

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPECTOS NUTRICIONAIS E EFEITOS DA  
CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO EM  
BIÓTIPOS DE CAPIM-AMARGOSO**

**Anne Elise Cesarin**

Engenheira Agrônoma

**2018**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPECTOS NUTRICIONAIS E EFEITOS DA  
CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO EM  
BIÓTIPOS DE CAPIM-AMARGOSO**

**Anne Elise Cesarin**

**Orientador: Prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal)

**2018**

Cesarin, Anne Elise  
C421a Aspectos nutricionais e efeitos da concentração de dióxido de carbono em biótipos de capim-amargoso / Anne Elise Cesarin. -- Jaboticabal, 2018  
v, 109 p. : il ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018

Orientador: Pedro Luis da Costa Aguiar Alves

Banca examinadora: Caio Antonio Carbonari, Daniele Ribeiro Contin, Leonardo Bianco de Carvalho, Priscila Lupino Gratão

Bibliografia

1. Mudanças climáticas. 2. Glyphosate. 3. Nutrição mineral. 4. Planta daninha. 5. Resistência. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.51:632.954

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA TESE: ASPECTOS NUTRICIONAIS E EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO EM BIÓTIPOS DE CAPIM-AMARGOSO

**AUTORA: ANNE ELISE CESARIN**

**ORIENTADOR: PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. PEDRO LUÍS DA COSTA AGUIAR ALVES  
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI  
Departamento de Produção e Melhoramento Vegetal / FCA / UNESP / Botucatu

  
Prof. Dr. LEONARDO BIANCO DE CARVALHO  
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

  
Prof. Dr. DANIELE RIBEIRO CONTIN  
Departamento de Biologia / FFCLRP / USP / Ribeirão Preto / SP

  
Profa. Dra. PRISCILA LUPINO GRATÃO  
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 03 de julho de 2018

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**ANNE ELISE CESARIN** – nascida em Dois Córregos, Estado de São Paulo, Brasil, aos 14 de Janeiro de 1988. Gradou-se Engenheira Agrônoma pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho – Jaboticabal -SP, no ano de 2012. Obteve o título de Mestre em Agronomia na área de Produção Vegetal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), no ano de 2014. No mesmo ano, ingressou no curso de Doutorado pela mesma instituição. Desde 2012, atua em pesquisa na área de Matologia, principalmente em interferência de plantas daninhas, herbicidas, adubação e resistência de capim-amargoso. Nos últimos anos tem participado de eventos científicos nacionais e internacionais na sua área de atuação, bem como da organização de eventos nacionais. A autora também publicou e colaborou na publicação de artigos científicos em revistas nacionais e internacionais.

## EPÍGRAFE

“Para construir, são necessários amor e trabalho, estudo e competência, compreensão e serenidade, disciplina e devotamento”

Chico Xavier

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Rose e Gilberto, aos meus irmãos André e Vinícius, e ao Samuel pelo amor, carinho e apoio incondicional.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela minha família, pelos meus amigos, pela saúde e força para superar as dificuldades.

Aos meus pais e meus irmãos pelo amor, incentivo e apoio incondicional, dedicados a mim. Vocês são o melhor da minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Pedro Luis da Costa Aguiar Alves pela oportunidade de um estágio, pela orientação, apoio, liberdade, confiança referente ao presente trabalho, amizade e compreensão em momentos difíceis. A orientação da Dra. Mariluce Pascoalina Nepomuceno e do Prof Dr. Silvano Bianco, pelas contribuições, incentivo, apoio e amizade.

Aos membros da banca examinadora Dra. Mariluce Pascoalina Nepomuceno, Dr. Marcos Kuva, Prof Dr. Silvano Bianco, Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão, Dra. Daniele Ribeiro Contin, Prof. Dr. Leonardo Bianco de Carvalho e Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari pelas sugestões e correções apresentadas.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade de realizar o curso de Agronomia, e ao Departamento de Biologia Aplicada a Agropecuária (DBAA) por abrirem as portas para que eu pudesse realizar mais este sonho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Samuel, meu namorado e companheiro, pelo carinho e amor.

