glyphosate	Roundup Original DI	Glicina Substituída	1110	3000

<sup>1/</sup>Adicionado Assist (0,5% v v<sup>-1</sup>); <sup>2/</sup>Adicionado Agral (0,2% v v<sup>-1</sup>)

As aplicações foram realizadas com pulverizador costal com pressão constante a base de CO<sub>2</sub>. A barra de aplicação foi equipada com três pontas de pulverização XR 110.015 e o volume de calda aplicado foi de 150 L ha<sup>-1</sup>. As aplicações ocorreram no período da manhã (8:00-10:00), priorizando as condições mais favoráveis possíveis, ou seja, UR acima de 70%, temperatura do ar abaixo de 28 °C e sem rajadas de vento.

Após a aplicação dos tratamentos foram avaliadas as porcentagens de controle (0-100%), em que 0% significa a ausência de sintomas e 100% a morte da planta (SBCPD, 1995). Essas avaliações ocorreram aos 28 dias após a aplicação (DAA). Os resultados foram interpretados conforme a metodologia utilizada por Lopez Ovejero et al. (2017), descrita na Tabela 3.

**Tabela 3.** Critérios para a classificação das amostras de buva com relação à resistência a herbicidas após a interpretação dos resultados aos 28 dias após a aplicação. Maringá, PR, 2018.

Resultados de controle obtidos	Denominação neste trabalho	Expressão do resultado na forma de cor
Três a quatro vasos <80%	Resistente	vermelho
Dois vasos <80%	Pouco suscetível	amarelo
Um vaso <80%	Medianamente suscetível	verde
Todos os vasos >80%	Suscetível	branco

Duas populações foram selecionadas, as quais apresentaram características diferentes de sensibilidade aos herbicidas. Ambas as populações, denominadas 62 e 334, sobreviveram aos herbicidas testados, entretanto a população 334 apresentou maior fitointoxicação quando comparada à 62. Além das duas populações com suspeita de resistência, uma população denominada S foi selecionada como suscetível a todos os herbicidas testados. Sementes das plantas parentais da população 62 e 334 foram coletadas, respectivamente, em Medianeira e Maripá. As parentais da população S foram coletadas em Engenheiro Beltrão (Tabela 1).

## 2. Experimentos de dose-resposta

Os experimentos descritos a seguir foram realizados com sementes da geração F1 coletadas das populações de *C. sumatrensis* selecionadas com suspeitas de resistência e uma suscetível (62, 334 e S). Para todos os experimentos, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições.

Em todos os experimentos, as unidades experimentais foram compostas por vasos de 1 dm<sup>3</sup>, os quais foram preenchidos com solo que apresentava valores de pH em água de 6,4; teor de argila de 21%, teor de areia de 68%, 2,1% de M.O., CTC de 9,8 mg dm<sup>-3</sup> e foi preparado livre de torrões.

As aplicações foram realizadas com pulverizador costal de pressão à base de CO<sub>2</sub> equipado com uma barra de pulverização de um metro com três pontas do tipo leque, modelo XR 110.02 espaçadas de 0,5 m. A velocidade de aplicação foi de 1,0 m s<sup>-1</sup> e a pressão utilizada foi de 30 psi, o que proporcionou volume de calda de 200 L ha<sup>-1</sup>. As aplicações foram feitas no período da manhã, com temperaturas abaixo de 30°C e umidade relativa do ar acima de 70%, livre de rajadas de vento.

### 2.1 Aplicação de chlorimuron, cloransulam e glyphosate em pós-emergência

Os experimentos foram arranjados em esquema fatorial 8 x 3, em que o primeiro fator foi constituído por oito doses do herbicida e o segundo fator pelas três populações. As doses foram equivalentes a 0, 1/8, 1/4, 1/2, 1, 2, 4 e 8 vezes a dose recomendada (x) para o controle de *Conyza* spp., conforme a recomendação do fabricante de cada produto (AGROFIT, 2019). Foram realizados três experimentos, um para cada herbicida, sendo eles chlorimuron (sulfonilureias – SUL's), cloransulam (triazolopirimidinas – TRI's) e glyphosate. As doses consideradas como recomendadas (x) foram de 20 g i.a. ha<sup>-1</sup>, 33,6 g i.a. ha<sup>-1</sup> e 1110 g e.a. ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

Para os experimentos, sementes foram semeadas em bandejas de 10 x 30 x 60 cm e as plântulas foram transplantadas para vasos (uma planta por vaso) quando estas apresentavam de duas a três folhas totalmente expandidas. As aplicações foram realizadas quando as plantas apresentaram de 5 a 7 folhas.

Aos 28 dias após a aplicação (DAA) foram avaliadas as porcentagens de controle na escala de 0-100% (zero significa a ausência de sintomas e 100% significa a morte da planta) (SBCPD, 1995). As partes aéreas das plantas presentes nos vasos foram cortadas rente ao solo, colocadas em sacos de papel e acondicionadas em estufa (60°C) por 48 horas para obtenção da matéria seca.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, à 5% de probabilidade. Com a utilização do software SigmaPlot 12.5, as variáveis significativas com o efeito de doses no teste F foram submetidas a análises de regressão utilizando modelos não-lineares de dose-resposta, para todos os herbicidas avaliados. O modelo utilizado nos tratamentos herbicidas para as variáveis porcentagem de controle visual e massa seca em relação à testemunha foi o modelo log-logístico de três parâmetros, proposto por Streibig et al. (1988) (Equação 1).

$$Y = \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c} \quad \text{Equação 1}$$

No modelo, Y é o controle percentual ou massa seca em relação à testemunha aos 28 DAA (variável dependente); x corresponde a dose do herbicida (g ha<sup>-1</sup>) (variável independente); a é a assíntota existente entre o ponto máximo e o ponto mínimo da variável; b representa a declividade da curva (ponto de inflexão da curva) e c é a dose que proporciona 50% da assíntota.

Para calcular a dose que proporciona 50% de controle (EC<sub>50</sub>) ou 50% de massa em relação à testemunha sem herbicida (ED<sub>50</sub>), bem como as doses para o controle satisfatório das

populações ( $EC_{80}$  ou  $ED_{80}$ ) foram utilizadas as equações inversas, isolando  $x$  em função de  $Y$ , conforme proposto por Carvalho et al. (2005). A estimativa desses valores é importante do ponto de vista prático, pois representa a dose necessária para atingir níveis mínimos de controle considerados como aceitáveis no campo.

Após calcular a  $EC_{50}$  e  $ED_{50}$ , foram calculados os fatores de resistência (FR) obtidos pela razão entre  $EC_{50}$  da população supostamente resistente pela  $EC_{50}$  da população suscetível, tanto para dados de porcentagem de controle, quanto para massa seca em relação à testemunha aos 28 DAA. O fator de resistência 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).

## 2.2 Aplicação de chlorimuron e diclosulam em pré-emergência

Para a avaliação da resistência em pré-emergência foram realizados dois experimentos, sendo um para chlorimuron e outro para diclosulam. As doses recomendadas ( $x$ ) foram 20 g i.a.  $ha^{-1}$  e 25,2 g i.a.  $ha^{-1}$ , respectivamente. Ambos experimentos foram dispostos em esquema fatorial 8 x 2, sendo o primeiro fator composto por oito doses (0,  $1/8$ ,  $1/4$ ,  $1/2$ , 1, 2, 4 e 8 vezes a dose  $x$ ) do herbicida e o segundo fator por duas populações (62 e S).

Para os experimentos, foram semeadas 200 sementes à 0,5 cm de profundidade e os vasos foram irrigados com uma lâmina de 10 mm de água. As aplicações dos tratamentos herbicidas foram realizadas logo após.

Aos 28 dias após a aplicação (DAA), foram avaliadas as porcentagens de controle na escala de 0-100% (zero significa a ausência de sintomas e 100% significa a morte da planta) (SBCPD, 1995)

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Não houve ajuste de modelos de regressão e desta forma, foi realizado o agrupamento de médias pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. O pacote estatístico utilizado foi o SISVAR.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1. “Screening” de populações

Ao observar os resultados para os quatro herbicidas, foi possível classificar cada população de acordo com a metodologia utilizada por Lopez Ovejero et al. (2017). Diferentes padrões de resistência cruzada foram observados nas populações avaliadas (Tabela 4).

**Tabela 4.** Populações de *Conyza sumatrensis* aos 28 DAA, classificadas quanto aos padrões de resistência cruzada aos herbicidas inibidores da ALS.

Cód. <sup>2/</sup>	Município	Herbicidas avaliados <sup>1/</sup>			
		Chlorimuron	Cloransulam	Diclosulam	Glyphosate
S	Engenheiro Beltrão				
62	Medianeira				
334	Maripá				
45	Juranda				
49	Campina da Lagoa				
52	Campina da Lagoa				
97	Campo Bonito				
98	Quedas do Iguaçu				
148	Peabiru				
149	Campo Mourão				
150	Campo Mourão				
152	Juranda				
153	Juranda				
240	São Jorge do Ivaí				
257	Florestópolis				
314	Goioerê				
336	Toledo				
341	Toledo				
362	Londrina				
392	Nova Aurora				

Vermelho: três a quatro vasos <80%-resistente; amarelo: dois vasos <80%-pouco suscetível; verde: um vaso <80%-medianamente suscetível; branco: todos os vasos >80%- suscetível. <sup>1/</sup>aplicação em pós-emergência: chlorimuron (20 g i.a. ha<sup>-1</sup>); cloransulam (33,6 g i.a. ha<sup>-1</sup>); diclosulam (25,2 g i.a. ha<sup>-1</sup>); glyphosate (1110 g e.a. ha<sup>-1</sup>). <sup>2/</sup>Código da população

A população S encontrada em Engenheiro Beltrão apresentou controle >80% para todos os herbicidas avaliados.

Das 20 amostras avaliadas, apenas duas populações apresentaram algum padrão de resistência cruzada aos ALS. A população de Medianeira (62) foi resistente ao chlorimuron, cloransulam e diclosulam e a população 334, encontrada em Maripá, resistente ao cloransulam e diclosulam. A ausência de padrões entre populações de *Conyza* pode estar atrelada às

características inatas do gênero, como por exemplo a alta divergência genética entre as três espécies de *Conyza* e a diversidade molecular entre biótipos da mesma espécie, como observado por Marochio et al. (2017) em *C. sumatrensis*.

Para o chlorimuron, seis amostras foram ranqueadas na classe vermelha (resistente), sendo estas provenientes dos municípios de Medianeira, Campina da Lagoa, Juranda, Toledo e Nova Aurora (PR). Onze amostras foram classificadas como pouco suscetível e medianamente suscetível.

No presente trabalho, foram identificadas cinco populações com resistência múltipla (glyphosate + chlorimuron). Embora o chlorimuron seja uma importante alternativa de controle de populações resistentes ao glyphosate, é importante ressaltar que os casos de resistência múltipla estão aumentando nas últimas safras (Mendes et al., 2017).

