

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Tese

Competitividade e caracterização genética de *Conyza bonariensis* ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul

Diecson Ruy Orsolin da Silva

Pelotas, 2012.

Diecson Ruy Orsolin da Silva

Competitividade e caracterização genética de *Conyza bonariensis* ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de conhecimento: Herbologia)

Orientador: Dr. Dirceu Agostinetto

Pelotas, 2012

Banca examinadora

Dr. Luciano do Amarante

**Dr. Leandro Vargas
(Co-orientador)**

Dr. Marcus Barifouse Matallo

Dr. Mário Antônio Bianchi

**Dr. Dirceu Agostinetto
(Orientador)**

Ofereço e dedico este trabalho

Aos meus pais Ruil e Sônia;

Aos meus irmãos Dieymi e Gelison.

“Sabemos que Deus age em todas as coisas para o bem daqueles que o amam.”

Romanos 8, 28a.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me sustentar a cada dia da minha vida.

Ao professor Dr. Dirceu Agostinetti pela orientação, ensinamentos, incentivo, amizade e confiança.

Ao Professor Dr. Leandro Vargas pela co-orientação, amizade, apoio e confiança.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade pela oportunidade de realização do curso e a todos os professores que contribuíram na minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado.

Aos meus colegas de pós-graduação André Ulguim, Angela Bundt, Camila Tarouco, Carlos Schaedler, Claudia Oliveira, Franciele Mariani, Lisiane Fontana, Marcos Nohatto, Nixon Westendorff, Rafael Negretti, Rafael Rubin, Roberta Mânica e Taísa Dal Magro pelo convívio, amizade, companheirismo e auxílio na execução dos trabalhos.

Aos bolsistas e estagiários do Centro de Herbologia (CEHERB).

Aos funcionários da Embrapa Trigo, Felipe Pilger e Airton Munz pela amizade, convívio e auxílio na condução dos trabalhos.

Ao Dr. Marcus Matallo, Sidnei Almeida e Diego do Laboratório de Plantas Daninhas do Instituto Biológico de Campinas pelo auxílio na condução dos trabalhos laboratoriais.

Ao Professor Fernando Santos, pela amizade, convívio e auxílio na condução dos trabalhos.

E a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Resumo

Silva, Diecson Ruy Orsolin da. **Competitividade e caracterização genética de *Conyza bonariensis* ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul**. 2012. 141f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas.

Conyza bonariensis (buva) é a principal planta daninha resistente ao herbicida glifosato que infesta lavouras de soja no Rio Grande do Sul. As plantas daninhas resistentes a herbicidas podem ter sua habilidade competitiva modificada, em função da capacidade em resistir à ação do herbicida. O conhecimento da habilidade competitiva das plantas daninhas nos permite adotar as melhores estratégias de manejá-las nos cultivos agrícolas, sem que ocorram prejuízos econômicos para os agricultores. O estudo teve por objetivo avaliar a competitividade de biótipos de buva com a cultura da soja; determinar a interferência dos períodos de controle e de convivência; avaliar a perda da produtividade e o nível de dano econômico (NDE) de biótipos de buva resistentes ao herbicida glifosato sobre a cultura da soja; respostas fotossintéticas entre biótipos resistentes e suscetíveis ao herbicida glifosato; determinar alterações nas fotossíntese e acúmulo de ácido chiquímico em biótipos de buva sob efeito do glifosato; e caracterizar a diversidade de biótipos de buva ocorrentes no RS. Os resultados dos experimentos evidenciam que a cultivar de soja CD 226 RR possui menor habilidade competitiva que os biótipos de buva, e o biótipo suscetível apresenta maior dano à cultura da soja; a soja apresenta maior estresse oxidativo quando em competição com biótipo resistente; a cultivar de soja BRS Estância RR possui maior habilidade competitiva que a buva independente do estágio de desenvolvimento, e a soja não sofre com a competição por recursos de

solo, luz ou ambos. Períodos crescentes de convivência de buva com a soja afetam as respostas morfológicas e fisiológicas da cultura. E o incremento da população de buva impacta negativamente a produtividade da cultura e é mais econômico controlar as plantas de buva quando se distribuem em maior população. O biótipo resistente de buva apresenta melhor adaptabilidade fotossintética comparado com o biótipo suscetível. O efeito de glifosato sobre os biótipos de buva é mais intenso sobre o biótipo suscetível, reduzindo o crescimento e inibindo completamente as variáveis fotossintéticas e a enzima EPSPs. A técnica de RAPD pode ser importante ferramenta para caracterização de espécies de *Conyza*.

Palavras-chave: soja, buva, série de substituição, período de competição, nível de dano econômico, fotossíntese, ácido chiquímico, RAPD.

Abstract

Silva, Diecson Ruy Orsolin da. **Competitiveness and genetic characteristics of *Conyza bonariensis* from Rio Grande do Sul State**. 2012. 141f. Doctor of Science Dissertation – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas.

Conyza bonariensis (hairy fleabane) is the main glyphosate resistant weeds on soybean crops in Rio Grande do Sul State. The herbicide resistant weeds may have modified their competitive ability, due to the ability to resist the action of the herbicide. Knowledge of weed competitive ability allows us to adopt the best management strategies to improve the crops, without incurring economic losses for farmers. The study aimed to evaluate the competitiveness of biotypes of hairy fleabane in soybean; determine the interference of control periods and coexistence; assess the crop yield loss and the threshold level of glyphosate resistant hairy fleabane biotypes on soybeans; photosynthetic responses between glyphosate resistant and susceptible biotypes; determine changes in photosynthesis and accumulation of shikimic acid in hairy fleabane biotypes under glyphosate effect, and characterize the hairy fleabane diversity occurring in Rio Grande do Sul State. The experimental results show that the cultivar CD 226 RR has a lower competitive ability than hairy fleabane biotypes, and susceptible biotype is more damage to soybean, soybean has a higher oxidative stress when in competition with resistant biotype; cultivar BRS Estância RR has greater competitive ability than horseweed regardless of stage of development, and soy does not suffer from competition for resources of soil, light or both. The Increasing coexistence periods of hairy fleabane with soybean affect the physiological and morphological responses of crop. And the increase in hairy

fleabane population impacts negatively crop yield and is more economical control hairy fleabane plants when allocating a greater population. The glyphosate resistant hairy fleabane biotype has better adaptability photosynthetic compared with the glyphosate susceptible population. The effect of glyphosate on the hairy fleabane biotypes is most intense on the glyphosate susceptible biotype, reducing growth and inhibiting completely the photosynthesis variable and EPSPs enzyme. RAPD analysis can be important tool for characterization *Conyza* species.

Keywords: soybeans, hairy fleabane, replacement series, competition period, Threshold economic, photosynthesis, shikimic acid, RAPD.

Lista de figuras

- Figura 1 – Esquema de distribuição das plantas de soja e buva em vasos no experimento em série de substituição. “S” e “B” representam soja e buva respectivamente.32
- Figura 2 – Esquema de distribuição de plantas nos vasos e condições de competição. “S” e “B” representam soja e buva, respectivamente.35
- Figura 3 – Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para estatura, área foliar e matéria seca de soja e buva resistente (R) e suscetível (S) ao herbicida glifosato. FAEM/UFPeI, Capão do Leão, 2011.....37
- Figura 4 – Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para extravasamento eletrolítico, fenóis totais e peroxidação lipídica em plantas de soja e biótipos de buva resistente (R) e suscetível (S) ao herbicida glifosato. FAEM/UFPeI, Capão do Leão, 2011.....42
- Figura 5 – Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para estatura e matéria seca da cultivar de soja BRS Estância RR e buva roseta e de 15 cm. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010.....46
- Figura 6 – Matéria seca total (MST) de soja em competição com buva de diferentes estádios de desenvolvimento em diferentes condições de competição. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010..50

- Figura 7 – Efeito do período de convivência de buva sobre a fotossíntese (A), condutividade estomática (gs), concentração de CO₂ subestomática (Ci) e taxa de transpiração (E) das plantas de soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).....60
- Figura 8 – Definição dos períodos de controle e convivência de buva com o cultivar BRS Estância RR, com base na produtividade de grãos. Embrapa Trigo. Passo Fundo, 2012.....63
- Figura 9 – Perda de produtividade (Pp) de grãos de soja (BRS Estância RR) em função do aumento da densidade de buva. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.71
- Figura 10 – Perda de produtividade (Pp) de grãos de soja (BMX Turbo RR) em função do aumento da densidade de buva. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.72
- Figura 11 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BRS Estância RR) em função da produtividade e do preço da soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.....74
- Figura 12 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BMX Turbo RR) em função da produtividade e o preço da soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.....74
- Figura 13 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BRS Estância RR) em função da produtividade e da eficiência de controle dos herbicidas. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.75
- Figura 14 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BMX Turbo RR) em função da produtividade e da eficiência do herbicida. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.76
- Figura 15 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BRS Estância RR) em função da produtividade e do custo de controle. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.....77

Figura 16 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BMX Turbo RR) em função da produtividade e do custo de controle. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.....	77
Figura 17 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a taxa fotossintética (A) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.	86
Figura 18 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a condutância estomática (gs) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.	87
Figura 19 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a concentração de CO ₂ subestomática (Ci) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012..	88
Figura 20 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a transpiração (E) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012..	89
Figura 21 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a eficiência da carboxilação (A/Ci) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012..	90
Figura 22 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre o uso eficiente da água (UEA) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.	91
Figura 23 – Taxa fotossintética (A), taxa de transpiração (E), eficiência da carboxilação (EC) e uso eficiente da água (UEA) de biótipos de buva resistente e suscetível em função de dias após a aplicação de glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.....	100

- Figura 24 – Cromatograma com amostra padrão de ácido chiquímico (A) e cromatograma de biótipo resistente (linha azul) e suscetível (linha vermelha) aos 3 dias após a aplicação do herbicida. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.102
- Figura 25 – Acúmulo de ácido chiquímico em biótipos de buva resistente e suscetível a glifosato em função de dias após tratamento de glifosato (1080 g e.a. ha⁻¹). Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.102
- Figura 26 – Diferenças entre variedade *bonariensis* e *microcephala* de *Conyza bonariensis* com base nas flores, anteras e aquênios.....111
- Figura 27 – Perfil eletroforético de 3 primers RAPD em buva. C- Controle (água), M- Marcador de peso molecular (ladder 100pb.). UFPel, Capão do Leão, 2012.113
- Figura 28 – Perfil eletroforético de 8 primers RAPD em buva. M- Marcador de peso molecular (ladder 100pb.), C- controle (água). UFPel, Capão do Leão, 2012114
- Figura 29 – Padrão de similaridade genética obtido entre biótopos de buva definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base na média dos índices de Jaccard. UFPel, Capão do Leão, 2012.117

Lista de tabelas

- Tabela 1 – Diferenças de produtividade relativa (DPR) e de produtividade relativa total (PRT), das variáveis massa seca da parte aérea e área foliar de soja e biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 201138
- Tabela 2 – Índices de competitividade entre soja e buva, expressos em competitividade relativa coeficientes de agrupamento e de agressividade. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 201140
- Tabela 3 – Resposta da cultivar de soja CD 226 RR em competição com biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 2011.....41
- Tabela 4 – Diferenças de produtividade relativa (DPR) e de produtividade relativa total (PRT), dos fenóis totais, extravasamento e peroxidação lipídica (MDA) de soja e biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 2011.....43
- Tabela 5 – Índices de competitividade entre soja e buva, expressos em competitividade relativa coeficientes de agrupamento e de agressividade. FAEM/UFPeI, Capão do Leão, 201144
- Tabela 6 – Diferenças na produtividade relativas (DPR) e produtividade relativa total (PRT) para a variável massa seca da parte aérea da cultivar de soja BRS Estância RR e buva de diferentes estádios de desenvolvimento. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010.....45

Tabela 7 – Índices de competitividade da cultivar de soja BRS Estância RR e Buva, expressos em competitividade relativa coeficientes de agrupamento e de agressividade obtidos pela matéria seca total e estatura. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010.....	47
Tabela 8 – Resposta da cultivar de soja BRS Estância RR a interferência de buva de diferentes estádios de desenvolvimento, quanto a área foliar (AF), estatura, matéria seca foliar (MSF), matéria seca do caule (MSC) e matéria seca total (MST). Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010.....	48
Tabela 9 – Efeito da competição de buva de diferentes estádios na estatura de soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010	49
Tabela 10 – Efeito da competição de buva nas variáveis área foliar (AF), matéria seca foliar (MSF), matéria seca caulinar (MSC) da soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010	51
Tabela 11 – Índice de área foliar (IAF), razão da área foliar (RAF) razão da massa foliar (RMF) e área foliar específica (AFE) das plantas de soja em função da competição com buva. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010	51
Tabela 12 – Efeito de períodos de controle ou de convivência de buva com a cultura da soja na estatura, número de trifólios e área foliar. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012	59
Tabela 13 – Efeito de períodos de controle ou de convivência de buva com a cultura da soja na matéria seca foliar (MSF), matéria seca caulinar (MSC), matéria seca total (MST). Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.....	59
Tabela 14 – Correlação de Pearson entre variáveis morfológicas e fisiológicas. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.....	62
Tabela 15 – Matéria seca (mg planta ⁻¹) de biótipos de buva 14 dias após aplicação de glifosato (1080 g e.a. ha ⁻¹). Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012	98
Tabela 17 – Sequência de vinte e cinco primers RAPD utilizados na caracterização genética de buva. UFPel, Capão do Leão, 2012.....	109
Tabela 18 – Local de coleta e espécies de <i>Conyza bonariensis</i> coletadas no Rio Grande do Sul.	111

Tabela 19 – Matriz de distâncias entre biótipos de buva baseada em 8 primers RAPD. UFPEI, Capão do Leão, 2012	115
---	-----

Sumário

1. Introdução.....	20
2. Capítulo I – Competição por recursos do solo e luz e habilidade competitiva de <i>Conyza bonariensis</i> resistente ao herbicida glifosato com a cultura da soja	28
2.1 Introdução	28
2.2 Material e métodos.....	30
2.3 Resultados e Discussão	36
2.4 Conclusões.....	52
3. Capítulo II – Interferência de <i>Conyza bonariensis</i> resistente ao herbicida glifosato na cultura da soja.....	53
3.1 Introdução	53
3.2 Material e métodos.....	55
3.3 Resultados e discussão.....	57
3.4 Conclusões.....	64
4. Capítulo III – Perda de produtividade e dano econômico de <i>Conyza bonariensis</i> resistente ao herbicida glifosato na cultura da soja.	65
4.1 Introdução	65
4.2 Material e métodos.....	67
4.3 Resultados e discussão.....	70
4.4 Conclusões.....	80

5. Capítulo IV – Respostas fotossintéticas de biótipos de <i>Conyza bonariensis</i> resistente e suscetível ao herbicida glifosato.	81
5.1 Introdução	81
5.2 Material e métodos	83
5.3 Resultados e discussão.....	84
5.4 Conclusões.....	93
6. Capítulo V – Respostas fisiológicas de <i>Conyza bonariensis</i> resistente e suscetível ao herbicida glifosato.....	94
6.1 Introdução	94
6.2 Material e métodos.....	96
6.3 Resultados e discussão.....	98
6.4 Conclusões.....	105
7. Capítulo VI – Caracterização molecular de <i>Conyza bonariensis</i> com a utilização da técnica RAPD	106
7.1 Introdução	106
7.2 Material e métodos.....	108
7.3 Resultados e discussão.....	110
7.4 Conclusão	116
8. Conclusões gerais	118
9. Referências.....	120

1. Introdução

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a cultura oleaginosa cultivada mais importante no mundo. O Brasil é o segundo maior produtor do grão e um dos principais exportadores, junto com EUA e Argentina. Estima-se que na safra 2011/12 foram plantadas mais de 25 milhões de ha com produção superior a 66 milhões de toneladas (CONAB, 2012). O Rio Grande do Sul (RS) é um dos principais Estados produtores de soja do Brasil, com área cultivada de 4,2 milhões de ha (CONAB, 2012), e na última década, a área cultivada com a soja cresceu mais de 40%.

O desenvolvimento e conseqüentemente a produtividade da soja sofrem uma série de interferências, seja de ordem biótica ou abiótica, que podem reduzir a rentabilidade dos produtores. Dentre essas, as plantas daninhas são importantes, pois competem com a cultura pelos recursos do meio necessário para o desenvolvimento, ocasionando perdas quantitativas e qualitativas dos grãos.

Nos últimos anos, com o desenvolvimento da biotecnologia voltada a agricultura, a produção agrícola vem crescendo, obtendo-se maior produtividade com menor quantidade de área utilizada. Dentre os fatores que contribuíram com esse crescimento está o desenvolvimento de cultivares resistentes ao herbicida glifosato. A introdução de cultivares resistente a glifosato permitiu aos agricultores simplificar o controle de plantas daninhas na soja, substituindo grande variedade de herbicidas por uma única molécula (SHANER, 2000). No Brasil, essa tecnologia teve rápida adoção pelos produtores, principalmente devido à flexibilidade no manejo de plantas daninhas e ao maior espectro de controle com baixo risco de injúrias, independente do estágio de desenvolvimento da cultura (MULUGETA; BOERBOOM, 2000; REDDY; WHITING, 2000).

O cultivo da soja resistente ao herbicida glifosato proporcionou aumento considerável no uso da molécula, a qual passou a ser utilizada de duas a três aplicações por ciclo da cultura (VARGAS et al., 2007). Este cenário, do uso repetido da molécula aumentou a pressão de seleção sobre as plantas daninhas, sendo que a partir da safra 2004/05 observou-se controle insatisfatório para *Conyza bonariensis*, popularmente conhecida como buva, em diversas lavouras do RS, onde essas plantas eram controladas com sucesso em dessecação pré-semeadura e até mesmo em estádios de desenvolvimento avançados (VARGAS et al., 2007).

No Brasil, o primeiro relato de buva resistente ao glifosato foi em 2005 para *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*, e em 2010 verificou-se a ocorrência de *Conyza sumatrensis* no Estado do Paraná (HEAP, 2012). E este cenário tem importância significativa, principalmente na produção de soja, devido ao potencial desta planta daninha causar prejuízos.

O gênero *Conyza* Less. pertence à subtribo Conyzinae e inclui aproximadamente de 100 espécies de plantas, as quais se distribuem em quase todo o mundo (KISSMANN; GROTH, 1997; BREMER, 1994). Conyzinae é uma tribo composta por oito gêneros (NESOM; ROBINSON, 2007), dos quais metade possui espécies com distribuição restrita na América do Sul (NOYES, 2000). No Brasil, o gênero *Conyza* é representado por 13 espécies (TELES; STEHMANN, 2008), enquanto na Argentina foram identificadas 22 espécies do gênero (ZULOAGA; MORRONE, 1999). Recentemente, no ano de 2008, foi proposta uma nova espécie de *Conyza*, sendo chamada de *Conyza neolaxiflora* (TELES; STEHMANN, 2008).

Dentre as principais espécies de buva destacam-se *C. bonariensis* e *C. canadensis* por seus efeitos negativos na agricultura, sendo consideradas espécies com grande potencial de danos a culturas e invasoras, por suas habilidades de colonizadoras (THEBAUD; ABBOTT, 1995). A *C. bonariensis* é nativa da América do Sul, ocorrendo principalmente na Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai (KISSMANN; GROTH 1997), podendo ocorrer na Europa (URBANO, et al. 2007). No Brasil, ocorrem principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, infestando terrenos baldios, margens de rodovias, culturas perenes e anuais (LORENZI, 2000). Já *C. canadensis* é originária da América do Norte, ocorrendo em todas as regiões do Canadá, Estados Unidos, além de ocorrerem na Europa e Ásia. No Brasil, essa espécie ocorre principalmente na região Sul (LORENZI, 2000).

As espécies de *Conyza* apresentam características morfológicas muito semelhantes, o que torna difícil sua identificação, além de que, no Brasil é frequente a ocorrência de ambas as espécies associadas, as quais apresentam adaptabilidade ecológica em sistemas conservacionistas, como semeadura direta e cultivo mínimo do solo (LAZAROTO; FLECK; VIDAL, 2008). Outras características de espécies de *Conyza* é que as flores podem ser fecundadas por pólen de outras espécies do gênero. A hibridização entre *C. canadensis* e *C. ramosissima* demonstrou apresentar características fenotípicas muito semelhantes (ZELAYA; OWEN; VANGESSEL, 2007). A correta identificação das espécies facilita na adoção das melhores práticas no manejo dessas populações de plantas daninhas.

C. bonariensis apresenta três variedades, sendo elas variedade *bonariensis*, *microcephala* e *angustifolia* e sua diferenciação pode ser verificada por diferenças nas flores, anteras e aquênios, além do porte das plantas (ENTZ; PAZ, 1999). *C. bonariensis* é uma planta de ciclo anual, e a germinação ocorre no fim do outono e no inverno, e com término do ciclo na primavera ou verão (KISSMANN; GROTH, 1997). É uma planta facilmente caracterizada pela maturação e liberação dos aquênios, que com seus papilos pilosos são dispersos facilmente pelas correntes de ar.

No ambiente, a competição entre plantas poder ser intra ou interespecífica, e é caracterizada quando um ou mais recursos necessários ao seu desenvolvimento e crescimento encontram-se em quantidade limitada para atender as necessidades de todos os indivíduos presentes no meio (RADOSEVICH; HOLT; GHERSA, 1997). Para determinar as interações competitivas entre plantas daninhas e culturas, têm sido desenvolvidos vários métodos, os quais consideram os fatores população, proporção de espécies e arranjo espacial (RADOSEVICH, 1987) e abrangem quatro tipos gerais de experimento: aditivo, sistemático, superfície de resposta e série substitutiva.

Os experimentos em série de substituição possibilitam o estudo da competição inter e intraespecífica. A premissa desse tipo de experimento é de que as produtividades das associações possam ser determinadas em comparação às do monocultivo. A série de substituição inclui a cultura sozinha e em mistura com plantas daninhas, em que a proporção das duas espécies estudadas varia sendo mantida constante a população total. Esses experimentos visam indicar qual genótipo ou espécie é mais competitivo (COUSENS, 1991).

A competição pelos recursos do meio, água, luz e nutrientes são importantes fatores que limitam o desenvolvimento das plantas, e algumas metodologias permitem a separação de competição, ou seja, competição pelos recursos da parte aérea e competição por raízes. Essas metodologias permitem a separação completa da competição de cada fator, e podem ser utilizadas em ambiente controlado ou não controlado. Em condições de ambiente controlado são usados basicamente três métodos: vasos divididos, plantas em linha e planta alvo e a escolha de cada método vai depender de suas vantagens e limitações (MCPHEE; AARSSSEN, 2001).

Os métodos de vasos divididos e plantas em linhas são similares e possibilita a competição de plantas entre todos os compartimentos (competição nula, por recursos do solo, recursos luminosos e solo+luz). O método de planta alvo consiste em uma planta no centro da unidade experimental circundada por plantas vizinhas, e tem como vantagem a competição por luz ser mais realista que outros métodos e os estudos são conduzidos em série aditiva, no entanto, como desvantagem não é possível isolar a competição por parte aérea e raízes.

As relações de competição entre culturas e plantas daninhas em competição dependem das condições em que a competição está acontecendo, pois as interações de competição dependem da espécie e população da planta daninha e das condições ambientais. Em geral, culturas são menos eficientes em competição devido à ocorrência de plantas daninhas em maior número além da emergência antecipada, o que confere maior habilidade em extrair os recursos do meio (PROCÓPIO et al., 2005).

Estudos de períodos de competição indicam qual a época durante o ciclo da cultura em que é mais suscetível à competição. O período anterior à interferência (PAI) indica que a cultura pode conviver com as plantas daninhas sem que ocorram perdas significativas na produtividade (PITTELKOW et al., 2009). O período total de prevenção à interferência (PTPI) indica o período desde a semeadura ou emergência da cultura até a colheita em que as plantas daninhas são ausentes para que a cultura possa expressar o máximo potencial produtivo. E o período que se estende desde o fim do PAI até o final do PTPI, indica o período no qual as plantas daninhas devem ser efetivamente controladas ou suprimidas por meio dos métodos de controle na cultura.

Diversos experimentos têm sido realizados a fim de determinar os períodos de competição na cultura da soja, relacionando diferentes sistemas de cultivo,

diversidade de plantas daninhas e duração de competição (FLECK et al., 2002; EYHERABIDE; CENDOYA, 2002; CONSTATIN et al., 2007; PITTELKOW et al., 2009; NEPOMUCENO et al., 2007; BENEDETTI et al., 2009). Em geral, o período anterior à interferência apresenta valores mínimo de 10 dias após a emergência da cultura e o período total de prevenção a interferência apresentam valores de até 76 dias após a emergência. Os valores encontrados para cada período refletem muito as condições de competição em que estão ocorrendo, como por exemplo, ciclo de cultivar, população e espécie de planta daninha e condições ambientais.

O conhecimento da habilidade competitiva das plantas daninhas é elemento básico na previsão das perdas de produtividade da cultura e também da vantagem econômica do uso de herbicidas, tendo como base o conceito de nível de dano econômico (NDE). O conceito de NDE define a população de plantas daninhas que produz o incremento de dano igual ao custo de prevenir tal dano (NORRIS, 1992). Algumas informações são imprescindíveis para determinação do NDE, dentre elas, a capacidade de interferência das plantas daninhas, preço do produto, custo do controle e produtividade estimada da cultura. O conceito de NDE tem sido utilizado em estudos com *Bidens pilosa* e *Bidens subalternans* na cultura da soja (RIZZARDI; FLECK; AGOSTINETTO, 2003); *Echinochloa spp.* em arroz irrigado (GALON et al., 2007); *Brachiaria plantaginea* em milho (VIDAL et al., 2004); arroz-vermelho em arroz irrigado (AGOSTINETTO et al., 2005); *Secale cereale* em trigo (PESTER et al., 2000); *Abutilon theophrasti* em milho (CARDINA; REGNIER; SPARROW, 1995)

As perdas de produtividade nas culturas em razão da competição das plantas daninhas podem ser estimadas por modelos matemáticos, os quais podem ser instrumentos úteis para descrever, estimar e simular os impactos causados pela interferência das plantas daninhas em certa cultura, podendo contribuir para a escolha das decisões de manejo, e redução no uso de herbicidas. Os modelos matemáticos podem ser utilizados para prever novas respostas a partir de observações realizadas em experimentos com espécies de plantas daninhas, condições ambientais e de manejo semelhantes (ADATI; OLIVEIRA; KARAM, 2006).

Alguns autores desenvolveram modelos matemáticos que permitem estimar o resultado da competição entre cultura e planta daninha, com o objetivo de prever, em estádios iniciais de desenvolvimento da cultura, a produtividade e o ganho líquido esperado (COUSENS, 1985; KROPFF; SPITTERS, 1991; KROPFF; LOTZ, 1992).

Os modelos hiperbólicos de perda de produtividade foram utilizados por diversos autores (COUSENS, 1985; COUSENS et al., 1987; RIZZARDI et al., 2003; CONLEY et al., 2003; AGOSTINETTO et al., 2004), sendo a forma mais encontrada para prever as perdas de produtividade das culturas em função da competição por plantas daninhas e um dos modelos mais adequados, pois refletem situações que podem ocorrer biologicamente (ADATI; OLIVEIRA; KARAM, 2006). O modelo da hipérbole mostra que o efeito de competição de cada planta daninha adicionada à cultura diminui quando a população de plantas daninhas aumenta, em decorrência da competição intraespecífica.

A resistência de herbicidas pode causar perda na adaptabilidade das espécies. Com isso, tem-se pensado que a resistência a herbicidas, na ausência de pressão de seleção, poderia ter custo na adaptação desses biótipos ao meio. Contudo alguns estudos tem sido contraditórios se há realmente diferenças entre biótipos resistentes e suscetíveis a herbicidas nas suas características adaptativas.

Em algumas plantas que expressam mutação para a resistência de herbicidas tem se verificado perda de adaptabilidade ecológica como em plantas de *Senecio vulgaris* resistentes a triazinas (HOLT; STEMLER; RADOSEVICH, 1981) e *Amaranthus powellii* (TARDIF; RAJCAN; COSTEA, 2006), já em outros casos, não há perda de adaptabilidade para *Digitaria ciliaris* resistente a ACCase (OVEJERO et al., 2007) e *Bidens subalternans* resistente a ALS (LAMEGO; VIDAL; BURGOS, 2011). Resultados contrastantes também são encontrados com entre biótipos de *Lolium rigidum*, *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* que expressam resistência ao glifosato (PEDERSEN et al., 2007; MOREIRA, et al., 2010; SHRESTHA et al., 2010).

Espécies de buva resistentes a glifosato possuem grande velocidade de evolução, distribuição geográfica e variação quanto ao seu fenótipo, sendo que, as condições ambientais podem impactar no desenvolvimento de características fenotípicas diferentes, o que pode impactar na sua adaptabilidade ecológica. A expressão fenotípica é afetada pela transferência de genes interespecíficos, interações genéticas e fatores ambientais (VOSS, 1996). A hibridização interespecífica de espécies de buva diminui o vigor das plantas resultantes, isso pode ser em função das diferentes ploidias entre as espécies (ZELAYA; OWEN; VANGESSEL, 2007). Essa diminuição no vigor das plantas resultantes da hibridação pode favorecer a competição entre cultura-plantas daninhas em prol às culturas, com relação à captação de recursos necessários para o seu desenvolvimento.

A variabilidade genética entre plantas torna-se característica importante, pois determina a capacidade de resposta à seleção natural e às pressões impostas em função de técnicas de manejo (LIMA, 2001; LI et al., 2007). A caracterização de variabilidade genética de plantas evoluiu bastante com o desenvolvimento da biologia molecular. Os avanços em estudos moleculares, com o surgimento da PCR (Polymerase Chain Reaction), trouxeram conhecimentos significativos na área de genética de populações, o que permitiu avaliar a diversidade genética diretamente ao nível de DNA.

Dentre as técnicas de marcadores moleculares utilizadas, a aplicação do polimorfismo de DNA amplificado ao acaso (RAPD) na análise molecular que envolve plantas daninhas. O RAPD é um método simples para detectar polimorfismos baseado na amplificação ao acaso de segmentos de DNA, com sequências de primers arbitrários (WILLIAMS et al., 1990). As aplicações do RAPD incluem identificação taxonômica de espécies vegetais, detecção de fluxo gênico e hibridização de plantas, avaliação de parentesco entre as espécies, análise de genômica e produção de sondas específicas (HADRYIS; BALICK; SCHIERWATER, 1992). A técnica de RAPD é simples, rápida e mais barata que outras técnicas que analisam fragmentos de DNA e pode ser usada uma quantidade limitada de DNA (ZHANG et al., 2002).

Trabalhos têm sido realizados utilizando marcadores moleculares para determinar as diferenças genéticas entre espécies de plantas daninhas no mundo inteiro. Dentre as espécies estudadas foram *Aegilops cylindrica* utilizando técnicas de RAPD e AFLP (PESTER et al., 2003); *Panicum miliaceum* utilizando técnicas de AFLP (KARAM et al., 2006); *Euphorbia heterophylla* por RAPD (WINKLER; VIDAL; NETO, 2003); *Amaranthus* spp por RAPD (RAY; ROY, 2008) e por AFLP (WASSOM; TRANEL, 2005); *Cyperus esculentus* por AFLP (DODET; PETIT; GASQUEZ, 2008); *Bidens pilosa* por RAPD (VIDAL et al., 2005).

A principal contribuição no uso de marcadores moleculares em estudos de plantas daninhas é para se obter informações a cerca da identificação das plantas daninhas, origem e sua propagação (HUFBAUER, 2004). Com o uso dos marcadores moleculares, pode-se melhorar o entendimento da biologia das plantas daninhas pela descoberta e caracterização de genes que possam apresentar importância na adaptação, competitividade e adaptabilidade das plantas daninhas nos agroecossistemas (WELLER et al., 2001). No caso de resistência de plantas, a

correta identificação das espécies pode ajudar na escolha do manejo mais apropriada a ser tomada no controle das espécies, além de poder verificar se a resistência ocorreu simultaneamente em diversos locais ou se houve um evento de seleção que se disseminou em diversas áreas do país por meio da dispersão de pólen/semente (WINKLER; VIDAL; NETO; 2003).

Como hipótese tem-se que: i) que os biótipos de buva resistentes ao herbicida glifosato apresentam menor habilidade competitiva comparado com o biótipo suscetível em concorrência com a cultura da soja, plantas de buva de maior porte causam maiores prejuízos ao desenvolvimento da soja comparada com plantas de menor porte e, biótipos de buva são menos competitivos que soja pelo recurso luz; ii) que o quanto maior for o período de convivência da buva com a soja maior serão os efeitos negativos da competição; iii) a perda de produtividade da cultura, e o NDE são aumentados com altas densidades de buva; iv) os biótipos de buva resistente ao glifosato possuem menor adaptabilidade fotossintética que os biótipos suscetíveis ao glifosato; v) o glifosato não altera a fotossíntese e a concentração de ácido chiquímico em biótipos de buva resistente ao glifosato; vi) as espécies de *Conyza* ocorrentes em áreas agrícolas do Rio Grande do Sul apresentam características morfo-anatômicas e genéticas diferentes.

Os objetivos do trabalho foram: i) avaliar a habilidade competitiva da soja com biótipos de buva (*Conyza bonariensis*) resistente e suscetível ao herbicida glifosato; avaliar a habilidade competitiva da cultura da soja com buva de diferentes estádios de desenvolvimento; e, avaliar a competição por recursos do solo e por luz entre buva de diferentes estádios de desenvolvimento com a cultura da soja; ii) determinar a interferência dos períodos de controle e de convivência de buva resistente ao herbicida glifosato sobre variáveis morfológicas, parâmetros fotossintéticos e produtividade da cultura da soja RR; iii) avaliar o efeito da competição de buva sobre a produtividade da cultura da soja e determinar o NDE de buva resistente ao herbicida glifosato na cultura da soja; iv) comparar as respostas fotossintéticas dos biótipos buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato, às variações na densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa, na ausência de competição ou herbicida; v) determinar alterações na fotossíntese e inibição da EPSPS baseado no acúmulo de ácido chiquímico em biótipos de buva resistente e sensível tratadas com glifosato, e vi) caracterizar a diversidade genética de plantas de *Conyza* ocorrentes no Rio Grande do Sul.

2. Capítulo I – Competição por recursos do solo e luz e habilidade competitiva de *Conyza bonariensis* resistente ao herbicida glifosato com a cultura da soja.

2.1 Introdução

A cultura da soja tornou-se o principal produto agrícola de exportação do Brasil. Estima-se que na safra 2011/12 foram plantadas mais de 25 milhões de ha com produção superior a 66 milhões de toneladas (CONAB, 2012).

Nos últimos anos, com o desenvolvimento da biotecnologia voltada à agricultura, a produção agrícola vem crescendo, obtendo-se maior produtividade com menor área utilizada. Dentre os fatores que contribuíram com esse crescimento está o desenvolvimento de cultivares resistentes ao herbicida glifosato. A introdução de cultivares resistentes a glifosato permitiu aos agricultores simplificar o controle de plantas daninhas na soja, substituindo a utilização de diversos herbicidas por uma única molécula (SHANER, 2000).

Contudo, o aumento do uso do glifosato para controle de plantas daninhas na soja transgênica conduziu a seleção de biótipos resistentes, como a exemplo buva (*Conyza bonariensis*) (VARGAS et al., 2007). O desenvolvimento de estratégias efetivas para o manejo de plantas daninhas resistentes requer entendimento da dinâmica populacional e o potencial impacto dos biótipos resistentes no ambiente (SHRESTHA et al., 2010). A resistência de plantas daninhas pode conferir aos biótipos menor habilidade competitiva, por promover alterações no metabolismo, nos mecanismos de defesa, no desenvolvimento ou na reprodução (VILA-AIUB; NEVE;

POWLES, 2009). Estudos de habilidade competitiva de biótipos resistentes e suscetíveis são importantes e podem fornecer informações para o manejo desses biótipos.

Experimentos de série de substituição têm sido utilizados para determinar as interações de competitividade entre culturas e plantas daninhas, o qual permite avaliar competição inter e intraespecífica (RADOSEVICH, 1987). O uso dos experimentos de série de substituição tem levado a importantes informações sobre a diferenciação dos nichos de competição e são úteis para detectar a existência e magnitude de competição, bem como encontrar a combinação das duas espécies que maximizam a produtividade total da mistura (RODRIGUEZ, 1997). Em estudos de competição os parâmetros utilizados para mensurar os efeitos da competição são, normalmente, variáveis morfológicas das plantas, contudo poucos são os trabalhos relacionados aos estresses fisiológicos e ao metabolismo secundário das plantas envolvidas na competição.

Além de modificações na morfologia das plantas, a competição pode gerar estresse oxidativo que são danosos a células, assim como observado para herbicidas, herbivoria, luz UV, ataque de patógenos e metais (WOJTASZEK, 1997; KRUSE et al. 2006). Espécies reativas de oxigênio são conhecidas causadoras de danos por indução da peroxidação lipídica e podem causar danos ao DNA, proteínas e clorofilas (MITTOVA et al., 2000). Compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário produzidos pelas plantas e seu metabolismo é aumentado por diferentes fatores ambientais e condições de estresse (SAKIHAMA; YAMASAKI, 2002). Uma importante característica dos compostos fenólicos é a capacidade antioxidante, capaz de inibir a peroxidação lipídica por capturar radicais lipídicos reativos (MICHALAK, 2006).

A competição por água e nutrientes no solo e por luz na parte aérea são importantes fatores que limitam o crescimento das plantas no ambiente. Para determinar o efeito da competição por raízes e parte aérea das plantas de forma independente, algumas metodologias têm sido usadas para permitir a separação de cada fator. Em condições de ambiente controlado são usados basicamente três métodos: vasos divididos, plantas em linha e planta alvo e a escolha de cada método vai depender de suas vantagens e limitações (MCPHEE; AARSSSEN, 2001). Os métodos de vasos divididos e plantas em linhas são similares e possibilita a competição de plantas entre todos os compartimentos (competição nula, por

recursos do solo ou luz e solo+luz). Já, o método de planta alvo consiste em uma planta no centro da unidade experimental circundada por plantas vizinhas, e tem como vantagem a competição por luz ser mais realista que outros métodos e os estudos são conduzidos em série aditiva, no entanto, como desvantagem não é possível isolar a competição por parte aérea e raízes.

O conhecimento das características entre biótipos resistentes e suscetíveis são importantes para determinar se há algum efeito, seja negativo ou positivo, relacionado à resistência quanto ao desenvolvimento e habilidades em competir com culturas. *Lolium rigidum* resistente a glifosato não apresentou redução no crescimento quando em competição com trigo em comparação a biótipos suscetíveis (PEDERSEN et al., 2007). Já, biótipos de *Lolium multiflorum* suscetíveis a glifosato produziram maior matéria seca comparado com biótipos resistentes (VARGAS et al., 2005). Biótipos de *Conyza canadensis* resistentes a glifosato foram mais competitivos que biótipos suscetíveis, quando cresceram em altas populações e sob estresse hídrico (SHRESTHA et al., 2010).

Como hipóteses têm-se que os biótipos de buva resistentes ao herbicida glifosato apresentam menor habilidade competitiva comparado com o biótipo suscetível em concorrência com a cultura da soja, plantas de buva de maior porte causam maiores prejuízos ao desenvolvimento da soja comparada com plantas de menor porte e, biótipos de buva são menos competitivos que soja pela recurso luz. Os objetivos deste trabalho foram: avaliar a habilidade competitiva da soja com biótipos de buva (*Conyza bonariensis*) resistente e suscetível ao herbicida glifosato; avaliar a habilidade competitiva da cultura da soja com buva de diferentes estádios de desenvolvimento; e, avaliar a competição por recursos do solo e por luz entre buva de diferentes estádios de desenvolvimento com a cultura da soja.