As minhas amigas e amigos de sempre Ana Paula Silva, Andreísa Flores, Ana Rosália Calixto, Carina Chiarelli, Flávia Capalbo, Isabel Violatti, Juciléia Irian dos Santos, Mariah Morello, Marília Petruz, Millyane Vanzella, Neriano Hijano, Pedro De Figueiredo pela amizade e carinho. Ao meu amigo Willians César Carrega, que me acompanhou em todos os momentos, em cada detalhe, por me ajudar sempre e passar muita força.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal, FCAV/UNESP- Jaboticabal, particularmente José Valcir Fidelis Martins, pelo auxílio em várias ocasiões durante o desenvolvimento deste trabalho e pelas risadas que tornam os nossos trabalhos sempre melhores.



Aos amigos do Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA) pela ajuda para realização deste trabalho, pela dedicação, amizade, aprendizado e disposição para ajudar a todos. Agradeço em especial aos amigos que compartilharam momentos de grande dificuldade na elaboração de trabalhos científicos, na implantação de experimentos e relatórios, e que compartilharam também momentos de alegria proporcionando lembranças inesquecíveis em muitas comemorações e festinhas dentro e fora do LAPDA. Deixo aqui meu agradecimento mais que especial à Andreísa Flores Braga, Ana Rosália Calixto, Arthur Arrobas Barroso, Allan Lopes, Bruna Pires, Cárita Liberato, Felipe da Cunha Alves, Fernanda Campos Mastrotti, Fernanda Nunes Bressanin, Gabriel Andrade, Isa Marcela Braga, Izabela Orzari, Juciléia Irian dos Santos, Lívia Felício Barreto, Mariluce Pascoina Nepomuceno, Nelson Jayme Neto, Neriano Hijano, Pedro De Figueiredo Rocha Barbosa Martins, Thiago Souza Oliveira, Wendy Colombo e todos aqueles que fizeram parte desses momentos.

A todos aqueles que, direta e indiretamente, colaboraram para que este trabalho fosse realizado.

A todos, muito obrigada!!!

## SUMÁRIO

	Página
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>1</b>
1. Introdução.....	1
2. Revisão de literatura.....	4
2.1. <i>Digitaria insularis</i> (L.) Fedde.....	4
2.2. Resistência de plantas daninhas ao glyphosate.....	5
2.3. Aumento das concentrações de CO <sub>2</sub> atmosférico no controle e no crescimento de plantas daninhas.....	10
2.4. Estresse oxidativo e o sistema antioxidante.....	14
2.5. Referências.....	18
<b>CAPÍTULO 2 - CURVAS DE DOSE-RESPOSTA ENTRE BIÓTIPOS DE CAPIM-AMARGOSO RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO GLYPHOSATE.....</b>	<b>29</b>
1. Introdução.....	29
2. Material e métodos.....	31
3. Resultados.....	33
4. Discussão.....	36
5. Conclusão.....	37
6. Referências.....	37
<b>CAPÍTULO 3 - ACÚMULO DE MASSA SECA E MACRONUTRIENTES POR BIÓTIPOS DE CAPIM-AMARGOSO RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO GLYPHOSATE.....</b>	<b>39</b>
1. Introdução.....	40
2. Material e métodos.....	41
3. Resultados e discussão.....	43
4. Conclusão.....	49
5. Referências.....	50
<b>CAPÍTULO 4 – CINÉTICA DE ABSORÇÃO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO EM BIÓTIPOS DE CAPIM-AMARGOSO RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO GLYPHOSATE.....</b>	<b>53</b>

1. Introdução.....	53
2. Material e métodos.....	55
3. Resultados.....	58
4. Discussão.....	61
5. Conclusão.....	63
6. Referências.....	63
<b>CAPÍTULO 5 - EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO ATMOSFÉRICO EM BIÓTIPOS DE CAPIM-AMARGOSO RESISTENTE E SUSCETÍVEL AO GLYPHOSATE.....</b>	<b>67</b>
1. Introdução.....	68
2. Material e métodos.....	69
2.1. Área experimental e descrição do sistema de câmaras de topo aberto.....	69
2.2. Condução e tratamentos experimentais.....	70
2.3. Avaliações.....	72
2.3.1. Parâmetros de crescimento.....	72
2.3.2. Trocas gasosas.....	73
2.3.3. Pigmentos fotossintéticos, sistema antioxidante enzimático e peroxidação lipídica.....	74
2.3.3.1. Concentração de pigmentos fotossintéticos.....	75
2.3.3.2. Peroxidação de lipídeos.....	75
2.3.3.3. Extração e quantificação de enzimas.....	76
2.3.3.3.1. Quantificação da superóxido dismutase.....	76
2.3.3.3.2. Quantificação da catalase.....	77
2.3.3.3.3. Quantificação da ascorbato peroxidase.....	77
2.3.3.3.4. Quantificação da guaiacol peroxidase.....	78
3. Resultados.....	78
3.1. Parâmetros de crescimento e de trocas gasosas.....	78
3.2. Pigmentos fotossintéticos, sistema antioxidante enzimático e peroxidação lipídica.....	90
3.2.1. Pigmentos fotossintéticos.....	90
3.2.2. Peroxidação lipídica e atividade enzimática.....	92