Com relação ao herbicida cloransulam, três populações (62, 334 e 49) foram classificadas como resistentes e cinco foram classificadas com mediana ou pouca suscetibilidade.

Para o herbicida diclosulam, duas populações foram consideradas como resistentes (classe vermelha). Apesar deste herbicida ser recomendado para aplicações em pré-emergência, neste trabalho, o mesmo foi aplicado em pós-emergência. Os trabalhos de avaliação de resistência são normalmente realizados com a aplicação dos herbicidas diretamente na parte aérea das plantas (pós-emergência), visando eliminar possíveis interferências do solo na adsorção dos produtos aplicados em pré-emergência.

Os resultados indicam que pode haver populações resistentes aos dois grupos químicos dos inibidores da ALS avaliados (SUL's e TRI's), assim como pode haver resistência a um determinado grupo, mas suscetibilidade a outro. As duas populações que apresentaram resistência cruzada aos inibidores da ALS (62 e 334) foram selecionadas para os trabalhos a seguir.

## 2. Experimentos de dose-resposta

### 2.1 Aplicação de chlorimuron, cloransulam e glyphosate em pós-emergência

A análise de variância dos dados mostrou que houve significância para as fontes de variação, bem como para a interação entre populações e doses.

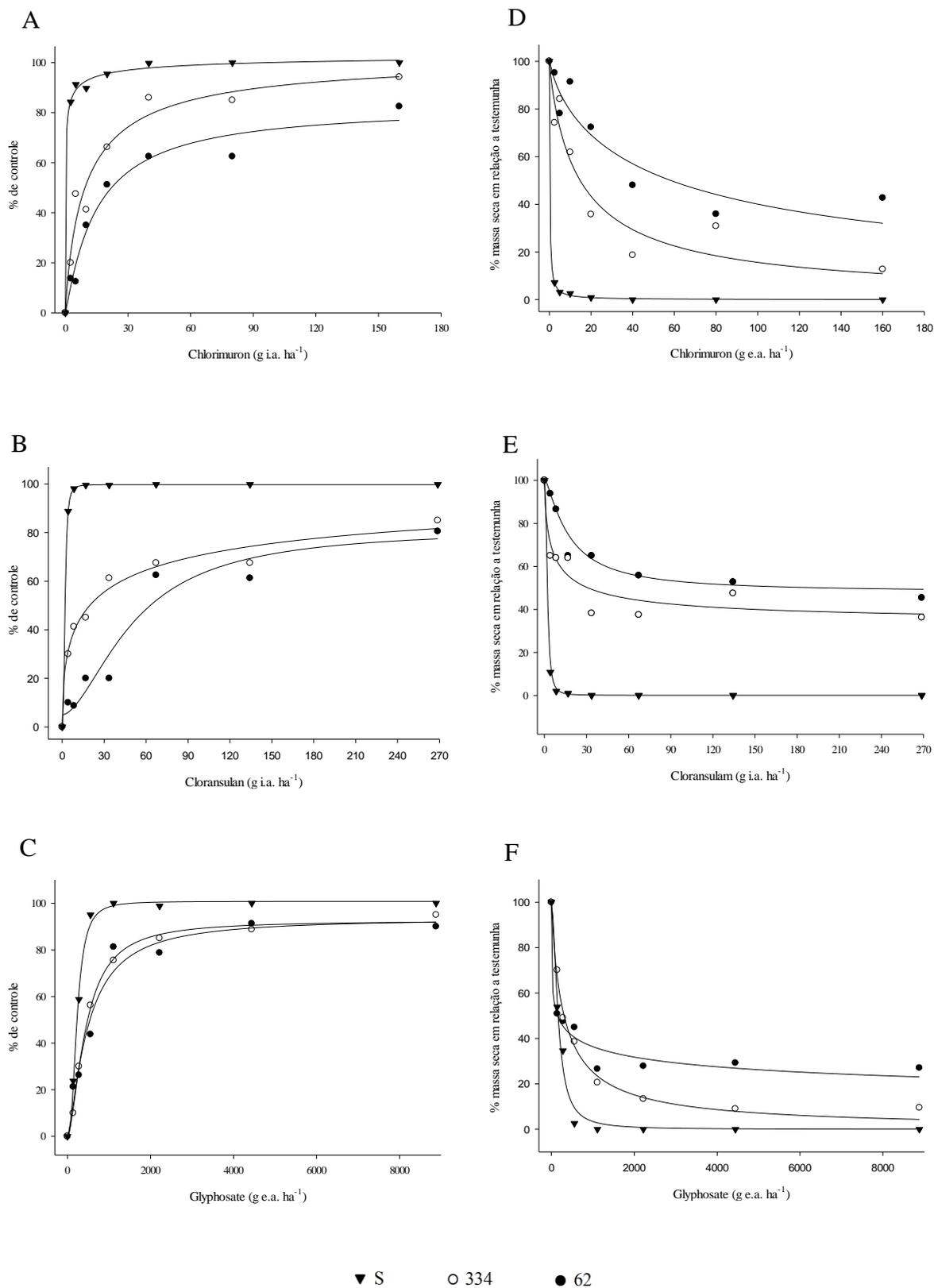
A resposta da população considerada suscetível (S) aos herbicidas chlorimuron e cloransulam resultou em  $DC_{50}$  de 0,0006 e 0,0035 g ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 5). Estas doses baixas indicam que a população é extremamente sensível aos herbicidas avaliados.

**Tabela 5.** Parâmetros dos modelos, doses (g ha<sup>-1</sup>) para 50% e 80% de eficácia dos herbicidas chlorimuron, cloransulam e glyphosate aplicados em duas populações de *Conyza sumatrensis* resistentes.

		% Controle					
Herbicida	População	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	R <sup>2</sup>	DC <sub>50</sub>	DC <sub>80</sub>
Chlorimuron	S	83,29	-7597	0,0006	0,99	0,0006	0,0007
	62	82,87	-1,08	14,95	0,94	10	160
	334	102,89	-0,86	9,96	0,93	10,5	45
Cloransulam	S	85,16	-25594,4	0,0035	0,99	0,0035	0,07
	62	93,11	-1,16	59,09	0,94	52	>268,8
	334	109,18	-0,47	27,86	0,93	38	240
Glyphosate	S	100,78	-2,54	231,37	0,99	231	400
	62	93,63	-1,37	488,88	0,96	442	1780
	334	92,52	-1,65	439,9	0,99	396	1400
		% Redução de massa					
Herbicida	População	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	R <sup>2</sup>	DM <sub>50</sub>	DM <sub>80</sub>
Chlorimuron	S	100	1,02	0,205	0,99	0,205	0,77
	62	101,55	0,73	55,98	0,88	54	>160
	334	99,79	0,88	14,85	0,89	15	70
Cloransulam	S	100	2,41	2,08	0,99	2,08	-
	62	102,47	0,49	151,6	0,94	148	>268,8
	334	100,25	0,30	40,83	0,83	40,83	265
Glyphosate	S	99,43	1,83	163,22	0,98	165	340
	62	100,12	0,29	150,07	0,95	150,07	>8880
	334	100,5	0,91	302,23	0,98	302,23	1360

Ajuste pelo modelo de Streibig (1988); EC<sub>50</sub>: dose para 50% de controle; ED<sub>50</sub>: dose para redução de 50% de massa seca em relação à testemunha; EC<sub>50</sub> e ED<sub>50</sub> calculadas pelas equações inversas. -: menor dose testada ultrapassa controle de 80%

Aos 28 DAA para a população S, na dose de chlorimuron recomendada em bula (20 g i.a. ha<sup>-1</sup>), obteve-se controle superior a 90%, enquanto que para as populações 62 e 334, o controle foi em média de 50 e 65%, respectivamente (Figura 1). Na avaliação da massa seca (MS), verificou-se comportamento decrescente nas curvas sigmoidais, indicando que o aumento na dose do chlorimuron para ambas populações reduziu o acúmulo de MS. No entanto, esta redução foi mais pronunciada na população 334, em relação à população 62.



**Figura 1.** Curvas de dose-resposta para as variáveis % de controle (à esquerda) e % de massa (à direita) em três populações (S, 334 e 62) de *Conyza sumatrensis* resistentes aos herbicidas chlorimuron, cloransulam e glyphosate. A e D) chlorimuron; B e E) cloransulam; C e F) glyphosate.

Ao estimar a dose necessária para reduzir 50% da massa seca ( $ED_{50}$ ), a população 62 foi considerada mais resistente do que a população 334, visto que foram necessários 54 g i.a.  $ha^{-1}$  de chlorimuron para redução de 50% da massa, correspondendo a mais de duas vezes a dose recomendada (20 g i.a.  $ha^{-1}$ ). Para a população 334, 15 g i.a.  $ha^{-1}$  de chlorimuron foram suficientes para reduzir a massa em 50%.

Nas mesmas populações com suspeita de resistência, as doses para o controle aceitável (80%) e para 80% de redução de massa ( $ED_{80}$ ) com o cloransulam foram oito vezes maiores do que a dose recomendada do produto (dose  $x = 33,6$  g  $ha^{-1}$ ) (Tabela 5). Os valores altos, principalmente na população 62, sugerem mutação da enzima ALS, o que a torna insensível e impede qualquer ação dos herbicidas. Esses resultados podem indicar que as populações avaliadas apresentam resistência cruzada as sulfonilureias e triazolopirimidinas.

O mecanismo de resistência aos inibidores da ALS em plantas daninhas tipicamente envolve mutações no gene que codifica a proteína-alvo da molécula herbicida, sendo denominado *target-site-resistance* (Powles e Yu, 2010). Estas mutações alteram a conformação estrutural do sítio e o herbicida fica incapaz de se ligar e promover a intoxicação na planta. Nestes casos, mesmo doses elevadas podem ser insuficientes para promover a ação do herbicida.

As populações 62 e 334 aparentemente possuem o mesmo padrão de resistência cruzada (RC) aos dois grupos químicos avaliados (sulfonilureias e triazolopirimidinas), ou seja, tanto a população 62 quanto a população 334 não foram controladas eficientemente a partir da aplicação de chlorimuron e cloransulam. Entretanto, a população 62 apresenta um nível mais elevado de resistência quando comparada à 334 (Tabela 6). Quando a resistência aos inibidores da ALS é relacionada à mutação no sítio de ação, o nível e a amplitude da resistência pode variar em função do local onde ocorre (m) a (s) mutação (ões). Há relatos de mutações nos aminoácidos Ala<sub>122</sub>, Pro<sub>197</sub>, Ala<sub>205</sub>, Asp<sub>376</sub>, Trp<sub>574</sub>, Ser<sub>653</sub> e Gly<sub>654</sub>, as quais podem gerar um alto nível de resistência (Zheng et al., 2011).