2.2 Material e métodos

Foram conduzidos cinco experimentos em casa de vegetação na Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão-RS, e na Embrapa Trigo, Passo Fundo-RS, nos anos de 2010 e 2011. Os experimentos foram conduzidos em vasos plásticos com capacidade de oito litros. Nos experimentos 1, 3, 4 e 5, realizados em Passo Fundo o solo utilizado foi Latossolo Vermelho Distrófico típico, de textura argilosa, pertencente à unidade de mapeamento Passo Fundo enquanto que os

demais experimentos foram realizados em Pelotas, onde o solo utilizado foi o Argissolo Vermelho-Amarelo, de textura franco-arenosa, pertencente à unidade de mapeamento Pelotas (EMBRAPA, 2009).

O primeiro experimento foi conduzido em série aditiva para determinar a população de plantas a partir da qual a matéria seca total (MST) por unidade de área torna-se independente da população (RADOSEVICH; HOLT; GHERSA, 1997). O delineamento experimental foi completamente casualizado, com quatro repetições. As populações de soja e buva testadas foram de 2, 4, 8, 16 e 32 plantas por vaso (equivalente a 52, 105, 210, 420, 841 plantas por m²). As sementes de buva foram postas a germinar em potes plásticos e quando apresentaram quatro folhas foram transplantadas definitivamente nas unidades experimentais, enquanto as sementes de soja foram postas a germinar diretamente nas unidades experimentais. A variável matéria seca total (MST) da soja foi analisada aos 43 dias após a emergência (DAE), pela pesagem do material seco em estufa, com temperatura de 60°C por 72 horas, até atingir peso constante. A produção final constante da MST foram obtidas com a população de 8 e 16 plantas por vaso, equivalente a 236 e 395 plantas por m² de soja e buva, respectivamente. A população considerada como produção final constante foi de 12 plantas vaso⁻¹, equivalente a 315 plantas m⁻² (dados não apresentados).

O segundo, terceiro e quarto experimentos foram conduzidos em série de substituição. Na fig. 1 representa o esquema de distribuição das plantas nos vasos. Para estes experimentos as sementes de buva foram postas a germinar em copos plásticos e quando estavam com quatro folhas foram transplantadas para as unidades experimentais. No segundo experimento foi testada a habilidade competitiva de biótipos de buva resistente e suscetível a glifosato com a cultura da soja (cultivar CD 226 RR, grupo de maturação 6.6) nas proporções (%) de plantas de 100:0 (monocultivo de soja); 75:25; 50:50; 25:75 e 0:100 (monocultivo de buva). Neste experimento as variáveis avaliadas foram estatura (EST), área foliar (AF), matéria seca foliar (MSF), matéria seca caulinar (MSC) e MST das plantas de soja e buva. A estatura de plantas foi obtida pela mensuração entre a distância da base da planta até a extremidade da última folha totalmente desenvolvida. A AF foi obtida com auxílio de um medidor de área foliar, modelo LI3100. A MSF e MSC foram obtidas pela pesagem das partes após a secagem em estufa com circulação de ar a 60 °C por 72 horas, e a MST foi obtido pela soma da MSF e MSC.

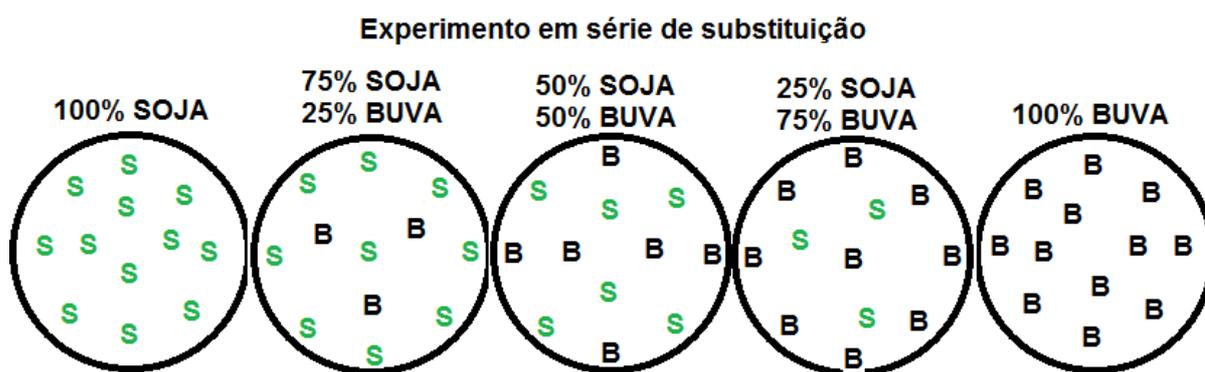


Figura 1 – Esquema de distribuição das plantas de soja e buva em vasos no experimento em série de substituição. “S” e “B” representam soja e buva respectivamente.

No terceiro experimento foram testados os efeitos da competição de soja (cultivar CD 226 RR) com buva resistente e suscetível a glifosato nas proporções (%) de 100:0 (monocultivo soja); 50:50 e 0:100 (monocultivo de buva), tendo sido avaliados as variáveis fenóis totais, peroxidação lipídica e extravasamento eletrolítico.

A extração de fenóis totais foi realizada de acordo com método descrito por Singleton e Rossi (1965), com modificações. Na etapa de extração pesou-se 2 g de amostra triturada, dilui-se em 20 mL de metanol, colocou-se em banho-maria a 25°C, durante 3 horas. Após este período, a amostra foi filtrada com algodão para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com metanol. Para a etapa de quantificação dos fenóis foi retirado 1 mL do extrato obtido e adicionado 10 mL de água ultra-pura e 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 2N, deixando-se reagir por 3 minutos, e após foram adicionados 1,5 mL de Na₂CO₃ 20% (m/v), permanecendo no escuro por mais 2 horas. Realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Ultrospec 2000 UV/Visível - Pharmacia Biotech) no comprimento de onda de 765 nm. Foi elaborada a curva padrão com o ácido gálico e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (mg GAE) por grama de matéria fresca (MF).

A determinação da peroxidação lipídica foi realizada em 0,2 g de folhas maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizados em ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 7830 rpm por 20 minutos. Alíquotas de 0,5 mL do sobrenadante foram adicionadas a 1,5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (m/v)

em ácido tricloroacético 10% (m/v) e incubadas a 90°C por 20 minutos. A reação foi paralisada em banho de gelo por 10 minutos. A absorbância foi lida a 532 nm, descontando-se a absorbância inespecífica a 600 nm. A concentração de malondialdeído (MDA) foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade de 155 mM cm⁻¹ e os resultados foram expressos em nM MDA g⁻¹ de matéria fresca.

O extravasamento eletrolítico foi determinado em 0,2 g de amostra triturados e lavadas com água ultra-pura para a retirada do conteúdo das células rompidas durante o corte e de outros eletrólitos aderidos às folhas. Após este procedimento, as mesmas foram colocadas em 50 mL de água ultra-pura e deixadas por 6 horas em banho-maria a 25°C. Decorrido esse tempo, a condutância inicial (Ci) foi obtida utilizando-se um condutímetro (Lutron, CD-4301). Posteriormente a essa leitura, as amostras foram colocadas em estufa a 90°C por 2 horas e feita a segunda leitura (Cf). O extravasamento de eletrólitos foi calculado pela relação $C_i/(C_i+C_f) \times 100$ e o resultado foi expresso em percentagem.

O quarto experimento testou a habilidade competitiva de buva no estágio de roseta (6 folhas) e plantas com 15 cm de estatura com a cultura da soja (cultivar BRS Estância RR, grupo de maturação 6.1). Para isso, utilizaram-se as plantas coletados a campo e transplantadas para as unidades experimentais. As variáveis avaliadas foram idênticas ao descrito no experimento 2.

A análise das variáveis morfológicas e bioquímicas do segundo ao quarto experimento foi utilizada pelo método da análise gráfica da produtividade relativa, analisadas por meio de diagrama com base na produtividade relativa (PR) e produtividade relativa total (PRT), nas proporções de plantas de 0, 25, 50, 75 e 100% da soja e da buva.

A produtividade relativa das variáveis avaliadas foi calculada da seguinte forma: $PR = \text{média da mistura} / \text{média da monocultura}$, incluindo-se no cálculo a média por planta em cada unidade experimental. A PRT foi representada pela soma das produtividades relativas dos competidores. Nesses diagramas, os resultados obtidos são comparados com os valores da reta hipotética, a qual une os pontos em estande zero (0:100) e estande puro (100:0) do diagrama, que representa a ausência de interferência entre plantas. Quando a PR resultar em linha côncava, significa que ocorre prejuízo no crescimento de uma ou de ambas as plantas e, se a linha apresentada pela PR for convexa, há benefício no crescimento de uma ou de ambas as espécies. Para a PRT, se o valor for igual a 1 (linha reta), ocorre

competição pelos mesmos recursos; se o valor for maior que 1 (linha convexa), a competição é evitada; e, se o valor for menor que 1 (linha côncava) ocorre competição.

Foram calculados os índices de competitividade relativa (CR), coeficiente de agrupamento relativo (K) e de agressividade (A) na proporção de 50% de entre as plantas. A CR representa o crescimento comparativo da cultura em relação à planta daninha; K indica a dominância relativa de uma espécie sobre a outra; e, A aponta qual espécie se manifesta mais competitiva (COUSENS, 1991). Os cálculos foram realizados por meio de equações, propostas por Cousens e O'Neill (1993): $CR = PR_s / PR_b$; $K_s = PR_s / (1 - PR_s)$; $K_b = PR_b / (1 - PR_b)$; e, $A = PR_s - PR_b$. Onde "s" e "b" são soja e buva, respectivamente.

Para a análise estatística da produtividade relativa, foram calculadas as diferenças para os valores de PR obtidos nas proporções de 25, 50 e 75 de plantas em relação aos valores pertencentes às retas hipotéticas obtidas nas respectivas proporções (PASSINI, 2001). O teste 't' ($p \leq 0,05$) foi utilizado para avaliar as diferenças nos índices estudados em relação à reta hipotética (PASSINI, 2001). O critério para considerar as curvas de PR e PRT diferentes das retas hipotéticas é que, no mínimo em duas proporções, ocorra diferença significativa pelo teste 't', o mesmo critério se aplicará para os índices CR, K e A (BIANCHI; FLECK; LAMEGO, 2006).

Os dados obtidos para EST, AF, MSF, MSC e MST das plantas de soja e buva foram submetidos à ANOVA, sendo as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade de erro, e considerando as monoculturas como testemunhas.

O quinto experimento testou a competição por recursos do solo e luz entre buva em dois diferentes estádios de desenvolvimento, estádio de roseta (6 folhas) e plantas de 15 cm de estatura com a cultura da soja (cultivar BRS Estância RR). Na fig. 2 representa o esquema de distribuição das plantas de soja e buva nos vasos e o posicionamento da divisória. As plantas de buva foram coletadas a campo e transplantadas para as unidades experimentais. O delineamento experimental foi completamente casualizado e os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x4. O fator A constituiu-se de dois estádios de desenvolvimento de buva (roseta e com 15 cm de estatura) em competição com soja, e o fator B de quatro condições de competição: ausência de competição entre as plantas concorrentes (competição

nula); competição por recursos de solo e luz (competição total); competição por recursos de solo (competição solo); e, competição por luz (competição luz).

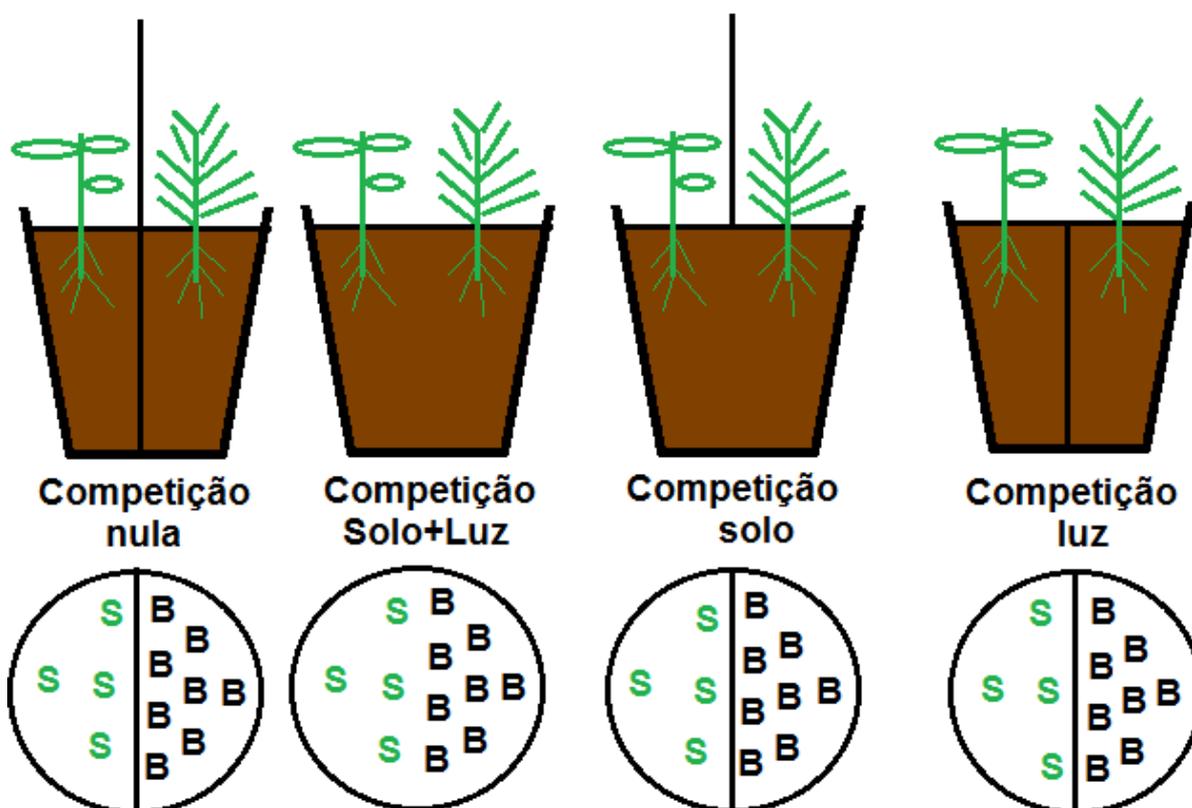


Figura 2 – Esquema de distribuição de plantas nos vasos e condições de competição. “S” e “B” representam soja e buva, respectivamente.

Para separar as condições de competição foram usadas divisórias de polietileno tanto no solo quanto na parte aérea, sendo a divisória da parte aérea revestida por papel alumínio visando refletir a radiação solar e manter a intensidade luminosa dentro na unidade experimental. As unidades experimentais foram compostas por quatro plantas de soja e oito plantas de buva conforme produção constante verificado no primeiro experimento, sendo que cada espécie ocupava a metade da unidade experimental.

As variáveis avaliadas foram EST, AF, MSF, MSC e MST das plantas de soja de modo idêntico ao descrito no segundo experimento, e calculadas razão de massa foliar (RMF), área foliar específica (AFE), índice de área foliar (IAF) e a razão de área foliar (RAF) por meio das seguintes equações: $RMF = MSF/MST$; $AFE = AF/MSF$; $IAF = AF/\text{área do vaso}$, e $RAF = AF/MST$. A utilização dessas equações

visou indicar a alocação de fotoassimilados através da proporção de folhas (RMF e RAF) e da expansão foliar (AFE e IAF).

Os dados obtidos foram verificados quanto à homogeneidade e posteriormente submetidos à ANOVA, sendo as médias dos tratamentos estádio de buva comparadas pelo teste t e as condições de competição comparadas pelo teste de Duncan, ambos a 5% de probabilidade de erro, e considerando as monoculturas de soja e buva como suas respectivas testemunhas.

2.3 Resultados e Discussão

A análise gráfica, referente às variáveis EST, AF e MST para soja competindo com biótipos de buva resistentes e suscetíveis ao herbicida glifosato, demonstrou que a soja possui menor habilidade competitiva que ambos os biótipos de buva (tab.1 e Fig. 3).

A PR da soja para as variáveis EST, AF e MST foram representada por linhas côncavas, indicando que ocorreu perda da produtividade da soja, tanto na competição com o biótipo resistente quanto com o suscetível (Fig. 3). As diferenças entre as retas observadas e as esperadas foram significativas para EST, AF e MST da soja em competição com biótipo suscetível, no entanto, para a competição da soja com o biótipo resistente apenas a variável MST da cultura não deferiu das retas esperadas, indicando que o biótipo resistente não altera a produtividade relativa MST da soja (tab. 1). A linha que indica a resposta de EST para os biótipos de buva não apresentam diferenças significativas, e a PRT apresentou linhas côncavas (menores que 1), no entanto, somente a convivência com buva resistente apresentou pelo menos duas proporções com diferenças significativas. A linha côncava da PRT indica que ocorreu prejuízo mútuo ao crescimento, o qual significa que a competição entre as duas espécies (soja e buva) foi pelos mesmos recursos do meio.

A resposta da AF da planta daninha se beneficiou com a presença da cultura (Fig. 3). A PRT não demonstrou diferenças para AF da competição da soja com ambos os biótipos de buva, apresentando valor próximos a 1, sugerindo que a soja e os biótipos de buva competem pelos mesmos recursos do meio (tab. 1). Já, para a variável MST a PR dos biótipos de buva foram representadas por linhas convexas, indicando benefício da presença das plantas de soja para seu crescimento (Fig. 3).

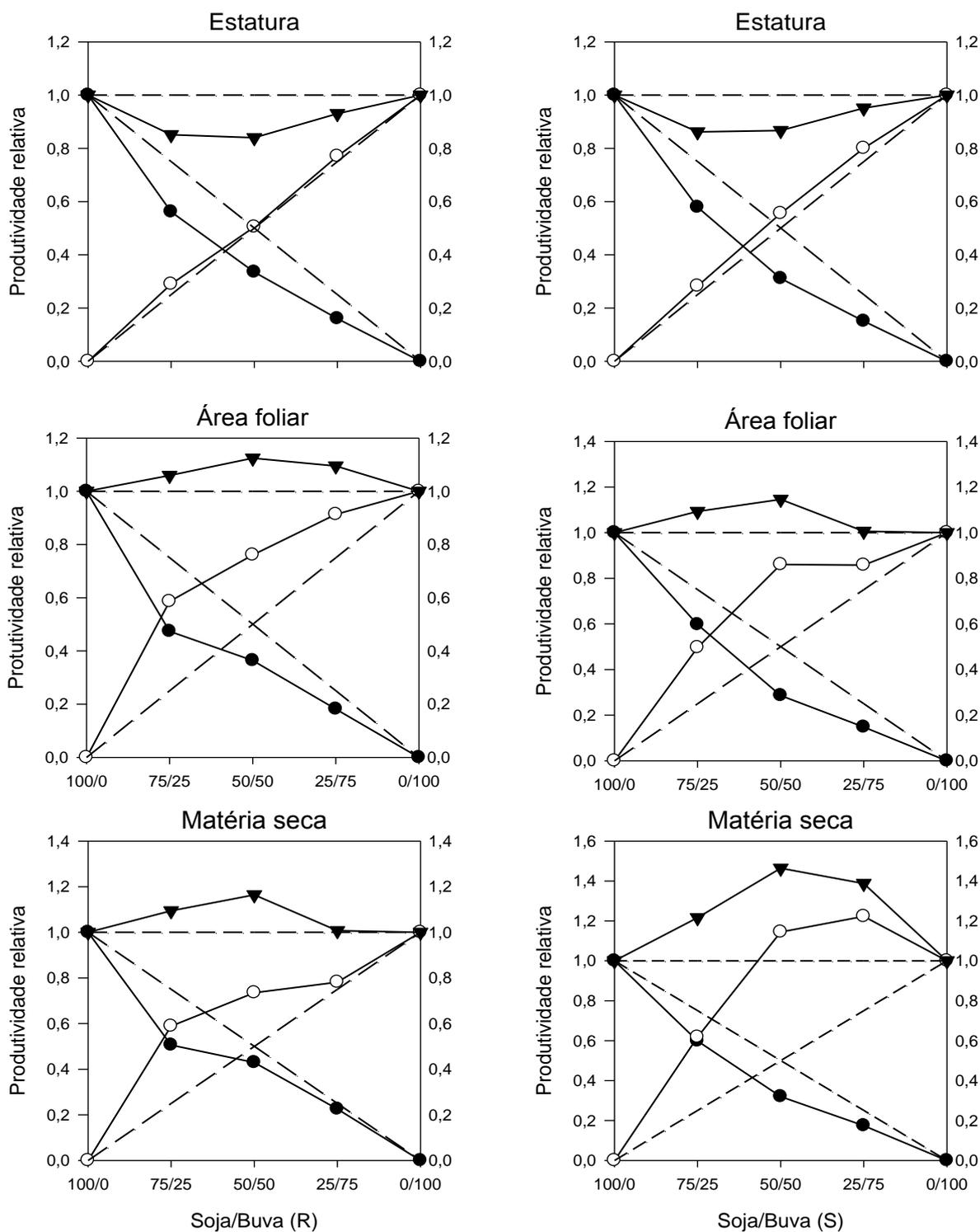


Figura 3 – Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para estatura, área foliar e matéria seca de soja e buva resistente (R) e suscetível (S) ao herbicida glifosato. FAEM/UFPel, Capão do Leão, 2011. Círculos cheio e vazio representam a PR da soja e buva, respectivamente, e indica a PRT. As linhas tracejadas referem-se às produtividades relativas hipotéticas, quando não ocorre interferência de uma espécie sobre a outra.

Resultados semelhantes foram encontrados para a competição de soja com arroz-vermelho (MORAES et. al., 2009). Na cultura da soja, a estatura e a área foliar de plantas constituem características morfológicas importantes, pois plantas de maior porte apresentam maior habilidade competitiva (BIANCHI; FLECK; FEDERIZZI, 2006; FLECK et al., 2007).

Tabela 1 – Diferenças de produtividade relativa (DPR) e de produtividade relativa total (PRT), das variáveis estatura, massa seca e área foliar de soja e biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2011

Variável	Proporção de plantas (soja:buva)		
	Estatura		
	75:25	50:50	25:75
DPR Soja	-0,19 (0,04)*	-0,16 (0,05)*	-0,09 (0,01)*
DPR Resistente	0,04 (0,01)*	0,005 (0,06) ^{ns}	0,02 (0,06) ^{ns}
PRT	0,85 (0,04)*	0,84 (0,05)*	0,93 (0,05) ^{ns}
DPR Soja	-0,17 (0,03)*	-0,19 (0,03)*	-0,10 (0,02)*
DPR Suscetível	0,03 (0,02) ^{ns}	0,06 (0,05) ^{ns}	0,05 (0,06) ^{ns}
PRT	0,86 (0,04)*	0,87 (0,07) ^{ns}	0,95 (0,06) ^{ns}
	Área foliar		
	75:25	50:50	25:75
DPR Soja	-0,28 (0,04)*	-0,14 (0,05) ^{ns}	-0,07 (0,01)*
DPR Resistente	0,34 (0,04)*	0,26 (0,02)*	0,16 (0,07)*
PRT	1,06 (0,03) ^{ns}	1,12 (0,05) ^{ns}	1,10 (0,06) ^{ns}
DPR Soja	-0,15 (0,04)*	-0,21 (0,03)*	-0,10 (0,02)*
DPR Suscetível	0,25 (0,03)*	0,36 (0,08)*	0,11 (0,12) ^{ns}
PRT	1,09 (0,02)*	1,15 (0,06) ^{ns}	1,01 (0,10) ^{ns}
	Matéria seca		
	75:25	50:50	25:75
DPR Soja	-0,24 (0,06)*	-0,07 (0,07) ^{ns}	-0,02 (0,02) ^{ns}
DPR Resistente	0,34 (0,07)*	0,24 (0,02)*	0,08 (0,10) ^{ns}
PRT	1,09 (0,09) ^{ns}	1,16 (0,05)*	1,01 (0,08) ^{ns}
DPR Soja	-0,15 (0,03)*	-0,18 (0,02)*	-0,08 (0,02)*
DPR Suscetível	0,37 (0,07)*	0,64 (0,03)*	0,47 (0,01)*
PRT	1,22 (0,05)*	1,46 (0,02)*	1,39 (0,04)*

* ou ^{ns} diferenças significativa ou não significativa, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$). Valores entre parênteses indicam erro padrão da média.

O somatório da MST da soja e da buva foi superior ao esperado, indicando que as espécies em mistura produzem mais do que nos monocultivos, embora somente a PRT da combinação de soja e buva suscetível tenha apresentado diferenças significativas (tab. 1). Na combinação de soja com os dois biótipos de buva obteve-se maior incremento na PRT quando as proporções de plantas foram

iguais (Fig. 3). Ainda, o biótipo suscetível se beneficia mais quando na presença da soja comparada ao biótipo resistente.

Não foram realizados experimentos para avaliar a competitividade entre os biótipos de buva, no entanto, verificou-se que as diferenças relativas na competição de soja com esses biótipos indicam que a buva suscetível causa maior dano na cultura. Resultados indicam haver habilidade competitiva equivalente entre os biótipos de *Bidens subalternans* resistentes e suscetíveis a herbicidas inibidores de ALS (LAMEGO et al., 2011), mesmos resultados foram observados por Dal Magro et al. (2011) para biótipos de *Cyperus difformis* resistentes e suscetíveis aos herbicidas inibidores da ALS. Já, a competitividade entre biótipos de *Conyza canadensis* demonstrou que as plantas resistentes obtiveram vantagem competitiva sobre o biótipo suscetível (SHRESTHA et al., 2010).

Os índices CR, K e A apontam a espécie mais competitiva e a interpretação conjunta desses valores indica com maior segurança a competitividade das espécies envolvidas (COUSENS, 1991). A espécie soja é mais competitiva que os biótipos de buva quando $CR > 1$, $K_{soja} > K_{buva}$ e $A > 0$, e os biótipos de buva são mais competitivos que a soja quando $CR < 1$, $K_{soja} < K_{buva}$, e $A < 0$. Os biótipos de buva resistente e suscetível, mostraram-se mais competitivos que a cultura da soja para a MST em todos os índices (tab. 2). Resultado semelhante foi observado para a competição entre soja e buva resistente, considerando somente a AF, no entanto, para o biótipo suscetível não se observou diferenças significativas nos índices de competitividade para essa variável. Para a variável EST na competição entre os biótipos de buva com a soja, melhores índices competitivos foram alcançados pelo do biótipo suscetível, considerando diferenças na competitividade quando pelo menos dois índices apresentassem diferenças (BIANCHI; FLECK; LAMEGO, 2006).

Experimentos substitutivos demonstram que a cultura, geralmente, é mais competitiva do que a espécie daninha, sob níveis adequados de recursos, porque o efeito das infestantes não se deve somente à maior habilidade competitiva individual, mas ao seu grau de infestação (VILÀ; WILLIAMSON; LONSDALE, 2004). No entanto, nas situações deste experimento verificou-se que a planta daninha teve maior habilidade competitiva comparada à cultura da soja. Resultados semelhantes foram encontrados por Juan, Saint-Andre e Fernandez (2003) e Rizzardi et al. (2004), em que quando a cultura da soja está em competição com plantas daninhas magnoliopsidas a cultura é mais prejudicada.

A soja respondeu diferentemente à competição entre os biótipos de buva, em que se pode ressaltar que o biótipo suscetível ao herbicida glifosato foi mais prejudicial na competição comparada com biótipo resistente.

Tabela 2 – Índices de competitividade entre soja e buva, expressos em competitividade relativa coeficientes de agrupamento e de agressividade. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2011

Condição de competição	Competitividade relativa (CR)	Coeficientes de agrupamento (k)		Agressividade (A)
		K (soja)	K (buva)	
Matéria seca				
Soja vs Resistente	0,59 (0,11)*	0,85 (0,26)*	2,84 (0,27)	-0,31 (0,09)*
Soja vs Suscetível	0,28 (0,03)*	0,47 (0,05)*	8,71 (1,22)	-0,82 (0,05)*
Área foliar				
Soja vs Resistente	0,48 (0,07)*	0,60 (0,12)*	3,30 (0,05)	-0,40 (0,06)*
Soja vs Suscetível	0,35 (0,06) ^{ns}	0,40 (0,05) ^{ns}	-0,99 (0,03)	-0,57 (0,10)*
Estatura				
Soja vs Resistente	0,71 (0,14) ^{ns}	0,51 (0,05)*	1,08 (0,19)	-0,17 (0,07) ^{ns}
Soja vs Suscetível	0,56 (0,02)*	0,46 (0,05)*	1,32 (0,24)	-0,24 (0,03)*

* ou ^{ns} diferenças significativa ou não significativa, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$). Valores entre parênteses indicam erro padrão da média.

A convivência da soja com o biótipo suscetível evidenciou que a competição interespecífica foi mais importante, pois todas as variáveis analisadas da soja foram reduzidas com o incremento no número de plantas do biótipo suscetível (tab. 3).

A convivência dos biótipos de buva com a cultura da soja indicou haver benefício para a planta daninha, pois teve interferência positiva no crescimento de ambos os biótipos de buva, especialmente quando a planta daninha encontrava-se em menor ou igual proporção de plantas (tab. 3). O benefício observado para os biótipos de buva na maior proporção da soja indica que a competição intraespecífica é mais importante que a competição interespecífica, uma vez que os biótipos de buva competem mais pelos recursos do meio com plantas da mesma espécie do que com espécies diferentes.

Para o terceiro experimento, as análises gráficas referentes aos compostos fenólicos totais, extravasamento eletrolítico e peroxidação lipídica extraídos das folhas de soja e dos biótipos de buva demonstram que a soja, em competição com o biótipo resistente, obteve maior peroxidação lipídica que o esperado, já os desvios para fenóis totais e extravasamento eletrolítico não foram significativos (Fig. 4 e tab. 4). O biótipo resistente apresentou redução nos fenóis totais, extravasamento

eletrolítico e peroxidação, indicando que quando em associação com a soja não apresenta estresse ocasionado pela competição.

Tabela 3 – Resposta da cultivar de soja CD 226 RR em competição com biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. FAEM/UFPEL, Capão do Leão-RS, 2011

Proporção de plantas	Matéria seca foliar (mg planta ⁻¹)	Matéria seca caulinar (mg planta ⁻¹)	Matéria seca total (mg planta ⁻¹)	Área foliar (cm ² planta ⁻¹)	Estatura (cm)
Soja vs biótipo resistente					
100:0 (T)	780 ^{ns}	720 ^{ns}	1500 ^{ns}	246,8	42,8
75:25	523	465	990	167,0*	32,0*
50:50	675	545	1223	179,6*	28,7*
25:75	705	470	1180	179,4*	27,4*
Soja vs biótipo suscetível					
100:0 (T)	780	720	1500	246,8	42,8
75:25	643 ^{ns}	525*	1170 ^{ns}	196,4 ^{ns}	33,0 ^{ns}
50:50	513*	395*	908*	141,2*	26,7*
25:75	523*	388*	912*	146,2*	25,8*
Biótipo resistente					
0:100 (T)	273	437	710	51,3	45,5 ^{ns}
25:75	275 ^{ns}	455 ^{ns}	730 ^{ns}	62,9 ^{ns}	46,7
50:50	380 ^{ns}	446 ^{ns}	826 ^{ns}	78,6*	45,9
75:25	547*	920*	1469*	121,0*	52,7
Biótipo suscetível					
0:100 (T)	217	371	588	51,0	39,9 ^{ns}
25:75	320 ^{ns}	501 ^{ns}	822 ^{ns}	58,3 ^{ns}	42,6
50:50	444*	829*	1275*	87,7*	43,0
75:25	583*	873*	1457*	101,2*	45,1

* significativo e ^{ns} não significativo, respectivamente, comparando-se com a testemunha (T) pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$).

A resposta da soja em competição com o biótipo suscetível evidenciou, através da variável que indicam estresse oxidativo, que a soja não sofre efeitos dessa competição (Fig. 4, tab. 4). Contudo, os efeitos observados para o biótipo suscetível indicam redução nos fenóis totais e aumento na peroxidação lipídica. A PRT para fenóis foi menor que o esperado para a soma de soja com os biótipos de buva, e para as demais variáveis não ocorrem mudanças no somatório do extravasamento eletrolítico e peroxidação lipídica.

O teor de fenóis totais em plantas é reportado como substâncias responsáveis por atividades alelopáticas (DURINGAN; ALMEIDA, 1993), uma vez em que as plantas possuem a capacidade de interação quando em condição de estresse por competição, tendem a liberar os compostos no ambiente a fim de sinalizar a presença ou inibir o crescimento de plantas vizinhas (BALDWIN et al., 2006).

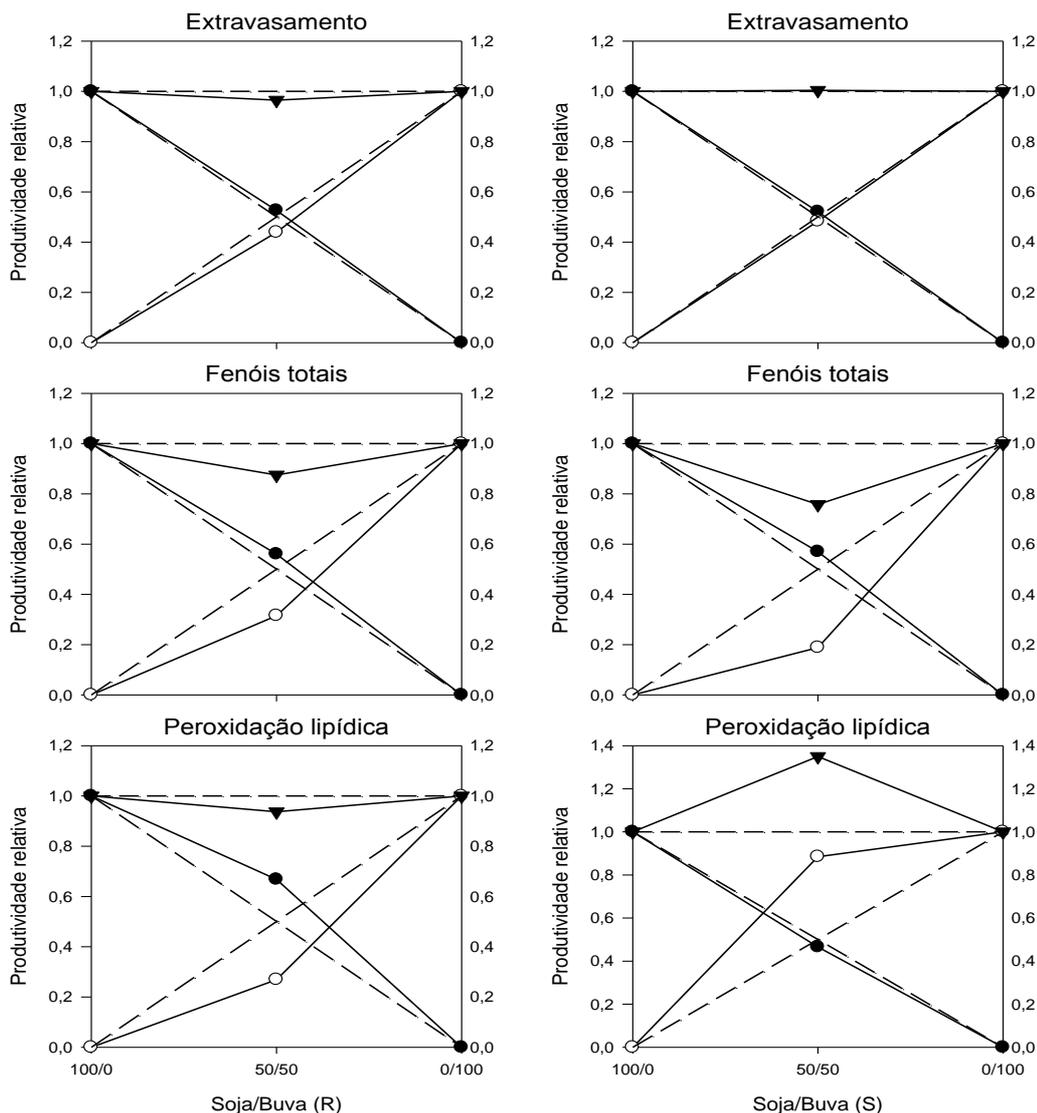


Figura 4 – Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para extravasamento eletrolítico, fenóis totais e peroxidação lipídica em plantas de soja e biótipos de buva resistente (R) e suscetível (S) ao herbicida glifosato. FAEM/UFPel, Capão do Leão, 2011. Círculo cheio e vazio representam a PR da soja e da buva, respectivamente, e triângulo indica a PRT. As linhas tracejadas referem-se às produtividades relativas hipotéticas, quando não ocorre interferência de uma espécie sobre a outra.

A peroxidação lipídica é indicativo de estresse oxidativo, em que a competição entre as espécies induz a produção de maior quantidade de radicais livres que desencadeiam o processo de peroxidação das membranas das células (KRUSE et al., 2006). Dentre os efeitos relacionados à competição capazes de gerar estresse oxidativo podem ser relacionada à competição por luz, competição por nutrientes e efeito alelopático, uma vez que compostos alelopáticos são capazes de

gerar espécies de oxigênio reativas que são os precursores do dano oxidativo nas células das plantas (ALMEIDA et al., 2008).

Tabela 4 – Diferenças de produtividade relativa (DPR) e de produtividade relativa total (PRT), dos fenóis totais, extravasamento e peroxidação lipídica (MDA) de soja e biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2011

Variável	Proporção de plantas 50:50 (soja:buva)		
	Fenóis totais	Extravasamento eletrolítico	Peroxidação lipídica
	Soja:buva resistente		
DPR Soja	0,06 (0,02) ^{ns}	0,03 (0,01) ^{ns}	0,17 (0,02)*
DPR Resistente	-0,18 (0,01)*	-0,06 (0,01)*	-0,23 (0,02)*
PRT	0,88 (0,02)*	0,97 (0,03) ^{ns}	0,94 (0,02) ^{ns}
	Soja:buva suscetível		
DPR Soja	0,07 (0,03) ^{ns}	0,02 (<0,01) ^{ns}	-0,03 (0,10) ^{ns}
DPR Suscetível	-0,31 (<0,01)*	-0,02 (<0,01) ^{ns}	0,31 (0,04)*
PRT	0,76 (0,04)*	1,00 (0,01) ^{ns}	1,27 (0,13) ^{ns}

* ou ^{ns} diferenças significativas ou não significativas, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$). Valores entre parênteses indicam erro padrão da média.

Os efeitos de danos celulares, por meio da peroxidação lipídica, na competição entre arroz e capim arroz indicam que a competição intraespecífica causa maiores danos comparada com a competição com capim-arroz (LANGARO et al., 2011).

Os índices de competitividade relativa (CR), coeficiente de agrupamento (K) e agressividade (A) foram calculados para comparar os efeitos fisiológicos da competição entre soja e os biótipos de buva, sendo que quando $CR > 1$, $K_{soja} > K_{buva}$ e $A > 0$, significa que a soja respondeu na ordem de prevenir os efeitos da competição quando se avalia fenóis totais, e maiores danos fisiológicos, quando avaliados extravasamento eletrolítico e peroxidação lipídica, adotando-se como critério que ao menos dois índices apresentem diferenças.

Com base nos fenóis totais e extravasamento eletrolítico, em todos os índices, observou-se maior produção nessas variáveis pela cultura em competição com os biótipos de buva, indicando que a soja sofreu mais quanto aos efeitos da competição (tab. 5). Já, para peroxidação lipídica ocorrem maiores efeitos na soja em competição com o biótipo resistente, enquanto que os índices não foram

significativos para a competição com o biótipo suscetível. Os fenóis são produtos do metabolismo secundário das plantas e servem como mecanismos de defesa, e evidenciam que a cultura ativou mecanismos de defesa, quando em associação com planta daninha. Os resultados em conjunto indicam que a cultura sofre alterações no seu metabolismo em função da competição com ambos os biótipos de buva.