4. Discussão.....	96
5. Conclusão.....	102
6. Referências.....	102

## Aspectos nutricionais e efeitos da concentração de dióxido de carbono em biótipos de capim-amargoso

**RESUMO** – O capim-amargoso (*Digitaria insularis*) é uma planta daninha com elevado potencial de invasiva pela formação de rizomas e touceiras, elevada produção de sementes e florescimento durante todo o ano, características que as tornam competitivas pelos recursos do meio e dificultam naturalmente o seu controle. Somando-se ao fato de que novos casos de populações de capim-amargoso resistentes ao herbicida glyphosate estão sendo relatados em novas áreas, o controle dessa espécie se torna ainda mais dificultoso e custoso. Estudar as diferenças nutricionais entre indivíduos com variações genéticas é importante para compreender adaptabilidade e o potencial de sucesso evolutivo desses genótipos no ambiente. Outro aspecto preocupante é que o clima poderá mudar nos próximos cem anos, e a concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) na atmosfera dobrar. Diante disso, será que a biologia, o crescimento e o controle de espécies daninhas resistentes aos herbicidas poderão ser alterados? Dessa forma, o trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar diferenças entre plantas de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate, com intuito de: (1) determinar a ocorrência de plantas resistentes e suscetíveis ao herbicida glyphosate em populações de capim-amargoso, por meio de curvas de dose resposta; (2) determinar o acúmulo e a distribuição de massa seca e macronutrientes; (3) a cinética de absorção de nitrogênio e fósforo e (4) as respostas dos biótipos em duas condições de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. Pelos resultados obtidos, a dose de glyphosate necessária para controlar 50% das plantas (C<sub>50</sub>) e da biomassa (GR<sub>50</sub>) da população com suspeita de resistência foi, respectivamente, quatro e três vezes mais elevada que necessária para a população suscetível. O acúmulo de massa seca (g) e de macronutrientes (mg) para o biótipo resistente manteve-se maior comparando-o em um mesmo período de tempo que o suscetível. Na cinética de absorção de nutrientes, pelos parâmetros morfológicos, o perfilhamento e o acúmulo de massa seca total foram mais elevados nos biótipos suscetíveis. A velocidade máxima de absorção (V<sub>max</sub>) e a constante de Michaelis-Menten (K<sub>m</sub>) para o nutriente N diferiu entre os biótipos, indicando maior eficiência de absorção do nutriente pelo biótipo resistente. Pelos resultados obtidos, nas duas concentrações de CO<sub>2</sub> estudadas, o crescimento do biótipo resistente foi mais elevado em relação ao suscetível. A resposta do controle após aplicação de glyphosate evoluiu de maneira mais rápida quando as plantas do biótipo suscetível cresceram em 800 ppm. A fotossíntese, a eficiência no uso da água e a atividade das enzimas APX e SOD foram mais elevadas quando os biótipos cresceram em 800 ppm, contudo, o acréscimo de CO<sub>2</sub> no ambiente (800 ppm) incrementou significativamente a eficiência do uso da água e o sistema antioxidante das plantas resistentes ao glyphosate.