**Tabela 6.** Fatores de resistência (FR) baseados no controle ( $EC_{50}$ ) ou na massa em relação a testemunha ( $ED_{50}$ ) em duas populações (62 e 334) de *Conyza sumatrensis* resistentes aos herbicidas chlorimuron e cloransulam.

População	Herbicida	FR ( $DC_{50}$ )	FR ( $DM_{50}$ )
S	Chlorimuron	-	-
	Cloransulam	-	-
	Glyphosate	-	-
62	Chlorimuron	16666,67	263,41
	Cloransulam	14857,14	71,15
	Glyphosate	1,91	0,90
334	Chlorimuron	17500	73,17
	Cloransulam	10857,14	19,62
	Glyphosate	0,89	2,01

FR: calculado pela razão entre  $EC_{50}$  ou  $ED_{50}$  da população S e  $EC_{50}$  ou  $ED_{50}$  da população resistente

As maiores doses avaliadas de chlorimuron (160 g i.a.  $ha^{-1}$ ) e de cloransulam (268,8 g i.a.  $ha^{-1}$ ), causaram níveis de injúria altos e reduziram a massa seca, no entanto, não foram suficientes para resultar em 100% de controle (Figura 1). Mesmo com as avaliações tendo sido encerradas aos 28 DAA, é possível inferir que apesar das injúrias ocasionadas, as maiores doses não seriam suficientes para proporcionar controle total das plantas.

Para inibidores da ALS é comum encontrar plantas altamente resistentes. Em populações de *Conyza canadensis* de Israel foi relatada RC a três grupos químicos (imidazolinonas, sulfonilureias e pirimidinil-thio-benzoatos) devido à substituição de Trp<sub>574</sub> para Leu. Os FR encontrados foram: >29, >42 e >44, respectivamente (Matzrafi et al., 2015).

Zheng et al. (2011) avaliaram padrões de resistência cruzada em três populações de *Conyza canadensis* a quatro herbicidas inibidores da ALS de diferentes grupos químicos. As populações P525 e P13 apresentaram padrões diferentes de resistência quando comparadas à população P116, uma vez que foram sensíveis ao imazethapyr (FR  $ED_{50}$  = 0,9 e 0,1, respectivamente), mas resistentes aos outros três herbicidas testados. Por outro lado, a população P116 apresentou RC aos quatro herbicidas avaliados (FR  $ED_{50}$  Cloransulam = 33, chlorimuron = 34, imazethapyr = 9,1 e bispyribac = 580).

Quando ocorre seleção para resistência em relação aos inibidores da ALS, diferentes padrões podem ser expressos. A resistência cruzada não confere necessariamente resistência a todos os herbicidas com o mesmo local de ação e ainda podem existir variações nos níveis de resistência dentro dos grupos químicos (Agostineto e Vargas, 2009). Para exemplificar, padrões de resistência cruzada já foram verificados em *Conyza canadensis*, na qual a mutação Asp<sub>376</sub>-Glu confere resistência a todos os grupos de inibidores ALS (Zheng et al., 2011). Outro exemplo

são as mutações Pro<sub>197</sub>-Ala e Pro<sub>197</sub>-Ser, as quais conferem resistência apenas aos grupos SUL's, TRI's e PIR's (Zheng et al., 2011). Geralmente, mutações na Pro-197 conferem pouca ou nenhuma resistência ao grupo das IMI's (Zheng et al., 2011).

Com relação ao herbicida glyphosate, observa-se que as populações (62 e 334) apresentaram fatores de resistência da ordem de 1,91 e 0,89 para a variável controle percentual e 0,90 e 2,01 para a variável massa seca, respectivamente (Tabela 6).

Moreira et al. (2007) encontraram resultados semelhantes em uma população de *Conyza bonariensis* no estado de São Paulo, onde observaram FR=1,52. O gênero *Conyza* pode apresentar resistência ao herbicida glyphosate com diferentes níveis e esta resistência pode estar relacionada com a afinidade enzimática das moléculas; com a absorção, translocação ou exclusão diferencial dos herbicidas; ou até mesmo com rotas de detoxificação metabólica (Vangessel, 2001).

Apesar das populações 62 e 334 apresentarem FR considerados baixos, a dose utilizada de glyphosate (1110 g e.a. ha<sup>-1</sup>) não foi suficiente para controlar eficientemente ou reduzir a massa seca em níveis de 80% (Tabela 5).

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que as populações 62 e 334 atenderam a todos os critérios descritos para a confirmação de um caso de resistência por Heap (2005) e, portanto, são resistentes ao chlorimuron e ao cloransulam. Além disto, a resistência ao grupo das sulfonilureias e triazolpirimidinas caracteriza a resistência cruzada.

Neste sentido, é necessário entender todo o cenário para se pensar em soluções complementares de manejo. A pressão de seleção imposta pelos herbicidas inibidores da ALS pode ser reduzida, por exemplo, por meio da associação e da utilização de herbicidas com mecanismos de ação diferentes.

## 2.2. Aplicação de chlorimuron e diclosulam em pré-emergência

Nos experimentos, houve interação significativa dos tratamentos herbicidas com as populações avaliadas. Entretanto, não houve ajuste adequado dos modelos não-lineares testados para os dados de controle, sendo realizado teste de agrupamento de médias.

A população suscetível foi sensível a todas as doses avaliadas, apresentando níveis de controle de 100%, comportamento esperado para herbicidas aplicados em pré-emergência de plantas sensíveis. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 7, os herbicidas chlorimuron e diclosulam não foram eficientes para alcançar níveis de controle de pelo menos 80%, nem mesmo em doses muito superiores às recomendadas.

**Tabela 7.** Porcentagem de controle de duas populações (S e 62) de *Conyza sumatrensis* submetidas à aplicação de chlorimuron e diclosulam em pré-emergência.

Doses (g i.a. ha <sup>-1</sup> )	% de Controle - chlorimuron			
	14 DAA		28 DAA	
	S	62	S	62
0	0,00 bA	0,00 bA	0,00 bA	0,00 bA
2,5	100,00 aA	5,00 bB	100,00 aA	20,00 bB
5	100,00 aA	20,00 aB	100,00 aA	43,75 aB
10	100,00 aA	2,50 bB	100,00 aA	36,25 aB
20	100,00 aA	11,25 aB	100,00 aA	21,25 bB
40	100,00 aA	11,25 aB	100,00 aA	27,50 aB
80	100,00 aA	11,25 aB	100,00 aA	15,00 bB
160	100,00 aA	12,50 aB	100,00 aA	28,75 aB
F coluna	85,52	2,80	21,42	3,07
CV (%)	15,81		27,38	
Doses (g i.a. ha <sup>-1</sup> )	% de Controle - diclosulam			
	14 DAA		28 DAA	
	S	62	S	62
0	0,00 bA	0,00 dA	0,00 bA	0 cA
3,15	100,00 aA	1,25 dB	100,00 aA	7,00 cB
6,3	100,00 aA	0,00 dB	100,00 aA	20,00 bB
12,6	100,00 aA	21,25 cB	100,00 aA	18,00 bB
25,2	100,00 aA	20,00 cB	100,00 aA	51,25 aB
50,4	100,00 aA	21,25 cB	100,00 aA	56,25 aB
100,8	100,00 aA	36,25 bB	100,00 aA	55,00 aB
201,6	100,00 aA	46,25 aB	100,00 aA	62,50 aB
F coluna	486,07	115,77	136,65	67,66
CV (%)	6,06		9,96	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste F e médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Na avaliação de 28 DAA, a utilização da dose recomendada de chlorimuron (20 g i.a. ha<sup>-1</sup>) proporcionou controle de apenas 21,25%. De forma semelhante ao que foi observado para chlorimuron em pós-emergência, a população 62 também apresentou elevado nível de tolerância ao herbicida para as aplicações em pré-emergência. Nem mesmo a dose 8x de chlorimuron apresentou controle acima de 30%.

Com relação ao herbicida diclosulam, não há diferença na porcentagem de controle entre a dose recomendada (25,2 g i.a. ha<sup>-1</sup>) e 8x a dose (201,6 g i.a. ha<sup>-1</sup>). Injúrias acima de 50% foram constatadas a partir da dose recomendada (25,2 g i.a. ha<sup>-1</sup>). Entretanto, a maior dose avaliada (201,6 g i.a. ha<sup>-1</sup>) proporcionou controle de apenas 62,50%, sendo considerado insatisfatório para *C. sumatrensis*.

Em relação à população S, nota-se que a menor dose avaliada (<sup>1</sup>/<sub>8x</sub>) para os dois herbicidas foi suficiente para proporcionar 100% de controle a partir de 14 DAA.

O uso de herbicidas em pré-emergência, como o chlorimuron e o diclosulam, é uma alternativa eficiente para o manejo das plantas daninhas. Quando um herbicida com atividade residual é utilizado no período crítico de estabelecimento da cultura, exerce influência sobre as sementes, impedimento um novo fluxo de emergência. Além disto, há efeito sobre as plântulas, uma vez que os herbicidas inibidores da enzima ALS são produtos que apresentam translocação via floema e xilema e por isso podem agir logo após a emissão da radícula e também quando em contato com as folhas (Oliveira Jr., 2011).

Chlorimuron e diclosulam apresentaram menor atividade em pré-emergência sobre a população 62, quando comparada a S (Tabela 7). No presente estudo, além dos herbicidas não impedirem a emergência das plântulas, também não foram observadas injúrias severas nas mesmas aos 28 DAA. Estes resultados corroboram com os encontrados por Guerra et al. (2011) que, ao avaliarem dose-resposta em pré-emergência para herbicidas inibidores da ALS (imazethapyr, chlorimuron, diclosulam, imazaquin, flumetsulam) em um biótipo de *B. pilosa* resistente, verificaram que todos os grupos químicos testados apresentaram controle insatisfatório, até mesmo em aplicações com o dobro da dose recomendada.

Em amostras de *Amaranthus retroflexus* provenientes de regiões produtoras de algodão no Brasil resistentes a trifloxysulfuron e pyriithiobac-sodium, observou-se elevados fatores de resistência tanto em pós, quanto em pré-emergência (Francischini et al., 2019).

Com os inibidores da síntese de carotenóides, a resistência ao herbicida mesotrione foi confirmada em pré-emergência em biótipos de *A. tuberculatus* nos quais já havia sido observada

resistência a aplicações em pós-emergência deste produto. Os FRs encontrados em pré e pós-emergência para os dois biótipos foram de 12,7 e 8,8, respectivamente (Hausman et al., 2013).

A população 62 apresentou nível elevado de resistência aos herbicidas em pré-emergência. Nenhuma das doses de chlorimuron e diclosulam apresentou controle acima de 50% e o aumento da dose não resultou em aumento significativo de controle. Este comportamento geralmente sugere que o mecanismo de resistência possa estar relacionado com mutação no gene que codifica a ALS, resultando na insensibilidade desta enzima aos herbicidas testados (Yu e Powles, 2013).