Tabela 5 – Índices de competitividade entre soja e buva, expressos em competitividade relativa coeficientes de agrupamento e de agressividade. FAEM/UFPel, Capão do Leão, 2011

Condição de competição	Competitividade relativa (CR)	Coeficientes de agrupamento (k)		Agressividade (A)
		K (soja)	K (buva)	
Fenóis totais				
Soja vs Resistente	1,79 (0,11)*	1,28 (0,11)*	0,46 (0,03)	0,25 (0,03)*
Soja vs Suscetível	3,03 (0,11)*	1,35 (0,16)*	0,23 (0,01)	0,38 (0,03)*
Extravasamento				
Soja vs Resistente	1,20 (0,01)*	1,11 (0,06)*	0,78 (0,07)	0,09 (0,01)*
Soja vs Suscetível	1,08 (0,01)*	1,09 (0,01)*	0,94 (0,01)	0,04 (0,01)*
Peroxidação lipídica				
Soja vs Resistente	2,52 (0,21)*	2,01(0,01)*	0,37 (0,04)	0,40 (0,02) ^{ns}
Soja vs Suscetível	0,58 (0,14) ^{ns}	1,06 (0,49) ^{ns}	4,77 (1,44)	-0,34 (0,12) ^{ns}

* ou ^{ns} diferenças significativa ou não significativa, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$). Valores entre parênteses indicam erro padrão da média.

A síntese de compostos fenólicos pelas plantas é resposta a injúrias físicas, infecção por patógenos, temperatura entre outros efeitos (RIVERO et al., 2001). A competição de arroz cultivado com arroz-vermelho indicou que a planta daninha obteve maior suporte para competir com a cultura, por ter desencadeado no seu metabolismo secundário maior produção de compostos fenólicos frente ao estresse, como forma de defesa (LANGARO et al., 2011). Os compostos fenólicos possuem a capacidade de inibir o crescimento de fixadores de nitrogênio dos gêneros *Azotobacter* sp., *Enterobacter* sp. e *Clostridium* sp., além de influenciar no acúmulo e disponibilidade de fostato, uma vez que competem pelos sítios de absorção nas micelas das argilas (RICE, 1992; DAKSHINI; FOY; INDERJIT, 1999).

A competição com os biótipos de buva geraram modificação no metabolismo das plantas de soja induzindo o sistema de defesa pelo aumento da produção de compostos fenólicos e estresse oxidativo. O uso do extravasamento tem sido utilizado para verificar injúrias ocasionadas por herbicidas, em consequência direta do dano nas membranas celulares em função do aumento da peroxidação lipídica

(KRUSE et al., 2006), contudo, pode apresentar importante parâmetro para determinação de danos as células de plantas em condições de competição.

No quarto experimento, a PR da EST da soja quando em competição com buva roseta sofreu prejuízo no seu crescimento, enquanto que a buva não apresentou desvios significativos em relação às retas esperadas (tab. 6, Fig. 5). A PRT para a variável EST foi inferior a 1, sugerindo que a soja e a buva roseta apresentam prejuízos mútuos em seu desenvolvimento. Já, para a competição de soja ou buva de 15 cm não se verificou diferenças da EST na PR e PRT. Quando ocorre competição por luz as plantas tendem a crescer a fim de evitar o sombreamento pelo competidor, e neste caso em que a planta daninha possui menor porte que a soja, não foi verificada competição por recursos luminosos.

Tabela 6 – Diferenças na produtividade relativas (DPR) e produtividade relativa total (PRT) para a variável massa seca da parte aérea da cultivar de soja BRS Estância RR e buva de diferentes estádios de desenvolvimento. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010

	Proporção de plantas associadas (soja:buva)		
	75:25	50:50	25:75
	Estatura		
DPR Soja	-0,08 (0,02)*	-0,03 (0,01)*	0,01 (0,01) ^{ns}
DPR Buva roseta	-0,04 (0,02) ^{ns}	-0,13 (0,03)*	-0,09 (0,06) ^{ns}
PRT	0,88 (0,02)*	0,84 (0,03)*	0,92 (0,04) ^{ns}
DPR Soja	0,07 (0,02)*	0,04 (0,01) ^{ns}	0,03 (0,03) ^{ns}
DPR Buva 15 cm	-0,05 (0,02) ^{ns}	0,00 (0,04) ^{ns}	0,00 (0,08) ^{ns}
PRT	1,03 (0,04) ^{ns}	1,04 (0,04) ^{ns}	1,03 (0,07) ^{ns}
	Matéria seca		
DPR Soja	0,02 (0,03) ^{ns}	0,22 (0,04)*	0,24 (0,03)*
DPR Buva roseta	-0,08 (0,03) ^{ns}	-0,29 (0,03)*	-0,33 (0,06)*
PRT	0,94 (0,01)*	0,93 (0,02)*	0,90 (0,09) ^{ns}
DPR Soja	0,13 (0,03)*	0,13 (0,03) ^{ns}	0,02 (0,05) ^{ns}
DPR Buva 15 cm	-0,13 (0,02)*	-0,06 (0,04) ^{ns}	0,00 (0,13) ^{ns}
PRT	1,00 (0,02) ^{ns}	1,07 (0,09) ^{ns}	1,02 (0,15) ^{ns}

* ou ^{ns} diferenças significativa ou não significativa, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$). Valores entre parênteses representam o erro-padrão da média.

A PR para MST da buva roseta foi representada por linha côncava, tendo valores inferiores aos das retas estimadas pelo gráfico e as de soja por linha convexa (Fig. 5, tab. 6). Estes resultados indicam que existe interação das espécies pelos mesmos recursos do ambiente, e sugerem que as plantas de soja são mais hábeis na captação de recursos do meio. A PRT foi menor que 1 para a competição

entre soja e buva roseta, indicando neste que ambas as espécies apresentam prejuízos em seu desenvolvimento. Já, para PR e PRT da buva de 15 cm quando associada com a soja não foram observadas diferenças entre as retas estimadas e as retas esperadas.

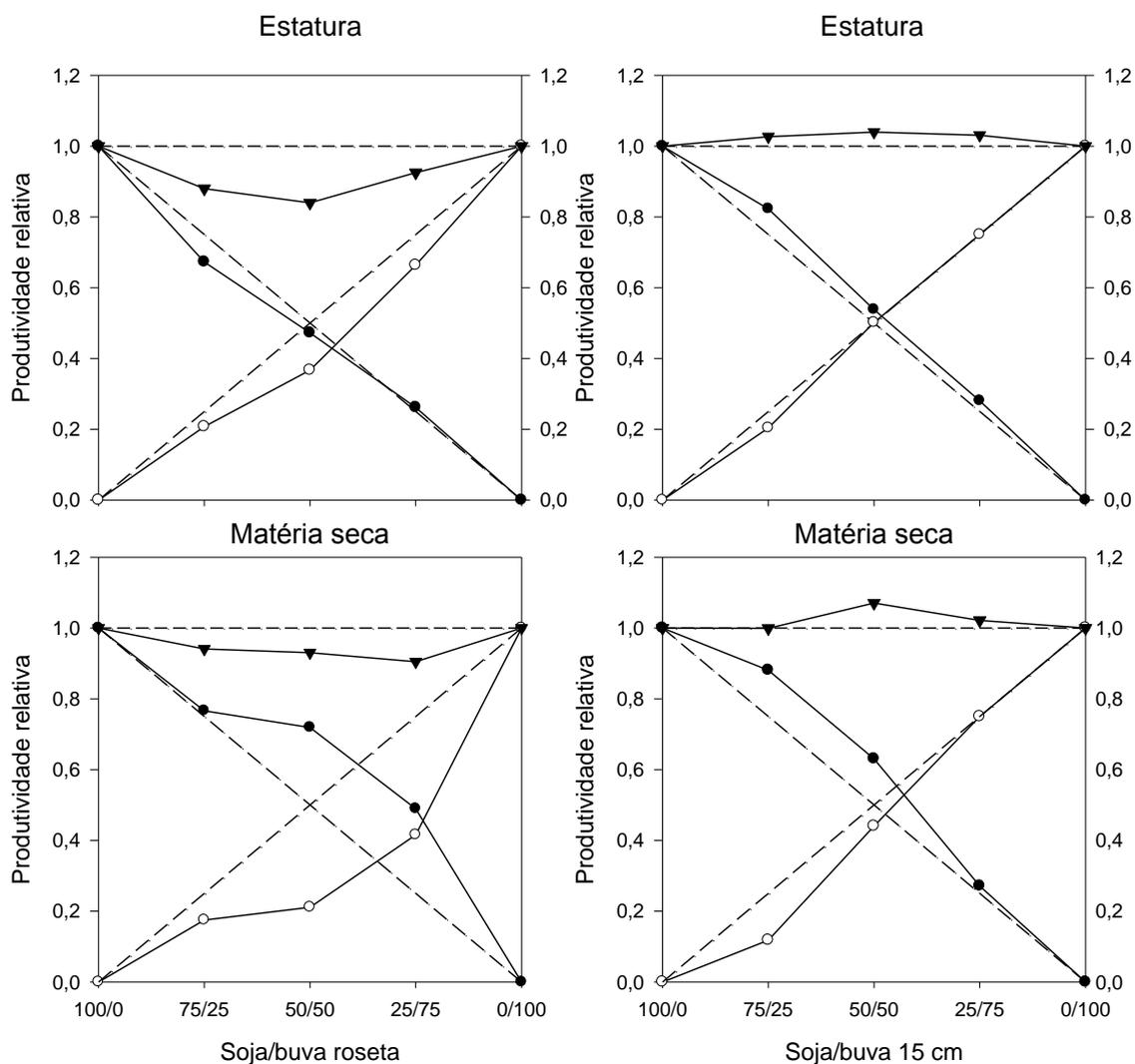


Figura 5 – Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para estatura e matéria seca da cultivar de soja BRS Estância RR e buva roseta e de 15 cm. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010. Círculos cheio e vazio representam a PR da soja e da buva, respectivamente, e indica a PRT. As linhas tracejadas referem-se às produtividades relativas hipotéticas, quando não ocorre interferência de uma espécie sobre a outra.

Observaram-se diferenças para o índice CR para a competição de soja com a buva nos dois estádios de desenvolvimento, demonstrando que a soja foi mais competitiva em ambas as situações de competição em relação à MST (tab. 7). Da mesma forma, ocorreu dominância da soja sobre as plantas de buva, indicados

pelos índices K e A. Contudo, EST de plantas, não mostrou a mesma tendência observada na MST.

Tabela 7 – Índices de competitividade da cultivar de soja BRS Estância RR e Buva, expressos em competitividade relativa, coeficientes de agrupamento e de agressividade obtidos pela matéria seca total e estatura. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010

Condição de competição	Competitividade relativa (CR)	Coeficientes de agrupamento (k)		Agressividade (A)
		K (soja)	K (buva)	
		Estatura		
Soja vs buva roseta	1,32 (0,13) ^{ns}	0,89 (0,03)*	0,59(0,07) ^{ns}	0,10 (0,03) ^{ns}
Soja vs buva de 15 cm	1,09 (0,08) ^{ns}	1,18 (1,00) ^{ns}	1,04(1,15) ^{ns}	0,04 (0,04) ^{ns}
		Matéria seca total		
Soja vs buva roseta	2,77 (0,10)*	3,34 (0,04)*	0,27(0,06) ^{ns}	0,51 (0,08)*
Soja vs buva de 15 cm	1,45 (0,15)*	1,99 (0,08) ^{ns}	0,81(0,02) ^{ns}	0,19 (0,06)*

* ou ^{ns} diferenças significativas ou não significativas, respectivamente, pelo teste “t” ($p \leq 0,05$). Valores entre parênteses representam o erro-padrão da média.

No crescimento relativo da soja, a EST não apresentou modificações significativas quando em convivência com ambas as plantas de buva (tab. 8). Para a variável AF da soja a competição intraespecífica foi mais importante em ambas às competições. Quando a soja participou com proporções de 50 e 25%, as variáveis AF, MSF, MSC e MST foram superiores ao monocultivo para a competição com buva roseta, contudo, na competição com buva de 15 cm as relações intra e interespecífica se equivaleram. A maior capacidade de ramificação da soja, na presença de uma planta daninha, que possui crescimento ereto, pode ter influencia no aumento nessas variáveis. A competição de soja com arroz vermelho também demonstrou a mesma tendência no aumento das variáveis matéria seca e área foliar da soja quando em competição interespecífica (MORAES et al., 2009).

Para a EST da buva roseta não houve diferenças nas proporções em relação à testemunha, já para buva de 15 cm foi observada redução na EST quando conviveu em menor proporção com a cultura da soja (tab. 8). A MST da buva roseta foi reduzida quando participou com proporção igual ou superior em relação às proporções da soja, indicando que a buva tende a sofrer competição interespecífica na presença da cultura. Já, para a buva de 15 cm a MST foi reduzida quando as plantas estavam na proporção igual ou inferior a proporção de soja, indicando competição interespecífica.

O desenvolvimento das plantas daninhas possui relação direta com os efeitos negativos em competição com culturas, onde pode ser verificado que plantas de *Brachiaria brizantha* emergidas anteriormente à soja, causam um atraso no desenvolvimento da cultura (SILVA et al., 2005). A emergência antecipada das plantas daninhas picão-preto e guaxuma em relação à soja aumentam os efeitos negativos sobre a cultura, provocando decréscimo nas características morfológicas e na produtividade da cultura (FLECK et al., 2004).

Tabela 8 – Resposta da cultivar de soja BRS Estância RR à interferência de buva de diferentes estádios de desenvolvimento, quanto à área foliar (AF), estatura, matéria seca foliar (MSF), matéria seca do caule (MSC) e matéria seca total (MST). Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010

Proporção de plantas (soja/buva)	Estatura (cm)	AF (cm ² planta ⁻¹)	MSF (mg planta ⁻¹)	MSC (mg planta ⁻¹)	MST (mg planta ⁻¹)
Soja vs buva roseta					
100:0 (T)	97,75 ^{ns}	418,85	1,12	1,46	2,57
75:25	87,66	464,08 ^{ns}	1,15 ^{ns}	1,48 ^{ns}	2,63 ^{ns}
50:50	92,33	580,08*	1,63*	2,08*	3,70*
25:75	102,33	926,25*	2,36*	2,68*	5,04*
Soja vs buva de 15 cm					
100:0 (T)	97,75 ^{ns}	418,87	1,12 ^{ns}	1,46 ^{ns}	2,57 ^{ns}
75:25	107,33	450,94 ^{ns}	1,35	1,67	3,02
50:50	105,25	611,83*	1,48	1,77	3,25
25:75	109,75	602,00*	1,33	1,46	2,79
Buva roseta					
0:100 (T)	21,60 ^{ns}	-	-	-	0,39
25:75	21,60	-	-	-	0,24*
50:50	18,00	-	-	-	0,19*
75:25	20,33	-	-	-	0,27 ^{ns}
Buva de 15 cm					
0:100 (T)	82,75 ^{ns}	-	-	-	1,12
25:75	83,00 ^{ns}	-	-	-	0,99 ^{ns}
50:50	67,50 ^{ns}	-	-	-	0,53*
75:25	51,70*	-	-	-	0,37*

* ou ^{ns} diferenças significativa ou não significativa, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$). “-” dados não mensurados.

No quinto experimento, que objetivou a separação das condições de competição por recursos do solo e luz, não foi verificada interação entre os fatores condições de competição e estágio de desenvolvimento de buva para as variáveis morfológicas da soja.

As condições de competição não afetaram a EST das plantas de soja quando em competição com buva roseta ou buva de 15 cm (tab. 9). Contudo, a EST foi superior quando em competição com buva roseta pelos recursos de solo e luz, se comparada com a competição com buva de 15 cm. O rápido crescimento em

estatura de plantas é uma característica desejável para supressão de competição entre cultura e planta daninha, dando vantagens competitivas em concorrência por luz, permitindo que a cultura sombreie a espécie competidora (OGG JR.; SEEFELDT, 1999).

Tabela 9 – Efeito da competição de buva de diferentes estádios na estatura de soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010

Condição de competição	Estatura soja (cm)	
	Buva roseta	Buva 15 cm
Solo	*101,75 ^{NS}	87,63 ^{NS}
Luz	*110,83	92,25
Solo+Luz	^{ns} 95,75	88,87
Nula	^{ns} 96,00	93,75

* e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, na comparação entre os estádios de buva pelo teste t ($p \leq 0,05$). ^{NS} não significativo na coluna pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

As condições de competição não afetaram a MST das plantas de soja quando competiam com buva roseta ou de 15 cm, somente verificou-se efeito entre os estádios de desenvolvimento da planta daninha, em que a MST da soja foi reduzida quando a soja estava em associação com a planta daninha mais desenvolvida (Fig. 6). Bianchi, Fleck e Dillenburg (2006) verificaram que a condição de competição por recursos de solo foi mais importante para a competição de soja com plantas concorrentes.

Plantas que apresentam maior crescimento e desenvolvimento de massa radicular, de maneira geral, são mais competitivas, sobretudo pela maior habilidade de extrair água em profundidade (GRIEU et al., 2001). A habilidade de ocupação espacial pelas raízes tem importância primária na competição por recursos do solo, e destacam-se a taxa de crescimento relativo, biomassa, densidade de pêlos radiculares e área superficial como características necessárias para uma planta ter uma boa habilidade competitiva (CASPER; JACKSON, 1997).

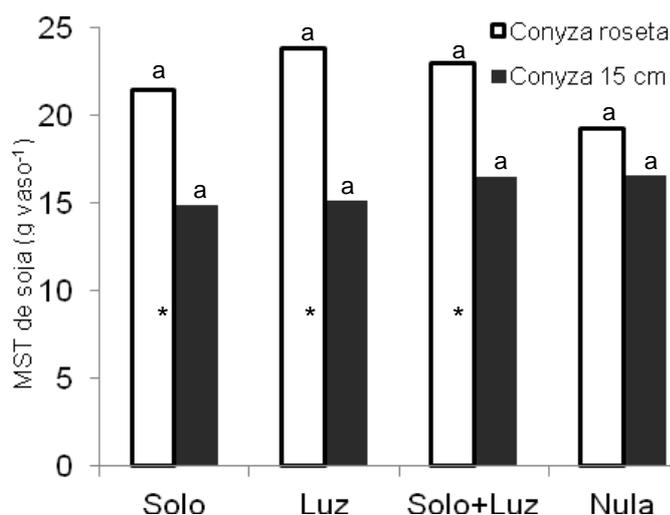


Figura 6 – Matéria seca total (MST) de soja em competição com buva de diferentes estádios de desenvolvimento em diferentes condições de competição. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010. Colunas de mesma textura não diferem entre si quando sobrescritas com a mesma letra; para colunas de texturas diferentes, o “*” indica diferença significativa; os valores foram testados pelo teste Duncan para condições de competição e teste “t” para diferentes estádios de desenvolvimento de buva a 5% de probabilidade do erro.

Para as variáveis AF, MSF e MSC da soja foi verificado apenas efeito dos estádios da buva, dentro de cada condição de competição (tab. 10). Para a variável AF da soja a competição por recursos luminosos teve maior importância quando em associação com a buva de 15 cm, nas demais situações de competição não houve diferenças da soja competindo com as buvas de diferentes estádios de desenvolvimento. O sombreamento é uma característica relacionada com a área foliar das plantas, e determina o grau de importância na competição pelo recurso luminosidade solar (MORALES-PAYAN et al.,2003).

Para as variáveis MSF e MSC da soja verificou-se menor efeito da competição quando em associação com buva roseta em todas as condições de competição comparadas com a buva de maior estágio (tab.10).

Tabela 10 – Efeito da competição de buva nas variáveis área foliar (AF), matéria seca foliar (MSF), matéria seca caulinar (MSC) da soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010

Condições de competição	AF (cm ²)		MSF (g)		MSC (g)	
	Buva roseta	Buva 15 cm	Buva roseta	Buva 15 cm	Buva roseta	Buva 15 cm
Solo	^{ns} 2994 ^{NS}	2443 ^{NS}	*10,32 ^{NS}	7,04 ^{NS}	*11,09 ^{NS}	7,86 ^{NS}
Luz	* 3642	2456	*11,84	7,00	*11,94	8,16
Solo+Luz	^{ns} 3301	2647	*11,63	7,54	*11,32	8,97
Nula	^{ns} 3048	2507	* 9,52	7,54	^{ns} 9,68	9,05

* e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, na comparação entre os estádios de buva pelo teste t (p≤0,05). ^{NS} não significativo na coluna pelo teste de Duncan (p≤0,05).

O IAF, RMF e AFE da soja não foram alterados em função das condições de competição com buva roseta ou buva de 15 cm, contudo comparando-se os estádios de desenvolvimento da buva foi verificada uma redução no IAF da soja quando em competição por recursos de luz associado à buva de 15 cm (tab.11). A competição por recursos de solo entre soja e buva roseta foi mais importante na redução da RAF, indicando que a competição reduziu a área foliar em relação a MST das plantas de soja. Na comparação da competição entre soja e buva roseta e buva de 15 cm não foram verificadas diferenças entre elas dentro de cada condição de competição para RAF, igualmente entre as condições de competição para a buva de 15 cm.

Tabela 11 – Índice de área foliar (IAF), razão da área foliar (RAF) razão da massa foliar (RMF) e área foliar específica (AFE) das plantas de soja em função da competição com buva. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2010

Condições de competição	IAF (cm ² folha / cm ² solo)		RAF (cm ² folha / g planta)		RMF (g folha / g planta)		AFE (cm ² folha / g folha)	
	Buva roseta	Buva 15 cm	Buva roseta	Buva 15 cm	Buva roseta	Buva 15 cm	Buva roseta	Buva 15 cm
	Solo	^{ns} 14,4 ^{NS}	11,8 ^{NS}	^{ns} 139 b	162,9 ^{NS}	^{ns} 0,482 ^{NS}	0,474 ^{NS}	^{ns} 290 ^{NS}
Luz	* 17,5	11,8	^{ns} 153 ab	162,2	* 0,499	0,462	* 307	351
Solo+Luz	^{ns} 15,9	12,7	^{ns} 144 ab	159,2	* 0,506	0,457	^{ns} 286	349
Nula	^{ns} 14,7	12,1	^{ns} 160 a	151,6	* 0,496	0,455	^{ns} 322	333

* e ^{ns} significativo e não significativo, respectivamente, na comparação entre os estádios de buva pelo teste t (p≤0,05). ^{NS} não significativo e médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan (p≤0,05).

A competição de soja com buva de 15 cm reduziu a RMF da soja na situação de competição nula, luz e solo+luz, comparados com a competição com buva roseta, que por sua vez alocou seus fotoassimilados para estruturas como pecíolos ramos e caules (maior RMF) (tab. 11). A expansão foliar da soja, indicada

pela maior AFE, foi maior quando em competição por recurso de luz com a buva de 15 cm, indicando que nesse caso a planta redistribuiu seus fotoassimilados para as folhas ou invés do caule. A maior distribuição de fotoassimilados para formação de folhas aumenta a capacidade das plantas em sombrear plantas concorrentes e representa requisito fundamental para o sucesso competitivo (BALBINOT Jr et al., 2003).

2.4 Conclusões

A cultivar de soja CD 226 RR possui menor habilidade competitiva que os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato, e dentre os biótipos, a buva suscetível causa maiores danos à cultura da soja.

Nas relações de competição, a interespecífica foi mais importante para a soja em convivência com ambos os biótipos, e a intraespecífica foi mais importante para os biótipos de buva resistente e suscetível a glifosato.

A relação de competição interespecífica não provoca distúrbio na produção de compostos fenólicos e extravasamento eletrolítico pela cultura, no entanto, a competição intraespecífica foi mais importante para ambos os biótipos de buva, afetando a produção desses compostos. Com relação a peroxidação lipídica, a cultura foi mais afetada na competição com o biótipo resistente, já na convivência da soja com o biótipo suscetível, a planta daninha foi mais afetada.

A cultivar de soja BRS Estância RR possui maior habilidade competitiva que as plantas de buva independente do estágio de desenvolvimento da planta daninha. A competição intraespecífica é mais importante para a cultura quando em competição com buva em estágio de roseta. Na situação de convivência entre soja e buva de 15 cm, as relações inter e intraespecífica se equivalem.

As condições de competição por recursos do solo e luz com a buva não afetam o desenvolvimento da soja BRS Estância RR. O efeito da competição da buva de 15 cm por recursos de solo e luz é maior comparada com buva em estágio de roseta.

3. Capítulo II – Interferência de *Conyza bonariensis* resistente ao herbicida glifosato na cultura da soja.

3.1 Introdução

O Rio Grande do Sul (RS) é um dos principais produtores de soja do Brasil, com área cultivada de 4,2 milhões de ha (CONAB, 2012). Na última década, a área cultivada com a oleaginosa cresceu mais de 40% no RS, e um dos principais motivos deste aumento foi a introdução da soja resistente ao herbicida glifosato. A rápida adoção desta tecnologia se deve à flexibilidade no manejo de plantas daninhas, ao maior espectro de controle e ao baixo risco de injúrias à cultura, independente do estágio de desenvolvimento (MULUGETA; BOERBOOM, 2000; REDDY; WHITING, 2000).

O cultivo da soja resistente ao herbicida glifosato proporcionou aumento considerável no uso da molécula, a qual passou a ser utilizada de duas a três aplicações por ciclo da cultura (VARGAS et al., 2007). Este cenário, do uso repetido de uma única molécula na soja, aumentou a pressão de seleção sobre as plantas daninhas. A partir da safra 2004/05 observou-se controle insatisfatório para *Conyza bonariensis* (buva) em diversas lavouras do RS, onde essas plantas eram controladas com sucesso em dessecação pré-semeadura e até mesmo em estádios de desenvolvimento avançados (VARGAS et al., 2007).

Com a evolução da resistência das espécies de *Conyza* sp. muitas lavouras de soja apresentam altas infestações de buva, devido à falta de controle, principalmente em áreas em que não foi realizado manejo outonal, tornando-a uma das principais plantas daninhas no cultivo da soja. Dentre as características da

espécie, a capacidade de dispersão pelo vento e a habilidade reprodutiva, podendo produzir mais de 700 mil sementes por planta, tornam-na eficiente na infestação das lavouras (SHRESTHA et al., 2010). *C. canadensis*, em população de 150 plantas m⁻², reduziu em 83% a produtividade de grãos de soja cultivada no sistema de semeadura direta (BRUCE; KELLS, 1990). Já, população de 44 plantas m⁻² de *Conyza* sp. foi capaz de reduzir 70% a produtividade da soja (RICCI et al., 2010).

O comportamento da soja em competição depende da população da planta daninha, da espécie e das condições ambientais, como temperatura, radiação solar, disponibilidade hídrica e disponibilidade de nutrientes. A cultura da soja é menos eficiente em extrair água do solo do que algumas plantas daninhas, além disso, a população da planta daninha, geralmente, é superior à cultura, tornando a daninha mais competitiva pelos recursos do meio (PROCÓPIO et al., 2005).

A cultura da soja é capaz de suportar competição inicial com plantas daninhas, sem que ocorram prejuízos na produtividade (JANNINK; JORDAN; ORF, 2001). No entanto, práticas de manejo como escolha da cultivar, espaçamento, população de plantas, época de semeadura e sistema de cultivo influenciam no tempo de convivência das plantas daninhas com a cultura (SILVA et al., 2007). Em geral, as plantas daninhas devem ser controladas a partir de 10 dias após emergência (DAE) da soja, podendo chegar até 76 DAE (CONSTATIN et al., 2007; NEPOMUCENO et al., 2007).

O período que a cultura pode conviver na presença de plantas daninhas, sem que ocorram perdas na produtividade, é conhecido como período anterior à interferência (PAI) (PITTELKOW et al., 2009). O período total de prevenção à interferência (PTPI) refere-se ao tempo, a partir da emergência da cultura, em que se deve ficar livre da presença de plantas competidoras para que sua produtividade não seja afetada (PITELLI; DURIGAN, 1984). Por sua vez, o período crítico de prevenção da interferência (PCPI) se localiza entre os limites máximos dos dois períodos citados anteriormente, é a fase em que as práticas de controle deveriam ser efetivamente adotadas para prevenir perdas na produtividade das culturas (EVANS et al., 2003).

A maioria dos estudos de competição entre culturas e plantas daninhas avaliam os efeitos sobre variáveis morfológicas ou da produtividade, sem levar em consideração as características fisiológicas que são modificadas na competição. Os fatores fisiológicos são relacionados com as respostas morfológicas das plantas em

competição. Um importante fator relacionado à competição é a taxa fotossintética das plantas que se correlacionam com as mudanças morfológicas em detrimento à competição. A taxa fotossintética de *Atriplex prostrata* quando em baixas populações foi duas vezes maior quando comparadas com altas populações (WANG; SHOWALTER; UNGAR, 2005). O sombreamento e a radiação fotossinteticamente ativa também são fatores que interferem na fotossíntese e nas trocas gasosas pelas plantas (NAVES-BARBIERO et al., 2000).

O conhecimento dos períodos de interferência pode ser usado para recomendações das épocas de aplicações de herbicidas, posicionando o melhor manejo das plantas daninhas nas culturas. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar a interferência dos períodos de controle e de convivência de buva resistente ao herbicida glifosato sobre variáveis morfológicas, parâmetros fotossintéticos e produtividade da cultura da soja RR.

3.2 Material e métodos

Foi conduzido experimento no ano agrícola 2011/12, na Estação Experimental da Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS. O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico, de textura argilosa, pertencente à unidade de mapeamento Passo Fundo (EMBRAPA, 2009). O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições, sendo que cada unidade experimental ocupou 11,25 m² (2,25 x 5 m), constando de cinco fileiras de soja espaçadas de 0,45 m. A semeadura da soja, cultivar BRS Estância RR, foi realizada dia 27 de outubro de 2011 e a população estabelecida foi de 21 plantas m⁻².

O experimento foi composto por dois fatores: períodos de controle e de convivência da planta daninha com a cultura. No período de controle, a cultura foi mantida livre da presença da planta daninha buva por períodos crescentes de 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 154 DAE, em que a planta daninha era controlada até essas épocas. No período de convivência, a cultura foi mantida na presença de plantas daninhas pelos mesmos períodos descritos anteriormente, sendo as unidades experimentais mantidas sem a planta daninha após o período. A remoção das

plantas daninhas foi realizada com capina manual em cada período. As plantas de buva nessa área possuem histórico de resistência ao herbicida glifosato. O manejo antes da semeadura da soja foi realizado com duas dessecações com glifosato (1080 g e.a. ha⁻¹) e cletodim (120 g i.a. ha⁻¹), aos 85 e 20 dias antes da semeadura da soja, permanecendo somente plantas de buva resistentes ao glifosato, em população média de 37 plantas m⁻². Por ocasião da emergência da soja as plantas de buva encontravam-se com estatura de até 15 cm. Após a emergência da soja foram realizadas duas aplicações de glifosato (720 g e.a. ha⁻¹) em pós-emergência aos 14 e 28 DAE da soja para controle das demais espécies daninhas.

Aos 80 DAE, ocasião em que a soja encontrava-se em fase de florescimento foram realizadas avaliações do número de trifólios (NT), área foliar (AF), matéria seca foliar (MSF), matéria seca caulinar (MSC) e matéria seca total (MST), e as variáveis fotossintéticas das plantas de soja, para cada período de convivência ou de controle. Para determinação das variáveis morfológicas, realizou-se a coleta de plantas em 0,225 m² de cada unidade experimental. Após a contagem do número de trifólios, as folhas foram destacadas das plantas, retirado os pecíolos e mensurada a área foliar por meio de determinador de área foliar (LICOR 3100). Para as variáveis MSF e MSC, parte das folhas e caules foram separados e as amostras foram seca em estufa a 60 °C por 72 horas. Nas plantas de soja as variáveis fotossintéticas avaliadas foram fotossíntese líquida (A), taxa de transpiração (E), condutância estomática (gs), concentração de CO₂ subestomática (Ci) das plantas de soja usando analisador de gás infra-vermelho (IRGA, modelo LI-6400 XT), e para esta determinação as avaliações foram realizadas pela parte da manhã, tomando-se a última folha totalmente expandida.

Por ocasião da colheita da soja, realizada aos 154 DAE, foi determinada a estatura (EST) de plantas com auxílio de régua graduada, escolhendo-se, aleatoriamente, seis plantas por parcela, tomando-se a medida desde o nível do solo até o ápice. A produtividade de grãos de soja foi determinada em área de 5,13 m² (3,8 x 1,35 m), colhendo-se as três fileiras centrais da unidade experimental e, após a pesagem dos grãos, foi determinado à umidade e corrigido para a 13% e a produtividade expressa em kg ha⁻¹.

Os dados foram submetidos à análise de variância, através do teste F, e quando significativo utilizou o teste t ($p \leq 0,05$) para a comparação entre as médias dentro de cada período de controle ou convivência, ou Tukey ($p \leq 0,05$) para a

comparação entre os períodos. As variáveis fotossintéticas foram submetidos à análise de regressão pelo modelo exponencial, através da equação $y = y_0 + a * e^{(-b * x)}$, e comparação pelo teste de diferença mínima significativa (DMS) ($p \leq 0,05$). Para a produtividade de grãos os dados foram submetidos à análise de regressão pelo modelo logístico, através da equação $y = y_0 + a / (1 + (x/x_0)^b)$, em que: y = produtividade de grãos; y_0 = produtividade mínima obtida na testemunha infestada; a = diferença entre a produtividade obtida na testemunha limpa e a testemunha infestada; x = número de dias após a emergência da cultura; x_0 = número de dias em que ocorrem 50% da redução; e b = declividade da curva.

A curva de perda de produtividade foi segmentada em equações lineares, para obtenção das declividades de cada segmento da reta, sendo que para determinar o número de pontos em cada segmentação, considerou-se o maior valor do coeficiente de determinação. Foram elaboradas matrizes de correlação de Pearson ($p \leq 0,05$) para variáveis morfológicas e os parâmetros fotossintéticos.

Com base na equação de regressão para a produtividade da soja foi determinado o período crítico de interferência de buva subtraindo-se 5% na produtividade em relação ao tratamento em que foi livre da presença da planta daninha durante todo o ciclo da cultura, sendo este valor considerado o custo de controle da espécie.

3.3 Resultados e discussão

Foi verificado interação entre os fatores períodos de controle e convivência para todas as variáveis avaliadas. Para a variável EST pode ser verificado que no período de controle não ocorreram diferenças, contudo, para os períodos de convivência os resultados indicam que a permanência da planta daninha por período superior a 35 DAE resulta em decréscimo na EST da soja (tab.12). Na comparação entre os períodos, aos 28 DAE da soja ocorrem reduções na EST da cultura quando em convivência com a planta daninha. Normalmente, quando em competição com plantas daninhas, a cultura tende a aumentar a estatura, a fim de obter vantagem na competição por luz, como observado para competição de trigo com azevém e nabo (AGOSTINETTO et al., 2008) e de soja em competição com nabo, picão preto e

guanxuma (BIANCHI; FLECK; FEDERIZZI, 2006). Alterações na qualidade e intensidade da luz principalmente sobre a taxa de luz vermelha ou luz vermelha longa, incidente sobre as plantas afetam o desenvolvimento da cultura de soja (BALLARE; SCOPEL; SANCHEZ, 1990).

O número de trifólios não foi alterado nos períodos de controle e a convivência de buva com a cultura da soja somente reduziu o número de trifólios quando esse período foi superior a 35 DAE (tab.12). Entre os períodos, o número de trifólios foi superior quando a planta daninha foi controlada a partir de 42 DAE da soja. Para a variável AF da soja ocorreram reduções quando a buva conviveu durante 35 DAE com a soja e, quando não foi controlada durante todo o período, a redução foi de 70%. Entre os períodos verificaram-se diferenças a partir dos 28 DAE, sendo maiores nos períodos em que a planta daninha foi controlada. Plantas de soja portadoras de maior área foliar sombrearam mais intensamente as plantas concorrentes, resultando em prejuízo no crescimento e desenvolvimento da planta daninha (BIANCHI; FLECK; FEDERIZZI, 2006). A formação de folhas define a habilidade do dossel em interceptar a radiação fotossinteticamente ativa, sendo considerado fator determinante no acúmulo de massa seca pelas plantas (SILVA; JAKELAITIS; FERREIRA, 2004).

A MSF, MSC e MST das plantas de soja não foram alteradas em função dos períodos de controle da buva, no entanto, a partir de 35 dias de convivência da buva a MSC e MST das plantas de soja foram reduzidas diferindo das plantas onde a cultura não conviveu com a planta daninha (tab.13). Ainda reduções na MSF foram verificadas somente quando a cultura permaneceu durante todo o ciclo na presença da buva. Reduções na MSF, MSC e MST em função dos períodos em que a planta daninha conviveu por todo o ciclo da cultura da soja foram da ordem de 70% comparada com a soja foi mantida livre da presença da planta daninha. Mesmo em plantas sob condições não limitantes para o crescimento, a luz refletida por uma planta vizinha, faz com que ocorram reduções na área foliar e acúmulo de biomassa em plantas de soja (GREEN-TRACEWICZ; PAGE; SWANTON, 2012). Na comparação entre os períodos, pode-se verificar que a partir dos 35 DAE foram observadas reduções nos períodos de convivência em relação aos períodos de controle.

Tabela 12 – Efeito de períodos de controle ou de convivência de buva com a cultura da soja na estatura, número de trifólios e área foliar. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012

Período (dias)	Estatura (cm)		Trifólios (nº planta ⁻¹)		Área foliar (cm ² planta ⁻¹)	
	Controle	Convivência	Controle	Convivência	Controle	Convivência
0	^{ns} 69,7a ¹	69,9 a	^{ns} 89,3 a	105,3a	^{ns} 6754 a	7021 a
7	^{ns} 66,3a	70,0 a	^{ns} 86,5 a	88,7ab	^{ns} 6352 a	6862 a
14	^{ns} 66,2a	64,2 ab	^{ns} 86,8 a	82,8ab	^{ns} 6134 a	4933 ab
21	^{ns} 70,4a	64,9 ab	^{ns} 88,3 a	84,5ab	^{ns} 6449 a	4850 ab
28	*72,9a	62,3 ab	^{ns} 95,3 a	84,8ab	*6532 a	4839 ab
35	*70,4a	56,9 bc	^{ns} 90,3 a	68,0bc	*6618 a	3884 bc
42	*67,2a	46,8 c	*100,3 a	68,5bc	*6371 a	3908 bc
154	*71,3a	50,1 c	*112,5 a	44,5c	*7159 a	2064 c
Média	*68,8	60,7	*94,65	78,7	*6546	4795

¹Médias precedidas por letras distintas comparam na coluna, diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) e nas linhas, * ou ^{ns} significativo ou não significativo na comparação entre períodos de controle e convivência pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Tabela 13 – Efeito de períodos de controle ou de convivência de buva com a cultura da soja na matéria seca foliar (MSF), matéria seca caulinar (MSC), matéria seca total (MST). Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012

Período (dias)	MSF (g planta ⁻¹)		MSC (g planta ⁻¹)		MST (g planta ⁻¹)	
	Controle	Convivência	Controle	Convivência	Controle	Convivência
0	^{ns} 22,43 a ¹	26,50 a	^{ns} 26,46 a	30,51 a	^{ns} 48,89 a	57,01 a
7	^{ns} 22,91 a	22,89 a	^{ns} 27,20 a	26,86 ab	^{ns} 50,12 a	49,76 ab
14	^{ns} 21,15 a	19,88 a	^{ns} 23,79 a	22,65 ab	^{ns} 44,95 a	42,54 ab
21	^{ns} 21,49 a	16,93 ab	^{ns} 27,54 a	22,43 ab	^{ns} 49,02 a	39,37 abc
28	^{ns} 22,08 a	17,26 ab	^{ns} 25,67 a	19,94 abc	^{ns} 47,75 a	37,20 abc
35	*24,08 a	16,04 ab	*27,46 a	15,50 bc	*51,54 a	31,55 bc
42	*24,11 a	15,77 ab	*27,12 a	17,27 bc	*51,23 a	33,04 bc
154	*27,83 a	8,06 b	*28,29 a	9,07 c	*56,12 a	17,14 c
Média	*23,26	17,92	*26,69	20,53	*49,95	38,45

¹Médias precedidas por letras distintas comparam na coluna, diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) e nas linhas, * ou ^{ns} significativo ou não significativo na comparação entre períodos de controle e convivência pelo teste t ($p \leq 0,05$).