**Palavras-chave:** glyphosate, mudanças climáticas, nutrição mineral, planta daninha, resistência

## Nutritional aspects and concentration effects of carbon dioxide on sourgrass biotypes

**ABSTRACT** – Sourgrass (*Digitaria insularis*) species is a weed with great potential as invasive because these plants produce clumps from short rhizomes and reproducing by seed, flowers almost all year-round, characteristics that make them competitive by environment resources, as a consequence, these elements creating conditions which hinder weeds control. Adding to the fact that new cases of glyphosate-resistant weed populations are developing in the field, sourgrass control becomes even more difficult and costly. Another point of concern is that climate might change in the next hundred years, and atmospheric carbon dioxide concentrations will to double. In view of this, will glyphosate-resistant of weeds biology, growth and control be altered? Thus, the main objective of this work was to evaluate resistant and susceptible sourgrass biotypes to glyphosate for the purpose of: (1) the occurrence of resistant and susceptible biotypes to glyphosate in sourgrass populations; (2) to determine the dry matter and macronutrient accumulation and distribution; (3) to determine the nitrogen, phosphorus and potassium uptake kinetic, and the macronutrients uptake, translocation, and utilization efficiencies; (4) the responses of both biotypes to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. Based on the results, glyphosate dose required to control plants by 50% (C50), and reduce shoot biomass plants by 50% (GR50) for the resistant populations was, respectively, four and three times higher than susceptible population. Dry mass (g) and macronutrients (mg) accumulation by glyphosate-resistant biotype remained greater than susceptible at the same period. It was observed that, tillering and total dry mass were higher in susceptible biotype than resistant one. The maximum rate of absorption ( $V_{m\acute{a}x}$ ) and the Michaelis-Menten ( $K_m$ ) constant differed between the biotypes, indicating a nitrogen higher efficiency absorption by resistant biotype. At both CO<sub>2</sub> concentrations, glyphosate-resistant biotype growth was higher than the glyphosate-susceptible one. Glyphosate-susceptible biotype control was higher at 800 ppm. Photosynthesis, water use efficiency, and the activities of APX and SOD enzymes of both biotypes were highest at 800 ppm, however, the increased levels of CO<sub>2</sub> (800 ppm) significantly increased water use efficiency and antioxidant system of glyphosate-resistant plants.

**Keywords:** climate change, glyphosate, mineral nutrition, resistance, weed

## CAPÍTULO 1- Considerações gerais

### 1. INTRODUÇÃO

As plantas daninhas são as principais causas bióticas de redução do rendimento das culturas, provocando, em média, uma redução de 34% na produtividade, em todo o mundo (OERKE, 2006; DÉLYE; JASIENIUK; LE CORRE, 2013). Uma das principais características dessas espécies é a ampla variabilidade genética, o que permite a sua adaptação e sobrevivência em diversas condições ambientais e do agroecossistema (CHRISTOFFOLETI; NICOLAI, 2016).

O principal método de controle, eficaz e econômico, das plantas daninhas é o uso de herbicidas. Ao longo dos últimos 65 anos, esses produtos têm contribuído significativamente com o controle dessas plantas e com o aumento da produtividade das culturas. O glyphosate é um dos herbicidas mais amplamente aplicado no mundo em diversos sistemas de produção. As culturas geneticamente modificadas tolerantes ao herbicida utilizam cerca de 56% do total aplicado de glyphosate (BENBROOK, 2016). O uso intensivo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação, entre outros fatores, provoca a seleção de biótipos resistentes a estes em resposta, principalmente, ao distúrbio ambiental causado pela pressão de seleção do herbicida (CHRISTOFFOLETI; NICOLAI, 2016).

Atualmente existem oito espécies confirmadas de plantas daninhas resistentes ao glyphosate no Brasil (HEAP, 2018): *Lolium perenne ssp. multiflorum* (ROMAN et. al, 2004); *Conyza bonariensis* (VARGAS et. al, 2007); *Conyza canadensis* (MOREIRA et. al, 2007; LAMEGO; VIDAL, 2008); *Digitaria insularis* (ADEGAS et. al, 2010); *Eleusine indica* (VARGAS et al., 2013); *Conyza sumatrensis* (SANTOS et. al, 2014); *Amaranthus Palmeri* (CARVALHO et al., 2015); *Chloris elata* (BRUNHARO et. al, 2016), *Eleusine indica* (TAKANO; OLIVEIRA JR; CONSTANTIN, 2016).