Sabendo que a seleção de biótipos resistentes aos inibidores da ALS é rápida, o maior tempo de utilização destes produtos pode explicar a existência de populações resistentes em relação ao chlorimuron. Após a seleção de biótipos de buva resistentes ao glyphosate e ao chlorimuron, muitos agricultores passaram a adotar outros herbicidas, na maioria das vezes inibidores da ALS, para mitigação dos baixos resultados de controle. Este fato pode ter colaborado para a seleção de populações de buva com resistência ao diclosulam, devido a pressão de seleção imposta.

Considerando os resultados encontrados nos experimentos, confirmou-se que a população 62 apresenta resistência cruzada ao chlorimuron (SUL's) e ao diclosulam (TRI's). De acordo com Devine e Eberlein (1997), existe tendência geral de resistência cruzada entre herbicidas do grupo das SUL's e TRI's. Zheng et al. (2011) ao estudarem *Conyza canadensis* verificaram que a substituição Pro<sub>197</sub>-Ser confere resistência aos grupos químicos SUL's e TRI's. Isso ocorre, provavelmente, devido a ligação das TRI's à ALS ocorrer de forma semelhante às SUL's (Cobb e Reade., 2010).

## CONCLUSÕES

Os resultados comprovam resistência cruzada, em níveis elevados, aos herbicidas chlorimuron e cloransulam aplicados em pós-emergência de duas populações (62 e 334) de *Conyza sumatrensis*. A partir dos resultados obtidos em pré-emergência, foi confirmado que a população 62 também apresenta resistência cruzada aos herbicidas chlorimuron e diclosulam.

Conclui-se que a população 62, oriunda de Medianeira (região Oeste do Estado do Paraná) constitui o primeiro relato de buva no Brasil que, além de apresentar resistência cruzada a chlorimuron e cloransulam aplicados em pós-emergência, também apresenta resistência cruzada a chlorimuron e diclosulam aplicados em pré-emergência. No caso do chlorimuron, portanto, observou-se resistência nas duas modalidades distintas de aplicação (pré e pós-emergência).

## REFERÊNCIAS

AGOSTINETTO, A.; VARGAS, L. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Passo Fundo: Gráfica Editora Berthier, 2009. 352 p.

AGROFIT - Sistema Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)> Acesso em 14 jan. 2019.

CARVALHO, S.J.P.; LOMBARDI, B.P.; NICOLAI, M.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; MEDEIROS, D. Curvas de dose-resposta para avaliação do controle de fluxos de emergência de plantas daninhas pelo herbicida imazapic. **Planta Daninha**, v.23, n.3, p.535-542, 2005.

COBB, A.H.; READE, J.P.H.; **Herbicides and plant physiology**. Wiley-Blackwell, 2010, 296 p.

DEVINE, M.D.; EBERLEIN, C.V. Physiological, biochemical and molecular aspects of herbicide resistance based on altered target sites. In: Roe, R.M., Burton, J.D., Kuhr, R.J. (Eds.), **Herbicide Activity: Toxicology, Biochemistry and Molecular Biology**. Amsterdam: The Netherlands, 1997, p.159-185.

FRANCISCHINI, A.C.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R.S. TAKANO, H.K.; MENDES, R.R. Multiple and cross-resistance to *Amaranthus retroflexus* to ALS-inhibitors and photosystem II applied in preemergence. **Planta Daninha**, no-prelo, 2019.

GUERRA, N.; OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA NETO, A.M.; DAN, H.A.; ALONSO, D.G. Efeito da modalidade de aplicação sobre o controle de *Bidens pilosa* resistente a herbicidas inibidores da enzima ALS. **Global Science and Technology**, v.4, n.1, p.61-69, 2011.

HALL, L.M.; STROME, K.M.; HORSMAN, G. Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false clover (*Gallium spurium*). **Weed Science**, v.46, n.4, p.390-396, 1998.

HAUSMAN, E.N.; TRANEL, P.J.; RIECHERS, D.E.; MAXWELL, D.J.; GONZINI, L.C.; HAGER, A.G. Responses of HPPD inhibitor-resistant waterhemp (*Amaranthus rudis*) populations to soil residual herbicides. **Weed Technology**, v.27, n.4, p.704-711, 2013.

HEAP, I. The international Survey of Herbicide Resistant Weeds. ALS mutation data base. Disponível em: <<http://weedsience.org/Mutations/MutationDisplayAll.aspx>> Acesso em 18 jan. 2019.

HEAP, I. Criteria for confirmation of herbicide-resistant weeds - with specific emphasis on confirming low level resistance - 2005. Disponível em: <<http://weedsience.org/documents/resistancecriterion.pdf>> Acesso em: 23 jan de 2019.

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.; TAKANO, H.K.; OLIVEIRA JR., R.S.; CAVENAGHI, A.L.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M. Frequency and dispersal of glyphosate-resistant sougrass (*Digitaria insularis*) populations across Brazilian agricultural production areas. **Weed Science**, v.65, n.2, p.285-264, 2017.

MAROCHIO, C.A.; BEVILAQUA, M.R.R.; TAKANO, H.K.; MANGOLIM, C.A.; OLIVEIRA JR., R.S.; MACHADO, M.F.P.S. Genetic admixture in species of *Conyza* (Asteraceae) as revealed by microsatellite markers. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.39, n.4, p.437-445, 2017.

MATZRAFI, M.; LAZAR, T.W.; SIBONY, M.; RUBIN, B. *Conyza* species: distribution and evolution of multiple target-site herbicide resistances. **Planta**, v.242, p.259-267, 2015.

MENDES, R.R.; OLIVEIRA JR. R.S.; CONSTANTIN, J.; TAKANO, H.K.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Monitoring multiple resistance to glyphosate and chlorimuron in *Conyza* populations from grain-producing areas of Paraná, Brazil. In: **Global Herbicide Resistance Challenge**, 2017, Denver, Colorado. GHRC. Denver, 2017.

MOREIRA, M.S.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, n.1, p.157-164, 2007.

OLIVEIRA JR., R.S. Introdução ao controle químico. In: CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R.S.; INOUE, M. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011, p.125-140.

OWEN, M.J.; MARTINEZ, N.J.; POWLES, S.B. Multiple herbicideresistant wild radish (*Raphanus raphanistrum*) populations dominate Western Australian cropping fields. **Crop and Pasture Science**, v.66, p.1079-1085, 2015.

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

ROSENBAUM, K.K.; BRADLEY, K.W. A survey of glyphosate resistant waterhemp in Missouri soybean fields and prediction of glyphosate resistance in future waterhemp populations based on in-field observations and management practices. **Weed Technology**, v.27, p.656-663, 2013.

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

SANTOS, G.; OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; FRANCISCHINI, A. C.; OSIPE, J. B. Multiple resistance of *Conyza sumatrensis* to chlorimuron-ethyl and to glyphosate. **Planta Daninha**, v.32, n.2, p.409-416, 2014.

SBCPD - Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: 1995. 42 p.

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 Science**, v.63, p.336-345, 2015.

SENSEMAN, S.A. (Ed.). **Herbicide handbook**. 9.ed. Lawrence: Weed Science Society of America, 2007. 458 p.

SHANER, D.L. Lessons Learned From the History of Herbicide Resistance. **Weed Science**, v.62, p.427-431, 2014.

STREIBIG, J. Herbicide bioassay. **Weed Research**, v.28, n.1, p.479-484, 1988.

VANGESSEL, M. J. Glyphosate resistant horseweed from Delaware. **Weed Science**, v.49, p.703-705, 2001.

YU, Q.; POWLES, S. B. Resistance to AHAS inhibitor herbicides: Current understanding. **Pest Management Science**, v.70, p.1340-1350, 2013.

ZHENG, D.; KRUGER, G.R.; SINGH, S.; DAVIS, V.M.; TRANEL, P.J.; WELLER, S.C.; JOHNSON, W.G. Cross-resistance of horseweed (*Conyza canadensis*) populations with three different ALS mutations. **Pest Management Science**, v.67, n.2, p.1486-1492, 2011.

## CAPÍTULO 2

Controle químico de buva com resistência cruzada aos inibidores da ALS

## Controle químico de buva com resistência cruzada aos inibidores da ALS

**RESUMO** - A seleção de populações de buva resistentes ao herbicida chlorimuron é um fenômeno emergente na maioria das regiões produtoras do Brasil. Estudar herbicidas com diferentes mecanismos de ação para emprega-los nos sistemas de manejo é uma tática importante frente a problemática da resistência aos inibidores da ALS. O objetivo deste trabalho foi avaliar herbicidas alternativos para o controle de populações de *Conyza sumatrensis* com resistência cruzada aos herbicidas inibidores da ALS. Para isso, foram conduzidos três experimentos em casa-de-vegetação, sendo um com aplicações em pré-emergência e outros dois em pós-emergência. Foram avaliados a porcentagem de controle aos 28 dias após a aplicação (DAA). O uso de herbicidas residuais para o controle de buva constitui uma ferramenta de extrema importância para o seu manejo, uma vez que o sucesso dos herbicidas aplicados em pós-emergência está atrelado ao estágio das plantas e às condições ambientais no momento da aplicação. Os herbicidas alternativos aos inibidores da ALS eficazes no controle de buva podem ser recomendados em sistemas de rotação de mecanismos de ação visando ao manejo deste caso de resistência. A partir dos resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que há opções de controle tanto em pré quanto em pós-emergência para o manejo da população 62, a qual apresenta resistência cruzada aos inibidores da ALS nas duas modalidades de aplicação.

**Palavras-chave:** *Conyza sumatrensis*. Pré-emergência. Pós-emergência. Herbicidas alternativos. Acetolactato sintase.

*Chemical control of Sumatran fleabane with cross-resistance to ALS inhibitors*

**ABSTRACT:** The selection of fleabane populations resistant to the herbicide chlorimuron is an emerging phenomenon in most producing regions of Brazil. Studying herbicides with different mechanisms of action to use them in management systems is an important tactic in the face of the problem of resistance to ALS inhibitors. The objective of this work was to evaluate alternative herbicides for the control of populations of Sumatran fleabane with cross-resistance to ALS inhibitor herbicides. For this, three greenhouse experiments were conducted, one with pre-emergence applications and another two in post-emergence. The control percentage at 28 days after application (DAA) were evaluated. The use of residual herbicides for fleabane control is a very important tool for its management, since the success of the herbicides applied in post-emergence is linked to the stage of the plants and the environmental conditions at the time of application. Herbicides alternative to ALS inhibitors effective in buff control may be recommended in rotation mechanisms of action mechanisms focused on handling this case of resistance. From the results obtained in this study, we conclude that there are options for pre and post-emergence control for the management of the population 62, which presents cross-resistance to ALS inhibitors in the two application modalities.