O crescimento, desenvolvimento, assim como também o estágio fenológico das plantas, pode influenciar a fotossíntese causando incrementos na atividade fotossintética e alterando a resposta da fotossíntese à variação dos fatores ambientais (RIBEIRO; MACHADO; OLIVEIRA, 2004). A atividade fotossintética, condutividade estomática, concentração de CO₂ subestomático e transpiração da soja foram reduzidas pelos períodos de convivência da buva, enquanto que para os

períodos de controle o modelo exponencial não se ajustou aos dados (dados não apresentados) (Fig. 7). Reduções na fotossíntese são observadas a partir dos 14 dias de convivência da buva, e aos 21 dias para a condutância estomática.

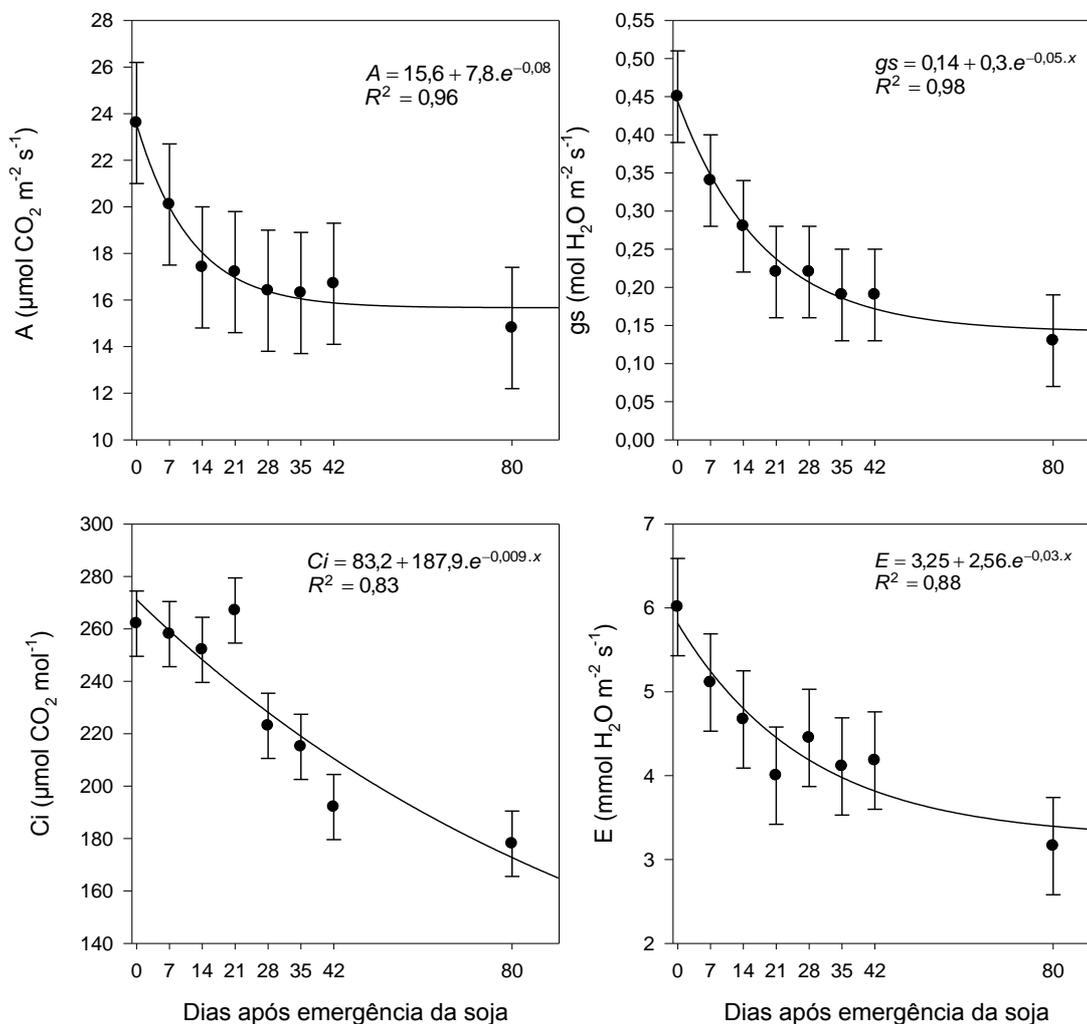


Figura 7 – Efeito do período de convivência de buva sobre a fotossíntese (A), condutividade estomática (gs), concentração de CO_2 subestomática (Ci) e taxa de transpiração (E) das plantas de soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).

Os efeitos da competição entre plantas intervêm no controle da abertura estomática, principalmente no que se refere aos comprimentos de ondas percebidos pelas plantas, uma vez que comprimentos de ondas na faixa do vermelho longo induzem ao fechamento de estômatos (SHARKEY; RASCHKE, 1981). O estresse por água é outro fator que contribui para fechamento dos estômatos, o que resulta

na redução da condutância foliar, inibição da fotossíntese e respiração (ATTRIDGE, 1990).

As plantas detectam que estão sendo sombreadas quando a relação entre a luz vermelha e o vermelho longo é reduzida, ocasionado pelo aumento da luz refletida pelas plantas vizinhas. As plantas respondem as alterações na qualidade de luz através de sistemas denominados fitocromos (APHALO; BALARÉ, 1995). Os fitocromos atuam para detectar mudanças na qualidade de radiação natural, e redirecionar o crescimento e desenvolvimento apropriadamente de acordo com o grau de qualidade de luz (SMITH, 1995).

O aumento dos períodos de convivência da planta daninha com a cultura reduziu a concentração de CO₂ subestomática da soja, posto que diferenças foram observadas a partir de 28 dias de convivência com buva comparadas com soja livre da planta daninha (Fig. 7). Em baixos valores da concentração de CO₂ subestomática ocorre balanço negativo entre CO₂ fixado fotossinteticamente e o liberado pela respiração (MACHADO et al., 2005). Tal aspecto apresenta importância fisiológica, uma vez que a fotorrespiração protege o aparato fotossintético quando o metabolismo fotossintético tem sua atividade reduzida por algum tipo de estresse biótico, como ocorreu com o incremento dos períodos de convivência de buva com a cultura da soja (RIBEIRO; MACHADO; OLIVEIRA, 2004).

Os efeitos da competição de buva com a soja não alterou a taxa transpiratória da cultura até os 14 dias de convivência, contudo a partir desse momento a competição causou prejuízo na transpiração da soja (Fig. 7).

Duas razões podem estar relacionadas ao declínio na taxa de transpiração pelas plantas de soja: a primeira razão relaciona-se a abertura e o fechamento dos estômatos, regulada por modificações na qualidade de luz, já que as plantas em competição percebem mudanças através da maior relação entre a luz na faixa vermelho e o vermelho longo, que indica a presença de vizinhos; e, a segunda razão, que plantas em situação de baixa disponibilidade hídrica, fecham os estômatos, a fim de evitar a perda de água. Como mecanismo de regulação, quando a luminosidade é reduzida, ou ainda quando ocorre estresse hídrico, as plantas tendem a fechar os estômatos, implicando em menor transpiração que está diretamente relacionada com o ganho de matéria seca (COCHARD et al., 2002; CONCENÇO et al., 2007).

Nas correlações entre as variáveis morfológicas e os parâmetros fotossintéticos pode-se verificar resposta positiva na interação para a maioria das variáveis correlacionadas, indicando que os efeitos da competição da buva sobre a soja nos parâmetros morfológicos se refletem nas respostas fisiológicas da planta (tab.14). Correlações positivas foram observadas entre as variáveis AF e MST com a fotossíntese (A) ou a condutância estomática (gs), indicando que ambas variáveis fotossintéticas respondem ao aumento da área foliar das plantas e matéria seca. Desta forma, plantas com maior AF e MST aumentam a capacidade fotoassimilatória, pela maior capacidade de interceptação de luz, e conseqüentemente incrementos na fotossíntese e condutividade estomática podem ser observados.

Tabela 14 – Correlação de Pearson entre variáveis morfológicas e fisiológicas. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012

Variáveis morfológicas	Variáveis fotossintéticas			
	A	gs	Ci	E
Área foliar	0,86*	0,97*	0,71*	0,90*
Matéria seca total	0,87*	0,95*	0,68 ^{ns}	0,88*

* ou ^{ns} interação significativa ou não significativa a 5% de probabilidade. A = fotossíntese líquida, gs = condutância estomática, Ci = concentração de CO₂ subestomática, E = taxa de transpiração.

A concentração de CO₂ subestomática relacionou-se positivamente apenas com AF, enquanto que a transpiração respondeu positivamente com os aumentos na AF ou MST da soja (tab.14). Decréscimos na concentração de CO₂ no interior das folhas podem acarretar queda na fotossíntese, devido a menor disponibilidade de CO₂ para a fixação (MACHADO et al., 2005), contudo a abertura dos estômatos são influenciadas por baixas concentrações de CO₂ na cavidade subestomática, permitindo maior influxo de CO₂ para o interior da célula (RASCHKE, 1979).

O período anterior à interferência (PAI) permite indicar o período pelo qual a planta daninha pode infestar a cultura sem que haja perdas na produtividade da cultura que justifiquem a adoção de medidas de controle. Nos tratamentos em que a soja conviveu por períodos crescentes com a buva, pode-se determinar o PAI da planta daninha com a cultura da soja, o qual ocorreu aos 24 DAE da soja, indicando que a cultura da soja pode conviver com a planta daninha até este período considerando 5% de perdas de produtividade (Fig. 8). Não foi possível determinar o

período crítico de prevenção à interferência (PCPI) e o período total de prevenção à interferência (PTPI), pois uma vez que as plantas de buva foram capinadas, não ocorreu reinfestação das mesmas.

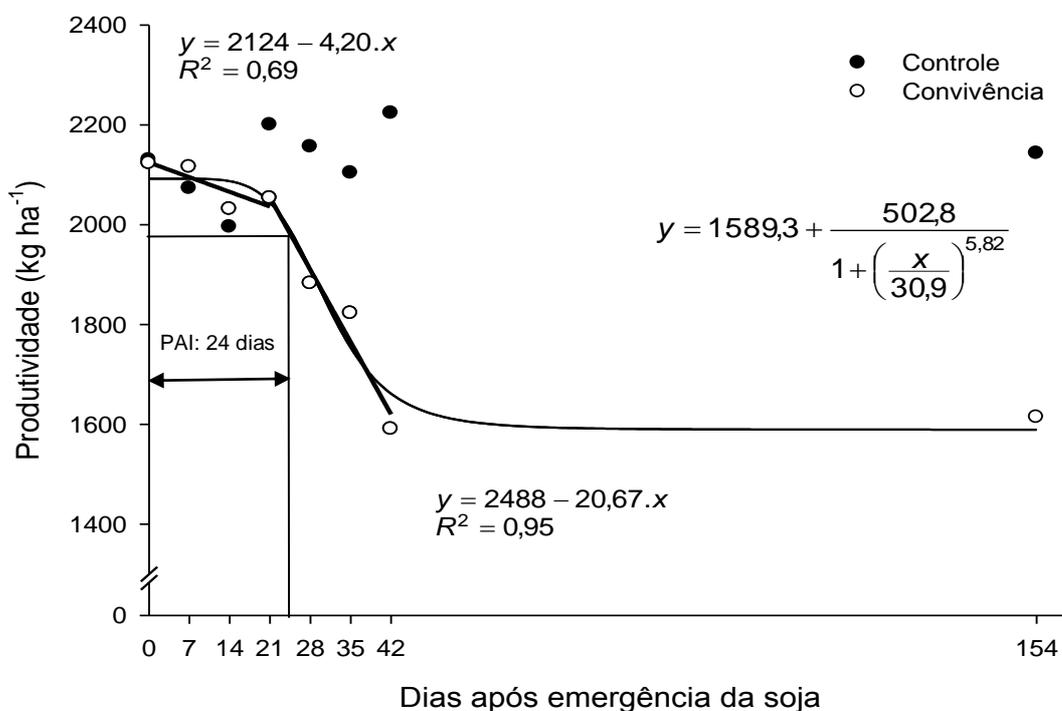


Figura 8 – Definição dos períodos de controle e convivência de buva com o cultivar BRS Estância RR, com base na produtividade de grãos. Embrapa Trigo. Passo Fundo, 2012. PAI: período anterior à interferência.

A segmentação por modelos lineares da curva do modelo logístico resultou em duas retas significativas, sendo o primeiro segmento compreendido pela convivência da buva desde a emergência da soja até 21 DAE, enquanto que segundo segmento compreendeu entre 21 DAE até 42 DAE (Fig. 8). A segmentação da curva em períodos fornece as perdas de produtividades de grãos de soja ocasionadas pela competição por buva por cada dia de convivência. Desta forma, durante os primeiros 21 dias de competição pode-se verificar que a perda de produtividade para cada dia de coexistência da planta daninha com a cultura foi de 4,2 kg ha⁻¹ dia⁻¹. Já, para o segundo segmento da curva as perdas foram maiores, em que a partir dos 21 dias de convivência até os 42 DAE da soja, a planta daninha foi capaz de reduzir 20,67 kg ha⁻¹, a cada dia de coexistência com a cultura.

Embora nesse estudo verificou-se que até 24 dias após a emergência da soja, a buva causa interferência tolerável na cultura, práticas de manejo devem ser tomadas quando a buva apresenta-se mais vulnerável à qualquer intervenção com o intuito de controlá-la, principalmente quando for utilizado herbicidas, como método de controle. No caso em que for utilizado algum herbicida em pós-emergência da soja para controle de buva, deve-se levar em consideração o período em que o herbicida leva para controlar a planta ou torná-la fisiologicamente incapaz de competir com a cultura. Contudo, este período depende dentre alguns fatores como a eficiência do herbicida chegar ao local de ação e das condições fisiológicas da planta daninha.

3.4 Conclusões

O crescimento e desenvolvimento da soja cultivar BRS Estância RR são negativamente afetados pela convivência com a buva.

A fotossíntese, condutividade estomática, concentração de CO₂ subestomática e taxa de transpiração da soja reduzem com o incremento do tempo de convivência da buva com a cultura, e as variáveis morfológicas da soja correlacionam-se positivamente com as variáveis fotossintéticas mensuradas durante o período de convivência da buva com a soja.

O período anterior à interferência (PAI) na produtividade da soja BRS Estância RR é de 24 dias após a emergência da cultura, para uma população de buva de 37 plantas m⁻², estabelecidas antes da semeadura da cultura.

4. Capítulo III – Perda de produtividade e dano econômico de *Conyza bonariensis* resistente ao herbicida glifosato na cultura da soja.

4.1 Introdução

A soja é uma das mais importantes espécies cultivadas no mundo, sendo a competição com plantas daninhas por água, nutrientes e luz um dos principais fatores que contribuem no decréscimo da produtividade da cultura. Nos sistemas de cultivos de grandes culturas, como a soja, o controle químico por meio de herbicidas tem sido a principal prática no manejo de plantas daninhas.

A adoção de cultivares resistentes ao herbicida glifosato, soja Roundup Ready (RR), trouxe benefício aos agricultores, tornando o manejo de plantas daninhas mais flexível, além da redução nos custos de controle. Contudo, o surgimento de plantas daninhas resistentes ao glifosato, têm aumentado os custos de produção devido à necessidade de alternar outros herbicidas para o controle dessas plantas.

A espécie *Conyza bonariensis* (buva) foi o primeiro caso relatado de resistência ao herbicida glifosato em lavouras de soja RR no Rio Grande do Sul (RS) (VARGAS et al. 2007). Esta planta daninha tem se tornado grande problema aos sojicultores do RS, pois causa elevados danos à cultura e apresenta grande capacidade de infestar áreas adjacentes, devido à capacidade de produção e dispersão de sementes (DAUER et al., 2009).

A estimativa de perda de produtividade das culturas em função da interferência de plantas daninhas e a determinação do dano econômico são

importantes componentes para tomada de decisão da adoção do manejo integrado de plantas daninhas (GHEREKHLOO et al., 2010).

Modelos econômicos baseados no nível de dano econômico (NDE) auxiliam na tomada de decisão para intervir no controle de determinada população de planta daninha. Assim, o NDE se caracteriza pela utilização de métodos de controle sobre uma população de plantas quando o prejuízo causado na produtividade de grãos é superior ao custo das medidas de controle a serem adotadas (COUSENS, 1985; 1987; PESTER et al., 2000). O NDE agrupa relações existentes entre população de plantas daninhas, produtividade esperada da cultura, preço da cultura e eficácia de controle. Para estabelecer o NDE é necessário prever variáveis que são dependentes de características ambientais, práticas culturais, preço dos produtos agrícolas e outros fatores externos (BERTI; ZANIN, 1997).

Comumente os agricultores avaliam visualmente as plantas daninhas na área e aplicam herbicidas que são efetivos no controle dessas plantas, visando evitar perdas no potencial de produtividade das culturas. A integração de práticas de manejo deve ser adotada para que as populações de plantas daninhas situem-se abaixo do NDE. Além de medidas químicas outras práticas do manejo integrado podem ser utilizadas tais como época de semeadura, população de plantas da cultura, espaçamento entrelinhas e adubação na linha de cultivo. Assim, a utilização de estratégias no manejo integrado é essencial para conter os custos relacionados à planta daninha e problemas de resistência e contaminação ambiental, a fim de maximizar o manejo de plantas daninhas (COBLE, 1998).

Uma das dificuldades relacionadas à falta de adoção do NDE por produtores refere-se à ampla diversidade de plantas daninhas que ocorrem na área, visto que a perda de produtividade da cultura e a eficiência dos herbicidas são dependentes das espécies que interferem entre si e com as culturas (WILKERSON; WILES; BENNETT, 2002). Dentre outras limitações do NDE, destacam-se a baixa habilidade de se prever o dano pelas plantas daninhas, instabilidade das variáveis biológicas entre anos agrícolas e locais, oscilações econômicas de mercado que influenciam nos preços de produtos agrícolas, insumos das culturas e consequências ecológicas a médio e longo prazo, principalmente no que se refere à descendência de indivíduos (KALSING; VIDAL, 2010).

No Brasil, a utilização do NDE como ferramenta na tomada de decisões é mais difundida nas áreas de entomologia e fitopatologia, contudo tem sido pouca a

adoção na área das plantas daninhas. Na cultura da soja, o NDE de guaxuma variou de 2 a 50 plantas m^{-2} (FLECK; RIZZARDI; AGOSTINETTO, 2002). Esta variação, segundo os autores, foi devido ao atraso na semeadura da soja em relação à dessecação da cobertura vegetal o que incrementa o grau de interferência de guaxuma na cultura. Mesma observação foi verificada para a planta daninha picão-preto quanto ao atraso na semeadura da soja em relação à dessecação, contudo os NDE determinados foram de 0,4 a 33 plantas m^{-2} (RIZZARDI; FLECK; AGOSTINETTO, 2003). Ainda, esses mesmos autores verificaram que aumentos na perda de produtividade por unidade de planta daninha, no potencial de produtividade da cultura, no valor do produto colhido e na eficiência do herbicida diminuem os valores de NDE, tornando potencialmente mais econômico o controle, enquanto o aumento no custo do controle das plantas daninhas faz elevar os NDEs.

Um dos problemas dos últimos anos em lavouras de soja tem sido buva resistente a glifosato. O manejo químico desta planta daninha é focado principalmente no controle de plantas que emergem em período anterior à cultura, uma vez que o maior fluxo germinativo de buva, tipicamente ocorre no final de outono e no inverno (LAZAROTTO; FLECK; VIDAL, 2008). O NDE é ferramenta útil aos produtores na tomada de decisão em intervir no manejo de plantas daninhas com base nas informações na expectativa de produtividade da cultura, preço oferecido pelos grãos, custos de controle e eficiência do herbicida. Os objetivos do trabalho foram avaliar o efeito da competição de buva sobre a produtividade da cultura da soja e determinar o NDE de buva resistente ao herbicida glifosato na cultura da soja.

4.2 Material e métodos

Dois experimentos foram realizados a campo, sendo um instalado na Embrapa Trigo, em Passo Fundo-RS (experimento 1) e outro em área comercial de soja localizada em Santa Bárbara do Sul-RS (experimento 2), ambos realizados no ano agrícola 2011/12. O solo das áreas é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico (EMBRAPA, 1999).

Os experimentos foram dispostos em esquema unifatorial, sendo o experimento 1 realizado sem repetições – exceto para o tratamento sem a presença da planta daninha em que foram tomadas quatro repetições, e o experimento 2 contendo três repetições, completamente casualizados. No experimento 1 não foi possível obter repetições devido a desuniformidade da população de plantas daninhas, contudo, utilizou-se o maior número de tratamentos para compensar a falta de repetições. Em função de não usar repetições no experimento 1, o número de tratamentos foi aumentado. As densidades de buva (*Conyza bonariensis*) foram estabelecidas pela infestação natural encontrada nas duas áreas. No experimento 1 foram utilizadas 10 densidades de buva: 0, 7, 10, 15, 25, 33, 63, 78, 116 e 124 plantas m^{-2} , já no experimento 2 foram utilizadas 11 densidades: 0, 2, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 100 plantas m^{-2} . As unidades experimentais mediam 5,4 m^2 (1,8 x 3) com quatro fileiras de soja com espaçamento de 0,45 m.

O experimento 1 foi instalado em área de pousio e o manejo antes da semeadura da soja foi realizado duas dessecações com glifosato (1080 g e.a. ha^{-1}) e cletodim (120 g i.a. ha^{-1}), antecedendo 85 e 23 dias da semeadura da soja, permanecendo então somente plantas de buva resistentes a glifosato. Após a emergência da soja foram realizadas duas aplicações de glifosato (720 g e.a. ha^{-1}) em pós-emergência aos 14 e 28 dias após a emergência (DAE) da soja. O experimento 2 foi instalado em área com cobertura vegetal mista composta por aveia (*Avena strigosa*) e azevém (*Lolium multiflorum*), e manejo com duas dessecações com glifosato 71 e 10 dias da semeadura da soja e o manejo em pós-emergência da soja foram realizadas arranquio ou capinas.

No experimento 1 não foi realizada a adubação, pois a área apresentava altos níveis de fertilidade e a cultivar de soja utilizada foi BRS Estância RR (grupo de maturidade 6.1, precoce), com população de 21 plantas m^{-2} . Já, no experimento 2, a adubação do solo foi realizada na semeadura com distribuição na linha de 280 kg ha^{-1} da fórmula 0-25-25, e a cultivar utilizada foi BMX Turbo RR (grupo de maturação 5.8, superprecoce) com população de 29 plantas m^{-2} .

As densidades de buva foram determinadas na emergência da soja (experimento 1), e aos 5 (DAE) da soja (experimento 2), ocasião que as plantas de buva encontravam-se, em média com 15 e 30 cm de estatura, respectivamente. Foram contabilizadas plantas presentes em toda a unidade experimental para posterior proceder ao desbaste, deixando o número de plantas para população

desejada. No experimento 1, não foram observadas morte de plantas de buva em função dos manejos de aplicação de glifosato em pós-emergência da soja.

A produtividade de grãos de soja foi determinada em área de 2,25 m² (0,90 x 2,5 m), colhendo-se duas fileiras centrais da unidade experimental, e após a pesagem dos grãos foi determinado à umidade dos grãos e corrigido para a 13% e a produtividade expressa em kg ha⁻¹.

Os dados foram submetidos à análise de regressão em função do nível populacional da planta daninha e da produtividade da cultura, sendo antes transformados em percentagem de perda de produtividade pela seguinte fórmula:

$$Pp\% = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

Onde: R₁ = produtividade obtida nos tratamentos sem a presença da planta daninha; R₂ = produtividade obtida nos tratamentos em cada nível de infestação com a planta daninha.

Para a análise de regressão foi ajustado ao modelo de regressão não linear da hipérbole retangular que descreve o comportamento da produtividade em função do nível de infestação da espécie daninha, proposto por COUSENS (1985):

$$Pp = \frac{i \cdot D}{1 + (i/a) \cdot D}$$

Onde: *Pp* = perda da produtividade, expressa em percentagem, em relação à produtividade da testemunha sem infestação; *D* = densidade de infestação da planta daninha; *i* = PR por unidade de planta daninha quando a densidade tende a zero; e, *a* = PR por unidade de planta daninha quando a densidade tende ao infinito;

O ajuste dos dados ao modelo foi realizado pelo procedimento Proc Nlin do programa computacional SAS e os gráficos foram construídos pelo SigmaPlot10. As curvas de perda de produtividade foram segmentadas arbitrariamente em equações lineares, para obtenção das declividades de cada segmento da reta. Para o ajuste no número de pontos em cada segmentação considerou-se o maior valor do coeficiente de determinação. Para calcular o nível de dano econômico (NDE) foram

utilizadas as estimativas do parâmetro i obtidas a partir da equação acima e a equação adaptada de LINDQUIST; KROPFF (1996).

$$\text{NDE} = \frac{C_c}{[P' \times P \times (i / 100) \times (H / 100)]}$$

Onde: NDE = Nível de dano econômico (plantas m⁻²); C_c = custo de controle (herbicida e aplicação, em reais ha⁻¹); P' = produtividade de grãos da soja (kg ha⁻¹); P = preço da soja (R\$ kg⁻¹ de grãos);

i = perda (%) de produtividade da soja por unidade de planta competidora quando o nível populacional se aproxima de zero; e, H = nível de eficiência do herbicida (%).

Para fins de cálculo do NDE, estimaram-se três valores para produtividade da soja, preço oferecido pela soja, custo de controle e a eficiência dos herbicidas no controle da buva. A produtividade da cultura foi estimada em função do nível de investimentos na cultura, 1500, 2500 e 3500 kg ha⁻¹. O preço oferecido pela soja entre R\$ 28, 41 e 54 sacas⁻¹, tendo como base os preços mínimos e máximos observados no Rio Grande do Sul no período compreendido entre maio de 2007 e maio de 2012 (ABIOVE, 2012). O custo de controle variou de R\$ 50, 70 a 90, levando em consideração o preço médio de herbicidas recomendados para o manejo em pré-semeadura da soja visando o controle de buva resistente a glifosato e o custo de aplicação (trator+pulverizador). A eficiência dos herbicidas adotada foi de 80, 90 e 100% de controle das plantas.

4.3 Resultados e discussão

As produtividades de soja observadas na ausência de buva foram de 2894 e 1532 kg ha⁻¹, para os experimentos 1 e 2, respectivamente. A baixa produtividade de grãos de soja no experimento 2 se deve a menor disponibilidade hídrica para a cultura durante o ciclo de desenvolvimento. Foram observados regimes

pluviométricos, entre os meses de novembro de 2011 a março de 2012, de 574 mm no experimento 1 e estimada em 392 mm para o experimento 2 (INMET, 2012).

O modelo da hipérbole testado para estimar as perdas de produtividade na cultura da soja em decorrência do aumento populacional de buva revelou bom ajuste dos dados, obtendo-se coeficientes de determinação de 0,80 e 0,95 para experimentos 1 e 2, respectivamente (Fig. 9 e 10). Embora o uso desse coeficiente não seja o ideal para avaliar regressão não linear, pode ser usado para indicar a variabilidade no ajuste das curvas (SARTORATO, BERTI e ZANIN, 1996).

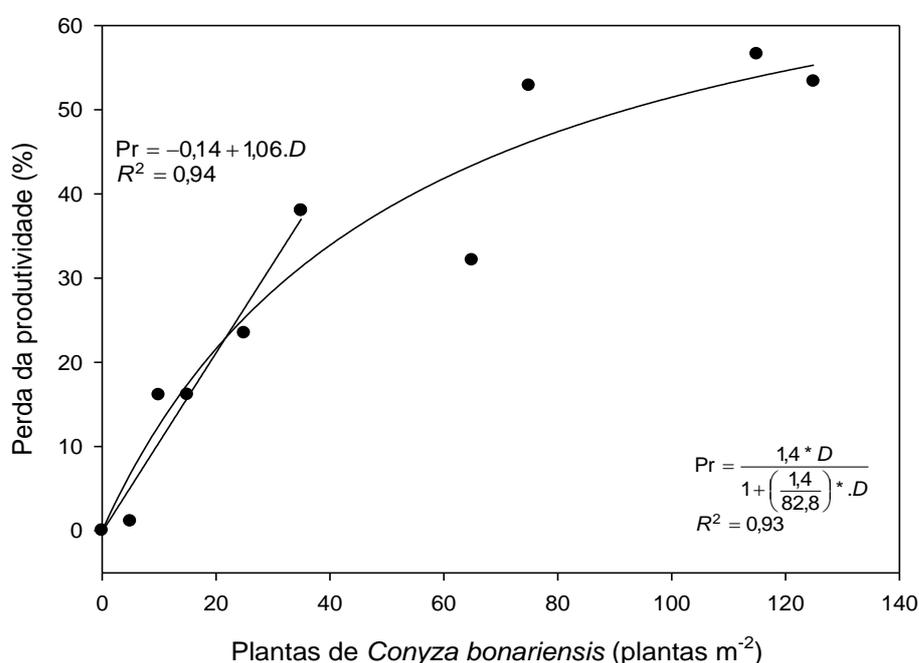


Figura 9 – Perda de produtividade (Pp) de grãos de soja (BRS Estância RR) em função do aumento da densidade de buva. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.

Para a cultivar Estância (exp. 1), o parâmetro “*i*” foi estimado pelo modelo em 1,4%, e a perda de produtividade estimada para o parâmetro “*a*” foi de 82,8% (Fig. 9). Em relação a cultivar Turbo (exp. 2) os parâmetros “*i*” e “*a*” foram estimado em 25,9 e 95%, respectivamente. O valor de “*i*” para cultivar Turbo é considerado elevado, o que significa que a adição de uma planta m⁻² já causa grande impacto sobre a produtividade da soja.

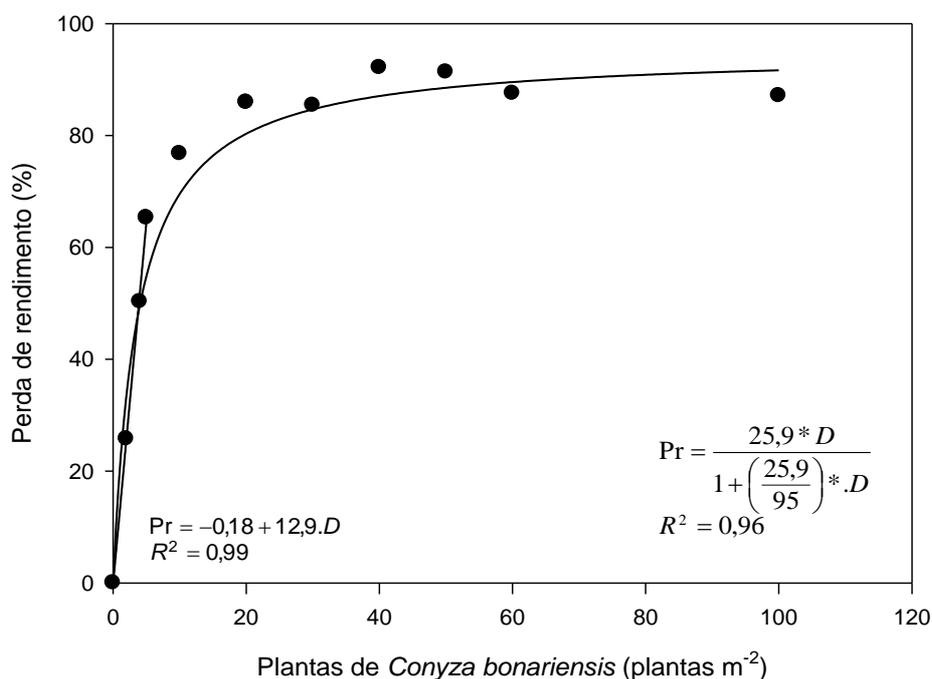


Figura 10 – Perda de produtividade (Pp) de grãos de soja (BMX Turbo RR) em função do aumento da densidade de buva. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.

Uma das razões relaciona-se à vantagem competitiva das plantas de buva, por seu estabelecimento anterior da cultura, determinando maior habilidade na captura dos recursos do meio (água, luz e nutrientes). A época de emergência das plantas daninhas em relação à cultura modifica as relações de competição e exerce maior efeito sobre as perdas de produtividade da soja (FLECK et al., 2004). Ainda, o menor ciclo da cultivar Turbo em relação à Estância contribui para o aumento dos valores de “i”, uma vez que a perda de produtividade de soja em função da competição com soja simulando competidor causa maior impacto sobre a cultivar precoce comparado a cultivares de ciclo mais longo (FLECK et al., 2007).

A segmentação da curva, pela equação linear entre as populações de buva e as perdas da produtividade de grãos de soja para a cultivar Estância, permitiu gerar segmento entre as populações de 0 a 35 plantas m⁻² (Fig. 9). O acréscimo de cada planta m⁻² indicou redução de 1,06% na perda da produtividade de grãos de soja, correspondendo a 30,7 kg ha⁻¹. Para a cultivar Turbo, um segmento da curva foi obtido até a população de 5 plantas m⁻² sendo que a perda linear foi de 12,9%, o

que corresponde a $197,6 \text{ kg ha}^{-1}$ a cada unidade de planta daninha adicionada (Fig. 10).

Através dos valores da inclinação (b) estimados pelo modelo linear é possível comparar a interferência da planta daninha na cultura, sendo que para a competição com a cultivar Turbo, o valor de “b” foi cerca de 12 vezes maior comparada à competição com a cultivar Estância. A menor interferência das plantas de buva sobre a cultivar Estância se deve, provavelmente, ao fato desta cultivar ter maior capacidade de ramificação comparada com a cultivar Turbo, o que possibilita maior habilidade competitiva e ao menor porte das plantas de buva verificados no experimento 1.

Considerando que em baixas populações de plantas daninhas, a perda de produtividade das culturas, em função do aumento populacional de competidores, é aditiva, os modelos de regressões lineares têm-se mostrados adequados para indicar os prejuízos na produtividade da cultura pela presença de cada indivíduo competidor adicionado à competição (BAUER et al., 1991). Até quando a adição de um indivíduo causa perdas lineares na produtividade da cultura, tem-se competição interespecífica, e a partir da estabilização das perdas de produtividade com o aumento populacional do competidor a competição intraespecífica começa a ocorrer. Este fundamento é caracterizado pela lei de produção constante (RADOSEVISCH, 1987).

Os valores de NDE de buva na cultura da soja, cultivar Estância (exp. 1), foram de 1,8 a 7,9, e de 0,1 a 0,43 para a cultivar Turbo (exp. 2), quando a expectativa de produtividade e os preços da soja foram levados em consideração (Fig. 11 e 12). Na medida em que a expectativa de produtividade da cultura e os preços oferecidos pelo produto são aumentados, menor será a população de plantas necessária para ultrapassar o NDE, o que significa que com essas populações de buva, mais econômicas se tornam as medidas de controle da planta daninha, para cada cenário simulado.

A eficiência dos herbicidas é outro componente importante na determinação do NDE, pois na medida em que a eficiência do herbicida é aumentada o NDE é reduzido (Fig. 13 e 14). A variação observada para a cultivar Estância (exp. 1) foi de 2,1 a 6,1 plantas m^{-2} , já para a cultivar Turbo (exp. 2) foram encontrados valores inferiores, variando de 0,11 a 0,33 plantas m^{-2} . A eficiência de herbicidas sobre plantas de buva resistentes a glifosato é dependente do estágio de desenvolvimento

da planta daninha, que se apresenta como elemento fundamental para o sucesso no controle das plantas por meio de herbicidas.

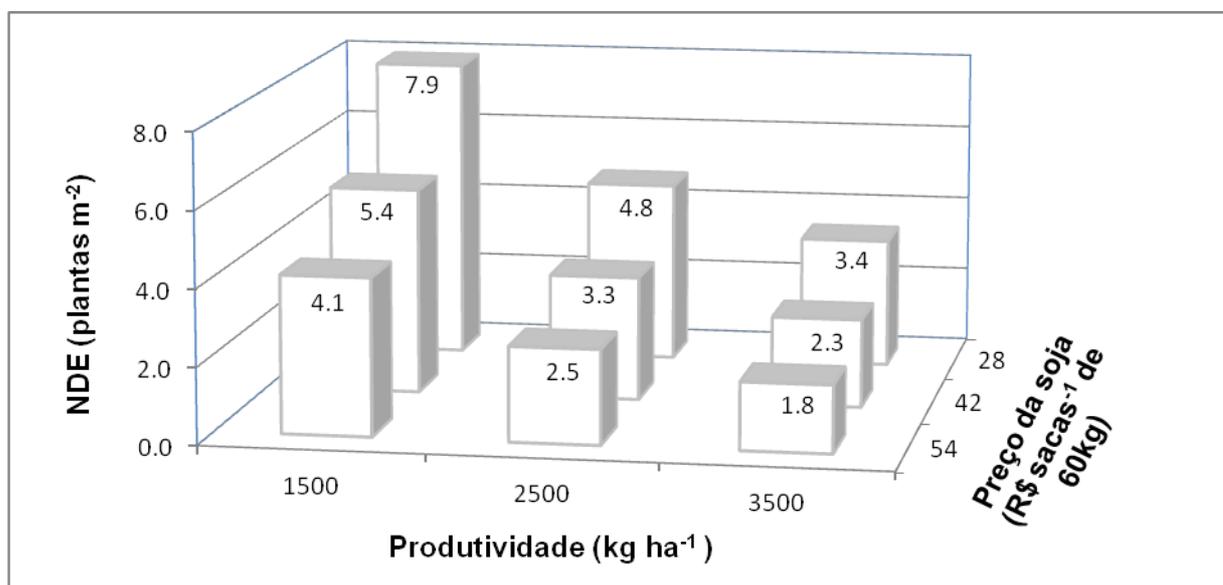


Figura 11 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BRS Estância RR) em função da produtividade e do preço da soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.

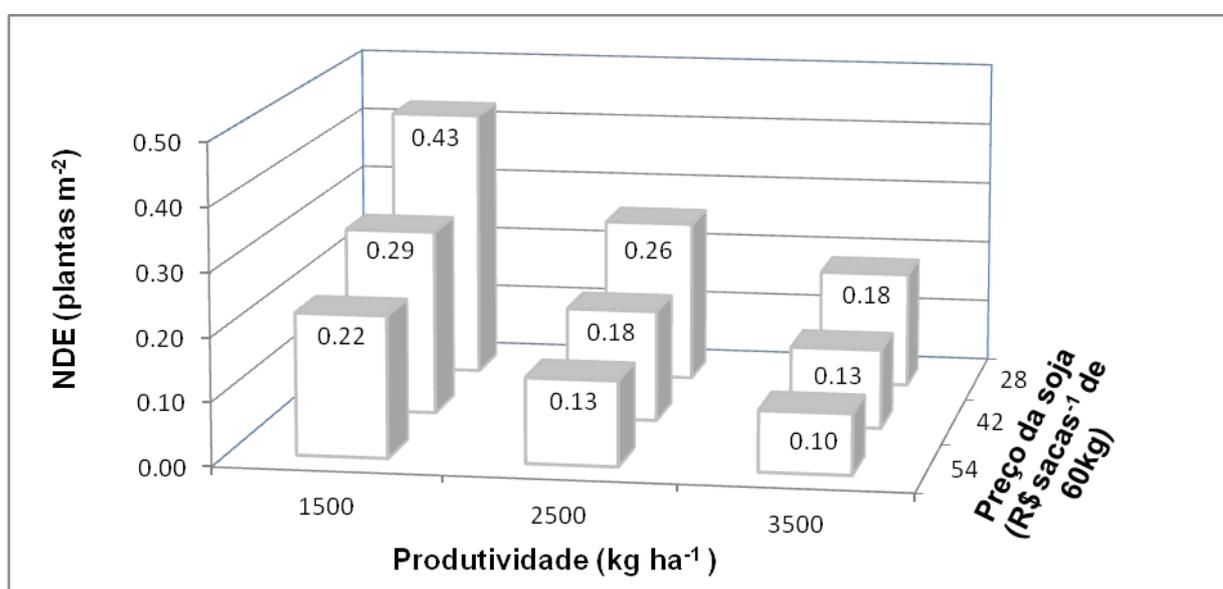


Figura 12 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BMX Turbo RR) em função da produtividade e o preço da soja. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.