A espécie *D. insularis* tem apresentado expressiva ocorrência em pastagens, lavouras de café, pomares e no sistema de plantio direto de cereais e grãos, nos quais tem se tornado uma das mais importantes espécies infestantes, principalmente, pela dificuldade no controle dos biótipos resistentes ao glyphosate e, mais recentemente também aos inibidores de ACCase (HEAP, 2018). As plantas são altamente

agressivas como invasoras e danosas pela competição causando problemas em cerca de 60 países (LORENZI, 2008).

Muitos trabalhos têm sido conduzidos a respeito da biologia e das características adaptativas entre biótipos resistentes e suscetíveis envolvendo aspectos como germinação, produção de sementes, habilidade competitiva e análise de crescimento, entre os quais com as espécies: *Euphorbia heterophylla* (VIDAL; TREZZI, 2000), *Lolium rigidum* (PEDERSEN et al., 2007), *Conyza canadensis* (DAVIS et al., 2009) *Conyza spp.* (MOREIRA et al., 2010), *C. canadensis* (SHRESTHA et al., 2010), *Bidens subalternans* (LAMEGO et al., 2011), *Cyperus difformis* L. (MAGRO et al., 2011), *Echinochloa spp* (FEREIRA et al., 2012), *C. bonariensis* (TRAVLOS; CHACHALIS, 2013), *Avena sterilis* (TRAVLOS et al., 2013), *L. multiflorum* (FRAGA et al., 2013).

Recentemente, um outro assunto que tem sido muito discutido pela comunidade científica é a consequência que as mudanças climáticas poderão causar na biologia das plantas daninhas agrícolas, especialmente no crescimento e no controle de espécies daninhas resistentes a herbicidas. Os gases de efeito estufa são os principais fatores responsáveis pelo aumento da temperatura da Terra, especialmente o CO<sub>2</sub>. A proporção de CO<sub>2</sub> atmosférico aumentou globalmente em cerca de 100 ppm (36%) nos últimos 250 anos, passando de 275 na era pré-industrial (1000-1750) para 379 ppm em 2005. Entre 2005 e 2016, a concentração média de CO<sub>2</sub> no mundo teve um aumento progressivo de 379 ppm para 405 ppm (NOAA, 2017).

Estudos mostram que algumas espécies de plantas respondem positivamente ao incremento de biomassa, crescimento e/ou alteração da susceptibilidade das plantas daninhas. O trabalho conduzido por Manea, Leishman e Downey (2011) mostram que as espécies *Chloris gayana*, *Eragostis curvula* e *Paspalum dilatatum* tiveram um aumento de área foliar, de biomassa e da resistência ao glyphosate, sob elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>. De acordo com Zhang et al. (2015), os biótipos de *E. indica* resistentes ao herbicida glyphosate apresentaram uma redução de 60% na resistência ao herbicida, quando expostos à elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> (800  $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ).



Trabalhos como os citados anteriormente são conduzidos para analisar as diferenças funcionais e estruturais entre biótipos resistentes e suscetíveis através de estudos sobre o controle e a biologia, principalmente aqueles relacionados ao crescimento, à nutrição mineral, eficiência de absorção e da utilização de nutrientes, visando compreender o comportamento desses indivíduos na atual condição do ambiente e, também em um futuro onde as mudanças climáticas prevista poderão afetar a biologia e resistência das plantas, e conseqüentemente, as estratégias de manejo dessas espécies pelos produtores.

Diante do exposto, o trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar diferenças entre biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate quanto ao acúmulo de massa seca e macronutrientes, a cinética de absorção de nutrientes, e as respostas dos biótipos em duas condições de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. *Digitaria insularis* (L.) Fedde

O gênero *Digitaria* pertence à família Poaceae (Gramineae), subfamília Panicoideae e tribo Paniceae (KISSMANN, 2007), abrangendo cerca de 300 espécies, as quais estão distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios (NTO-DOROW; LONGHI-WAGNER, 2001).

O Brasil concentra o maior número de espécies do gênero em relação ao continente Americano, com 26 nativas, das quais nove são exclusivas e mais 12 exóticas (CANTO-DOROW; LONGHI-WAGNER, 2001). As plantas do gênero são altamente agressivas como invasoras, infestando mais de 30 culturas econômicas, além de gramados. Algumas das espécies do gênero são muito semelhantes entre si e as características diferenciais não se encontram de forma constante, havendo tipos intermediários, exceto a *D. insularis*, que se diferencia das demais pelas características morfológicas e hábitos de crescimento (KISSMANN, 2007).