**Keywords:** Sumatran fleabane. Pre-emergency. Post-emergency. Alternative herbicides. Acetolactate synthase.

## INTRODUÇÃO

Os casos de plantas daninhas resistentes a herbicidas têm causado grandes mudanças nas áreas agrícolas do país. Tais preocupações são ainda maiores quando a resistência se manifesta em relação a mais de um herbicida do mesmo mecanismo de ação (resistência cruzada) ou a herbicidas de mecanismos diferentes (resistência múltipla).

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas ocorre em função de um processo evolutivo, no qual plantas de uma determinada população apresentam a capacidade natural e herdável de sobreviver e se reproduzir após a exposição à dose de um herbicida, que seria letal a uma população suscetível da mesma espécie (Christoffoleti et al., 1994).

Com a comprovação da resistência ao herbicida glyphosate em biótipos de *Conyza* spp., na região Sul do Brasil, outros herbicidas passaram a ser utilizados para controlar a buva, entre eles o chlorimuron. Contudo, foram identificados biótipos de *Conyza sumatrensis* com resistência múltipla aos herbicidas chlorimuron e glyphosate (Santos et al., 2014).

Os inibidores da Acetolactato Sintase (ALS) são utilizados desde a década de 1980 no Brasil, sobretudo na cultura da soja, a qual representa hoje a principal exploração agrícola do país. Estes herbicidas possuem extrema relevância na agricultura por serem eficientes no controle de diversas espécies, por serem recomendados com baixas doses e por serem seletivos para várias culturas. Atualmente, o maior número de casos de resistência de plantas daninhas a um mecanismo de ação de herbicidas no país está relacionado aos inibidores da ALS (HEAP, 2019).

Quando ocorrem plantas daninhas resistentes aos herbicidas em uma área, com densidade suficiente para limitar a produção das culturas de interesse econômico, tem-se a necessidade de mudanças nas práticas de manejo utilizadas. Assim, o estudo de alternativas de controle é fundamental para o adequado manejo dos biótipos resistentes.

Apesar da resistência da buva ao chlorimuron, este herbicida ainda é considerado uma das melhores ferramentas no controle da espécie, sendo amplamente utilizado nas lavouras. Atualmente, grande parte dos herbicidas que são utilizados como alternativa ou complemento ao chlorimuron, também pertencem ao mecanismo dos inibidores da ALS, tais como diclosulam e cloransulam.

A partir do entendimento de que o desenvolvimento de biótipos resistentes é resultado da pressão de seleção causada pelo uso repetido e subsequente dos mesmos herbicidas ou de diferentes herbicidas, mas com o mesmo mecanismo de ação, fica clara a necessidade e a importância de rotacionar mecanismos de ação.

A seleção de biótipos de plantas resistentes aos herbicidas inibidores da ALS é um fenômeno emergente na maioria das regiões produtoras no Brasil. Estudar herbicidas com diferentes mecanismos de ação para empregá-los nos sistemas de manejo é uma tática importante frente a problemática da resistência. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar herbicidas alternativos para o controle de populações de *Conyza sumatrensis* com resistência cruzada aos herbicidas inibidores da ALS.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação no Centro de Treinamento em Irrigação (CTI), que pertence ao Campus sede da Universidade Estadual de Maringá (UEM), localizada em Maringá, PR. O período de condução dos experimentos foi de junho a agosto de 2018. Para todos os experimentos, foram utilizadas sementes de buva (*Conyza sumatrensis*) de populações consideradas resistentes ao chlorimuron, cloransulam e diclosulam, as quais foram selecionadas no capítulo 1.

### 1. Experimento em Pré-emergência

Inicialmente, 150 sementes de buva foram semeadas em vaso, à 0,5 cm de profundidade aproximadamente. Em seguida, foi aplicada uma lâmina de irrigação equivalente à 10 mm de precipitação.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos compuseram um esquema fatorial 18 x 2, sendo o primeiro fator correspondente a 17 tratamentos herbicidas, mais uma testemunha sem aplicação (Tabela 1). O segundo fator foi constituído pelas duas populações de *Conyza sumatrensis* (62 e S).

**Tabela 1.** Nome comum, produto comercial, mecanismo de ação e respectivas doses utilizadas no Experimento 1.

Nome comum	Produto comercial	Mecanismo de ação	Dose (g i.a. ha <sup>-1</sup> )	Dose (g ou mL p.c. ha <sup>-1</sup> )
Chlorimuron-ethyl	Classic	ALS	25	100
Imazethapyr	Vezir	ALS	106	1000
Metsulfuron-methyl	Ally	ALS	3	5
Tembotrione	Soberan	Carotenóides	100,8	240
Mesotrione	Callisto	Carotenóides	144	300
Clomazone	Gamit 500	Carotenóides	1000	2000
Amicarbazone	Dinamic	Fotossistema II	0,28	0,4
Metribuzin	Sencor 480	Fotossistema II	480	1000
Atrazine	Atrazina 500 SC	Fotossistema II	1500	3000
Sulfentrazone	Boral 500 SC	PROTOX	200	400
Flumioxazin	Flumyzin 500	PROTOX	50	100
Fomesafen	Flex	PROTOX	500	2000
[flumioxazin+imazethapyr] <sup>1/</sup>	Zethamaxx	PROTOX + ALS	[50+106]	500
Indaziflam	Alion	Parede celular	500	150
Trifluralin	Trifluralina Nortox	Crescimento inicial	1335	3000
S-metolachlor	Dual Gold	Crescimento inicial	1440	1500
Pyroxasulfone	Yamato	Crescimento inicial	100	200
Testemunha sem herbicida	-	-	-	-

<sup>1/</sup>Produtos entre colchetes representam mistura formulada de fábrica

## 2. Experimento em Pós-emergência

Foram conduzidos dois experimentos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. O primeiro foi realizado em esquema fatorial 15 x 3, sendo o primeiro fator correspondente a 14 tratamentos com herbicidas inibidores da ALS, mais uma testemunha sem aplicação (Tabela 2). O segundo fator foi constituído por três populações (62, 334 e S) de *Conyza sumatrensis* com plantas no estágio de 5 a 8 folhas. Nem todos os herbicidas utilizados apresentam registro para uso em *Conyza* spp., entretanto, a dose utilizada foi baseada nas recomendações para outras espécies de folhas largas (Rodrigues e Almeida, 2018).

**Tabela 2.** Nome comum, produto comercial, grupos químicos e respectivas doses dos herbicidas inibidores da ALS utilizados para o controle de *Conyza sumatrensis* em pós-emergência.

Nome comum	Produto comercial	Grupo químico	Vezes a dose	Dose (g i.a. ha <sup>-1</sup> )
Imazethapyr	Vezir	IMI's	1 x	106
Imazethapyr			2 x	212
Imazapic <sup>1/</sup>	Plateau		1 x	98
Imazapic <sup>1/</sup>			2 x	196
Chlorimuron-ethyl <sup>1/</sup>	Classic	SUL's	1 x	20
Chlorimuron-ethyl <sup>1/</sup>			2 x	40
Metsulfuron-methyl <sup>3/</sup>	Ally		1 x	2
Metsulfuron-methyl <sup>3/</sup>			2 x	4
Trifloxysulfuron-sodium <sup>2/</sup>	Envoke		1 x	7,5
Trifloxysulfuron-sodium <sup>2/</sup>			2 x	15
Cloransulam-methyl <sup>2/</sup>	Pacto	TRI's	1 x	33,6
Cloransulam-methyl <sup>2/</sup>			2 x	67,2
Pyrithiobac-sodium	Staple 240 SC	PIR's	1 x	36
Pyrithiobac-sodium			2 x	72
Testemunha sem aplicação	-	-	-	-

<sup>1/</sup>Adicionado Assist (0,5% v v<sup>-1</sup>); <sup>2/</sup>Adicionado Agral (0,2% v v<sup>-1</sup>); <sup>3/</sup>Adicionado Assist (0,1% v v<sup>-1</sup>). IMI's: imidazolinonas; SUL's: sulfonilureias; TRI's: triazolopirimidinas; PIR's: pirimidinil-benzoato

O segundo experimento de pós-emergência foi realizado em esquema fatorial 10 x 2, sendo o primeiro fator correspondente a nove tratamentos com herbicidas de outros mecanismos de ação, mais uma testemunha sem aplicação (Tabela 3). O segundo fator foi constituído por duas populações (62 e S) de *C. sumatrensis* com plantas no estágio de 15 cm de altura. Todos os herbicidas utilizados apresentam registro para pelo menos uma espécie de *Conyza*. (Rodrigues e Almeida, 2018).

**Tabela 3.** Nome comum, produto comercial e respectivas doses dos herbicidas alternativos aos inibidores da ALS utilizados para o controle de *Conyza sumatrensis* em pós-emergência.

Nome comum	Produto comercial	Dose (g i.a. ou e.a. ha <sup>-1</sup> )	Dose (g ou mL p.c. ha <sup>-1</sup> )
Saflufenacil <sup>2/</sup>	Heat	35	50
Amônio Glufosinato <sup>2/</sup>	Finale	500	2,5
Paraquat <sup>1/</sup>	Gramoxone 200	200	2,0
Diquat <sup>1/</sup>	Reglone	200	2,0
[Paraquat + Diuron] <sup>1/</sup>	Gramocil	[400+200]	2,0
Glyphosate + Saflufenacil	Roundup Original DI + Heat	1110 + 35	3,0 + 50
Glyphosate+Glufosinato <sup>2/</sup>	Roundup Original DI + Finale	1110 + 500	3,0 + 2,5
Glyphosate + Dicamba	Roundup Original DI+ Dicamba	1110 + 480	3,0 + 1,0
Glyphosate + 2,4-D Amina	Roundup Original DI + U46	1110+ 1005	3,0 + 1,5
Testemunha sem herbicida	-	-	-

<sup>1/</sup>Adicionado espalhante adesivo (0,5% v v<sup>-1</sup>); <sup>2/</sup>Adicionado óleo vegetal (0,2% v v<sup>-1</sup>)

As unidades experimentais dos três experimentos (um em pré e dois em pós-emergência) foram mantidas em casa de vegetação, com irrigação diária de 5 mm dia<sup>-1</sup>. O solo utilizado nos experimentos era constituído por teor de argila de 21%, teor de areia de 68%, 2,1% de M.O., CTC de 9,8 mg dm<sup>-3</sup>, pH em água de 6,4 e foi preparado livre de torrões. Os vasos apresentavam 1 dm<sup>3</sup> de capacidade.

Para todas as aplicações, foi utilizado um pulverizador costal de pressão constante à base de CO<sub>2</sub>, equipado com uma barra de um metro munida com três pontas do tipo leque, modelo XR 110.02. O volume de calda utilizado foi de 200 L ha<sup>-1</sup>. As aplicações foram feitas no período da manhã, com temperaturas abaixo de 30°C e umidade relativa do ar acima de 70%, livre de rajadas de vento.