Na simulação entre expectativa de produtividade de grãos e custo de controle de buva, a variação no NDE de buva a ser controlada variou de 1,7 a 7,0, e 0,09 a 0,38 plantas m⁻², para cultivar Estância (exp. 1) e Turbo (exp. 1),

respectivamente (Fig. 15 e 16). O aumento nos custos de controle da planta daninha associadas a baixas expectativas de produtividade da cultura implicam no aumento do NDE, e neste cenário, as medidas de controle, do ponto de vista econômico, devem ser praticadas quando o nível de infestação da planta daninha for mais elevado. A dificuldade de se utilizar o NDE por parte dos produtores se dá na medida em que não se sabe qual a produtividade que a cultura vai expressar, contudo, deve-se levar em consideração a produtividade esperada, de acordo com o nível de investimento na cultura e o histórico produtivo da lavoura (KALSING; VIDAL, 2010).

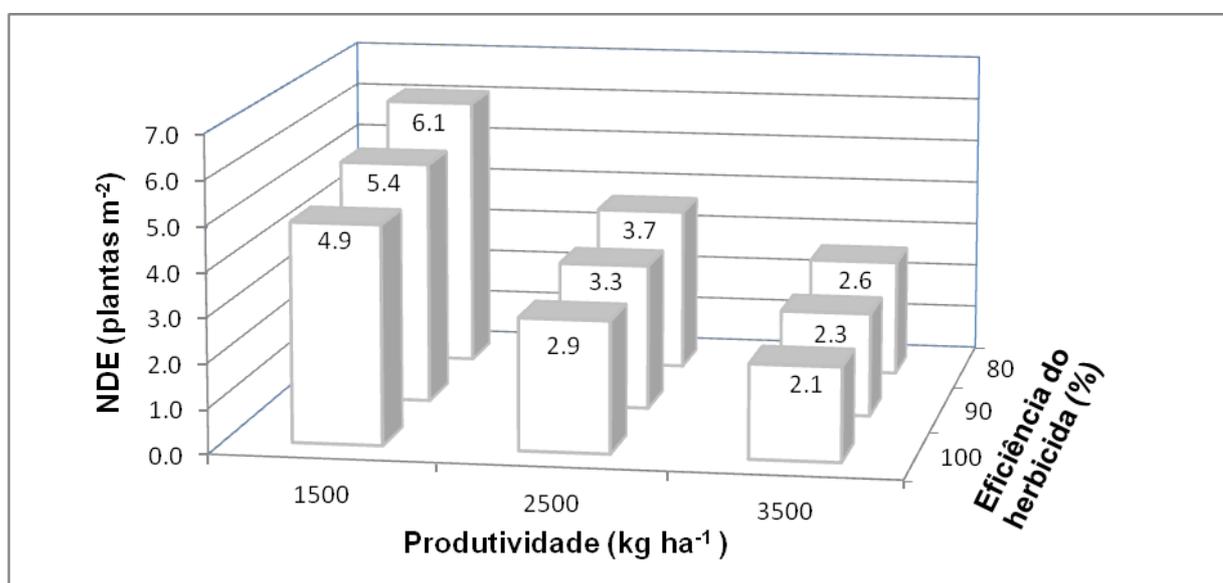


Figura 13 – Nível de danos econômicos (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BRS Estância RR) em função da produtividade e da eficiência de controle dos herbicidas. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.

Contudo, o NDE pode auxiliar para com base em histórico de preços, produtividades e conhecimento da eficiência dos herbicidas a manejar as plantas daninhas de forma mais econômica, remunerando mais eficientemente a propriedade. Estudos semelhantes tem identificado uma grande variação no NDE para espécies de picão-preto e guaxuma na cultura da soja, com o NDE variando de 0,4 a 33 e 2 a 50, respectivamente (RIZZARDI; FLECK; AGOSTINETTO, 2003; FLECK; RIZZARDI; AGOSTINETTO, 2002). Esses autores ressaltam que os NDE refletem o dano direto causado pela planta daninha, e que deve ser considerado o efeito da população não controlada sobre a produção de sementes.

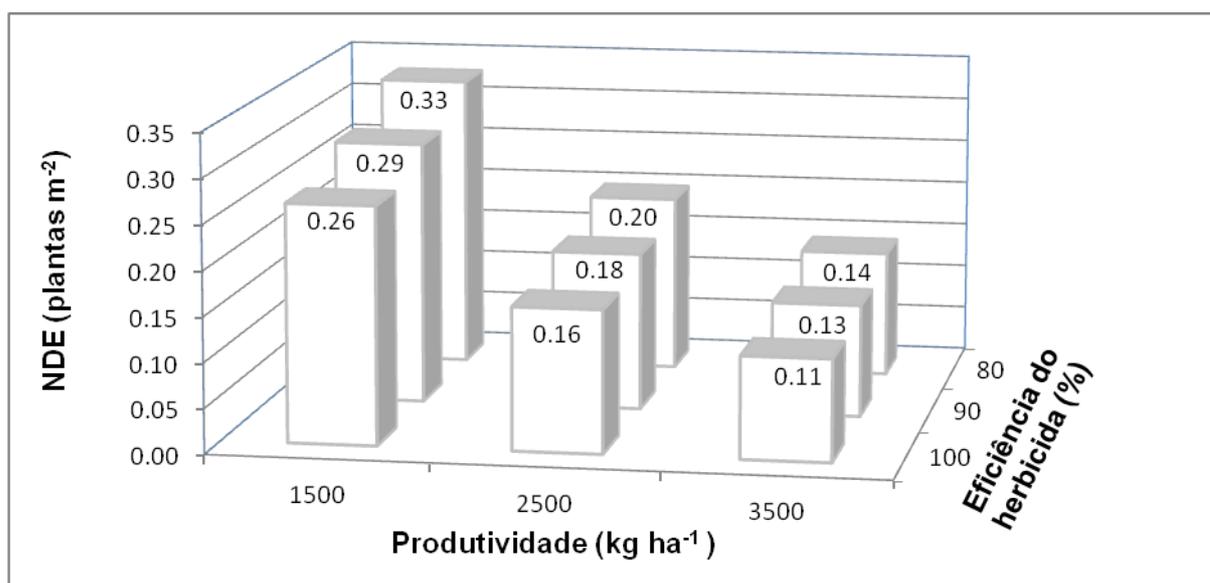


Figura 14 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BMX Turbo RR) em função da produtividade e da eficiência do herbicida. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.

O controle efetivo da buva através de herbicidas deve ser realizado logo nos primeiros estádios de desenvolvimento da planta daninha, pois é o momento em que a planta apresenta maior sensibilidade e menor capacidade de rebrote. Outro fator ligado à eficiência dos herbicidas é a dose utilizada, sendo que reduções na dose e na frequência de aplicações poderiam minimizar o impacto ambiental do manejo de plantas daninhas, e também reduzir os custos de produção. Em contra partida, poderiam ocorrer aumento no banco de sementes de plantas daninhas, comprometendo a rentabilidade em longo prazo (DOYLE; STYPA, 2004; BLACKSHAW et al. 2006).

No mesmo sentido, quanto mais avançado o desenvolvimento de buva no momento da implantação da cultura da soja, maiores serão as perdas de produtividade, devido aos efeitos da competição e na dificuldade de manejo destas plantas (PATEL et al., 2010).

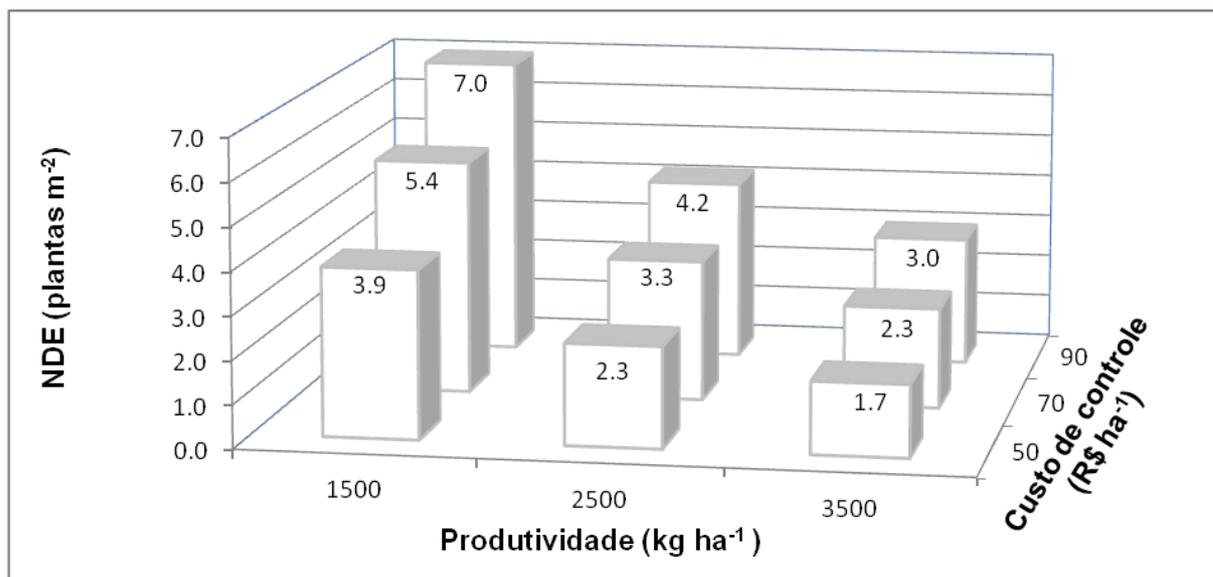


Figura 15 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BRS Estância RR) em função da produtividade e do custo de controle. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.

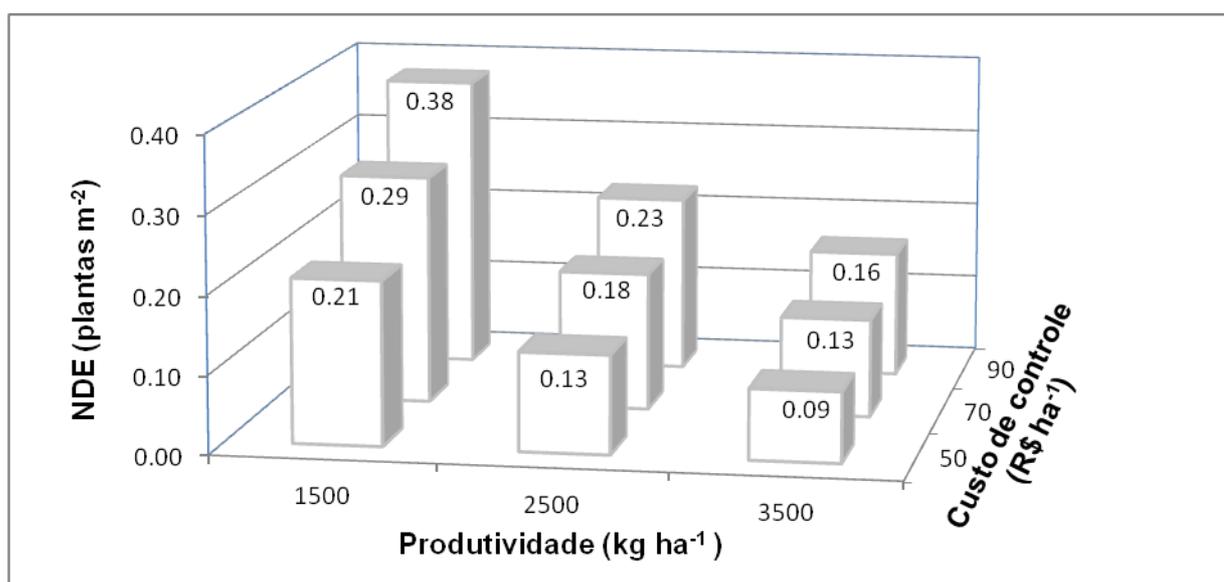


Figura 16 – Nível de dano econômico (NDE) de buva na cultura da soja (cultivar BMX Turbo RR) em função da produtividade e do custo de controle. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012.

Para que se tenha um bom controle de plantas de buva resiste a glifosato é necessário manejo adequado durante todo o ano, evitando a presença de plantas de maior porte para o controle, pois se tornam mais difíceis de serem controladas. Desta forma, a implantação de culturas de cobertura apresenta-se como alternativa

na redução do fluxo germinativo, da população e estatura das plantas de buva (VIDAL et al., 2007). O cultivo de trigo e aveia-preta reduziu em 75 e 60%, respectivamente, a população de plantas de buva, além de reduzir a estatura em comparação com área de pousio (PAULA et al., 2011). O sombreamento por cultura de cobertura ou por resíduos vegetais sobre a planta daninha faz com que as plantas recebam basicamente luz refletida e de menor intensidade, o que causará diminuição gradativa da taxa fotossintética e conseqüentemente na redução do crescimento das mesmas (AGOSTINETTO et al., 2004).

No geral, a população de buva a partir da qual é economicamente viável adotar medidas de controle situam-se de 1,7 a 7,9 plantas m^{-2} para a cultivar Estância, e 0,09 a 0,43 plantas m^{-2} para a cultivar Turbo. Os valores mais baixos de NDE são referentes às simulações onde se apresentavam as maiores produtividades, associadas a preços da soja mais altos e eficiência de 100% dos herbicidas. Já, nas simulações em que se encontravam as menores produtividades, os baixos preços oferecidos pela soja e a baixa eficiência dos herbicidas caracterizam o elevado NDE para as plantas de buva.

O custo de controle apresenta importância significativa, uma vez que os custos da aplicação do herbicida podem ser facilmente manipulados pelos produtores, amortizando as despesas no controle da buva. Nos cenários testados, o aumento dos custos de controle, considerando preço da aplicação e dos herbicidas, tende a aumentar o NDE e mais plantas de buva m^{-2} são necessários para se justificar o controle.

As expectativas de produtividade da cultura da soja variam segundo as condições edafoclimáticas, principalmente pela distribuição das chuvas durante o ciclo da cultura, uma vez que em anos caracterizados com chuvas acima da média tem-se probabilidade de alcançar maior produção. Outro fator que influencia no aumento da expectativa da produtividade da cultura é o investimento financeiro por parte do agricultor, com o uso em tecnologias como escolha de cultivares mais produtivas e adaptadas à região, uso da agricultura de precisão e tratamentos fitossanitários. Na Argentina, a introdução de cultivares de soja geneticamente modificada gerou aumento de produtividade da cultura de 1720 $kg\ ha^{-1}$ em 1996 para 2764 $kg\ ha^{-1}$ em 2003 (SILVEIRA; BORGES; BUAINAIN, 2005). Enquanto que a formação de preços da soja é ditada, principalmente em função dos estoques mundiais e da demanda mundial do grão, onde Estados Unidos e o Brasil são os

maiores produtores do grão e com a falta do produto agrícola, os preços oferecidos tendem a se elevar.

Nas simulações testadas onde se aumentou o potencial de produtividade da soja, preço oferecido pelos grãos e a eficiência de controle dos herbicidas diminuíram os NDE. Com isso, em lavoura onde se utilizam alto nível tecnológico na produção de soja com expectativas de altas produtividades, menores serão as populações de plantas daninhas que justifiquem a aplicação econômica de herbicidas. Por sua vez, na medida em que os custos de controle são aumentados, os NDE crescem nas mesmas proporções, demonstrando que a adoção de medidas de controle se justifica somente quando as populações de buva forem mais elevadas.

Como os NDE neste trabalho consideraram apenas uma safra, não foi assumido os efeitos do aumento do banco de sementes pela planta daninha. Plantas do gênero *Conyza* são hábeis em produzir grande quantidade de sementes por planta, além do que possuem grande facilidade de dispersão a grandes distâncias. A espécie *C. canadensis* pode produzir em torno de 700 mil sementes por planta, dependendo das condições em que está se desenvolvendo (SHRESTHA et al. 2010).

O melhor momento de controle de buva é anterior à implantação da cultura da soja, visto que em caso de não haver sucesso pode-se complementar o controle com aplicações em pós-emergência, embora nesta modalidade tem-se probabilidade de ocorrer menor sucesso devido à utilização de menores doses de herbicidas a fim de não causarem fitotoxicidade à cultura.

O manejo de buva resistente ao herbicida glifosato deve ser realizado dentro de um sistema que engloba ação de manejo integrado direcionado para diminuir o impacto no cultivo da soja, buscando a redução da germinação, população o tamanho das plantas e produção de sementes de buva. Dentre os manejos, a rotação de cultura apresenta-se como alternativa à redução da população de plantas, pois facilita a rotação de herbicidas. Plantas de cobertura ou culturas antecessoras apresentam potencial de redução por maior habilidade competitiva ou mesmo efeitos alelopáticos, principalmente sobre a germinação e desenvolvimento de buva. Ainda, o uso de associações de herbicidas em manejo pré-semeadura de soja são estratégias que podem maximizar o controle desta espécie.

As dificuldades e as restrições inerentes à utilização do NDE como ferramenta para manejo de plantas daninhas devem servir como um alerta, de modo que sua adoção somente se torne viável em situações de lavouras que integrem outras práticas de manejo, como utilização de rotação de cultura, arranjo adequado de plantas, uso de cultivares mais competitivas e aplicações de doses eficientes de herbicidas (RIZZARDI; FLECK; AGOSTINETTO, 2003).

4.4 Conclusões

O incremento das populações de buva aumenta o impacto negativo na produtividade da soja, sendo variável conforme condições ambientais e práticas culturais.

Nas simulações em que se têm aumentos na produtividade da cultura, no preço da soja e na eficiência dos herbicidas o NDE é reduzido, indicando que a adoção de medidas de controle deve ser tomada quando a população de buva é baixa.

Quando o custo de controle buva é elevado têm-se aumento no NDE, indicando que se torna mais econômico controlar as plantas de buva quando se distribuem em maior população.

5. Capítulo IV – Respostas fotossintéticas de biótipos de *Conyza bonariensis* resistente e suscetível ao herbicida glifosato.

5.1 Introdução

O método de controle por meio de herbicidas é a principal forma de manejo de plantas daninhas nas lavouras, e seu uso repetido tem causado mudanças na dinâmica populacional. Tal mudança se deve principalmente à pressão de seleção de plantas sob ação dos herbicidas, que podem selecionar espécies resistentes e ou tolerantes.

Com o advento da tecnologia de culturas resistentes a herbicidas, e principalmente a popularização do uso do glifosato, várias espécies têm sido selecionadas a esse herbicida, sejam elas tolerantes ou resistentes. Plantas como a poaia-branca (*Richardia brasiliensis*), a corriola (*Ipomoea* sp.), o leiteiro (*Euphorbia heterophylla*) e a trapoeraba (*Commelina benghalensis*) são exemplos de espécies tolerantes ao herbicida glifosato, ou seja, essas espécies sempre apresentaram controle insatisfatório ao herbicida (NOHATTO et al., 2010). Já, espécies resistentes, no passado, eram controladas eficientemente, e atualmente, por mudanças em seu metabolismo não são mais controladas nas mesmas condições.

No Brasil, existem cinco espécies resistentes ao herbicida glifosato, sendo que o primeiro relato de resistência foi para *Lolium multiflorum*, no Rio Grande do Sul em 2003 (ROMAN et al., 2004), e a partir desse momento outras espécies adquiriram resistência ao glifosato, dentre elas *Conyza bonariensis*, *C. canadensis*, *C. sumatrensis* e *Digitaria insularis* (HEAP, 2012). O desenvolvimento de estratégias efetivas

para o manejo de plantas daninhas resistentes requer entendimento da dinâmica populacional e o potencial impacto dos biótipos resistentes no ambiente (SHRESTHA et al., 2010). A resistência de plantas daninhas pode conferir aos biótipos menor habilidade competitiva em algum nível no metabolismo, nos mecanismos de defesa, desenvolvimento ou reprodução (VILA-AIUB; NEVE; POWLES, 2009).

As populações de plantas daninhas são capazes de evoluir rapidamente em respostas à pressão de seleção seja pela utilização de herbicidas quanto devido às atividades humanas (THOMPSON, 1998). Com isso, tem-se pensado que a resistência a herbicidas, na ausência de pressão de seleção, poderia ter custo na adaptação desses biótipos ao meio. Contudo estudos têm sido contraditórios na resposta de biótipos resistentes e suscetíveis a herbicidas em relação às características adaptativas (CHRISTOFFOLETI; WESTRA; MOORE, 1997; TARDIF; RAJCAN; COSTEA, 2006). Em condições não competitivas, a comparação do crescimento de *C. bonariensis* e *C. canadensis* resistente e suscetível ao glifosato demonstrou que plantas suscetíveis de ambas as espécies apresentaram crescimento absoluto superior aos resistentes, o que significa que a resistência adquirida ao glifosato teve impacto negativo na habilidade de crescimento (MOREIRA, et al., 2010). Em outro estudo, *C. canadensis* resistente ao glifosato apresentou desenvolvimento mais rápido que o biótipo suscetível em condições de não competição, embora o biótipo suscetível tenha apresentado maior desenvolvimento, contudo em condição de competição entre os biótipos sob déficit hídrico, o biótipo resistente foi mais competitivo (SHRESTHA et al., 2010).

A maioria dos estudos de comparação de custo adaptativo entre biótipos de plantas daninhas resistentes e suscetíveis a herbicidas baseiam-se no crescimento e desenvolvimento das plantas, como produção de matéria seca, área foliar, produção de sementes entre outras variáveis. Contudo, mudanças no crescimento estão condicionadas a mudanças no metabolismo das plantas, como por exemplo, sobre os parâmetros fotossintéticos.

A hipótese deste estudo foi a de que os biótipos de buva resistentes ao glifosato possuem menor adaptabilidade fotossintética que os biótipos suscetíveis ao glifosato. Com isso, objetivo do trabalho foi comparar as respostas fotossintéticas dos biótipos buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato, às variações na

densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa, na ausência de competição ou herbicida.

5.2 Material e métodos

Experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Embrapa Trigo, Passo Fundo-RS, em que se utilizaram biótipos de *Conyza bonariensis* (buva) resistente e suscetível ao herbicida glifosato. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, com 10 repetições.

O experimento foi composto por dois fatores: dois biótipos de buva, sendo um resistente e outro suscetível ao herbicida glifosato, e 12 níveis de densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA): 0, 10, 20, 40, 80, 100, 250, 500, 750, 1000, 1500 e 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, no momento das avaliações. O biótipo resistente ao glifosato é oriundo de população que sobreviveu a dose de 2880 g de e.a. ha^{-1} de glifosato, enquanto que o biótipo suscetível é originário de população controlada com 360 g de e.a. ha^{-1} . As sementes dos biótipos foram postas a germinar diretamente em copos plásticos com capacidade de 500 ml contendo substrato. Após a emergência das plântulas foram deixadas três plantas por copo e mantidas sob irrigação por capilaridade. Decorridos 56 dias após a emergência (DAE) foram realizadas as avaliações nas plantas, sendo que no momento o biótipo resistente apresentava-se, em média, com 14 folhas, enquanto que o biótipo suscetível com 12 folhas. Foram tomadas 10 plantas de cada biótipo, adotando-se como critério a última folha totalmente expandida para as leituras.

Foram avaliadas área foliar e matéria seca dos biótipos de buva. Área foliar foi obtida com auxílio de um medidor de área foliar, modelo LI3100, e a matéria seca obtida pela pesagem do material vegetal após a secagem em estufa com circulação de ar a 60 °C por 72 horas.

As determinações da taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), concentração de CO_2 subestomática (C_i) e transpiração (E), avaliadas em função da curva de luz em diferentes níveis de DFFFA incidentes na superfície da folha e foram efetuadas com analisador de gases no infra-vermelho (IRGA), modelo LI-6400XT, equipado com fonte de luz artificial e sistema de injeção automática de

CO₂. Ainda calculou-se a eficiência da carboxilação (EC) e a eficiência do uso da água (EUA), pela razão das variáveis A/Ci e A/E, respectivamente. Durante as leituras foi estabelecido a injeção de CO₂ dentro da câmara de 400 µmol mol⁻¹, temperatura da folha em 22°C e fluxo de ar de 500 µmol s⁻¹.

Para a determinação do ponto de compensação de luz (PCL) e a eficiência quântica (EQ), a resposta de A em função do aumento de 0 a 100 µmol m⁻² s⁻¹ de DFFFA foi ajustada a função linear $A = a + b \cdot \text{DFFFA}$, que permite a determinação da respiração através do coeficiente *a*, ponto de compensação de luz (PCL - µmol m⁻² s⁻¹) quando o valor de A for zero, e eficiência quântica aparente (EQA - µmol CO₂ / µmol fótons) representada pelo coeficiente *b* da equação linear.

Os dados obtidos foram submetidos à ANOVA através do teste F, sobre os fatores simples ou na interação. Havendo significância, os biótipos foram comparados aplicando-se o teste de Diferença Mínima Significativa (DMS) ($p \leq 0,05$). Para os dados das variáveis taxa fotossintética, condutância estomática, eficiência da carboxilação e uso eficiente da água em função da DFFFA foram ajustados ao modelo hipérbole de dois parâmetros $y = V_{\min} + (a \cdot \text{DFFFA} / b + \text{DFFFA})$, onde *y* representa a resposta em função da DFFFA, *V_{min}* indica valor da variável quando a DFFFA for zero, e *a* e *b* são os parâmetros da equação. A variável concentração de CO₂ subestomática foi ajustada ao modelo exponencial $y = V_{\max} + a \cdot e^{(-b \cdot \text{DFFFA})}$, onde *V_{max}* representa a maior concentração de CO₂ subestomática quando a DFFFA for zero, *a* é o parâmetro da equação e *b* é a inclinação da curva.

5.3 Resultados e discussão

Foi verificada interação entre os fatores biótipos e DFFFA para a taxa fotossintética, condutância estomática, concentração de CO₂ subestomática, eficiência da carboxilação e eficiência do uso da água, enquanto que para transpiração foi verificado somente efeito da DFFFA. Não foram observadas diferenças entre os biótipos quanto à área foliar e a matéria seca pelo teste F (dados não apresentados).

Os valores da taxa fotossintética dos biótipos de buva aplicando DFFFA máxima de 2000 µmol m⁻² s⁻¹ foram de 17,12 e 10,28 µmol CO₂ m⁻² s⁻¹ para os

biótipos resistente e suscetível, respectivamente, estimadas pelas equações (Fig.17). Esses valores estão na faixa de fotossíntese observadas de culturas como soja (DING et al., 2011), beterraba (BLOCH; HOFFMANN; MARLANDER, 2006) e de plantas daninhas como *Abutilon theophrasti* (FUCHS et al., 2002) e *Cyperus esculentus* (DITTMAR; MONKS; JENNINGS, 2012).

O ponto de saturação de luz para ambos os biótipos foi de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e nesse ponto o biótipo resistente apresentou cerca 89% da fotossíntese máxima, enquanto que o biótipo suscetível exibiu 91% da fotossíntese observada a $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A limitação do incremento da fotossíntese em função do aumento da DFFFA pode ser restrita pela limitação das reações da carboxilação pela rubisco e ainda pela saturação de energia pelo sistema coletor de luz (PESSARAKLI, 2005).

No ponto de saturação de luz o incremento da fotossíntese é mínimo com o aumento da intensidade luminosa. Os pigmentos fotossintéticos são responsáveis pela captação da energia da luz solar para transferência em forma de energia, e quando a planta atinge o ponto de saturação de luz indica que os pigmentos fotossintéticos já estão todos excitados e a planta não tem como captar mais energia.

A eficiência quântica, determinada pelo coeficiente angular da equação linear da Fig. 17, foi de 0,0549 e 0,0453 $\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol fótons}^{-1}$, para o biótipo resistente e suscetível, respectivamente, o que significa que a planta resistente possui melhor habilidade em aproveitar da energia luminosa para fixação de carbono. Fazendo o inverso do coeficiente, tem-se que são necessários 18 e 22 μmol de fótons para fixação de um μmol de CO_2 , respectivamente, para biótipo resistente e suscetível. O biótipo resistente apresenta menor ponto de compensação de luz, cerca de $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFFFA contra valores próximos a $34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ do biótipo suscetível. O baixo valor no ponto de compensação de luz implica em maior vantagem ao biótipo resistente, pois pode manter equilíbrio positivo na assimilação de CO_2 sob baixa luminosidade (DIAS-FILHO, 2002).

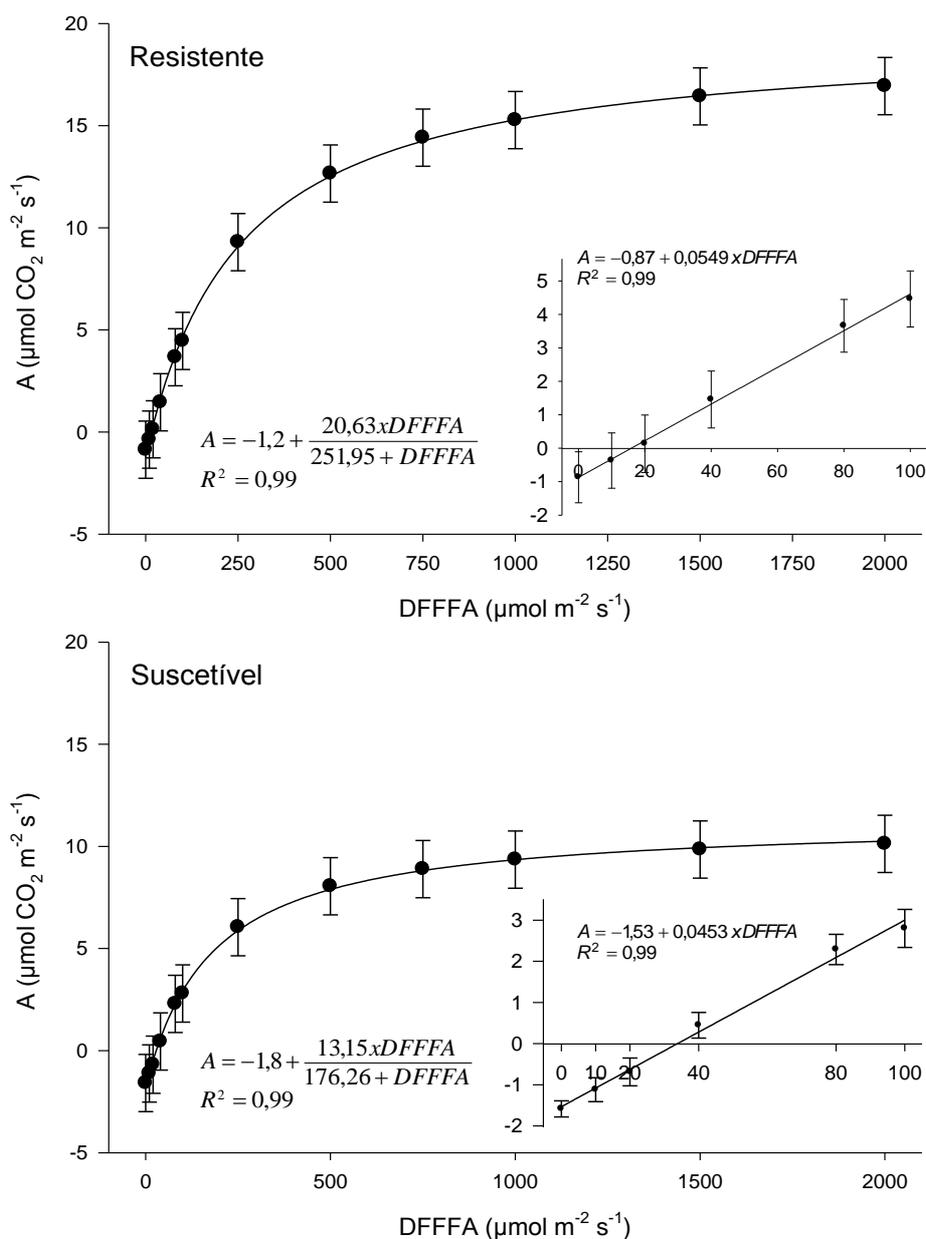


Figura 17 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a taxa fotossintética (A) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).

A taxa fotossintética e a condutância estomática se elevaram com o aumento da DFFFA de acordo com as limitações características de cada biótipo, contudo o biótipo resistente foi superior nas duas variáveis (Fig. 17 e 18). O biótipo resistente quando induzido a uma DFFFA de $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ já apresentou valor da taxa fotossintética superior ao do biótipo suscetível quando submetidos à DFFFA

máxima. Provavelmente a menor assimilação de CO₂ pelo biótipo suscetível relaciona-se à atividade da rubisco, pois em grande parte da limitação da assimilação de carbono em plantas é devido a propriedades da enzima (PORTIS; PARRY, 2007).

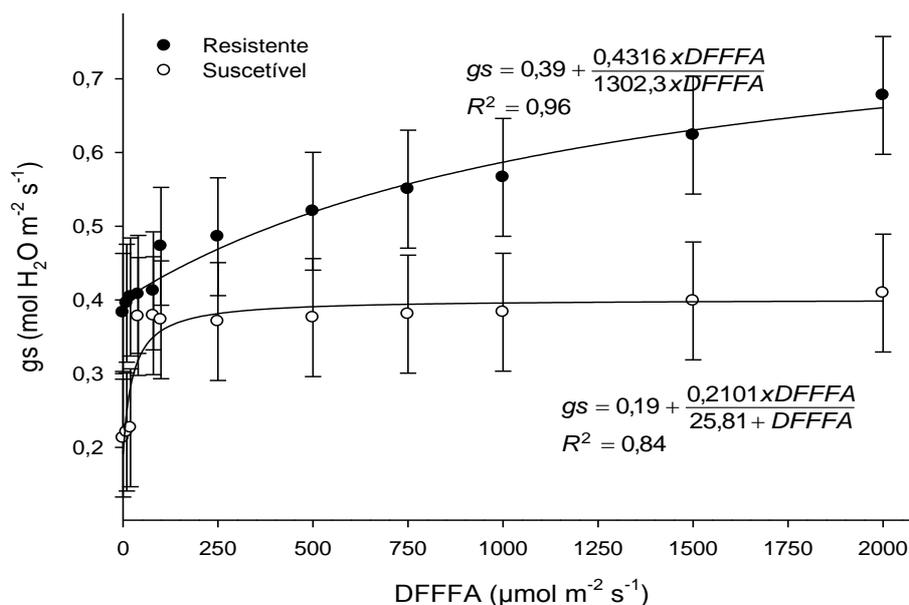


Figura 18 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a condutância estomática (gs) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).

A condutância estomática entre os biótipos indicou diferente comportamento com o incremento da DFFFA, sendo que o biótipo resistente apresentou maiores valores a partir de 100 µmol m⁻² s⁻¹, comparado com o biótipo suscetível (Fig. 18). A condutância estomática do biótipo resistente respondeu positivamente ao incremento da DFFFA, enquanto que o suscetível manteve os valores de condutância estomática constante desde 250 µmol m⁻² s⁻¹. A condutância estomática é importante parâmetro fisiológico, pois pode limitar a taxa fotossintética e a transpiração das plantas, e está ligada a mudanças das condições ambientais como estresse hídrico e mudanças nas concentrações de CO₂ atmosférico (VALERIO et al., 2011).

O declínio para ambos os biótipos da concentração de CO₂ subestomática com o aumento da DFFFA é esperada, pois indica que o CO₂ do interior da folha está sendo incorporado ao esqueleto de carbono via fluxo de Calvin (TAIZ; ZEIGER, 1998). Contudo, o biótipo resistente apresentou menores valores comparados com biótipo suscetível a partir de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e tornou constante a partir de 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de DFFFA para ambos os biótipos (Fig. 19).

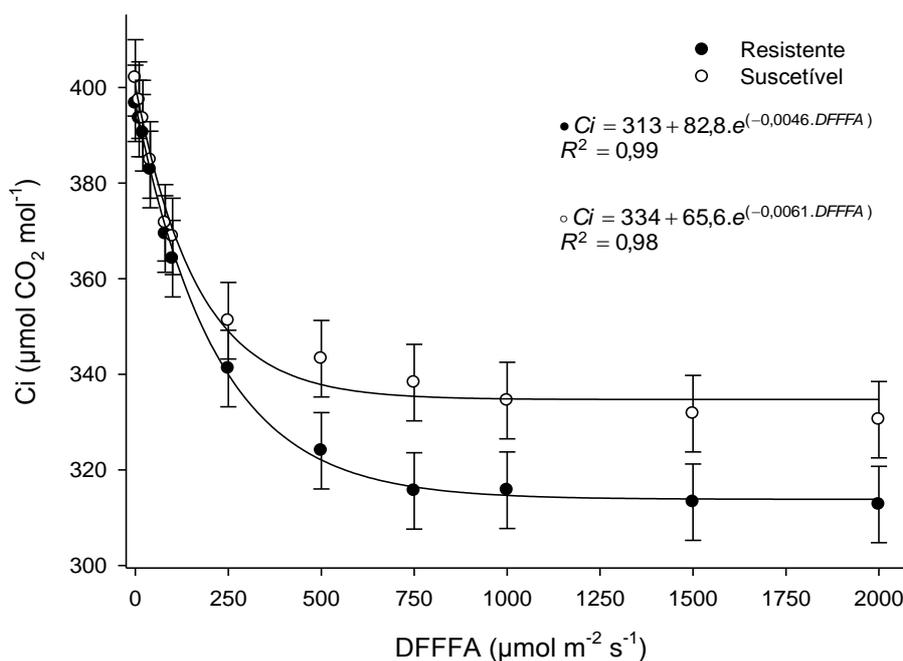


Figura 19 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a concentração de CO₂ subestomática (Ci) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).

A concentração de CO₂ subestomática possui correlação negativa com a fotossíntese ($r = -0,94$ $p \leq 0,05$), ou seja, quedas na concentração de CO₂ subestomática pode ocasionar redução na disponibilidade de CO₂ para a atividade da rubisco. Contudo, a abertura dos estômatos, verificada pela maior condutância estomática (Fig. 18), é estimulada pela queda na concentração interna de CO₂, permitindo a entrada de CO₂ para dentro da cavidade estomática, o que permite a equilíbrio entre consumo e entrada de CO₂ (RASCHKE, 1979). Resultados semelhantes foram encontrados por Ding et al., (2011) em plantas de soja que

tiveram a fixação de CO_2 reduzida em função dos efeitos de AMPA (metabólito de glifosato).

Entre os biótipos não ocorrem diferenças na transpiração, apenas efeito do aumento da DFFFA (Fig. 20). A transpiração possui importante função fisiológica nas plantas, na absorção de água, nutrientes e regulador de temperatura foliar. O biótipo de buva resistente apresentou maior eficiência na carboxilação da atividade da rubisco, apresentada pela razão de A/C_i , em função da DFFFA comparado com o biótipo suscetível, havendo diferenças entre os dois biótipos a partir de $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 21).

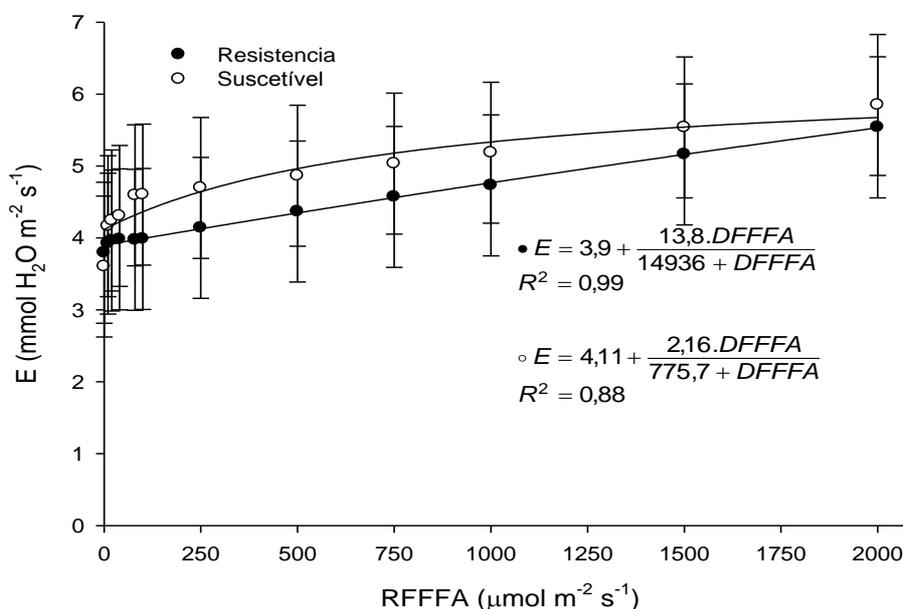


Figura 20 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a transpiração (E) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).

A eficiência da carboxilação sofreu variação até aproximadamente $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e permanecendo constante a partir deste ponto para o biótipo resistente, enquanto que para o suscetível apresentou incremento na eficiência da carboxilação até $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 19). A resposta da eficiente carboxilação em função do aumento da DFFFA depende do aumento da produção de ATP e NADPH necessários na fixação de CO_2 no ciclo de Calvin (MACHADO et al., 2005). Plantas

com maior eficiência de carboxilação tendem a produzir maior biomassa, por acumularem maior quantidade de carbono a sua estrutura.

O biótipo resistente teve maior eficiência do uso da água em comparação ao biótipo suscetível, evidenciado pela relação entre o CO₂ assimilado e a transpiração da água (Fig. 22). Diferenças entre os dois biótipos foram observadas a partir 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ DFFFA, com aumentos na eficiência até aproximadamente 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para biótipo resistente e 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para o suscetível.

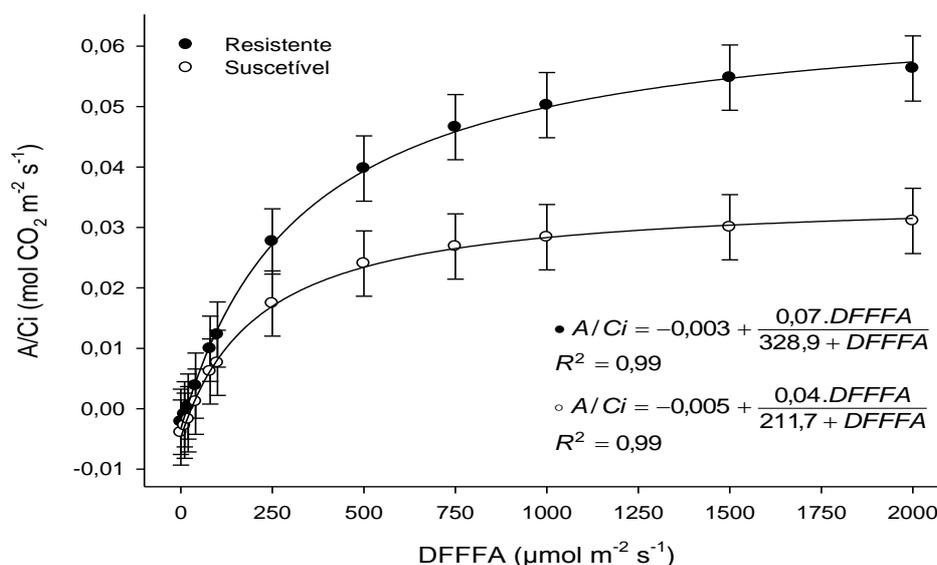


Figura 21 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre a eficiência da carboxilação (A/Ci) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).

A eficiência do uso da água pode estar ligada com a adaptação diferencial à seca, podendo ser aspecto importante relacionado à manutenção do status hídrico da planta em condições adversas (MACHADO et al., 2002). Biótipos de *Conyza canadensis* resistentes a glifosato apresentam maior habilidade competitiva quando crescem altas populações e sob déficit hídrico, comparados com biótipos suscetíveis (SHRESTHA et al., 2010).

Resultado semelhante quanto ao uso da água referente a plantas resistentes a glifosato foram observados para *Lolium multiflorum* tanto em condição de competição como na ausência de competição (CONCENÇO et al., 2007). Segundo os autores,

menor velocidade de condução de água das raízes para a parte aérea limitaria a perda de água contida na câmara subestomática durante a abertura dos estômatos.

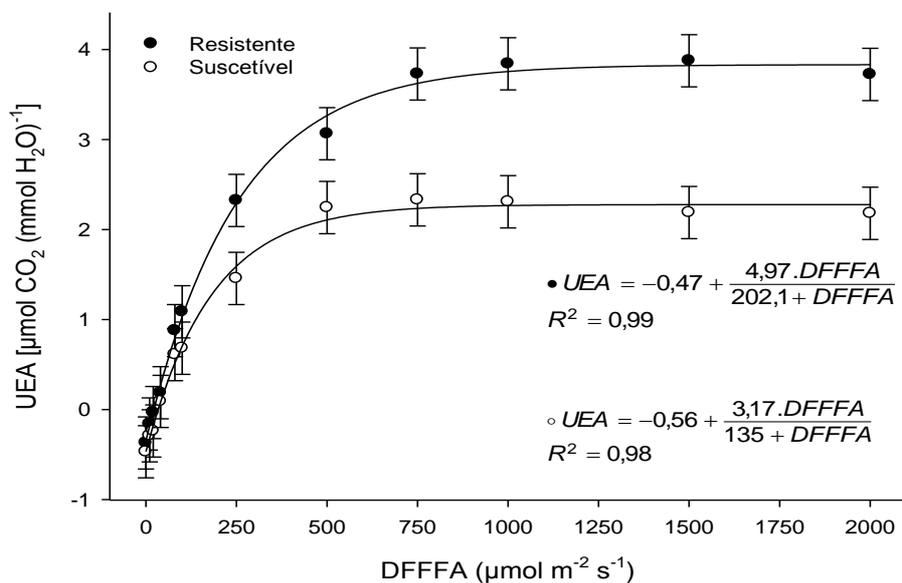


Figura 22 – Efeito da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa (DFFFA) sobre o uso eficiente da água (UEA) para os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).

O nível de radiação luminosa que chega ao dossel tem ação direta sobre a atividade fisiológicas das plantas, e os parâmetros fotossintéticos possuem relação entre si, pois a entrada de CO_2 dentro da célula depende da abertura dos estômatos que influencia na transpiração, e que possui relação com a condutância estomática, onde são influenciados pela luz, concentração interna e externa de CO_2 e pelas condições hídricas onde as plantas estão inseridas. E esses fatores contribuem para o melhor aproveitamento da incorporação de carbono, além do uso da água com maior eficiência.

As diferenças na taxa fotossintética em função do incremento da DFFFA entre os biótipos de buva resistente e suscetível ao herbicida glifosato se devem às diferenças combinadas, principalmente, da condutância estomática, concentração de CO_2 subestomática, eficiência da carboxilação e eficiência do uso da água. O biótipo resistente apresentou maior aproveitamento dos aumentos da DFFFA e é mais eficiente na conversão de energia luminosa em energia química.

Quando uma planta possui algum mecanismo de resistência a herbicida, esse mecanismo pode originar algum custo adaptativo, seja a nível de crescimento, reprodução ou funcionamento do metabolismo (VILA-AIUB; NEVE; POWLES, 2009). Plantas que possuem mecanismo de resistência devido à substituição de algum aminoácido em uma enzima, esta alteração pode, além de mudar a estrutura da enzima que limita a ligação do herbicida, alterar a funcionalidade normal da enzima (POWLES; PRESTON, 2006). Já, plantas cujo mecanismo de resistência é o incremento na produção da citocromo P450, necessitam alocar recursos para a síntese desse composto, os quais poderiam ser utilizados para o crescimento e reprodução (WERCK-REICHHART; HEHN; DIDIERJEAN, 2000).

Outro efeito da mudança de adaptabilidade em função da resistência adquirida pelas plantas daninhas são os efeitos pleitrópicos, onde podem ser menos atrativo aos polinizadores, mais suscetíveis a doenças ou alteração no metabolismo (SALZMANN; HANDLEY; MUELLER-SCHARER, 2008). Um exemplo de custo adaptativo que interfere na fotossíntese das plantas é o caso da mutação no gene *psbA* (Ser-264–Gly), que confere reduzida afinidade dos herbicidas triazinas na proteína D1, e como resultado dessa mutação o potencial fotossintético é reduzido, além do crescimento e da habilidade competitiva desses biótipos (KREMER; KROPFF, 1999).

Plantas daninhas que possuem resistência ao herbicida glifosato apresentam diferentes mecanismos, podendo ser mutação na EPSPS, redução na absorção e translocação, compartimentalização no vacúolo, degradação do glifosato para compostos menos tóxicos e amplificação do gene EPSPS (GONZÁLES-TORRALVA, 2012). Contudo, em plantas de *Lolium rigidum* que apresentam mecanismo de resistência por reduzida translocação de glifosato não tiveram sua habilidade competitiva reduzida em comparação com biótipos suscetíveis (PEDERSEN et al., 2007). Entretanto, biótipos de *Conyza canadensis* que também possuem esse mecanismo de resistência ao glifosato possui habilidade competitiva superior ao biótipo suscetível, possivelmente pelo maior acúmulo de macronutrientes observado no biótipo resistente (ALCORTA et al., 2011).

Os efeitos associados à resistência a herbicidas em plantas são variáveis conforme o mecanismo de resistência, espécies de planta, fatores bióticos e abióticos e condições ambientais, além de que os efeitos podem ser pontuais, como por exemplo, modificar o funcionamento de uma enzima, ou até mesmo alterar uma

grande quantidade de genes nas plantas. Desta forma, os efeitos da resistência sobre a adaptabilidade das espécies daninhas devem ser estudadas caso por caso.

5.4 Conclusões

O biótipo de buva resistente ao glifosato, comparativamente ao suscetível, possui maior adaptabilidade fotossintética evidenciada pelos pontos de saturação, compensação de luz e eficiência quântica. O biótipo de buva resistente apresenta maior capacidade fotossintética, principalmente, devido a melhor eficiência da carboxilação e uso da água, comparado com o biótipo suscetível a glifosato.

Os biótipos de buva resistente e suscetível ao glifosato respondem ao aumento da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa.

6. Capítulo V – Respostas fisiológicas de *Conyza bonariensis* resistente e suscetível ao herbicida glifosato

6.1 Introdução

No Brasil, com a introdução da soja Roundup Ready (RR), ocorreram mudanças no manejo de plantas daninhas na cultura, uma vez que após o evento da transgenia na soja, apenas um herbicida era necessário para o controle de ampla variedade de espécies de plantas daninhas nas lavouras de soja RR. Como resultado dessa mudança, ocorreram impactos na comunidade de plantas daninhas, principalmente pela evolução da resistência ao glifosato em situações nos quais o herbicida foi usado extensivamente.

No Brasil, existem cinco espécies resistentes ao herbicida glifosato, sendo que o primeiro caso relato foi *Lolium multiflorum*, no Rio Grande do Sul em 2003 (ROMAN et al., 2004), a partir desse momento outras espécies adquiriram resistência ao glifosato, dentre elas *Conyza bonariensis*, *C. canadensis*, *C. sumatrensis* e *Digitaria insularis* (HEAP, 2012). Dentre essas plantas, as espécies de *Conyza* sp. tem apresentado importância significativa, como infestante na cultura da soja.

O gênero *Conyza* Less. pertence à subtribo Conyzinae e inclui aproximadamente 100 espécies de plantas, as quais se distribuem em quase todo o mundo (KISSMANN; GROTH, 1997; BREMER, 1994). No Brasil, o gênero *Conyza* é representado por 13 espécies (TELES; STEHMANN, 2008), dentre as quais se destacam *C. bonariensis* e *C. canadensis* por seus efeitos negativos na agricultura, principalmente por apresentarem resistência ao herbicida glifosato.

O glifosato é um dos herbicidas mais utilizados no mundo para controle de plantas daninhas, e dentre suas características destaca-se o modo sistêmico de atuação nas plantas e controle não seletivo de espécies magnoliopsidas e liliopsidas, anuais ou perenes (BLACKSHAW; HARKER, 2002; SCOTT; ASKEW; WILCUT, 2002; KOGER; REDDY, 2005).

O herbicida glifosato inibe a enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), que é enzima chave na rota do chiquimato (HERRMANN, 1995a). Quando o glifosato se liga a EPSPs, resulta em rápido acúmulo de chiquimato-3-fosfato que é hidrolisado na planta para ácido chiquímico pelas fosforilases vacuolar (HOLLANDER-CZYTKO; AMRHEIN, 1983). O ácido chiquímico é importante intermediário na biossíntese dos amino ácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, entre outros metabólitos secundários como flavonóides, antocianinas, carotenóides, auxinas, ligninas, fitoalexinas e alcalóides (HERRMANN, 1995ab). O acúmulo de ácido chiquímico em plantas pode ser usado para determinar se as plantas são resistentes a glifosato, quando o mecanismo de resistência for insensibilidade da enzima (GONZALEZ-TORRALVA et al., 2012).

Para a detecção da resistência de plantas daninhas diversos métodos têm sido desenvolvidos, sendo que alguns mostram-se mais vantajosos devido ao menor uso de recursos, e outros mais sofisticados por necessidade de mão de obra e equipamentos especializados (VIDAL; LAMEGO; TREZZI, 2006). Para determinação de resistência de plantas daninhas ao glifosato, o acúmulo de ácido chiquímico em plantas tem sido estudado para avaliar a sensibilidade da enzima EPSPS ao herbicida com a utilização de cromatografia e espectrofotometria (ZELAYA et al., 2011).

Os métodos de extração do ácido chiquímico dos tecidos de plantas necessitam de tempo longo para extração e grande quantidade de reagentes, e os métodos de extração em água utilizando extração por solvente assistida por micro-ondas tem se apresentado como forma simples de extração de ácido chiquímico (MATALLLO et al., 2009). Outra forma de avaliar a resistência é pelo efeito inibitório da fotossíntese das plantas (DUKE; BAERSON; RIMANDO, 2003). O glifosato em doses abaixo da recomendada para controle de plantas daninhas reduz a taxa fotossintética e o uso eficiente da água em plantas de eucalipto (MACHADO et al., 2010).

A hipótese do estudo foi que o glifosato não altera a fotossíntese e a concentração de ácido chiquímico em biótipos de buva resistente ao glifosato. Assim, o objetivo foi determinar alterações na fotossíntese e inibição da EPSPS baseado no acúmulo de ácido chiquímico em biótipos de buva resistente e sensível tratadas com glifosato.

6.2 Material e métodos

Estudos foram conduzidos em casa de vegetação na Embrapa Trigo em Passo Fundo, RS, e no Laboratório de Plantas Daninhas do Instituto Biológico de Campinas, SP. Os experimentos foram conduzidos em delineamento experimental completamente casualizados, com quatro repetições.

Sementes de buva foram postas a germinar em potes com capacidade de 500 mL contendo substrato, realizando o desbaste e deixando três plantas por pote. A irrigação foi mantida sempre que necessário e realizada por capilaridade. A aplicação do herbicida foi realizada com pulverizador costal pressurizado com CO_2 , com volume de calda de 120 L ha^{-1} , quando as plantas apresentavam entre 10 a 12 folhas, no momento da aplicação as condições ambientais foram 22°C e umidade relativa do ar de 65%.

O primeiro experimento foi conduzido em esquema bifatorial constando de dois biótipos de buva, um resistente e outro suscetível a glifosato, e duas doses do herbicida: 0 (testemunha) e $1080 \text{ g de e.a. ha}^{-1}$. Foi avaliada a matéria seca dos biótipos de buva aos 14 dias após a aplicação do herbicida (DAAH), pela pesagem do material seco em estufa com temperatura de 60°C por 48 horas.

O segundo experimento, também conduzido em esquema bifatorial, constou de dois biótipos de buva, um resistente e outro suscetível a glifosato e cinco épocas de avaliação: 0 (antes da aplicação do herbicida), 3, 7, 10 e 14 (DAAH), onde foram avaliadas a taxa fotossintética (A), transpiração (E), eficiência da carboxilação (EC), uso eficiente da água (UEA) e concentrações de ácido chiquímico nas folhas.

As determinações da taxa fotossintética (A), transpiração (E), eficiência da carboxilação (EC) e uso eficiente da água (UEA) foram utilizando um analisador de gases no infravermelho (IRGA), modelo LI-6400XT, equipado com uma fonte de luz

artificial e sistema de injeção automática de CO₂. Durante as leituras foi estabelecido uma densidade de fluxo de fótons de 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, injeção de CO₂ dentro da câmara de 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, temperatura da folha em 20°C e fluxo de ar de 500 $\mu\text{mol s}^{-1}$.

Para a análise do ácido chiquímico, as plantas foram cortadas na superfície do solo e secas em estufa com temperatura de 60°C por 16 horas. Após as amostras atingirem peso constante, foram moídas em moinho com 2500 rpm e armazenadas sob refrigeração (-10°C) até o momento da extração e determinação do ácido chiquímico.

Para a extração do ácido chiquímico, as amostras da parte aérea das plantas de buva, secas e moídas, foram pesadas (100 mg) e colocadas em um tubo falcon (50 mL). Adicionou-se então, 10 mL de água ultra pura (Milipore) acidificada para pH 2.0 com ácido fosfórico 85%, sendo as amostras foram colocadas no centro do forno microondas, selecionando-se potência de 100 W por 9 segundos. Ao final da extração, a temperatura da suspensão foi de 70°C. Após o líquido foi filtrado através de um filtro de papel Whatman nº 1 e filtro de membrana de 0,45 μm (Millex-GV, Milipore) para a análise cromatográfica.

A concentração de ácido chiquímico foi determinada por HPLC (Shimadzu LC 2010) equipado com software VP 6.0, autoinjeter de amostras e detector de diodo em cadeia (DAD) com leituras no comprimento de onda de 212 nm, sendo utilizado coluna cromatográfica Phenomenex Gemini C18 110 A^o (250 mm x 4 mm; tamanho de partículas de 5 μm), e volume de injeção de 20 μL . Sistema isocrático (95:5 água ultra pura acidificado a pH 3.5 com ácido fosfórico : metanol) e fluxo de 0,80 mL min^{-1} . O tempo de corrida foi de 10 minutos, com retenção do ácido chiquímico aos 5,6 minutos.

Para a quantificação dos níveis de chiquimato foi determinada uma curva de calibração com sete concentrações de ácido chiquímico (Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$ de pureza) (0,51 a 407 $\mu\text{g mL}^{-1}$). A relação entre a quantidade de chiquimato e a área do pico cromatográfico foi linear com coeficiente de correlação de 0,998.

Os dados obtidos foram verificados quanto à homogeneidade da variância e posteriormente submetidos à ANOVA, sendo as médias dos tratamentos dos biótipos de buva em função de doses de glifosato comparadas pelo teste t ($p \leq 0,05$) e biótipos de buva em função das épocas foram comparados aplicando-se o teste de Diferença Mínima Significativa (DMS) ($p \leq 0,05$).

6.3 Resultados e discussão

Verificou-se interação entre biótipos de buva e dose de glifosato para MS aos 14 DAAH, indicando que a aplicação de glifosato na dose de 1080 g e.a. ha⁻¹ reduziu o crescimento do biótipo suscetível em 57%, enquanto que para o biótipo resistente a produção de matéria seca não foi significativamente afetada (tab. 15). Resultado semelhante foi observado por Mueller et al (2003), quando biótipos de *Conyza canadensis* resistentes apresentaram redução na matéria seca de aproximadamente 40% após a aplicação de 840 g e.a. ha⁻¹ de glifosato, enquanto os biótipos suscetíveis tiveram redução acima de 80% aos 17 DAAH. A produção de matéria seca na testemunha foi semelhante, do ponto de vista estatístico, entre os biótipos resistente e suscetível.

Tabela 15 – Matéria seca (mg planta⁻¹) de biótipos de buva 14 dias após aplicação de glifosato (1080 g e.a. ha⁻¹). Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012

Dose (g e.a. ha ⁻¹)	Biótipo resistente	Biótipo suscetível
	Matéria seca (mg planta ⁻¹)	
0	^{ns} 624,25 a	692,75 a
1080	*473,87 a	298,62 b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste t ($p \leq 0,05$). * ou ^{ns} significativo ou não significativo, respectivamente, na comparação entre biótipos pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Embora o biótipo resistente ao glifosato não tenha reduzido, significativamente seu crescimento, as plantas apresentaram pequena injúria, principalmente clorose nos pontos de crescimento. Os sintomas de clorose, nos pontos de crescimento das plantas, foram observados aos 3 dias após aplicação em ambos os biótipos, contudo as plantas suscetíveis não recuperaram seu estado normal e aos 7 DAAH já apresentavam sintomas irreversíveis, como murchamento e alguns pontos necróticos nas extremidades das folhas. Já, as plantas resistentes apresentaram apenas leve clorose nas folhas novas até aos 14 DAAH. Dentre as

possíveis causas de aparecimentos de sintomas de fitotoxicidade de glifosato em plantas resistentes, à presença do ácido aminometilfosfônico (AMPA) pode ser uma possível causa. O AMPA é produto da degradação de glifosato pela enzima glifosato oxireductase (GOX) pelas plantas, podendo ser fitotóxico mesmo em plantas que possuem a enzima EPSPS insensíveis ao glifosato (NADULA et al., 2007). Outra possível causa é o efeito direto do glifosato sobre a quantidade de clorofila ou na imobilização do Mg e Mn, que são essenciais para a funcionalidade e produção de clorofilas (TAIZ; ZEIGER, 1998; ZOBIOLE et al., 2010b).

Para a taxa fotossintética, transpiração, eficiência da carboxilação e uso eficiente da água verificou-se interação entre os fatores biótipos de buva e épocas de avaliação. Para ambos os biótipos de buva ocorreram reduções na taxa fotossintética das plantas ao decorrer do tempo de aplicação do herbicida (Fig. 23). Para o biótipo suscetível, as avaliações posteriores a 7DAAH não foram possíveis realizar devido a maior fitotoxicidade causada pelo herbicida. Embora a ligação do glifosato seja de forma específica sobre um alvo metabólico na planta, no caso a enzima EPSPS, o herbicida atua sobre outros mecanismos fisiológicos como fotossíntese, atividade da rubisco e proteínas ligadas à fotossíntese (GEIGER; KAPITAN; TUCCI, 1986; SERGIEV et al. 2006).

O biótipo resistente apresenta maior taxa fotossintética que o biótipo suscetível sob efeito do herbicida, independente da época de avaliação, contudo a partir dos 7 DAAH em ambos os biótipos foram observadas reduções significativas comparadas com a testemunha sem aplicação do herbicida (Fig. 23). A fotossíntese negativa observada para o biótipo suscetível indicou que não ocorreu absorção de CO_2 e a planta tendeu a consumir suas reservas acumuladas, resultando assim em gasto de energia e limitação de crescimento, levando à sua morte. A inibição da EPSPS desregula o fluxo de carbono na rota do chiquimato com a consequente redução nos metabólitos que ocorrem na fase escura da fotossíntese, e essa alteração no metabolismo de carbono nas folhas inibe a fotossíntese (GEIGER; SHIEH; FUCHS, 1999).

Para o biótipo resistente, o herbicida glifosato não causou inibição total da assimilação do CO_2 e possivelmente a fotossíntese se reestabeleceu ao longo do tempo. Resultados semelhantes são observados em soja resistente a glifosato após a aplicação do herbicida, em que taxa de assimilação de CO_2 , taxa de transpiração,

eficiência da carboxilação e uso eficiente da água foram afetados pela aplicação do glifosato (ZOBIOLE et al. 2010a).

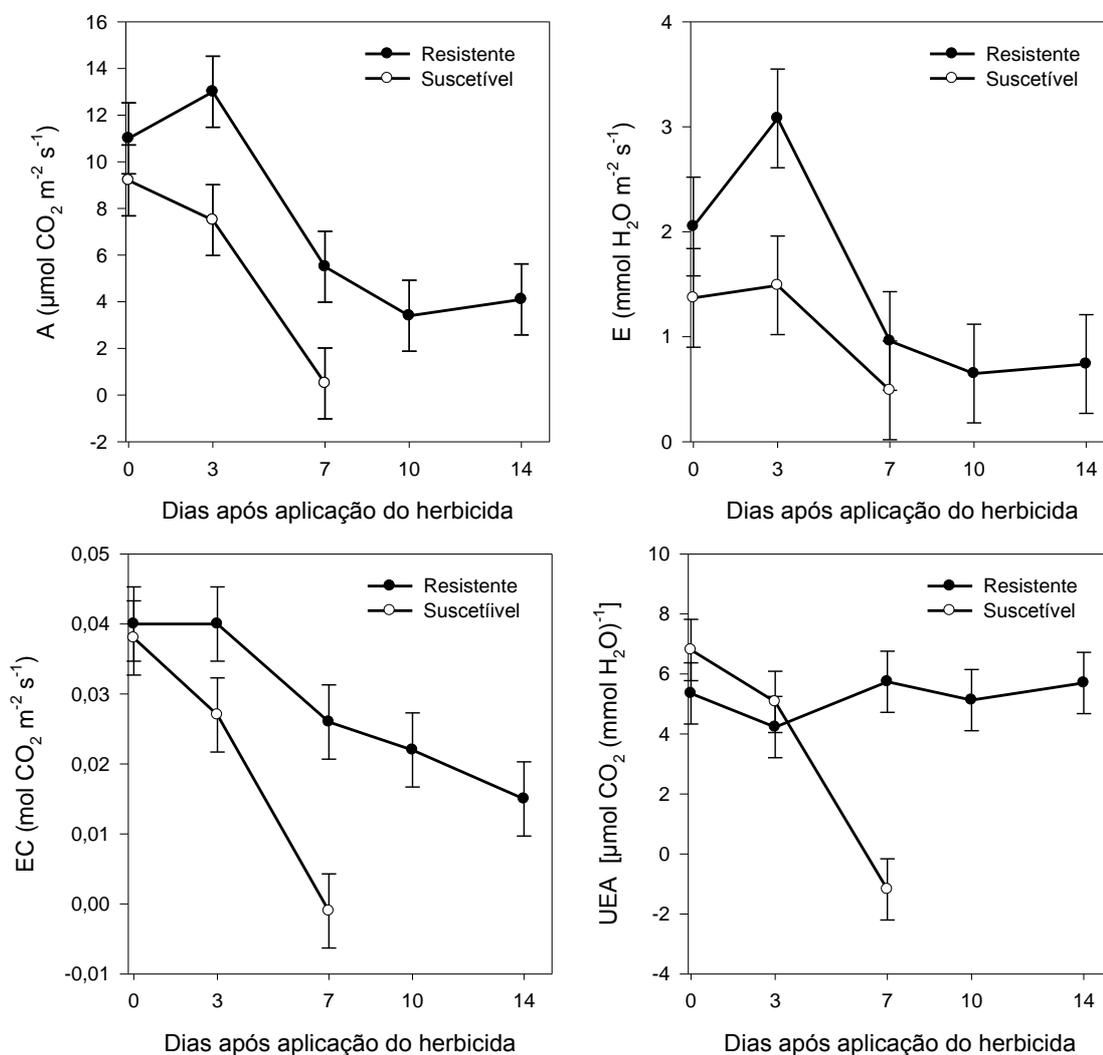


Figura 23 – Taxa fotossintética (A), taxa de transpiração (E), eficiência da carboxilação (EC) e uso eficiente da água (UEA) de biótipos de buva resistente e suscetível em função de dias após a aplicação de glifosato. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).

A resposta do biótipo resistente aos 3 DAAH indicou um incremento na taxa de transpiração, provavelmente devido ao aumento da atividade metabólica, possivelmente ligado aos processos de detoxificação, inativação ou compartimentalização do glifosato (AHSAN et al. 2008) (fig. 23). O aumento da atividade da enzima 3-deoxy-D-arbino heptulosonate 7-phosphate synthase (DAHP),

da produção de altas concentrações de compostos fenólicos e grande produção de amino ácidos aromáticos podem permitir que o biótipo resistente permaneça com o metabolismo ativo, sem perdas, por mais tempo que biótipos suscetíveis (PLINE-SRNIC, 2006).

Contudo esse aumento no metabolismo, possivelmente é reduzido aos 7 DAAH para ambos os biótipos, sendo que para o biótipo resistente há uma tendência de aumento aos 14 DAAH (Fig. 23). A eficiência da carboxilação pode ser obtida pela razão da taxa de assimilação de CO_2 e a concentração de CO_2 subestomática, e representa uma forma indireta de medir a atividade da rubisco. O aumento da concentração de CO_2 no interior da folha induz a aumentos na eficiência fotossintética, principalmente pela inibição da atividade da oxigenase da enzima da rubisco (ribulose-1, 5-bifosfato carboxilase/oxigenase) (LONG et al., 2006).

Nenhuma mudança significativa no uso eficiente da água ocorreu para o biótipo resistente após a aplicação do herbicida, permanecendo constante até aos 14 DAAH (Fig. 23). Por outro lado, a aplicação de glifosato declinou a resposta do uso eficiente da água para o biótipo suscetível, apresentando reduções logo aos 3 DAAH a partir da qual a planta começou a limitar a assimilação de CO_2 . Ao 0 e 3 DAAH não se observou diferenças no uso eficiente da água entre os dois biótipos, somente verificada a partir de 7 DAAH, em prol ao biótipo resistente, permanecendo até ao 14 DAAH.

Na figura 24A, está representada o cromatograma com padrão de ácido chiquímico com tempo de retenção em 5,6 minutos, e na Fig. 24B, está representada os picos do biótipo resistente (linha azul) biótipo suscetível (linha vermelha). A avaliação do acúmulo de ácido chiquímico, nas plantas de buva, em função de épocas de aplicação do glifosato evidenciou interação entre os fatores biótipos e épocas. A concentração de ácido chiquímico endógeno não diferiu entre os biótipos e a concentração média foi de $149 \mu\text{g g}^{-1}$ e $212 \mu\text{g g}^{-1}$ para biótipo resistente e suscetível ao 0 DAAH, respectivamente (Fig. 25).

A concentração de ácido chiquímico endógeno dos biótipos de *Conyza bonariensis* neste estudo é semelhante à encontrada para *Conyza canadensis* (REDDY et al., 2008). A concentração de ácido chiquímico endógeno em plantas é variável conforme espécie, estágio de desenvolvimento e condições ambientais (MATALLO et al., 2009), servindo como um parâmetro indireto para indicar a inibição da EPSPS

pelo herbicida glifosato, ainda que o primeiro metabólito de glifosato, AMPA, também possa causar acúmulo de ácido chiquímico em plantas (REDDY et al., 2008).

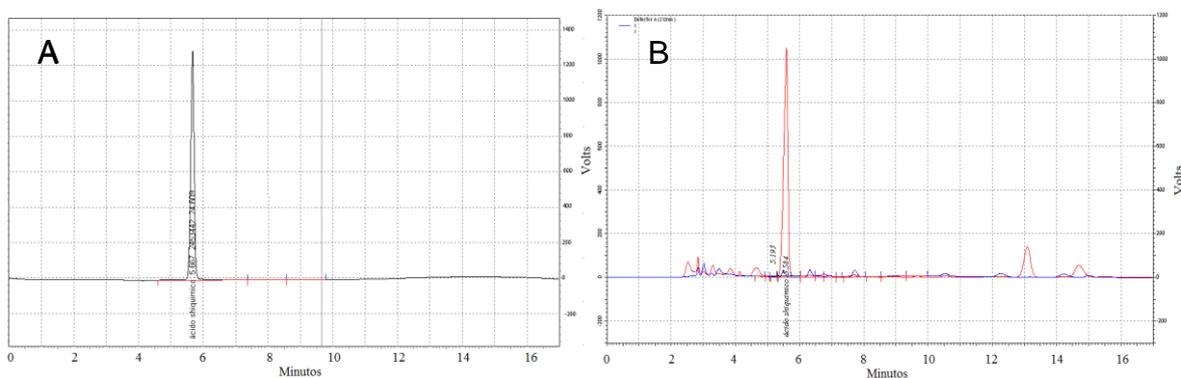


Figura 24 – Cromatograma com amostra padrão de ácido chiquímico (A) e cromatograma de biótipo resistente (linha azul) e suscetível (linha vermelha) aos 3 dias após a aplicação do herbicida.

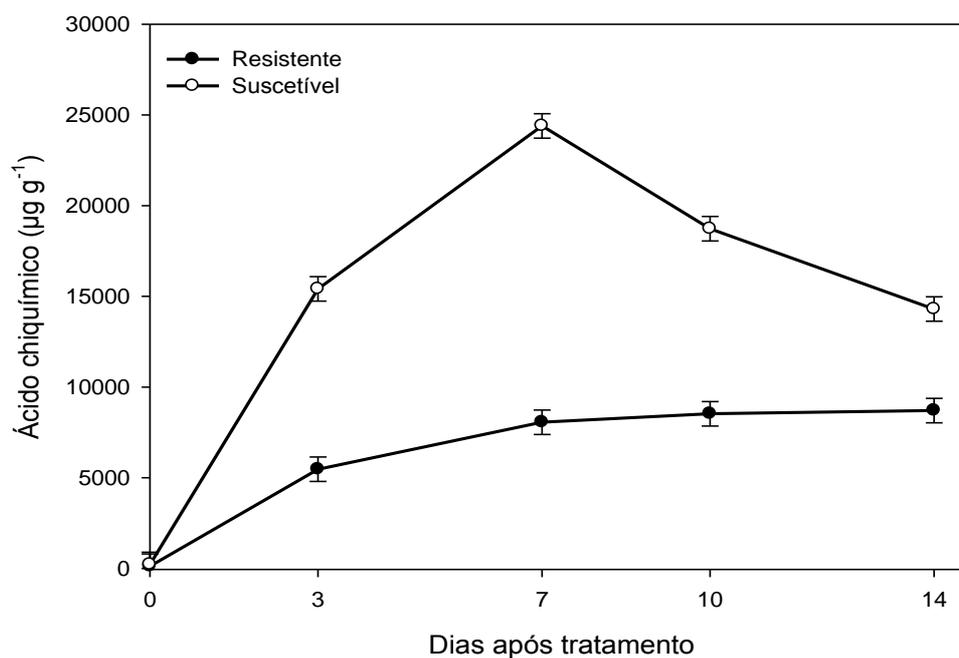


Figura 25 – Acúmulo de ácido chiquímico em biótipos de buva resistente e suscetível a glifosato em função de dias após tratamento de glifosato (1080 g e.a. ha⁻¹). Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2012. Barras representam diferença mínima significativa (DMS).

Em ambos os biótipos de buva avaliados ocorreu aumento significativo na concentração de ácido chiquímico induzida pela aplicação do glifosato (Fig. 25). Entretanto, as maiores concentrações foram observadas no biótipo suscetível em todas as épocas avaliadas em comparação ao biótipo resistente. O aumento na concentração de ácido chiquímico no biótipo suscetível foi observado até 7 DAAH, com pico máximo de aproximadamente $24000 \mu\text{g g}^{-1}$, com posterior queda nas duas avaliações subsequentes. A concentração de ácido chiquímico no pico máximo acumulado no biótipo suscetível foi de aproximadamente 113 vezes a concentração do endógeno.

Para o biótipo resistente, a concentração de ácido chiquímico se elevou até 7 DAAH, com concentração 65 vezes superior ao endógeno determinado ao 0 DAAH, permanecendo estável até 14 DAAH, configurando uma inibição parcial da EPSPS (Fig. 25). Resultados semelhantes são encontrados na literatura, em que ambos os biótipos resistente e suscetível ao glifosato há acúmulo de ácido chiquímico (MULLER et al., 2003; FENG et al., 2004; KOGER et al., 2005). Em biótipos de *Conyza* sp. resistentes ao glifosato com reduzida translocação do herbicida na planta como mecanismo de resistência, também foi verificado acúmulo de ácido chiquímico após aplicação do herbicida (FENG et al., 2004; DINELLI et al., 2008).

O mecanismo de resistência relacionado à insensibilidade da enzima EPSPS ao herbicida glifosato é controlado por mutações que alteram a sequência de amino ácidos da enzima. As principais alterações na sequência de amino ácidos que conferem insensibilidade da enzima EPSPS ao glifosato são prolina-106 e a substituição por amino ácidos podem conduzir a diferentes níveis de resistência. Plantas que apresentam mutações na sequência de amino ácidos na EPSPS conferem baixos níveis de resistência a herbicidas, cerca de 2 a 4 vezes (KAUNDUN et al., 2011), enquanto que biótipos que conferem resistência aos mecanismos de ação de inibidores da ACCase, ALS e fotossistema II apresentam níveis de resistência de 20 a 100 vezes (DEVINE; SHUKLA, 2000).

Substituições na sequência de amino ácidos de prolina na posição 106 do gene da EPSPs por diferentes amino ácidos podem conduzir diferentes níveis de resistência. Em biótipos de *Lolium multiflorum* substituições de prolina a alanina possuem níveis de resistência de até 15 vezes, enquanto que substituições de prolina à serina conferem níveis de resistência de até 5 vezes (JASIENIUK et al.,

2008). Já em uma população de *Lolium rigidum* a substituição de prolina a treonina confere nível de resistência de até 3,4 vezes (WAKELIN; PRESTON, 2006). Em *Eleusine indica*, outra espécie que possui resistência por alteração na EPSPs, as mesmas substituições que ocorrem em *Lolium multiflorum* (prolina a alanina) conferem baixos níveis de resistência (KAUNDUN et al., 2008). Ainda Carvalho et al., 2012, encontrou duas substituição de amino ácidos nas posições 182 e 310 do gene da EPSPs que podem contribuir para a resistência ao glifosato, alterando prolina a treonina e tirosina a cisteína, respectivamente.

Possivelmente outros mecanismos de resistência podem estar associados a este biótipo resistente, como a redução na translocação de glifosato. Em estudo para avaliar o mecanismo de resistência de *Conyza bonariensis* observou-se que o biótipo resistente apresentou acúmulo de glifosato na folha aplicada, enquanto que no biótipo suscetível o herbicida distribuiu-se por toda a planta (FERREIRA et al., 2008). Resultados semelhantes foram encontrados para *Conyza canadensis* (FENG et al., 2004) *Conyza bonariensis* (DINELLI et al., 2008).

O sequestro do glifosato para dentro do vacúolo é outro mecanismo de resistência, relacionado à translocação reduzida do glifosato, (GE et al., 2010). Em plantas suscetíveis, quando o glifosato chega ao citoplasma é dirigido para o floema e conseqüentemente distribuído para os locais de ação. Já em plantas resistentes, o glifosato que chega ao citosol das células é sequestrado e direcionado ao vacúolo, ficando indisponível ao transporte via floema, e conseqüentemente, não atinge o alvo para sua ação. Possivelmente os transportadores ABC são os responsáveis pela entrada do glifosato no vacúolo em plantas que possuem reduzida translocação como mecanismo de resistência ao glifosato (YUAN; TRANEL; STEWART, 2007; NOL et al., 2012).

Foi observado metabolismo diferencial do glifosato entre biótipos de *Conyza canadensis* resistentes e suscetíveis. Nesses biótipos, o metabolismo do glifosato é mais rápido no biótipo resistente comparado ao biótipo suscetível, e o glifosato é transformado nos metabólitos AMPA, glioxilato e sarcosina (GONZÁLEZ-TORRALVA et al., 2012).

Mecanismo de resistência ligado à enzima EPSPS tem sido relatado em biótipos de *Amaranthus palmeri* onde esses biótipos demonstram resistência devida à expressão e amplificação do gene EPSPS em múltiplos cromossomos (GAINES et al., 2010). A relação do número de cópias da EPSPS foi de cinco a mais de 160

copias do gene comparado com o biótipo suscetível. Neste caso de resistência, a enzima EPSPS continua sensível ao herbicida glifosato, o que muda é que a quantidade de herbicida necessário para reduzir a atividade da EPSPS aumenta com o número de cópias do gene EPSPS (GAINES et al., 2010).