Para os três experimentos, foram avaliadas as porcentagens de controle na escala de 0-100% (zero significa a ausência de sintomas e 100% significa a morte da planta) aos 28 dias após a aplicação (DAA) (SBCPD,1995). Aos 28 DAA, as partes aéreas das plantas presentes nos vasos foram cortadas e acondicionadas em sacos de papel para secagem em estufa (60°C), para posterior obtenção da matéria seca.

Os dados de todas as variáveis analisadas foram submetidos à análise do teste F e à comparação entre médias pelo teste de Scott-Knott ou Tukey (apenas para o experimento de herbicidas alternativos) à 5% de probabilidade. O pacote estatístico utilizado foi o SISVAR.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1. Experimento em Pré-emergência

No experimento em pré-emergência, houve interação significativa dos tratamentos herbicidas com as populações avaliadas 28 DAA (Tabela 4).

**Tabela 4.** Porcentagem de controle aos 28 DAA de duas populações de *Conyza sumatrensis* após a aplicação de inibidores da ALS e herbicidas alternativos aplicados em pré-emergência.

Tratamentos	Mecanismo de ação	Dose (g i.a. ha <sup>-1</sup> )	% Controle	
			S	62
Chlorimuron-ethyl	ALS	25	94,75 aA	15,00 dB
Imazethapyr	ALS	106	100,00 aA	38,75 cB
Metsulfuron-methyl	ALS	3	99,00 aA	70,00 bB
Tembotrione	Carotenóides	100,8	100,00 aA	100,00 aA
Mesotrione	Carotenóides	144	100,00 aA	100,00 aA
Clomazone	Carotenóides	1000	100,00 aA	100,00 aA
Amicarbazone	Fotossistema II	0,28	100,00 aA	100,00 aA
Metribuzin	Fotossistema II	480	100,00 aA	100,00 aA
Atrazine	Fotossistema II	1500	100,00 aA	100,00 aA
Sulfentrazone	PROTOX	200	100,00 aA	100,00 aA
Flumioxazin	PROTOX	50	100,00 aA	100,00 aA
Fomesafen	PROTOX	500	100,00 aA	100,00 aA
[flumioxazin+imazethapyr]	PROTOX + ALS	[50+100]	100,00 aA	100,00 aA
Indaziflam	Parede celular	500	100,00 aA	100,00 aA
Trifluralin	Crescimento inicial	1335	100,00 aA	100,00 aA
S-metolachlor	Crescimento inicial	1440	100,00 aA	100,00 aA
Pyroxasulfone	Crescimento inicial	100	100,00 aA	100,00 aA
Testemunha sem herbicida	-	-	0,00 bA	0,00 bA
F coluna			43,76	82,09
CV (%)			7,96	

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste F e médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Todos os herbicidas proporcionaram excelente controle ( $\geq 94,75\%$ ) da população S aos 28 DAA. Para a população 62 o mesmo comportamento foi observado, exceto para os herbicidas chlorimuron, imazethapyr e metsulfuron, os quais não apresentaram controle residual satisfatório ( $\geq 80\%$ ) nesta avaliação.

Um herbicida com bom controle residual é caracterizado pelo baixo número ou ausência de plantas emergidas e também pelo menor desenvolvimento das plantas sobreviventes. Mesmo o controle proporcionado pelo metsulfuron ter sido considerado mediano (70%), foram observadas plantas emergidas e com poucos sintomas neste tratamento.

Com relação ao herbicida imazethapyr isolado, observa-se que o controle proporcionado (38,75%) foi baixo. Entretanto, o resultado obtido a partir da mistura formulada de imazethapyr com flumioxazin foi eficiente e proporcionou 100% de controle. Isto reforça a necessidade de alternar e, ou misturar mecanismos de ação diferentes para manejar espécies resistentes.

Considerando-se o controle muito baixo apresentado pela população 62 e também os resultados apresentados no capítulo 1, considera-se que esta população apresenta resistência cruzada não só aos herbicidas do grupo SUL's (chlorimuron) e TRI's (diclosulam), mas potencialmente também a IMI's (imazethapyr).

A utilização de herbicidas pré-emergentes nas culturas da soja e milho é um fator importante para o rendimento das mesmas. Ao se elaborar programas de manejo de buva para estas culturas é importante o posicionamento de herbicidas que garantam um controle residual num período de tempo suficiente para manter a cultura sem prejuízos na produtividade até a aplicação de herbicida em pós-emergência.

Considerando a eficácia dos tratamentos avaliados e a necessidade de reduzir a pressão de seleção imposta pelos inibidores da ALS, os herbicidas inibidores da síntese de carotenóides (como tembotrione, mesotrione e clomazone), inibidores do FSII (como amicarbazone, metribuzin e atrazine), inibidores da PROTOX (flumioxazin e fomesafen), inibidores do crescimento inicial (trifluralin, s-metolachlor e pyroxasulfone) e inibidor da biossíntese de celulose (indaziflam) avaliados no presente trabalho se constituem em alternativas eficientes para controle da população 62 que apresenta resistência cruzada aos inibidores da ALS. É importante, no entanto, avaliar a questão de seletividade para a cultura no qual os herbicidas possam vir a ser utilizados.

## *2. Experimento em Pós-emergência*

No experimento que foi avaliada a resposta de diferentes inibidores da ALS aplicados em pós-emergência, os fatores tratamentos herbicidas e população apresentaram interação significativa. Os desdobramentos resultaram em diferenças nas variáveis resposta analisadas, tanto entre tratamentos dentro de populações, quanto entre populações dentro de tratamentos.

A população S foi sensível a todos os herbicidas dos grupos químicos SUL's e TRI's, apresentando níveis de controle acima de 90%, independente da dose utilizada. Com relação aos grupos químicos IMI's e PIR's, o menor controle foi observado para pyriithiobac, seguido de imazethapyr, ambos na menor dose testada (Tabela 5).

**Tabela 5.** Porcentagem de controle de três populações de *Conyza sumatrensis* após a aplicação de diferentes inibidores da ALS aplicados em pós-emergência.

Tratamentos	Dose (g i.a. ha <sup>-1</sup> )	% Controle		
		S	334	62
Imazethapyr	106	68,75 cA	52,50 dB	0,00 cC
Imazethapyr	212	80,00 bA	75,00 bA	0,00 cB
Imazapic	98	83,75 bA	75,00 bA	0,00 cB
Imazapic	196	76,25 bA	82,50 aA	0,00 cB
Chlorimuron	20	95,50 aA	66,25 cB	15,00 bC
Chlorimuron	40	99,75 aA	86,00 aB	62,50 aC
Metsulfuron	2	98,25 aA	46,25 dB	0,00 cC
Metsulfuron	4	100,00 aA	75,00 bB	0,00 cC
Trifloxysulfuron	7,5	90,00 aA	65,00 cB	0,00 cC
Trifloxysulfuron	15	97,00 aA	73,75 bB	0,00 cC
Cloransulam	33,6	99,50 aA	61,25 cB	20,00 bC
Cloransulam	67,2	99,75 aA	67,50 cB	62,50 aB
Pyriithiobac	36	51,25 dA	0,00 eB	0,00 cB
Pyriithiobac	72	78,75 bA	5,00 eB	0,00 cB
Testemunha sem herbicida	-	0,00 eA	0,00 eA	0,00 cA
F coluna		58,00	72,31	39,50
CV (%)			14,21	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

O aumento da dose dos herbicidas (de 1x para 2x) resultou em aumento nos níveis de controle na população 334 para vários dos herbicidas avaliados. Na população 62, esta tendência só foi verificada para os herbicidas chlorimuron e cloransulam.

Para a população 334, níveis de controle aceitáveis ( $\geq 80\%$ ) foram verificados apenas com a aplicação dos herbicidas imazapic e chlorimuron, testados com o dobro da dose recomendada. O herbicida pyriithiobac não ocasionou nenhuma injúria a esta população e se igualou à testemunha sem herbicida.

Com relação à população 62 pode-se afirmar que a mesma apresenta um maior grau de resistência aos inibidores da ALS do que a população 334, visto que o controle máximo obtido foi de apenas 62,5% para as maiores doses de chlorimuron e cloransulam. Para os demais tratamentos não foram observadas injúrias, o que resultou em nota zero de controle.

O padrão observado para as populações 62 e 334 pode indicar mecanismos de *target-site resistance*. A resistência atrelada a estes mecanismos ocorre a partir de mutações que alteram a conformação estrutural do sítio de ligação do herbicida, incapacitando-o de se ligar e promover intoxicação (Powles e Yu, 2010). Neste sentido, mesmo doses elevadas podem ser insuficientes para promover a ação do herbicida.

Além disso, algumas mutações já descritas conferem padrões de resistência cruzada que se assemelham aos encontrados neste trabalho. Matzrafi et al. (2015) relataram a ocorrência de RC em populações de *Conyza canadensis* ao grupo das IMI's, SUL's e PIR's a partir da substituição de Trp<sub>574</sub> para Leu. Para a mesma espécie de *Conyza*, a substituição Pro-197 para Ser confere resistência a todos os grupos químicos inibidores da ALS, com exceção das IMI's (Zheng et al., 2011).

Em outras plantas daninhas, diferentes padrões de RC já foram verificados. Quando ocorre substituição na Pro-197 por Leu ou Ser é provável que a resistência se manifeste em relação a todos os grupos (IMI's, SUL's, TRI's), como descrito em *Amaranthus palmeri* (Nakka et al., 2017).

Outra questão a ser discutida neste trabalho diz respeito à massa seca em relação à testemunha nas populações 334 e 62 (Tabela 6).

**Tabela 6.** Massa seca relativa (% em relação à testemunha sem herbicida) em três populações de *Conyza sumatrensis* após a aplicação de inibidores da ALS em pós-emergência.

Tratamentos	Dose (g i.a. ha <sup>-1</sup> )	% de MS em relação à testemunha		
		S	334	62
Imazethapyr	106	37,98 bB	66,64 bA	54,45 bA
Imazethapyr	212	29,88 bB	41,71 dB	58,44 bA
Imazapic	98	27,49 bB	46,96 cA	53,47 bA
Imazapic	196	31,59 bB	37,67 dB	65,83 bA
Chlorimuron	20	0,86 cC	35,79 dB	72,37 bA
Chlorimuron	40	0,00 cB	18,69 dB	48,05 bA
Metsulfuron	2	0,00 cB	70,36 bA	69,64 bA
Metsulfuron	4	0,00 cC	57,46 cB	81,11 aA
Trifloxysulfuron	7,5	10,26 cB	54,62 cA	60,33 bA
Trifloxysulfuron	15	3,10 cB	52,05 cA	64,55 bA
Cloransulam	33,6	0,00 cC	38,21 dB	68,46 bA
Cloransulam	67,2	0,00 cB	37,46 dA	55,81 bA
Pyriithiobac	36	46,35 bB	87,20 aA	62,82 bB
Pyriithiobac	72	22,90 bB	77,03 bA	62,78 bA
Testemunha sem herbicida	-	100,00 aA	100,00 aA	100,00 aA
F coluna		14,92	9,63	3,23
CV (%)		30,16		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Os resultados dos valores percentuais de massa seca (MS) da população 334 equivalem ao que foi observado na avaliação de percentual de controle. Apesar da redução na massa não ser tão acentuada como observado em grande parte dos tratamentos da população S, observa-se que os herbicidas afetaram o crescimento das plantas, principalmente quando aplicados no

dobro da dose recomenda. Entretanto, o mesmo comportamento não foi observado na população 62, visto que houve redução da MS para todos os herbicidas em relação à testemunha, porém na avaliação de percentual de controle não foram observadas diferenças nítidas nos tratamentos em relação à testemunha. Apesar da redução da MS, a população 62 foi mais resistente a ação dos herbicidas avaliados. Esta tendência possivelmente pode estar relacionada ao custo da resistência (*fitness cost*) para as plantas de buva.

Ao mesmo tempo em que a resistência propicia que as plantas daninhas suportem a aplicação dos herbicidas, existe um custo adaptativo em função de inúmeros processos moleculares relacionados. Estes efeitos pleiotrópicos podem ser negativos ou positivos em dado ambiente, dependendo do alelo envolvido (Vila-Aiub et al., 2009; Délye et al., 2013).

O impacto da mutação que causa resistência aos inibidores da enzima ALS em termos de *fitness cost* depende do ponto da mutação e da espécie envolvida. Tardif et al. (2006) ao analisarem várias populações resistentes de *Amaranthus powellii* aos inibidores da ALS, concluíram que a mutação presente foi associada a raízes e caules mais finos, ocasionando redução na biomassa vegetal. Para biótipos de *Solanum ptychanthum* resistentes aos inibidores da enzima ALS também foi observado custo adaptativo devido à mutação presente (Ashigh e Tardif, 2011). Outro exemplo são os biótipos resistentes a triazinas em função da mutação Ser-264-Gly, que apresentaram taxas de crescimento reduzidas e foram menos adaptados ecologicamente do que os biótipos suscetíveis (Vila-Aiub et al., 2009).

Com relação ao experimento de herbicidas alternativos aos inibidores da ALS aplicados em pós-emergência, os fatores herbicidas e população não apresentaram interação significativa. Somente o fator isolado tratamentos herbicidas foi significativo (Tabela 7).

**Tabela 7.** Porcentagem de controle de *Conyza sumatrensis* após a aplicação de herbicidas alternativos aos inibidores da ALS em pós-emergência.

Tratamentos	Dose (g i.a. ou e.a. ha <sup>-1</sup> )	% Controle		
		S	62	$\bar{X}$
Saflufenacil	35	100,00	100,00	100,00 a
Amônio Glufosinato	500	100,00	100,00	100,00 a
Paraquat	200	100,00	100,00	100,00 a
Diquat	200	100,00	100,00	100,00 a
[Paraquat + Diuron]	[400+200]	100,00	100,00	100,00 a
Glyphosate + Saflufenacil	1110 + 35	100,00	100,00	100,00 a
Glyphosate + Amônio Glufosinato	1110 + 500	100,00	100,00	100,00 a
Glyphosate + Dicamba	1110 + 480	99,75	98,50	99,12 a
Glyphosate + 2,4-D Amina	1110 + 1005	99,50	99,00	99,25 a
Testemunha sem herbicida	-	0,00	0,00	0,00 b
$\bar{X}$		89,92	89,75	
DMS				1,05
CV (%)				0,71

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Os resultados encontrados no presente trabalho mostram que os herbicidas saflufenacil e amônio glufosinato sozinhos e em associação com o glyphosate foram eficientes no controle das populações de buva avaliadas.

Ao avaliar os níveis visuais de injúria, observou-se controle eficiente (>99%) de *C. sumatrensis* para os herbicidas testados. Os resultados deste experimento corroboram com diversos trabalhos na literatura. Santos et al. (2015) observaram que a aplicação de amônio glufosinato, glyphosate + amônio glufosinato, glyphosate + 2,4-D e paraquat + diuron aos 28 DAA exerceu 100% de controle em biótipos de *C. sumatrensis* resistentes a ALS. Trabalhos realizados com a aplicação de glyphosate + 2,4-D (Oliveira Neto et al., 2010) e de [paraquat + diuron] (Vargas et al., 2007) também evidenciaram 100% de controle em plantas de buvas.

O uso de misturas formuladas ou aplicações sequenciais de herbicidas para prevenção e manejo de plantas resistentes está fundamentado no fato de que os mecanismos de ação diferentes reduzem a pressão de seleção sobre estas plantas. Assim, o estudo de alternativas de controle é fundamental para o adequado manejo de plantas daninhas resistentes (López-Ovejero et al., 2006).

Neste trabalho, foram apresentadas diversas opções de herbicidas eficazes para aplicação em pré ou em pós-emergência de buva com resistência cruzada aos inibidores da ALS. A utilização de herbicidas residuais é determinante para o manejo desta espécie, uma vez que o sucesso dos herbicidas aplicados em pós-emergência está atrelado ao estágio das plantas e às condições ambientais no momento da aplicação.

Portanto, herbicidas alternativos aos inibidores da ALS eficazes no controle de buva podem ser recomendados em sistemas de rotação de mecanismos de ação visando ao manejo deste caso de resistência. Além da rotação de mecanismos de ação de herbicidas, outros métodos de controle como o uso de culturas de cobertura e rápido fechamento de entrelinhas devem ser considerados para diminuir a infestação destas plantas na lavoura.

## CONCLUSÕES

Os herbicidas inibidores da síntese de carotenóides (tembotrione, mesotrione e clomazone), do FSII (amicarbazone, metribuzin e atrazine), da PROTOX (flumioxazin e fomesafen), inibidores do crescimento inicial (trifluralin, s-metolachlor e pyroxasulfone) e da biossíntese de celulose (indaziflam) avaliados em pré-emergência neste trabalho mostraram-se eficientes para o controle da população 62. Em pós-emergência, saflufenacil e amônio glufosinato isolados ou associados a glyphosate, glyphosate + 2,4-D e glyphosate + dicamba constituem-se em ferramentas efetivas para o seu manejo. Os herbicidas de contato paraquat, diquat e [paraquat+diuron] também foram eficientes no controle da população 62.

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que há opções eficientes de controle químico tanto em pré quanto em pós-emergência para o manejo da população 62, a qual apresenta resistência cruzada aos inibidores da ALS nas duas modalidades de aplicação.

## REFERÊNCIAS

- ASHIGH, J.; TARDIF, F.J. Water and temperature stress impact fitness of acetohydroxyacid synthase-inhibiting herbicide-resistant populations of eastern black nightshade (*Solanum ptychanthum*). **Weed Science**, v.59, p.341-348, 2011.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v.12, n.1, p.13-20, 1994.
- DÉLYE, C.; MENCHARI, Y.; MICHEL, M.; CADET, E.; LE CORRE, V. A new insight into arable weed adaptive evolution: mutations endowing herbicide resistance also affect germination dynamics and seedling emergence. **Annals of Botany**, v.111, p.681-691, 2013.
- HEAP, I. The international Survey of Herbicide Resistant Weeds. ALS mutation data base. Disponível em: <<http://weedscience.org/Mutations/MutationDisplayAll.aspx>> Acesso em 30 jan. 2019.
- LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; PENCKOWSKI, L.H.; PODOLAN, M.J.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Alternativas de manejo químico da planta daninha *Digitaria ciliaris* resistente aos herbicidas inibidores da ACCase na cultura da soja. **Planta Daninha**, v.24, p.399-406, 2006.
- MATZRAFI, M.; LAZAR, T.W.; SIBONY, M.; RUBIN, B. *Conyza* species: distribution and evolution of multiple target-site herbicide resistances. **Planta**, v.242, p.259-267, 2015.
- NAKKA, S.; THOMPSON, C.R.; PETERSON, D.E.; JUGULAM, M. Target site-based and non-target site based resistance to ALS inhibitors in palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*). **Weed Science**, v.65, n.6, p.681-689, 2017.
- OLIVEIRA NETO, A.M.; CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR, R.S.; GUERRA, N.; DAN, H.A.; ALONSO, D.G.; BLAINSKI, E.; SANTOS, G. Estratégias de manejo de inverno e verão visando ao controle de *Conyza bonariensis* e *Bidens pilosa*. **Planta Daninha**, v.28, p.1107-1116, 2010.
- POWLES, S.B.; YU, Q. Evolution in Action: plants resistant to herbicides. **Annual Reviews Plant Biology**, v.61, p.317-347, 2010.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 7 ed. Londrina: Edição dos autores, 2018. 764 p.

SANTOS, G.; OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; FRANCISCHINI, A. C.; OSIPE, J. B. Multiple resistance of *Conyza sumatrensis* to chlorimuron-ethyl and to glyphosate. **Planta Daninha**, v.32, n.2, p.409-416, 2014.

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.

SBCPD - Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: 1995. 42 p.

VARGAS, L.; BIANCHI, M.A.; RIZZARDI, M.A.; AGOSTINETTO, D.; DAL MAGRO, T. Buva (*C. bonariensis*) resistente ao glyphosate na região Sul do Brasil. **Planta Daninha**, v.25, p.573-578, 2007.

VILA-AIUB, M.M.; NEVE, P.; POWLES, S.B. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. **New Phytologist**, v.184, p.751-767, 2009.

TARDIF, F.J.; RAJCAN, I.; COSTEA, M. A mutation in the herbicide target site acetohydroxyacid synthase produces morphological and structural alterations and reduces fitness in *Amaranthus powellii*. **New Phytologist**, v.169, p.251-264, 2006

ZHENG, D.; KRUGER, G.R.; SINGH, S.; DAVIS, V.M.; TRANEL, P.J.; WELLER, S.C.; JOHNSON, W.G. Cross-resistance of horseweed (*Conyza canadensis*) populations with three different ALS mutations. **Pest Management Science**, v.67, n.2, p.1486-1492, 2011

**APÊNDICE A. RESUMO DE ANÁLISES DE VARIÂNCIA PARA OS  
EXPERIMENTOS DO CAPÍTULO 1**

**Tabela 1A.** Resumo da análise de variância e desdobramento para o experimento de dose-resposta com o herbicida chlorimuron aplicado em pós-emergência.