6.4 Conclusões

O biótipo suscetível reduz seu crescimento em função da aplicação do glifosato, enquanto que o resistente não é afetado.

O glifosato inibe completamente a taxa fotossintética, transpiração, eficiência da carboxilação e uso eficiente da água no biótipo suscetível.

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

7. Capítulo VI – Caracterização molecular de *Conyza bonariensis* com a utilização da técnica RAPD

7.1 Introdução

O gênero *Conyza* Less. pertence à subtribo Conyzinae inclui aproximadamente 100 espécies de plantas, as quais se distribuem em quase todo o mundo (KISSMANN; GROTH, 1997; BREMER, 1994). Conyzinae é uma tribo composta por oito gêneros (NESOM; ROBINSON, 2007), dos quais metade possui espécies com distribuição restrita na América do Sul (NOYES, 2000). A espécie *Conyza bonariensis* é nativa da América do Sul, ocorrendo principalmente na Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai (KISSMANN; GROTH 1997), no entanto, podendo ocorrer na Europa (URBANO et al., 2007). No Brasil, ocorrem principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, infestando terrenos baldios, margens de rodovias, culturas perenes e anuais (LORENZI, 2000).

Espécies do gênero *Conyza* crescem em ambientes com distúrbios e são plantas que possuem alta capacidade de colonizar outras áreas devido às suas características, principalmente quanto à produção e dispersão de descendentes, sendo o conhecimento da diversidade genética de plantas daninhas fator essencial para realizar programa de manejo em longo prazo e prevenir o surgimento de outras áreas infestadas (DEKKER, 1997).

O ambiente agrícola com seus distúrbios impõe pressão de seleção em comunidades de plantas daninhas que inevitavelmente resultam em troca da população de plantas no ambiente (OWEN, 2001). O número de herbicidas

utilizados para o controle de plantas daninhas em culturas reduziu nos últimos anos, principalmente pelo uso de culturas geneticamente modificadas resistentes a herbicidas. No Brasil, essas mudanças ocasionaram implicações ecológicas, facilitando mudanças na comunidade de plantas daninhas, principalmente pela evolução de biótipos resistentes de buva (*Conyza* sp.), capim-amargoso (*Digitaria insularis*) e azevém (*Lolium multiflorum*) e/ou seleção de espécies tolerantes como leiteiro (*Euphorbia heterophylla*), trapoeraba (*Commelia benghalensis*), corriolas (*Ipomea* sp.) e poaia branca (*Richardia brasiliensis*).

Em geral, as espécies daninhas apresentam elevada variabilidade genética entre plantas da população ou entre populações, com potencial para se adaptar ao manejo utilizado no seu controle (HOLT; HOCHBERG, 1997), podendo essa população predispor a elevada frequência inicial e contribuindo para a rápida seleção de biótipos para a resistência aos herbicidas (VARGAS et al., 1999).

Os avanços em estudos moleculares, com o surgimento da PCR (Polymerase Chain Reaction), trouxeram conhecimentos na área de genética de populações, o que permitiu avaliar a diversidade genética diretamente ao nível de DNA. A técnica de RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) tem sido utilizada na área da ciência das plantas daninhas, principalmente, para caracterização e similaridade genética de populações de plantas daninhas, e dentre as espécies que tem sido estudada por marcadores RAPD estão *Aegilops cylindrica* (PESTER et al., 2003); *Euphorbia heterophylla* (WINKLER; VIDAL; NETO, 2003); *Amaranthus* spp (RAY; ROY, 2008); *Cyperus esculentus* (ABAD et al., 1998); *Bidens pilosa* por RAPD (VIDAL et al., 2007); *Alternanthera philoxeroides* (XU et al., 2003).

Os marcadores RAPD são produzidos pela amplificação casualizada de segmentos de DNA com primers oligonucleotídeos curtos de sequência arbitrária (WILLIAMS et al., 1990). Os marcadores RAPD podem ser utilizados para identificação taxonômica, relação de parentesco, análises de fluxo gênico e hibridização, entre outras (HADRYZ; BALICK; SCHIERWATER, 1992).

O entendimento da diversidade genética das populações de plantas pode ser útil no manejo de plantas daninhas, especialmente se a diversidade genética resultar em diferentes respostas ao manejo (RANSOM; DOUCHES; KELLS, 1998). Com isso, o objetivo do trabalho foi caracterizar a diversidade genética de plantas de *Conyza* spp. ocorrentes no Rio Grande do Sul.

7.2 Material e métodos

Sementes de plantas de buva que sobreviveram a aplicações de glifosato foram coletadas em lavouras de soja Roundup Ready® (RR) entre os meses de fevereiro a abril de 2008, em diferentes Municípios do Estado do Rio Grande do Sul (RS) em 2008.

As sementes de buva coletadas foram submetidas à embebição em água por 48 horas para uniformização da germinação, e posteriormente foram postas a germinar em bandejas contendo solo. As bandejas foram mantidas em câmaras de crescimento tipo BOD, e após a germinação as plântulas foram transplantadas para vasos com capacidade de 500 mL.

Quando as plantas se encontravam no estágio de quatro a seis folhas, aplicou-se o herbicida glifosato, na dose 2160 g e.a. ha⁻¹. As plantas sobreviventes foram preseleccionadas conforme diferenças morfológicas e coletado sementes para análise molecular. As plantas de buva quando estavam em fase florescimento, foram levadas ao Laboratório de Estudos em Vegetação Campestre, Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para identificação.

Para análise molecular das plantas, sementes de sete biótipos de buva que sobreviveram a dose de 2160g e.a. ha⁻¹ foram postas a germinar, nas mesmas condições descritas acima, e quando as plantas apresentaram cerca de 20 folhas foram conduzidas ao Laboratório de Fisiologia Molecular de Plantas, do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL/RS).

O material vegetal utilizado para extração de DNA foi folhas jovens de sete biótipos de buva. Cada amostra foi macerada com 900 µL do tampão de extração (CTAB 2% + mercaptoetanol 1%), seguida da incubação em banho-maria à 60°C por 45 min. Com as amostras em temperatura ambiente, foi adicionado igual volume (900 µL) de clorofórmio/ácido isoamílico (24:1), agitando por 10 min. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a uma velocidade de 13.000 rpm por 8 min e aproximadamente 550 µL do sobrenadante foi transferido para um novo tubo de microcentrífuga. Em seguida, foi adicionado igual volume (550 µL) de etanol (-20°C),

mantendo as amostras a -20°C por duas horas, para precipitação do DNA. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 8000 rpm por 5 min, eliminando o álcool. Cada pellet foi lavado com etanol 70 e 100%, seco em câmara de fluxo laminar e dissolvido com 100 μL de TE pH 8,0, contendo 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de RNase, com posterior incubação a 37°C por 1 hora.

O DNA foi quantificado em gel de agarose 1,0% e diluído para uma concentração final de 20 ng, a fim de ser utilizado na reação de polimerase em cadeia (PCR). A estimativa da concentração de DNA foi realizada com base na comparação da intensidade das bandas com padrão de DNA λ digerido com a enzima Hind III.

Vinte e cinco oligonucleotídeos decâmeros ou primersRAPD (Operon Technologies) foram avaliados quanto ao padrão de polimorfismo gerado (tab. 17), sendo posteriormente utilizados somente aqueles que geraram polimorfismo entre os biótopos de buva.

Tabela 16 – Sequência de vinte e cinco primers RAPD utilizados na caracterização genética de buva. UFPel, Capão do Leão, 2012

Primer	Sequência	Primer	Sequência
³ OPA-01	CAGGCCCTTC	⁴ OPB-03	CATCCCCCTG
⁴ OPA-02	TGCCGAGCTG	⁴ OPB-10	CTGCTGGGAC
⁴ OPA-03	AGTCAGCCAC	⁴ OPB-19	ACCCCCGAAG
¹ OPA-11	CAATCGCCGT	⁴ OPB-20	GGACCCTTAC
³ OPA-17	GACCGCTTGT	⁴ OPAP-04	CTCTTGGGCT
² OPA-18	AGGTGACCGT	¹ OPAZ-04	CCAGCCTCAG
² OPX-02	TTCCGCCACC	² OPAI-07	ACGAGCATGG
⁴ OPX-03	TGGCGCAGTG	⁴ OPAM-11	AGATGCGCGG
⁴ OPX-07	GAGCGAGGCT	¹ OPAM-14	TGGTTGCGGA
¹ OPAC-09	AGAGCGTACC	¹ OPAF-11	ACTGGGCCTC
¹ OPAC-12	GGCGAGTGTG	¹ OPL-05	ACGCAGGCAC
⁴ OPAC-19	AGTCCGCCTG	⁴ OPS-14	AAAGGGGTCC
¹ OPC-17	TTCCCCCAG		

¹ polimorfismos reproduzíveis e de alta intensidade; ² bandas monomórficas; ³ não apresentaram repetibilidade dos polimorfismos; ⁴ não apresentaram boa amplificação de bandas

As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 25 μL contendo 10 μM de primer, 2,5 mM de MgCl_2 , 2,5 mM de cada desoxiribonucleotídeo (dNTP), 2,5 μM de buffer 10x, 1,25 U de Taq polimerase (Ludwig) e 20 ng de DNA genômico. As amplificações foram realizadas em termociclador modelo Icyler (Bio-Rad

Laboratories, USA), com as seguintes condições: 1 ciclo de 94 °C por 2min e 30s, 36 °C por 30s e 72 °C por 2 min; 21 ciclos de 94 °C por 2 s, 36 °C por 15s, 45 °C por 15s e 72 °C por 1 min e 30s; 19 ciclos de 94 °C por 20s, 36 °C por 15s, 45 °C por 15s e 72 °C por 2 min e 1 ciclo de 72 °C por 10 min.

Os fragmentos das reações de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 2,0%, posteriormente as bandas foram coradas em banho de brometo de etídeo por 15 min e visualizadas com auxílio do fotodocumentador (modelo E-BOX-100 – marca Vilber Lourmat).

Os iniciadores que apresentaram polimorfismos reproduzíveis e de alta intensidade foram selecionados e posteriormente utilizados na caracterização dos sete biótipos de buva. Com os dados de presença (1) ou ausência (0) de bandas, foi gerada a matriz de similaridade baseada no Coeficiente de Jaccard (JACCARD, 1908), utilizada para obtenção de um dendrograma pelo método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method With Arithmetic Means) utilizando o software NTSYS - PC (ROHLF, 2000). Também por meio desse software, os dados de agrupamento foram utilizados para o cálculo de uma matriz cofenética, a fim de verificar a representatividade do dendrograma em relação aos dados de similaridade, medido pelo coeficiente de correlação “r”.

7.3 Resultados e discussão

Todos os biótipos foram classificados como pertencente a espécie *Conyza bonariensis*, contudo a variação existente foi em relação a variedade, onde se verificou a existência de var. *bonariensis* e *microcephala* (tab. 18). Var. *bonariensis* pode apresentar 100 cm de estatura, enquanto que *microcephala* pode atingir até 180 cm (KISSMAN; GROTH, 1997), contudo em ambiente de casa de vegetação foram observadas plantas com aproximadamente 250 cm. Ambas as variedades apresentam tipo de caule, ramificações e folhas semelhantes, diferenciam-se pela inflorescência, em que a var. *bonariensis* apresenta capítulos com 6-7 mm comparado com capítulos pedicelados e menores que 6 mm de comprimento da var. *microcephala*. Os aquênios da *bonariensis* são pubescentes de 1,5 – 2 mm de comprimento, enquanto que para *microcephala* são desprovidos de pêlos e menores

que 1 mm (ENTZ; PAZ, 1999). Algumas diferenças entre as variedades de *Conyza bonariensis* encontradas podem ser observadas na fig. 26.

Tabela 17 – Local de coleta e espécies de *Conyza bonariensis* coletadas no Rio Grande do Sul.

Local	Biótipo	Espécies
Pelotas	5	<i>Conyza bonariensis</i> var. <i>bonariensis</i>
Soledade	51	<i>Conyza bonariensis</i> var. <i>bonariensis</i>
Guarani das Missões	62	<i>Conyza bonariensis</i> var. <i>bonariensis</i>
Cruz Alta	130	<i>Conyza bonariensis</i> var. <i>bonariensis</i>
Caçapava do Sul	358	<i>Conyza bonariensis</i> var. <i>bonariensis</i>
São Sepé	319	<i>Conyza bonariensis</i> var. <i>microcephala</i>
Piratini	363	<i>Conyza bonariensis</i> var. <i>microcephala</i>



Figura 26 – Diferenças entre variedade *bonariensis* e *microcephala* de *Conyza bonariensis* com base nas flores, anteras e aquênios. (adaptado de ENTZ; PAZ, 1999).

Estudos semelhantes indicaram a ocorrência de *Conyza bonariensis* var. *bonariensis* e var. *microcephala* no RS (GUARESCHI, 2010). Segundo o autor, analisando o número de cromossomos nessas plantas, identificou a ocorrência de número de cromossomos tetraplóides e pentaplóides. Já *Conyza bonariensis*, sem a classificação quanto a variedade, apresentou número cromossômico hexaplóide (PAULA, 2009).

Outros estudos sobre a composição florística no Rio Grande do Sul, evidenciou que outras espécies de *Conyza* estão presentes no Estado. Na região do Planalto Médio do Estado, importante região produtora de soja e onde há ocorrência de biótipos de buva resistente a glifosato, foram observadas as espécies *C. bonariensis* var. *microcephala* e *C. chilensis* (SCHENEIDER; IRGANG, 2005). Já, Guareschi (2010) cita a ocorrência de *C. bonariensis* var. *microcephala* nessa mesma região, contudo, com diferente número cromossômico da mesma variedade encontrada em outro local, evidenciando alguma diferenças entre as variedades encontradas. Na região de Santo Antônio da Patrulha foi encontrada a presença de *C. primulifolia* (Ferreira; Satubal, 2009). Na região da Campanha, aos arredores de Bagé, uma ampla variedade de espécies de *Conyza* foi encontrada em diferentes habitats e abundâncias, dentre as espécies encontradas estão *C. blakei*, *C. bonariensis*, *C. floribunda*, *C. lorentzii*, *C. notobellidiastrum* e *C. primulifolia* (RITTER; BAPTISTA, 2005). Já, em Santa Catarina, foi verificada a ocorrência de *Conyza notobellidiastrum* não associado a lavouras de soja, mas em bordas de florestas (MARTINS-RAMOS et al., 2011). Ainda em Santa Catarina, na região litorânea foram encontrada exemplares de *C. blakei* e *C. chilensis* (DANIEL, 2006).

A variação fenotípica ocorrente em *Conyza* pode ser devido ao cruzamento entre outras espécies do gênero ou em resposta ao estímulo ambiental (NESOM, 1990; ZELAYA et al., 2007). Utilizando características florais usadas na literatura para diferenciar espécies de *Conyza*, observou-se uma ampla faixa de variação entre as características florais de *C. sumatrensis* e *C. bonariensis*, o que impede a correta identificação entre essas espécies (PAGNONCELLI et al., 2012). Diferenças nas características florais e o aumento no nível de ploidia tem apresentado importante papel na evolução do gênero *Conyza* (URDAMPILLETA; AMAT; BIDAU, 2005).

Com relação aos marcadores moleculares, dos 25 primers RAPD testados, oito (OPC-17, OPM-14, OPL-05, OPAF-11, OPA-11, OPAZ-04, OPAC-09 e OPAC-12) apresentaram polimorfismos reproduzíveis e de alta intensidade, três (OPA-18, OPX-02 e OPAI-07) foram monomórficos, dois (OPA-17 e OPA-01) não apresentaram repetibilidade dos polimorfismos e doze (OPA-02, OPA-03, OPX-03, OPX-07, OPB-3, OPB-10, OPB-19, OPB-20, OPAP-04, OPM-11, OPS-14 e OPAC-19) não apresentaram boa amplificação de bandas (tab. 17). A Fig. 27 exemplifica o perfil eletroforético com bandas monomórficas, enquanto que a Fig. 28 exemplifica o

bom padrão de amplificação obtido nas repetições para os sete biótipos analisados, gerando um perfil eletroforético com polimorfismo, com a utilização dos 8 primers.

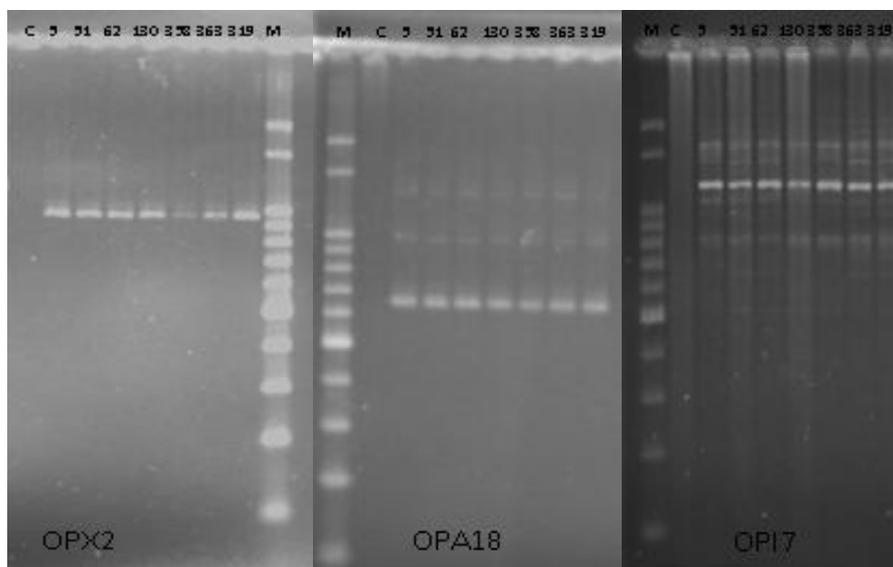


Figura 27 – Perfil eletroforético de 3 primers RAPD em buva. C- Controle (água), M- Marcador de peso molecular (ladder 100pb.). UFPel, Capão do Leão, 2012.

Para cada primer foram realizadas duas ou mais repetições, sendo computadas apenas as bandas que mostraram boa repetibilidade e intensidade. Primers que tiveram amplificações que não se repetiram, não tiveram seus dados registrados. Estes cuidados reduzem a possibilidade de eventuais erros na contagem incorreta de produtos fracamente amplificados que não correspondam a verdadeira história evolutiva da espécie (OLIVEIRA, 1998). A avaliação da diversidade de espécies de *Conyza* utilizando marcadores RAPD, indicou que o número de bandas formadas é importante para extrair a máxima informação sobre o biótipo, e quanto maior for o polimorfismo gerado para cada primers melhores são as informações geradas sobre a variabilidade da população de plantas (BASSI et al., 2010). Segundo esses mesmos autores, primers que geram poucos fragmentos são poucos informativos, o que gera uma dificuldade de se estudar a variabilidade entre as espécies, como pode ser visualizado na Fig. 26.

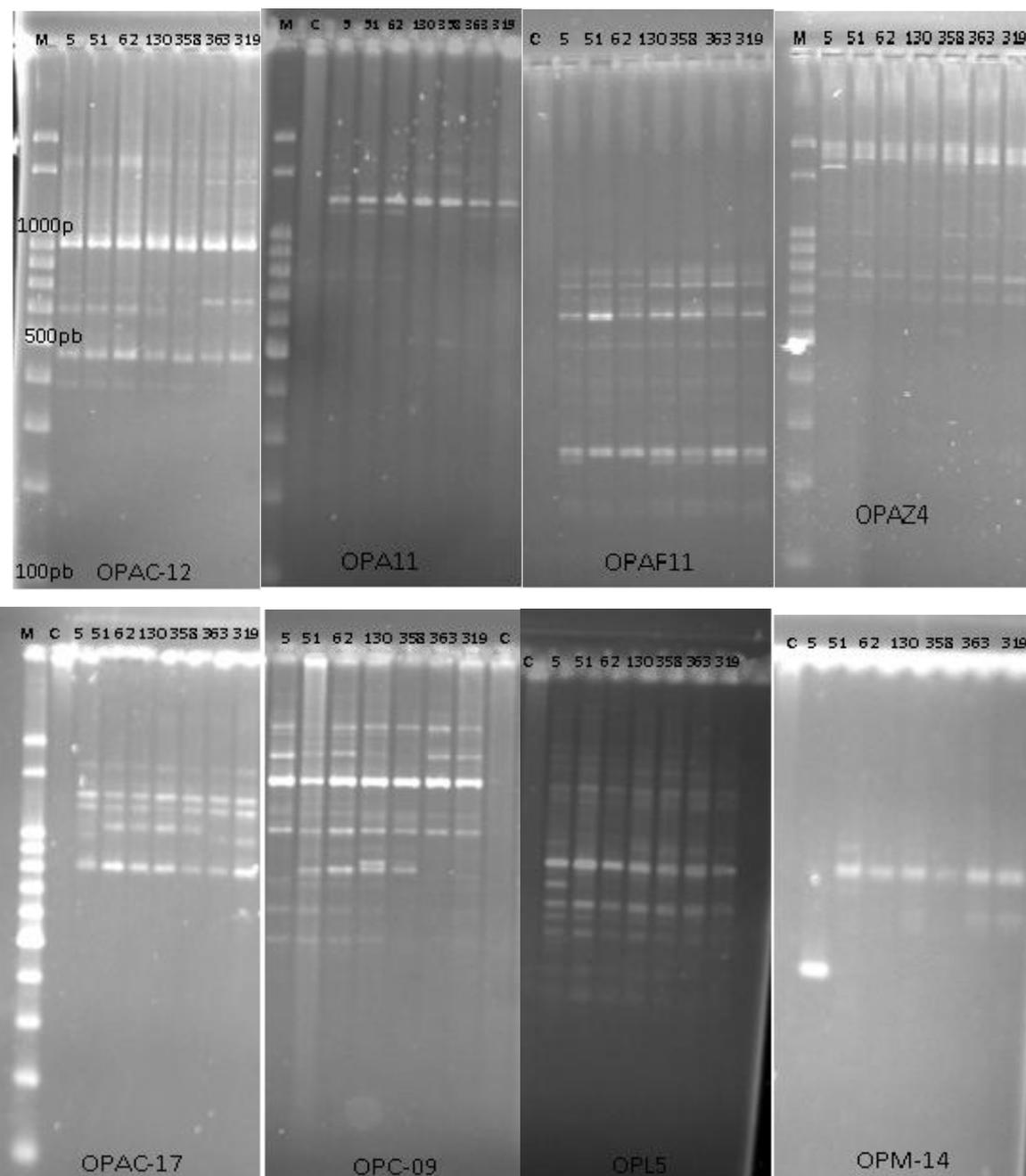


Figura 28 – Perfil eletroforético de 8 primers RAPD em buva. M- Marcador de peso molecular (ladder 100pb.), C- controle (água). UFPel, Capão do Leão, 2012

Uma matriz de similaridade genética com os biótipos de *C. bonariensis* foi construída com base em oito primers (OPC-17, OPM-14, OPL-05, OPAF-11, OPA-11, OPAZ-04, OPAC-09 e OPAC-12) (tab. 19) e submetida à análise de cluster UPGMA. A correlação cofenética foi estimada em $r = 0,86$, valor que evidencia a elevada confiabilidade entre a matriz de distâncias original e a matriz gerada pelo

agrupamento UPGMA (SOKAL; ROLPH, 1962). A magnitude da distorção indica a eficiência do agrupamento obtido pelo método UPGMA que também indica boa eficiência na técnica de agrupamento utilizada.

Tabela 18 – Matriz de distâncias entre biótipos de buva baseada em 8 primers RAPD. UFPel, Capão do Leão, 2012

Biótipos	5	51	62	130	358	363	319
5	1,00						
51	0,50	1,00					
62	0,50	1,00	1,00				
130	0,38	0,60	0,60	1,00			
358	0,23	0,40	0,40	0,72	1,00		
363	0,18	0,10	0,10	0,10	0,12	1,00	
319	0,33	0,40	0,40	0,40	0,20	0,50	1,00

A partir da análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas (tab. 19), subdividiram-se os sete biótipos em cinco grupos, de acordo com a similaridade média de 0,53 (Fig. 29). O valor de similaridade observado é intermediário comparado com outras plantas daninhas e culturas. Em *Bidens* spp. estudos verificaram similaridade média entre as populações de 38% e 27% (VIDAL et al., 2005; HERNANDEZ et al., 2004) em populações de diferentes locais, enquanto que para a cultura do trigo a similaridade foi de 73% que evidencia elevada homogeneidade entre os indivíduos (FREITAS et al., 2003). Plantas que se propagam vegetativamente apresentaram similaridade superior, devido a não recombinação genética, é o caso que acontece com *Eichornia crassipes* (CARDOSO et al., 2002).

O primeiro formado pelo biótipo 5 foi 50% similar ao segundo grupo, composto pelos biótipos 51 e 62, que apresentaram 100% de similaridade de acordo com os primers testados, o terceiro com similaridade de 72% e constituídos pelos biótipos 130 e 358, e o quarto grupo formado pelo biótipos 363 e o quinto pelo 319, os quais apresentam 50% de similaridade.

A análise por dendrograma demonstrou tendência de separar as diferentes variedades da *C. bonariensis* (Fig. 29). Entre os biótipos que compõem a variedade bonariensis, biótipos 5, 51, 62, 130 e 358, a similaridade foi de aproximadamente 45%, enquanto que biótipos caracterizados como microcephala, biótipos 319 e 363, apresentam similaridade de 50%, e entre as duas variedades a similaridade foi de

23%. Análise de variabilidade genética utilizando RAPD demonstrou ser bastante eficiente para distinguir polimorfismo entre diferentes espécies de *Amaranthus* (RAY; ROY, 2008).

Espécies do gênero *Conyza* possuem a capacidade cruzar com outras espécies do gênero e com isso pode acarretar em modificações fenotípicas que podem facilitar a adaptação em diferentes nichos ecológicos (ZELAYA et al., 2007). Além dos marcadores moleculares para verificar a diversidade e caracterização das espécies de plantas daninhas, substância oriundas do metabolismo secundário também podem ser utilizadas como forma de classificar espécies do gênero *Conyza*, pois essas substâncias estariam ligadas a mudanças cromossômicas e nas características morfológicas (URDAMPILLETA et al., 2005).

7.4 Conclusão

Todos os biótipos identificados são da mesma espécie: *Conyza bonariensis* e a variação encontrada foi quanto a variedade, sendo encontradas *bonariensis* e *microcephala*.

Os primers RAPD OPC-17, OPM-14, OPL-05, OPAF-11, OPA-11, OPAZ-04, OPAC-09 e OPAC-12 distinguem quanto a variabilidade encontrada entre *Conyza bonariensis* var. *bonariensis* e var. *microcephala*.

A técnica de RAPD pode ser importante ferramenta para caracterização genética de espécies de *Conyza*.

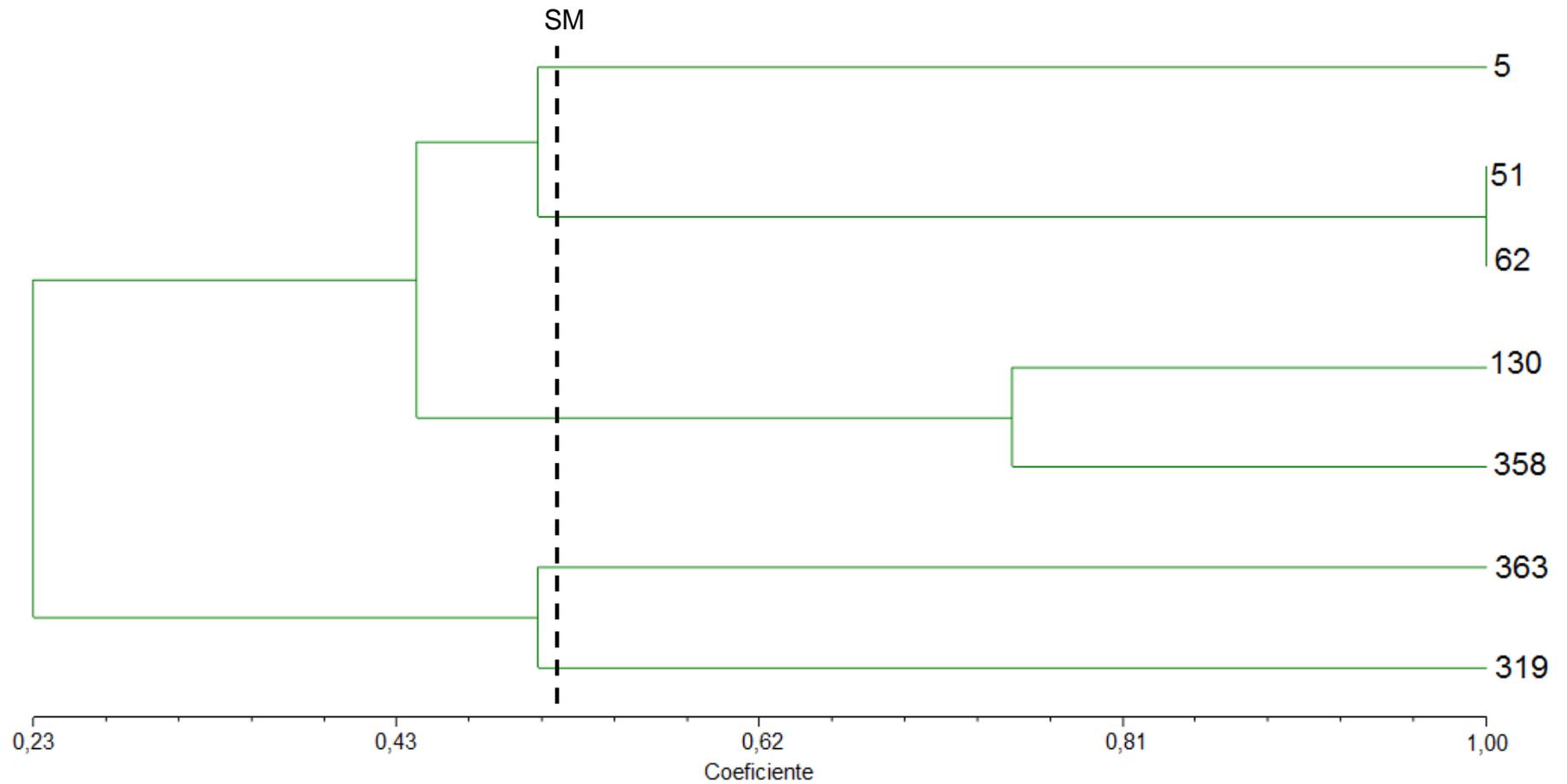


Figura 29 – Padrão de similaridade genética obtido entre biótopos de buva definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base na média dos índices de Jaccard. SM- Similaridade média. UFPel, Capão do Leão, 2012.

8 Conclusões gerais

O grau de interferência na cultura por planta daninha depende das características de cada planta e também do ambiente onde estão em competição. A resposta da soja à competição com biótipos de buva resistente e suscetível mostrou-se diferente em função da cultivar e biótipos.

Além de reduções nas variáveis morfológicas na soja, a competição com os biótipos de buva resistente e suscetível ao glifosato interferem nas variáveis fotossintéticas da soja, reduzindo-as na medida em que tempo de convivência é aumentado. Da mesma forma, a produtividade da soja é afetada com o aumento do tempo de convivência e o número de plantas de buva, causando prejuízos econômicos. O nível de dano econômico reduzido, ou seja, uma menor população de plantas de buva presentes na lavoura se justifica quando se tem expectativas de produtividades de grãos de soja altas, bons preços oferecidos pela soja, redução no custo de controle e alta eficiência dos herbicidas aplicados.

Na questão adaptabilidade fotossintética, o biótipo de buva resistente ao glifosato apresenta-se superior ao biótipo suscetível, indicando que a resistência, nesse caso, foi causou uma alteração no metabolismo do biótipo, aumentando sua capacidade fotossintética, além da melhor eficiência em fixação de carbono e eficiência da água. Da mesma forma, quando na quando sob efeito de glifosato, o biótipo resistente não apresenta alterações no crescimento e nos parâmetros fotossintéticos, contudo, há acúmulo de ácido chiquímico, indicando que possivelmente, os mecanismos de resistência possam estar ligados a reduzida translocação e/ou compartimentalização de glifosato no vacúolo ou ainda aumento da expressão e amplificação do gene EPSPS.

Entre os biótipos estudados do Rio Grande do Sul, que apresentaram resistência ao glifosato, a espécie ocorrente é *Conyza bonariensis* com uma variação quanto a variedade, sendo encontrada a variedade *bonariensis* e *microcephala*. Contudo, mesmo em plantas de apresentam a mesma variedade é verificado diferenças genéticas entre elas.

9 Referências

- ABAD, P.; PASCUAL, B.; MAROTO, J.V.; LOPEZ-GALARZA, S.; VICENTE, M.J.; ALAGARDA, J. RAPD analysis of cultivated and wild yellow nutsedge (*Cyperus esculentus* L.). **Weed Science**, v.46, 318-321, 1998.
- ADATI, C.; OLIVEIRA, V.A.; KARAM, D. Análise matemática e biológica dos modelos de estimativa de perdas de rendimento na cultura devido à interferência de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.24, n. 1, p. 1-12, 2006.
- AGOSTINETTO, D.; FLECK, N.G.; RIZZARDI, M.A.; BALBINOT Jr., A.A. Perdas de rendimento de grãos na cultura de arroz irrigado em função da população de plantas e da época relativa de emergência de arroz-vermelho ou de seu genótipo simulador de infestação de arroz-vermelho. **Planta Daninha**, v.22, p.175-183, 2004.
- AGOSTINETTO, D.; RIGOLI, R.P.; SCHAEGLER, C.E.; TIRONI, S.P.; SANTOS, L.S. Período crítico de competição de plantas daninhas com a cultura do trigo. **Planta Daninha**, v.26, p.271-278, 2008.
- AHSAN, N.; LEE, D.G.; LEE, K.W.; ALAMA, I.; LEE, S.H.; BAHK, J.D.; LEE, B.H. Glyphosate-induced oxidative stress in rice leaves revealed by proteomic approach **Plant Physiology and Biochemistry**, v.46, p.1062–1070, 2008.
- ALCORTA, M.; FIDELIBUS, M.W.; STEENWERTH, K.L.; SHRESTHA, A. Competitive effects of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible horseweed (*Conyza canadensis*) on young grapevines (*Vitis vinifera*). **Weed Science**, v.59, p.489-494, 2011.

ALMEIDA, G.D.; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M.C.; COELHO, I.; SOBREIR, F.M., Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, v.61, p. 4237-4247, 2008.

APHALO, P.J.; BALLARÉ, C.L. On the importance of information-acquiring systems in plant–plant interactions. **Functional Ecology**, v.9, p.5-14, 1995.

Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE). Disponível em: <http://www.abiove.com.br/cotacoes_br_07.html> Acesso em: jun. de 2012.

ATTRIDGE, T. H. The natural light environment. In: Light and plant responses. London: Edward Arnold, 1990. p. 1-5.

BAERSON, S. R.; RODRIGUEZ, D. J.; TRAN, M.; FENG, Y.; BIEST, N. A.; DILL, G. M. Glyphosate-resistant goosegrass. Identification of a mutation in the target enzyme 5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase. **Plant Physiology**, v.129,1265–1275. 2002.

BALBINOT JR., A.A.; FLECK, N.G.; BARBOSA NETO, J.F.; RIZZARDI, M.A. Características de plantas de arroz e a habilidade competitiva com plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 21, p.165-174, 2003.

BALDWIN, I.T.; HALITSCHKE, R.; PASCHOLD, A.; VON DAHL, C.C.; PRESTON, C.A. Volatile Signaling in Plant-Plant Interactions: “Talking Trees” in the Genomics Era. **Science**, v.311, p. 812-815, 2006.

BALLARE, C.L.; SCOPEL, A.L.; SANCHEZ, R.A. Far-red radiation reflected from adjacent leaves: an early signal of competition in plant canopies. **Science**, v.247, p.329–331. 1990.

BASSI, D.; SOARES, A. A. F; OLIVEIRA-COLLET, S. A.; OLIVEIRA JR, R.S.; FREGONEZI, A. M. D.T.; MANGOLIN, C. A. Seleção de primers de RAPD para estudo da diversidade genética de *Conyza* sp. Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 27., 2010. Ribeirão Preto. **Anais do...** Ribeirao Preto: FUNEP, 2010, p.431-435.

BAUER, T.A.; MORTENSEN, D.A.; WICKS, G.A.; HAYDEN, T.A.; MARTIN, A.R. Environmental variability associated with economic thresholds for soybeans. **Weed Science**, v.39, p.564-569, 1991.

- BENSCH, C. N., HORAK, M. J. AND PETERSON, D. Interference of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*), palmer amaranth (*Amaranthus Palmeri*) and common waterhemp (*Amaranthus rudis*) in soybean. **Weed Science**, v.51, p.37–43, 2003.
- BERTI, A.; ZANIN, G. GESTINF: A decision model for post-emergence weed management in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). **Crop Protection**, v.16, p.109-116, 1997.
- BIANCHI, M.A.; FLECK, N.G.; DILLENBURG, L.R. Partição da competição por recursos do solo e radiação solar entre cultivares de soja e genótipos concorrentes. **Planta Daninha**, v.21, p.629-639, 2006.
- BIANCHI, M.A.; FLECK, N.G.; FEDERIZZI, L.C. Características de plantas de soja que conferem habilidade competitiva com plantas daninhas. **Bragantia**, v.65, p.623-632, 2006.
- BIANCHI, M.A.; FLECK, N.G.; LAMEGO, F.P. Proporção entre plantas de soja e plantas competidoras e as relações de interferência mútua. **Ciência Rural**, v.36, p.1380-1387, 2006.
- BLACKSHAW, R. E.; O'DONOVAN, J.T.; HARKER, K.N.; CLAYTON, G.W.; STOUGAARD, R.N. Reduced herbicide doses in field crops: a review. **Weed Biology Management**, v.6, p.10–17, 2006.
- BLOCH, D.; HOFFMANN, C.M.; MARLANDER, B. Impact of water supply on photosynthesis, water use and carbon isotope discrimination of sugar beet genotypes. **European Journal of Agronomy**, v.24, p.218–225, 2006.
- BREMER, K. **Asteraceae: cladistics and classification**. Timber Press, Portland, 752p. 1994.
- BRUCE, J.; KELLS, J. Horseweed (*Conyza canadensis*) control in no-tillage soybeans (*Glycine max*) with preplant and preemergence herbicides. **Weed Technology**, v.4, p.642-647, 1990.
- CARDOSO, L. R.; MARTINS, D.; KURAMAR, E. E.; TANAKA, R. H.; MORI, E. S. Variabilidade genética de acessos de aguapé coletados no Estado de São Paulo. **Planta Daninha**, v.20, p.1-5, 2002.
- CARVALHO, L.B.; ALVES, P.L.C.A.; GONZALEZ-TORRALVA, F.; CRUZ-HIPOLITO, H.E.; ROJANO-DELGADO, A.M.; DE PRADO, R.; GIL-HUMANES, J.; BARRO, F.;

LUQUE DE CASTO, M.D. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.615-622, 2012.

CASPER, B.B.; JACKSON, B.R. Plant competition underground. Annual reviews **Ecology Systemic**, v.28, p.545-570, 1997.

CHRISTOFFOLETI, P. J., P. WESTRA, AND F. MOORE. Growth analysis of sulfonylurea-resistant and -susceptible kochia (*Kochia scoparia*). **Weed Science**, v.45, p.691–695. 1997.

COBLE, H. D. My view. **Weed Science**, v.46, p.509. 1998.

COCHARD, H.; COLL, L.; ROUX, X.; AMEGLIO, T. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. **Plant Physiology**, v.128, p.282-290, 2002.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Séries históricas. 2012. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?>>. Acesso em: 26 mai. 2012.

CONCENÇO, G.; FERREIRA, E.A.; SILVA, A.A.; FERREIRA, F.A.; VIANA, R.G.; D'ANTONINO, L.; VARGAS, L.; FIALHO, C.M.T. Uso da água em biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) em condição de competição. **Planta Daninha**, v.25, p.449-455, 2007.

CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA JR., R.S.; CAVALIERI, S.D.; ARANTES, J.G.Z.; ALONSO, D.G.; ROSO, A.C. Estimativa do período que antecede a interferência de plantas daninhas na cultura da soja, var. Coodetec 202, por meio de testemunhas duplas. **Planta Daninha**, v.25, p.231-237, 2007.

COUSENS, R. An empirical model relating crop yield to weed and crop density and a statistical comparison with other models. **Journal of Agricultural Sciences**, v.105, p. 513-521, 1985.

COUSENS, R. Aspects of the design and interpretation of competition (interference) experiments. **Weed Technology**, v.5, p.664-673, 1991.

COUSENS, R. Theory and reality of weed control thresholds. **Plant Protection Quartely**, v.2, p.19-20, 1987.

COUSENS, R.; O'NEILL, M. Density dependence of replacement series experiments. **Oikos**, v.66, p.347-352, 1993.

DA MATTA, F.M.; LOOS, R.A.; RODRIGUES, R.; BARROS, R. Actual and potential photosynthetic rates of tropical crop species. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, p. 24-32, 2001.

DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L.; INDERJIT. Allelopathy: one component in a multifaceted approach to ecology. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M; FOY, C.L. **Principles and practices in plant ecology**. Boca Raton, CRC Press, 1999. p.3-14.

DAL MAGRO, T.; SCHAEGLER, C.E.; FONTANA, L.C.; AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. Habilidade competitiva entre biótipos de *Cyperus difformis* L. resistente ou suscetível a herbicidas inibidores de ALS e destes com arroz irrigado. **Bragantia**, v.70, p.294-301, 2011.

DANIEL, Rosabel Bertolin, **Florística e fitossociologia da restinga herbáceo-arbustiva do Morro Dos Conventos, Araranguá, SC**. 2006. 74f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2006.

DAUER, J.T.; MORTENSEN, D.A.; LUSCHEI, E.C.; ISARD, S.A.; SHIELDS, E.; VAN-GESSEL, M.J. *Conyza canadensis* seed ascent in the lower atmosphere. **Agricultural and Forest Meteorology**, v.149, p.526-534, 2009.

DAVIS, V.M.; JOHNSON, W.G. Glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) emergence, survival, and fecundity in no-till soybean. **Weed Science**, v.56, p.231–236, 2008.

DEKKER, J. Weed diversity and weed management. **Weed Science**, v. 37, p.237–246. 1997.

DEVINE, D.; SHUKLA, A. Altered target site as a mechanism of herbicide resistance. **Crop Protection**, v.19, p.881–889, 2000.

DIAS-FILHO, M.B. Photosynthetic light response of the C₄ grasses *Brachiaria brizantha* and *B. humidicola* under shade. **Scientia Agricola**, v.59, p.65-68, 2002.

- DIÁZ, J.; BERNAL, A.; POMAR, F.; MERINO, F. Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. **Plant Science**, v.161, p.179, 2001.
- DINELLI, G.; MAROTTI, I.; CATIOZONE, P.; BONETTI, A.; URBANO, J. M.; BARNES, J. Physiological and molecular basis of glyphosate resistance in *Coryza bonariensis* (L.) Cronq. biotypes from Spain. **Weed Research**, v.48, p.257–265. 2008.
- DING, W.; REDDY, K.N.; ZABLOTOWICZ, R.M.; BELLALLOUI, N.; BRUNS, H.A. Physiological responses of glyphosate-resistant and glyphosate-sensitive soybean to aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate. **Chemosphere**, v.83, p.593–598, 2011.
- DITTMAR, P.J.; MONKS, D.W.; JENNINGS, K.M. Effect of drip-applied herbicides on yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*) in plasticulture. **Weed Technology**, v.26, p.243-247, 2012.
- DOYLE, P.; STUPA, M. Reduced herbicide rates – a canadian perspective. **Weed Technology**, v.18, p.1157-1165, 2004.
- DUKE, S.O.; BAERSON, S.R.; RIMANDO, A.M. **Glyphosate**. New York: Wiley. 2003.120p.
- DURINGAN, J.C.; ALMEIDA, F.L.S. **Noções sobre Alelopatia**. Jaboticabal, FUNEP. 1993. 28p.
- EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação dos Solos**. Brasília: Embrapa-SP. 412 p. 1999.
- ENTZ, W.; PAZ, E.A. Caraterización de los taxa que se comercializan en Uruguay bajo el nombre de “yerba carnífera”. SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE FARMACOBOTÂNICA, 9 e REUNIÃO LATINO-AMERICANO DE FITOQUÍMICA, 2. 1999. Gramado, RS, Brasil.
- EVANS, S. P.; KNEZEVIC, S.Z.; LINDQUIST, JL.; SHAPIRO, C.A. BLANKENSHIP, E.E. Nitrogen application influences the critical period for weed control in corn. **Weed Science**, v.51, p.408-417, 2003.
- EYHERABIDE, J.J.; CENDOYA, M.G. Critical periods of weed control in soybean for full field and in-furrow interference. **Weed Science**, v.50, p.162–166. 2002.

- FENG, P.C.C.; TRAN, M.; CHIU, T.; SAMMONS, R.D.; HECK, G.R.; CAJACOB, C.A. Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. **Weed Science**, v.52, p.498–505, 2004
- FERREIRA, E.A.; GALON, L.; ASPIAZÚ, I.; SILVA, A.A.; CONCENÇO, G.; SILVA, A.F.; OLIVEIRA, J.A.; VARGAS, L. Glyphosate translocation in hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) biotypes. **Planta Daninha**, v.26, p.637-643, 2008.
- FERREIRA, P.M.A.; SETUBAL, R.B. Florística e fitossociologia de um campo natural no município de Santo Antonio da Patrulha, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biosciências**, v.7, p.195-204, 2009.
- FLECK, N.G.; LAMEGO, F.P.; SCHAEGLER, C.E.; FERREIRA, F.B. Resposta de cultivares de soja à competição com cultivar simuladora da infestação de plantas concorrentes. **Scientia Agraria**, v.8, p.213-218, 2007.
- FLECK, N.G.; RIZZARDI, M.A. AGOSTINETTO, D. Nível de dano econômico como critério para tomada de decisão no controle de guaxuma em soja. **Planta Daninha**, v.20, p.421-429, 2002.
- FLECK, N.G.; RIZZARDI, M.A.; AGOSTINETTO, D.; BALBINOT Jr. A.A. Interferência de picão-preto e guaxuma com a soja: efeitos da densidade de plantas e épocas relativa de emergência. **Ciência Rural**, v.34, p.41-48, 2004.
- FREITAS, L.B.; JERUSALINSKY, L.; BONATTO, S.L.; SALZANO, F.M. Extreme homogeneity among Brazilian wheat genotypes determined by RAPD markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.2255-2260, 2000.
- FUCHS, M.A.; GEIGER, D.R.; REYNOLDS, T.L. BOURQUE, J.E. Mechanisms of glyphosate toxicity in velvetleaf (*Abutilon theophrasti* medikus). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.74, p.27–39, 2002.
- GAINES, T.A.; ZHANG, W.; WANG, D.; BUKUN, B.; CHISHOLM, S.T.; SHANER, D.L.; NISSEN, S.J.; PATZOLDT, W.L.; TRANEL, P.J.; CULPEPPER, A.S.; GREY, T.L.; WEBSTER, T.M.; VENCILL, W.K.; SAMMONS, R.D.; JIANG, J.; PRESTON, C.; LEACH, J.E.; WESTRA, P. Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.7, p.1029–1034, 2010.

- GALON, L.; AGOSTINETTO, D.; MORAES, P.V.D.; DALMAGRO, T.; PANOZZO, L.E.; BRANDOLT, R.R.; SANTOS, L.S. Níveis de dano econômico para decisão de controle de capim-arroz (*Echinochloa* spp.) em arroz irrigado (*Oryza sativa*). **Planta Daninha**, v.25, p.709-718, 2007.
- GEIGER, D. R.; SHIEH, W.J.; FUCHS, M.A. Causes of self-limited translocation of glyphosate in *Beta vulgaris* plants. **Pesticide Biochemical and Physiology**, v.64, p.124–133. 1999
- GEIGER, D.R.; KAPITAN, S.W.; TUCCI, M.A. Glyphosate inhibits photosynthesis and allocation of carbon to starch in sugar beet leaves. **Plant Physiology**, v.82, p.468–472, 1986.
- HEREKHLOO, J.; NOROOZI, S.; MAZAHARI, D.; GHANBARI, A.; GHANNADHA, M.R.; VIDAL, R.A.; DE PRADO, R. Multispecies weed competition and their economic threshold on the wheat crop. **Planta daninha**, v.28, p. 239-246, 2010.
- GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; ROJANO-DELGADO, A.M.; CASTRO, M.D.L.; MÜLLEDER, N.; DE PRADO, R. Two non-target mechanisms are involved in glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.) biotypes. **Journal of Plant Physiology**, in press, 2012.
- GREEN-TRACEWICZ, E.; PAGE, E.R.; SWANTON, C.J. Light quality and the critical period for weed control in soybean. **Weed Science**, v.60, p.86-91, 2012.
- GRIEU, P.; LUCERO, D.W.; ARDIANI, R.; EHLERINGER, J.R. The mean depth of soil water uptake by two temperate grassland species over time subjected to mild soil water deficit and competitive association. **Plant and Soil**, v.230, p.197-209, 2001.
- GUARESCHI, André. **Caracterização citogenética de buva e seu manejo em soja geneticamente modificada no Rio Grande do Sul**. 2010. 89f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- HADRYZ, H.; BALICK, M.; SCHIERWATER, B. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. **Molecular Ecology**, v.1, p.55-63, 1992.

HARRING, T.; STREIBIG, J. C.; HUSTED, S. Accumulation of shikimic acid: a technique for screening glyphosate efficiency. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v 46, p.4406–4412.1998.

HEAP, I.M. International Survey of Herbicide Resistant Weeds. 2012. Disponível em: <<http://www.weedscience.com>>. Acesso em: 26 jul. 2012.

HERRMANN, K. M. The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. **The Plant Cell**, v.7, p.907-919, 1995a.

HERRMANN, K.M. The shikimate pathway as an entry to aromatic secondary metabolism. **Plant Physiology**, v.107, p.7-12, 1995b.

HOLLANDER-CZYTKO, H.; AMRHEIN, N. Subcellular compartmentation of shikimic acid and phenylalanine in buckwheat cell suspension cultures grown in the presence of shikimate pathway inhibitors. **Plant Science Letters**, v.29, p.89–96, 1983.

HOLT, R. D.; HOCHBERG, M. E. When is biological control evolutionary stable (or is it?). **Ecology**, v.78, p.1673-1683, 1997.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA, **INMET**. Disponível em:<<http://www.inmet.gov.br>> Acesso em: mai. de 2012.

JACCARD, P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. **Bulletin de la Société Vaudense des Sciences Naturelles**, v.44, p.223-270, 1908.

JANNINK, J.L.; JORDAN N.R.; ORF, J.H. Feasibility of selection for high weed suppressive ability in soybean: Absence of tradeoffs between rapid initial growth and sustained later growth. **Euphytica**, v.120, p.291–300, 2001.

JANNINK, J.L.; ORF, J.A; JORDAN, N.R.; SHAW, R.G. Index selection for weed suppressive ability in soybean. **Crop Science**, v.40, p.1087-1094, 2000.

JASIENIUK, M.; AHMAD, R.; SHERWOOD, A.M.; FIRESTONE, J.L.; PEREZ-JONES, A.; LANINI, W.T.; MALLORY-SMITH, C.; STEDNICK, Z. Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in California: distribution, response to glyphosate, and molecular evidence form an altered target enzyme. **Weed Science**, v.56, p.496-502, 2008.

JUAN, V. F.; SAINT-ANDRE, H.; FERNANDEZ, R. R. Competência de lecheron (*Euphorbia dentata*) em soja. **Planta Daninha**, v.21, p.175-180, 2003.

- KALSING, A.; VIDAL, R.A. Nível de dano econômico aplicado à herbologia: revisão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.20, p.43-56, 2010.
- KAUNDUN, S.S.; ZELAYA, I.A.; DALE, R.P.; LYCETT, A.J.; CARTER, P.; SHARPLES, K.R.; MCINDOE, E. Importance of the P106S target-site mutation in conferring resistance to glyphosate in a goosegrass (*Eleusine indica*) population from Philippines. **Weed Science**, v.56, p.37-646, 2008.
- KAUNDUN, S.S.; DALE, R.P.; ZELAYA, I.A.; DINELLI, G.; MAROTTI, I.; MCINDOE, E.; CAIRNS, A. A novel P106L mutation in EPSPS and an unknown mechanism(s) act additively to confer resistance to glyphosate in a South African *Lolium rigidum* population. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.59, p.3227–3233, 2011.
- KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Bernardo do Campo: Basf., 1999. p.152-156, 278-284.
- KISSMANN, K.G.; GROTH, **Plantas infestantes e nocivas** – Tomo I: Plantas inferiores e monocotiledôneas. São Bernardo do Campo: Editora BASF, 1997. 824 p.
- KOGER, C. H.; REDDY, K. N. Role of absorption and translocation in the mechanism of glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, v.53, p.84–89. 2005.
- KOGER, C.H.; SHANER, D.L.; HENRY, W. B.; NADLER-HASSAR, T.; THOMAS, W.E.; WILCUT, J.W. Assessment of two nondestructive assays for detecting glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, v.53, p.438–445, 2005.
- KREMER, E.; KROPFF, J. Comparative growth of triazine-susceptible and -resistant biotypes of *Solanum nigrum* at different light levels. **Annals of Botany**, v.83, p.637-644, 1999.
- KRUSE, N.D.; VIDAL, R.A.; DALMAZ, C.; TREZZI, M.M.; SIQUEIRA, I. Estresse oxidativo em girassol (*Heliantus annuus*) indica sinergismo para as misturas dos herbicidas metribuzin e clomazone. **Planta Daninha**, v.24, p.379-390, 2006
- LAMEGO, F.P.; VIDAL, R.A.; BURGOS, N.R. Competitiveness of ALS inhibitors resistant and susceptible biotypes of Greater Begarticks (*Bidens subalternans*). **Planta Daninha**, v.29, p.457-464, 2011.

LANGARO, A.C.; ROBERTA MANICA-BERTO, R.; DURIGON, M.A.; TAROUÇO, C.P.; ROSA, C.G.; AGOSTINETTO, D. Comparação de métodos para quantificação de fenóis torais em plantas de arroz e arroz-vermelho sob competição. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ARROZ IRRIGADO, 7., 2011, Balneário Camboriú. **Anais do...** p. 419-422.

LANGARO, A.C.; ROBERTA MANICA-BERTO, R.; NOHATTO, M.A.; RUBIM, R.S.; ZAMBIAZI, R.C.; AGOSTINETTO, D. Danos celulares em plantas de arroz e capim-arroz cultivadas sob condições de competição. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ARROZ IRRIGADO, 7., 2011, Balneário Camboriú. **Anais do...** p. 423-426.

LAZAROTO, C.A.; FLECK, N.G.; VIRAL, R.A. Biologia e ecofisiologia de buva (*Coryza bonariensis* e *Coryza canadensis*). **Ciência Rural**, v.38, p.852-869, 2008.

LINDQUIST, J. L.; KROPFF, M.J. Applications of an ecophysiological model for irrigated rice (*Oryza sativa*)—*Echinochloa* competition. **Weed Science**, v.44, p.52–56, 1996.

LINDQUIST, J.L.; KROPFF, M.J. Applications of an ecophysiological model for irrigated rice (*Oryza sativa*) - *Echinochloa* competition. **Weed Science**, v.44, p.52-56, 1996.

LONG, S.P.; ZHU, X.G.; NAIDU, S.; ORT, D.R. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? **Plant, Cell and Environment**, v.29, p.315–330, 2006.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. 3. ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 608p.

MACHADO, A.F.L.; FERREIRA, L.R.; SANTOS, L.D.T.; FERREIRA, F.A.; VIANA, R.G.; MACHADO, M.S.; FREITAS, F.C.L. Eficiência fotossintética e uso da água em plantas de eucalipto pulverizadas com glyphosate. **Planta Daninha**, v.28, p.319–327, 2010.

MACHADO, E.C.; MEDINA, C.L.; GOMES, M.M.A.; HABERMANN, G. Variação sazonal da fotossíntese, condutância estomática e potencial da água na folha de laranjeira 'Valência'. **Scientia Agricola**, v.59, p.53-58, 2002.

MACHADO, E.C.; SCHMIDT, P.T.; MEDINA, C.L.; RIBEIRO, R.V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.1161-1170, 2005.

MARTINS-RAMOS, D.; CHAVES, C.L.; BORTOLUZZI, R.L.C.; MANTOVANI, A. Florística de Floresta Ombrófila Mista Altomontana e de Campos em Urupema, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Biosciências**, v.9, p.156-166, 2011.

MATALLO, M.B.; ALMEIDA, S.D.B.; CERDEIRA, A.L.; FRANCO, D.A.; BLANCO, F.M.G.; MENEZES, P.T.C.; LUCHINI, L.C.; MOURA, M.A.M.; DUKE, S.O. Microwave-assisted solvent extraction and analysis of shikimic acid from plant tissues. **Planta Daninha**, v.27, p.987-994, 2009.

McPHEE, C. S.; AARSEN, L. W. The separation of above and below-ground competition in plants. A review and critique of methodology. **Plant Ecology**, v.152, p.119-136, 2001.

MESCHEDE, D.K.; OLIVEIRA Jr., R.S.; CONSTANTIN, J.; SCAPIM, C.A. Período anterior a interferência de plantas daninhas em soja: estudo de caso com baixo estande e testemunhas duplas. **Planta Daninha**, v.22, p.239-246, 2004.

MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.15, p.523-530, 2006.

MITTOVA V., VOLOKITA M., GUY M., TAL M. Activities of SOD and the ascorbate-glutathione cycle enzymes in sub cellular compartments in leaves and roots of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. **Physiologia Plantarum**, v.110, p.42-51, 2000.

MORAES, P.V.D.; AGOSTINETTO, D.; GALON, L.; RIGOLI, R.P. Competitividade relativa de soja com arroz-vermelho. **Planta Daninha**, v.27, p.35-40, 2009.

MORALES-PAYAN, J. P.; STALL, W.M.; SHILLING, D.G.; CHARUDATTAN, R.; DUSKY, J.A.; BEWICK, T.A. Above- and below-ground interference of purple and yellow nutsedge (*Cyperus* spp.) with tomato. **Weed Science**, v.51, p.181-185, 2003.

MOREIRA, M.S.; MELO, M.S.C.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Crescimento diferencial de biótipos de *Conyza* spp. resistente e suscetível ao herbicida glifosato. **Bragantia**, v.69, p.591-598, 2010.

- MUELLER, T.C.; MASSEY, J.H.; HAYES, R.M.; MAIN, C.L.; STEWART, JR. N.S. Shikimate accumulates in both glyphosate-sensitive and glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.680-684, 2003.
- MULUGETA, D.; BOERBOOM, C.M. Critical time of weed remove in glyphosate-resistant *Glycine max*. **Weed Science**, v.48, p.35-42, 2000.
- NANDULA, V. K.; REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O.; POSTON, D. H. Glyphosate-resistant and -susceptible soybean (*Glycine max*) and canola (*Brassica napus*) dose response and metabolism relationships with glyphosate. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.55, p.3540–3545, 2007.
- NAVES-BARBIERO, C.C.; FRANCO, A.C.; BUCCI, S.J.; GOLDSTEIN, G. Fluxo de seiva e condutância estomática de duas espécies lenhosas sempre verdes no campo sujo e cerrado. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.119-134, 2000.
- NEPOMUCENO, M.; ALVES, P.C.L.A.; DIAS, T.C.S.; PAVANI, M.C.M.D. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura da soja nos sistemas de semeadura direta e convencional. **Planta Daninha**, v.25, p.43-50, 2007.
- NESOM, G. L. Further definition of *Conyza* (Asteraceae: Astereae). **Phytologia**, v.68, p.229–233. 1990.
- NESON, G.L. ROBINSON, H. XI. The tribe Astereae Cass. (1819). In: **The families and genera of vascular plants**. Berlin, Springer. 8: 284-342. 2007.
- NG, C. H., R. WICKNESWARI, S. SALMIJAH, Y. T. TENG, AND B. S. ISMAIL. Gene polymorphisms in glyphosate-resistant and –susceptible biotypes of *Eleusine indica* from Malaysia. **Weed Research**, v.43, p.108–115, 2003.
- NICOLAI, M.; MELO, M.S.C.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; NEVES, R.; FIORINI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Sistemas de manejo para a planta daninha *Conyza bonariensis* (Buva) resistente ao herbicida glyphosate envolvendo a cultura da soja RR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27, Ribeirão Preto, 2010. **Resumos**. Ribeirao Preto: FUNEP, 2010, p.2141-2145.
- NOHATTO, M.A.; VARGAS, L.; AGOSTINETTO, D.; BIANCHI, M.A.; DUARTE, T.V.; OLIVEIRA, E.; TOLEDO, R.E.B. Tolerância de biótipos de *Euphorbia heterophylla* ao

glyphosate. Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 27., 2010. Ribeirão Preto. **Anais do...** Ribeirão Preto: FUNEP, 2010, p.2195-2199.

NOL, N.; TSIKOU, D.; EID, M.; LIVIERATOS, I.C.; GIANNOPOLITIS, C.N. Shikimate leaf disc assay for early detection of glyphosate resistance in *Conyza canadensis* and relative transcript levels of EPSPS and ABC transporter genes. **Weed Research**, v.52, p.233–241, 2012.

NORRIS, R.F. Case-history for weed competition population ecology - barnyardgrass (*Echinochloa-crus-galli*) in sugar-beets (*Beta vulgaris*). **Weed Technology**, v.6, p.220-227, 1992.

NOYES, R. D. Biogeographical and evolutionary insights on *Erigeron* and allies (Asteraceae) from ITS sequence data. **Plant Systematics and Evolution**, v.220, p.93-114, 2000.

OGG JR.A.G.; SEEFELDT, S.S. Characterizing traits that enhance the competitiveness of winter wheat (*Triticum aestivum*) against jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*). **Weed Science**, v.47, p.74-80, 1999.

OLIVEIRA, R. C. **Divergência genética por marcadores RAPD em *Tetragonisca angustula* Latreille, 1811 (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae)**. Uberlândia, 1998. 50f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica)- Instituto de genetica e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 1998.

OWEN, M.D.K. Importance of weed population shifts and herbicide resistance in the Midwest USA corn belt. In: PROCEEDING BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE –WEEDS, BCPC, Farnham, Surrey, UK, p.407–412. 2001.

OWEN, M.D.K. Weed species shifts in glyphosate-resistant crops. **Pest Management Science**, v.64, p.377-387, 2008.

PAGNONCELLI, F.; TREZZI, M. M.; FERRONATO, M.L.; SCALCON, E.; PORTES, A.F.; XAVIER, E.; ROSIN, D.J. Diferenciação entre biótipos de *Conyza sumatrensis* resistentes ao glyphosate e *Conyza bonariensis*: comparação de características florais previamente usadas como diagnostic. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 28, 2012, Campo Grande. p.136-140.

PASSINI, T. **Competitividade e predição de perdas de rendimento da cultura de feijão quando em convivência com *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.** 2001.

130f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

PATEL, F.; TREZZI, M. M.; MIOTTO, E. JR.; DEBASTIANI, F.; MOSQUEM, R. Redução de rendimento de grãos de soja devido a variação de densidades e períodos de introdução de *Conyza bonariensis* (buva). In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27, 2010. Ribeirão Preto, **Anais do...** Ribeirão Preto: FUNEP, 2010, p.1674-1677.

PAULA, J.M.; VARGAS, L.; AGOSTINETTO, D.; NOHATTO, M.A. Manejo de Buva resistente ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.29, p.217-227, 2011.

PAULA, Juliana Maria de. **Caracterização e manejo de Conyza spp. resistente ao herbicida glifosato**. 2009. 91f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

PEDERSEN, B.P.; NEVE, P.; ANDREASEN, C.; POWLES, S.B. Ecological fitness of a glyphosate-resistant *Lolium rigidum* population: growth and seed production along a competition gradient. **Basic and Applied Ecology**, v.8, p.258-268, 2007.

PEREZ-JONES, A.; PARK, K.W.; POLGE, N.; MALLORY-SMITH, C.A. Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. **Planta**, v.226, p. 395-404, 2007.

PESSARAKLI, M. Supramolecular organization of water-soluble photosynthetic enzymes along the thylakoid membranes in chloroplasts. In: Handbook of Photosynthesis. 2.ed. Boca Raton, 2005. p.259-272.

PESTER, T. A.; WESTRA, P.; ANDERSON, R.L.; LYON, D.J.; MILLER, S.D.; STAHLMAN, P.W.; NORTHAM, F.E.; WICKS, G.A. *Secale cereale* interference and economic thresholds in winter *Triticum aestivum*. **Weed Science**, v.48, p.720-727, 2000.

PESTER, T.A.; WARD, S.M.; FENWICK, A.L.; WESTRA, P.; NISSEN, S.J. Genetic diversity of jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) determined with RAPD and AFLP markers. **Weed Science**, v.51, p.287-293, 2003.

PITELLI, R.A; DURIGAN, J.C. Terminologia para períodos de controle e convivência das plantas daninhas em culturas anuais e bianuais. In: CONGRESSO BRASILEIRO

DE HERBICIDAS E PLANTAS DANINHAS, 15. 1984. Belo Horizonte. **Anais do...**
Belo Horizonte: SBHED, 1984. p.37.

PITTELKOW, F.K.; JAKELAITIS, A.; CONUS, L.A.; OLIVEIRA, A.A.; GIL, J.O.;
ASSIS, F.C.; BORCHARTT, L. Interferência de plantas daninhas na cultura da soja
transgênica. **Global Science and Technology**, v.02, p.38-48, 2009.

PLINE-SRNIC, W. Physiological mechanisms of glyphosate resistance. **Weed
Technology**, v.20, p.290-300. 2006.

PORTIS JR, A.R.; PARRY, M.A.J. Discoveries in rubisco (ribulose 1,5-bisphosphate
carboxylase/oxygenase): a historical perspective. **Photosynthetic Research**, v.94,
p.121–143, 2007.

POWLES, S.B.; PRESTON, C. . Evolved glyphosate resistance in plants:
Biochemical and genetic basis of resistance. **Weed Technology**, v.20, p. 282-289,
2006.

PROCÓPIO, S.O.; SANTOS, J.B.; PIRES, F.R.; SILVA, A.A.; MENDONÇA, E.S.
Absorção e utilização do fósforo pelas culturas da soja e do feijão e por plantas
daninhas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.29, p.911-921, 2005.

RADOSEVICH, S. R. Methods to study interactions among crops and weeds. **Weed
Technology**, v.1, p.190-198, 1987.

RADOSEVICH, S.; HOLT, J.; GHERSA, C. **Weed ecology: implications for
management**. 2.ed. New York: Willey, 1997. 589p. (Cap. 6: Physiological aspects of
competition)

RANSOM, C.V.; DOUCHES, D.S.; KELLS, J.J. Isoenzyme and RAPD variation
among and within hemp dogbane (*Apocynum cannabinum*) populations. **Weed Science**,
v.46, p.408-413, 1998.

RASCHKE, K. Movements using turgor mechanisms: movements of stomata. In:
Encyclopedia of Plant Physiology. Berlin: Springer-Verlag, 1979. p.383-441.

RAY, T.; ROY, S.C. Genetic diversity of *Amaranthus* species from the indo-gangetic
plains revealed by RAPD analysis leading to the development of ecotype-specific
SCAR marker. **Journal of Heredity Advance**, v.100, p.338-347, 2009.

REDDY, K.N.; RIMANDO, A.M.; DUKE, S.O.; NANDULA, V.K. Amino methyl phosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.56, p.2125–2130, 2008.

REDDY, K.N.; WHITING, K. Weed control and economic comparisons of glyphosate-resistant, sulfonylurea-tolerant, and conventional soybean (*Glycine max*) systems. **Weed Technology**, v.14, p.204-211, 2000.

RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E.C.; OLIVEIRA, R.F. Growth- and leaf-temperature effects on photosynthesis of sweet orange seedlings infected with *Xylella fastidiosa*. **Plant Pathology**, v.53, p.334-340, 2004.

RICCI, E.; FORNAROLLI, D.A.; RIBEIRO, C.A.; GAZZIERO, D.L.P.; RODRIGUES, B.N. A influência da densidade populacional da *Conyza* spp. resistente ao herbicida glifosato no rendimento de grãos da soja (*Glycine max*). In: Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 27, 2010. **Anais do...** Ribeirão Preto, FUNEP. p.1479-1483.

RICE, E.L. Allelopathy effects on nitrogen cycle. In RIZVI, S.J.H; RIZVI, H. **Allelopathy: basic and applied aspects**. London, Chapman Hall, 1992, p.31-58.

RIVERO, R.M.; RUIZ, J.M.; GARCIA, P.C.; SANCHEZ, E.; ROMERO, L. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. **Plant Science**, v.160, p.315–321, 2001.

RIZZARDI, M.A.; FLECK, N.G.; AGOSTINETTO, D. Nível de dano econômico como critério para controle de picão-preto em soja. **Planta Daninha**, v.21, p.273-282, 2003.

RIZZARDI, M.A.; ROMAN, E.S.; BOROWSKI, D.Z.; MARCON, R. Interferência de populações de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea ramosissima* isoladas ou em misturas sobre a cultura de soja. **Planta Daninha**, v.22, p.29-34, 2004.

RODRIGUEZ, D.J. A method to study competition dynamics using de wit replacement series experiments. **Oikos**, v.78, p.411-415, 1997.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1**. Exeter Software, New York, 2000. 98p.

- ROMAN, E.S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M.A.; MATTEI, R.W. Resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.22, p.301-306, 2004.
- SAKIHAMA, Y.; YAMASAKI, H. Lipid peroxidation inducible by phenolics in conjunction with aluminium ions. **Biologia Plantarum**, v.45, p.249-254, 2002.
- SALZMANN, D.; HANDLEY, R.J.; MUELLER-SCHARER, H. Functional significance of triazine-herbicide resistance in defence of *Senecio vulgaris* against a rust fungus.
- SARTORATO, I.; BERTI, A.; ZANIN, G. Estimation of economic thresholds for weed control in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). **Crop Protection**, v.15, p.63-68, 1996.
- SCHNEIDER, A.A.; IRGANG, B.E. Florística e fitossociologia de vegetação viária no município de Não-Me-Toque, Rio Grande do Sul, Brasil. **IHERINGIA**, v.60, p.49-62, 2005.
- SCOTT, G. H.; ASKEW, S. D.; WILCUT, J. W.. Glyphosate systems for weed control in glyphosate-tolerant cotton (*Gossypium hirsutum*). **Weed Technology**, v.16, p.191–198. 2002
- SERGIEV, I.G.; ALEXIEVA, V.S.; IVANOV, S.V.; MOSKOVA, I.I.; KARANOV, E.N. The phenylurea cytokinin 4PU-30 protects maize plants against glyphosate action, **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.85, p.139–146, 2006.
- SHANER, D. Impact of glyphosate-tolerant crops on the use of others herbicides and on resistance management. **Pesticide Science**, v.56, p.320-326, 2000.
- SHARKEY, T.D.; RASCHKE, K. Effects light quality on stomata opening in leaves of *Xanthium strumarium*. **Plant Physiology**, v.68, p.1170-1174, 1981.
- SHRESTHA, A.; HANSON, B.D.; FIDELIBUS, M.W.; ALCORTA, M. Growth, phenology, and intraspecific competition between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible horseweeds (*Conyza canadensis*) in the San Joaquin Valley of California. **Weed Science**, v.58, p.147-153, 2010.
- SILVA, A. A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; SANTOS, J. B. Biologia de plantas daninhas. In: **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Editora UFV, Viçosa. 2007. p.17-61.

- SILVA, A. A.; JAKELAITIS, A.; FERREIRA, L.R. Manejo de plantas daninhas no Sistema Integrado Agricultura Pecuária. In: **Manejo Integrado Lavoura – Pecuária**. Viçosa, UFV. 2004. p. 117-170.
- SILVA, A.C.; FERREIRA, L.R.; SILVA, A.A.; FREITAS, R.S.; MAURO, A. Épocas de emergência de *Brachiaria brizantha* no desenvolvimento da cultura da soja. **Ciência Rural**, v.35, p.769-775, 2005.
- SILVEIRA, J.M.F.J.; BORGES, I.C.; BUAINAIN, A.M. Biotecnologia e agricultura da ciência e tecnologia aos impactos da inovação. **São Paulo em Perspectiva**, v.19, p.101-112, 2005.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI Jr, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.
- SMITH H. Physiological and ecological function within the phytochrome family. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.46, p.289-315, 1995.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxonomy**, v.11, p.30-40, 1962.
- TAIZ, L.; E. ZEIGER.. Mineral Nutrition. In: Plant Physiology, p. 111–114. 1998. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- TARDIF, F.J.; RAJCAN, I.; COSTEA, M.A. 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.
- TELES, A.M.; STEHMANN, J.R. Um novo nome em *Conyza* (Asteraceae – Astereae). **Rodriguésia**, v.59, p.399-400, 2008.
- THEBAUD, C.; ABBOTT, R.J.. Characterization of invasive *Conyza* species (Asteraceae) in Europe: Quantitative trait and isozyme analysis. **American Journal Botany**, v,82, p.360-368, 1995.
- THOMPSON, J.N. Rapid evolution as an ecological process. **Trends in Ecology and Evolution**, v.13, p.329–332, 1998.

URBANO, J.M.; BORREGO, A.; TORRES, V.; LEON, J.M.; JIMENEZ, C.; DINELLI, G.; BARNES, J. Glyphosate-Resistant Hairy Fleabane (*Conyza bonariensis*) in Spain. **Weed Technology**, v.21, p.396–401, 2007.

URDAMPILLETA, J.; AMAT, A.G.; BIDAU, C.J. Karyotypic studies and morphological analysis of some reproductive features in five species of *Conyza* Less. (Astereae: Asteraceae) from Northeastern Argentina. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v.40, p.91-99, 2005.

URDAMPILLETA, J.D.; AMAT, A.G.; BIDAU, C.J.; KOSLOBSKY, N.K. Biosystematic and chemosystematics studies in Five south american species of *Conyza* (Asteraceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v.40, p.101-107, 2005.

VALERIO, M.; TOMECEK, M.B.; LOVELLI, S.; ZISKA, L.H. Quantifying the effect of drought on carbon dioxide-induced changes in competition between a C₃ crop (tomato) and a C₄ weed (*Amaranthus retroflexus*). **Weed Research**, v.51, 591–600, 2011.

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

VARGAS, L.; ROMAN, E.S.; RIZZARDI, M.A.; SILVA, V.C. Alteração das características biológicas dos biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) ocasionada pela resistência ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.23, p.153-160, 2005.

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

VIDAL, R.A.; KALSING, A.; GOULART, I.C.G.R.; LAMEGO, F.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Impacto da temperatura, irradiância e profundidade das sementes na emergência e germinação de *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* resistentes ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, p.309-315, 2007.

VIDAL, R.A.; LAMEGO, F.P.; TREZZI, M.M. Diagnóstico da resistência aos herbicidas em plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.24, p.597–604, 2006.

VIDAL, R.A.; NUNES, A.L.; RESENDE, L.V.; LAMEGO, F.P.; SILVA, P.R. Análise genética de genótipos de *Bidens pilosa* através da técnica RAPD. **Scientia Agraria**, v.8, p.399-403, 2007.

VIDAL, R.A.; SPADER, V.; FLECK, N.G.; MEROTTO JR.,A. Nível de dano econômico de *Brachiaria plantaginea* na cultura de milho irrigado. **Planta Daninha**, v.22, p.63-69, 2004.

VILÀ, M.; WILLIAMSON, M.; LONSDALE, M. Competition experiments on alien weeds with crops: lessons for measuring plant invasion impact? **Biological Invasions**, v.6, p.59-69, 2004.

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.

VIVIAN, R.; GOMES JR., F.G.; CHAMMA, H.M.C.P.; SILVA, A.A.; FAGAN, E.B.; RUIZ, S.T. Efeito da luz e da temperatura na germinação de *Alternanthera tenella*, *Conyza bonariensis* e *Digitaria ciliaris*. **Planta Daninha**, v.26, p.507-513, 2008.

WAKELIN, A. M.; PRESTON, C. A target site mutation is present in a glyphosate-resistant *Lolium rigidum* population. **Weed Research**, v.46, p.432-440, 2006.

WANG, L.; SHOWALTER, A.M.; UNGAR, I.A. Effects of intraspecific competition on growth and photosynthesis of *Atriplex prostrata*. **Aquatic Botany**, v.83, p.187-192, 2005.

WERCK-REICHHAERT, D; HEHN, A; DIDIERJEAN, L. Cytochromes P450 for engineering herbicide tolerance. **Trends in Plant Science**, v.5, p. 116-123, 2000.

WILKERSON, G.L.; WILES, L.J.; BENNETT, A.C. Weed management decision models: pitfalls, perceptions, and possibilities of the economic threshold approach. **Weed Science**, v.50, p.411-424, 2002.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, J.L.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY. J. A. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.6531–6535. 1990.

WINKLER, L.M.; VIDAL, R.A.; NETO, J.F. Caracterização genética de *Euphorbia heterophylla* resistente a herbicidas inibidores da acetolactato sintase. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.1067-1072, 2003.

WOJTASZEK, P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection. **Biochemical Journal**, v.322, p.681, 1997.

XU, C.Y.; ZHANG, W.J.; FU, C.Z.; LU, B.R. Genetic diversity of alligator weed in China by RAPD analysis. **Biodiversity and Conservation**, v.12, p.637-645, 2003.

YAMAUTI, M.S.; BARROSO, A.A.M.; SOUZA, M.C.; ALVES, P.L.C.A. Controle químico de biótipos de buva (*Conyza canadensis* e *Conyza bonariensis*) resistentes ao glyphosate. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, p.495-500, 2010.

YUAN, J.S.; TRANEL, P.J.; STEWART, C.N. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, v.12, p.6–13, 2007.

ZELAYA, I.A.; ANDERSON, J.A.H.; OWEN, M.D.K, LANDES, R.D. Evaluation os spectriphotometric and HPLC methods for shikimic acid determination on plants: models in glyphosate-resistant and susceptible crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.2202-2212, 2011.

ZELAYA, I.A.; OWEN, M.D.K.; VANGESSEL, M.J. Transfer of glyphosate resistance: evidence of hybridization in *Conyza* (Asteraceae). **American Journal of Botany**, v.94, p.660–673. 2007.

ZHANG, X.; LEUNG, F.C.; CHAN, D.K.O.; CHEN, Y.; WU, C. Comparative analysis of allozyme, random amplified polymorphic DNA, and microsatellite polymorphism on Chinese native chickens. **Poultry Science**, v.81, p.1093–1098, 2002.

ZOBIOLE, L.H.S.; OLIVEIRA JR. R.S.; KREMER, R.J.; CONSTANTIN, J.; BONATO, C.M.; MUNIZ, A.S. Water use efficiency and photosynthesis of glyphosate-resistant soybean as affected by glyphosate. **Pesticide Biochemistry and Physiology** v.97, p.182–193, 2010a.

ZOBIOLE, L.H.S.; OLIVEIRA Jr., R.S.; KREMER, R.J.; MUNIZ, A.S.; OLIVEIRA Jr., A. Nutrient accumulation and photosynthesis in glyphosate-resistant soybeans is reduced under glyphosate use. **Journal of Plant Nutrition**, v.33, p.1860–1873, 2010b.

ZULOAGA, F. & O. MORRONE. **Catálogo de lãs Plantas Vasculares de la República Argentina II**. Dicotyledonieae. Monographs Systematic Botany. Missouri Botanical Garden Press 74 [*Conyza*]: pp. 154-158. 1999