FV	% Controle		% de MS em relação à testemunha	
	GL	QM	GL	QM
População	2	14909,19 *	2	26371,15 *
Dose	7	10835,06 *	7	8876,34 *
População*dose	14	884,32 *	14	1331,77 *
Dose/pop S	7	4581,41 *	7	4829,48 *
Regressão	1	31638,20 *	1	8450,50 *
Desvios da regressão	6	71,94 *	6	4225,97 *
Dose/pop 334	7	4584,81 *	7	4167,55 *
Regressão	1	29221,09 *	1	6735,48 *
Desvios da regressão	6	478,77 *	6	3739,56 *
Dose/pop 62	7	3437,50 *	7	2542,87 *
Regressão	1	22489,48 *	1	3943,73 *
Desvios da regressão	6	262,16 *	6	2309,39 *
Resíduo	72	26,76	72	195,52
Total	95		95	

FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio. \*significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo

**Tabela 2A.** Resumo da análise de variância e desdobramento para o experimento de dose-resposta com o herbicida cloransulam.

FV	% Controle		% de MS em relação à testemunha	
	GL	QM	GL	QM
População	2	23572,26 *	2	27702,01 *
Dose	7	8905,62 *	7	6559,69 *
População*dose	14	1364,87 *	14	1108,60 *
Dose/pop S	7	4874,92 *	7	4904,04 *
Regressão	1	29498,06 *	1	8502,51 *
Desvios da regressão	6	771,07 *	6	4304,29 *
Dose/pop 334	7	3064,17 *	7	2133,05 *
Regressão	1	14624,11 *	1	2950,00 *
Desvios da regressão	6	1137,51 *	6	1996,89 *
Dose/pop 62	7	3696,28 *	7	1739,81 *
Regressão	1	24383,44 *	1	2796,19 *
Desvios da regressão	6	248,42 *	6	1563,75 *
Resíduo	72	109,23	72	308,20
Total	95		95	

FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio. \*significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo

**Tabela 3A.** Resumo da análise de variância e desdobramento para o experimento de dose-resposta com o herbicida glyphosate.

FV	% Controle			% de MS em relação à testemunha		
	GL	QM		GL	QM	
População	2	3263,01	*	2	3558,02	*
Dose	7	16416,40	*	7	11524,68	*
População*dose	14	341,04	*	14	343,89	*
Dose/pop S	7	6448,10	*	7	5453,75	*
Regressão	1	44993,58	*	1	37690,82	*
Desvios da regressão	6	23,85	ns	6	80,90	ns
Dose/pop 334	7	5563,33	*	7	4318,32	*
Regressão	1	38858,27	*	1	29999,86	*
Desvios da regressão	6	14,18	ns	6	38,06	ns
Dose/pop 62	7	5087,05	*	7	2440,41	*
Regressão	1	34605,66	*	1	16525,70	*
Desvios da regressão	6	167,28	*	6	92,86	ns
Resíduo	72	71,51		72	89,43	
Total	95			95		

FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio. \*significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo

**Tabela 4A.** Resumo da análise de variância e desdobramentos para o experimento de chlorimuron aplicado em pré-emergência.

FV	14 DAA			28 DAA		
	GL	QM		GL	QM	
População	1	98047,26	*	1	64389,06	*
Herbicida	7	3108,87	*	7	4233,70	*
População*herbicida	7	2055,30	*	7	1483,70	*
Desdobramento herbicidas/populações						
Herbicidas/população S	7	5000,00	*	7	5000,00	*
Herbicidas/população 62	7	164,17	*	7	717,41	*
Desdobramento populações/herbicidas						
População/dose 0 g ha <sup>-1</sup>	1	0,00	ns	1	0,00	ns
População/dose 2,5 g ha <sup>-1</sup>	1	18050,00	*	1	12800,00	*
População/dose 5 g ha <sup>-1</sup>	1	12800,00	*	1	6328,12	*
População/dose 10 g ha <sup>-1</sup>	1	19012,50	*	1	8128,12	*
População/dose 20 g ha <sup>-1</sup>	1	15753,12	*	1	12403,12	*
População/dose 40 g ha <sup>-1</sup>	1	15753,12	*	1	10512,50	*
População/dose 80 g ha <sup>-1</sup>	1	15753,12	*	1	14450,00	*
População/dose 160 g ha <sup>-1</sup>	1	15312,50	*	1	10153,12	*
Resíduo	48	58,46		48	233,33	
Total	63			63		

FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio. \*significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo

**Tabela 5A.** Resumo da análise de variância e desdobramentos para o experimento de diclosulam aplicado em pré-emergência.

FV	14 DAA			28 DAA		
	GL	QM		GL	QM	
População	1	76659,76	*	1	45956,64	*
Herbicida	7	4140,12	*	7	5675,39	*
População*herbicida	7	2050,83	*	7	1800,39	*
Desdobramento herbicidas/populações						
Herbicidas/população S	7	5000,00	*	7	5000,00	*
Herbicidas/população 62	7	1190,95	*	7	2475,78	*
Desdobramento populações/herbicidas						
População/dose 0 g ha <sup>-1</sup>	1	0,00	ns	1	0,00	ns
População/dose 3,15 g ha <sup>-1</sup>	1	19503,12	*	1	17112,50	*
População/dose 6,3 g ha <sup>-1</sup>	1	20000,00	*	1	12800,00	*
População/dose 12,6 g ha <sup>-1</sup>	1	12403,12	*	1	13203,12	*
População/dose 25,2 g ha <sup>-1</sup>	1	12800,00	*	1	4753,12	*
População/dose 50,4 g ha <sup>-1</sup>	1	12403,12	*	1	3828,12	*
População/dose 100,8 g ha <sup>-1</sup>	1	8128,12	*	1	4050,00	*
População/dose 201,6 g ha <sup>-1</sup>	1	5778,12	*	1	2812,50	*
Resíduo	48	10,28		48	36,58	*
Total	63			63		

FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio. \*significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo

**APÊNDICE B. RESUMO DE ANÁLISES DE VARIÂNCIA PARA OS  
EXPERIMENTOS DO CAPÍTULO 2.**

**Tabela 1B.** Resumo da análise de variância e desdobramentos para o experimento de controle em pré-emergência.

FV	% Controle			
	GL	SQ	QM	
Populações	1	3211,11	3211,11	*
Herbicidas	17	89459,00	5262,29	*
Populações*herbicidas	17	18694,13	1099,65	*
Desdobramento herbicidas/populações				
Herbicidas/população S	17	37605,56	2212,09	*
Herbicidas/população 62	17	70547,56	4149,85	*
Desdobramento populações/herbicidas				
População/Chlorimuron	1	12720,12	12720,12	*
População/Imazethapyr	1	7503,12	7503,12	*
População/Metsulfuron	1	1682,00	1682,00	*
População/Amicarbazone	1	0,00	0,00	ns
População/Tembotrione	1	0,00	0,00	ns
População/Mesotrione	1	0,00	0,00	ns
População/Metribuzin	1	0,00	0,00	ns
População/Sulfentrazone	1	0,00	0,00	ns
População/ [flumioxazin+imazethapyr]	1	0,00	0,00	ns
População/Flumioxazin	1	0,00	0,00	ns
População/Fomesafen	1	0,00	0,00	ns
População/Clomazone	1	0,00	0,00	ns
População/Atrazine	1	0,00	0,00	ns
População/Indaziflam	1	0,00	0,00	ns
População/Trifluralin	1	0,00	0,00	ns
População/S-metolachlor	1	0,00	0,00	ns
População/Pyroxasulfone	1	0,00	0,00	ns
População/Testemunha	1	0,00	0,00	ns
Resíduo	108	5459,50	50,55	
Total	143	116823,75		

FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio. \*significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo

**Tabela 2B.** Resumo da análise de variância e desdobramentos para o experimento de herbicidas inibidores da ALS aplicados em pós-emergência.

FV	% Controle			% de MS em rel. à testemunha		
	GL	QM		GL	QM	
Populações	2	76480,86	*	2	32527,36	*
Herbicidas	14	5363,90	*	14	3825,72	*
Populações*herbicidas	28	1451,56	*	28	868,20	*
Desdobramento herbicidas/populações						
Herbicidas/população S	14	2823,62	*	14	2986,78	*
Herbicidas/população 62	14	1923,09	*	14	646,63	*
Herbicidas/população 334	14	3520,31	*	14	1928,72	*
Desdobramento populações/herbicidas						
População/Imazethapyr 1x	2	5164,58	*	2	827,91	*
População/Imazethapyr 2x	2	8033,33	*	2	823,92	*
População/Imazapic 1x	2	8477,08	*	2	730,77	*
População/Imazapic 2x	2	8439,58	*	2	1335,22	*
População/Chlorimuron 1x	2	6641,58	*	2	5115,30	*
População/Chlorimuron 2x	2	1419,25	*	2	2346,64	*
População/Metsulfuron 1x	2	9664,08	*	2	6534,79	*
População/Metsulfuron 2x	2	10833,33	*	2	6960,09	*
População/Trifloxysulfuron 1x	2	8633,33	*	2	3004,94	*
População/Trifloxysulfuron 2x	2	10259,08	*	2	4218,72	*
População/Cloransulam 1x	2	6323,25	*	2	4708,95	*
População/Cloransulam 2x	2	1635,08	*	2	3236,67	*
População/Pyrithiobac 1x	2	3502,08	*	2	1689,60	*
População/Pyrithiobac 2x	2	7777,08	*	2	3148,62	*
Testemunha	2	0,00	ns	2	0,00	ns
Resíduo	135	48,68		2	200,14	
Total	179			179		

FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio. \*significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo

**Tabela 3B.** Resumo da análise de variância para o experimento de herbicidas alternativos aos inibidores da ALS aplicados em pós-emergência.

FV	% Controle				
	GL	SQ	QM	F	
Populações	1	0,61	0,61	1,48	ns
Herbicidas	9	71748,51	7972,05	19326,19	*
Populações*herbicidas	9	3,01	0,33	0,81	ns
Desdobramento herbicidas/populações					
Herbicidas/população S	9	35941,02	3993,44	9681,08	*
Herbicidas/população 62	9	35810,50	3978,94	9645,92	*
Desdobramento populações/herbicidas					
População/saflufenacil	1	0,00	0,00	0,00	ns
População/amônio glufosinato	1	0,00	0,00	0,00	ns
População/paraquat	1	0,00	0,00	0,00	ns
População/diquat	1	0,00	0,00	0,00	ns
População/[paraquat+diuron]	1	0,00	0,00	0,00	ns
População/gly+saflufenacil	1	0,00	0,00	0,00	ns
População/ gly+amônio glufosinato	1	0,00	0,00	0,00	ns
População/ gly+dicamba	1	3,12	3,12	7,57	ns
População/ gly+2,4-D	1	0,50	0,50	1,21	ns
População/Testemunha	1				
Resíduo	60	24,75	0,41		
Total	79	71776,88			

FV: Fonte de variação; GL: graus de liberdade, SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio. \*significativo a 5% de probabilidade, ns: não significativo