A espécie *D. insularis* é uma planta perene, herbácea, entouceirada, ereta, rizomatosa, com 50-100 cm de altura, sua propagação é através de sementes e curtos rizomas (LORENZI, 2008). Possui crescimento inicial lento, com posterior acúmulo exponencial de massa seca, na condição de fotoperíodo crescente (MARQUES et al., 2014; MACHADO et al., 2008). As características intrínsecas da espécie dificultam seu controle no campo, principalmente em relação as plantas originadas por rizomas, que apresentam maior espessura na epiderme das faces adaxial e abaxial, e maior espessura da lamina foliar, quando comparadas com plantas provenientes de sementes. Além disso, a reserva de amido acumulada nos rizomas pode ser responsável pela tolerância de *D. insularis* ao glyphosate, dificultando a translocação e permitindo rápida rebrota da parte aérea após ser tratada com o herbicida (MACHADO et al., 2008).

A formação dos rizomas nessa espécie inicia-se, em média, 45 dias após a emergência das plantas, dessa forma, para um controle mais eficaz recomenda-se que o manejo das plantas ocorra em até 40 dias após sua germinação, quando os rizomas ainda não foram formados (MACHADO et al., 2006). Já que, quando em

convivência com a cultura da soja (6 a 8 plantas m<sup>2</sup>) o capim-amargoso reduziu a produtividade em até 44% (GAZZIERO et al., 2012). O período de maior extração de nutrientes pelas plantas de *D. insularis* ocorre próximo aos 77 DAE, período este de maior competição entre plantas daninhas e as culturas anuais. Quando essas plantas não são controladas podem competir pelos nutrientes afetando negativamente o crescimento, desenvolvimento e produtividade da cultura (CARVALHO; BIANCO; BIANCO, 2013).

Um outro fator que tem dificultado o controle do capim-amargoso são as diferenças encontradas entre as populações na lavoura. Sua persistência no campo, além das características da própria espécie, tem crescido devido à seleção de biótipos resistentes ao herbicida glyphosate, como citado anteriormente (CARVALHO et al., 2011). As diferenças encontradas nas populações de capim-amargoso que estão relacionados a resistência dessas plantas ao herbicida glyphosate demonstram que há mudanças nas características foliares, tais como a presença de um parênquima menos espesso, menor distância entre os feixes vasculares, menor número de estômatos e tricomas, e maior tamanho de floema e deposição de cera epicuticular nas plantas resistentes, estes fatores podem estar relacionados com a absorção mais reduzida do herbicida nestas plantas (BARROSO et al., 2015).

Outros mecanismos que estão relacionados a resistência dessas plantas são a absorção e translocação mais reduzidas do herbicida, alterações na metabolização do glyphosate (rápida degradação de glyphosate a AMPA, glyoxylate e sarcosina) e mutação genica (duas alterações de aminoácido nas posições 182 e 310 na EPSPS, consistindo de uma substituição de uma prolina para treonina e uma tirosina a cisteína, respectivamente) (CARVALHO et al., 2012).

## **2.2. Resistência de plantas daninhas à glyphosate**

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas é a capacidade natural e herdável de alguns biótipos, dentro de uma população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição à dose de um herbicida, que seria letal a uma população suscetível da mesma espécie. A fonte inicial de resistência em uma população suscetível de plantas daninhas está associada a variabilidade genética natural entre indivíduos de

uma população. Dessa forma, todas as populações de plantas daninhas, independentemente da aplicação de qualquer produto, provavelmente contêm plantas individuais (biótipos) que são resistentes a herbicidas (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008).

O desenvolvimento de populações resistentes aos herbicidas na lavoura pode ser influenciado pela interação de muitos fatores como biológicos, genéticos ou agronômicos. Alguns fatores biológicos envolvidos na evolução da resistência são o ciclo de vida, longevidade e elevada produção de sementes. Com relação aos fatores genéticos, a frequência inicial da resistência, dominância dos alelos resistentes, tipo de fecundação e número de alelos resistentes. O fluxo gênico pode acelerar o processo de dispersão da resistência, principalmente em espécies alógamas, onde a dominância dos genes viabiliza a rápida dispersão da característica entre populações a cada geração. Quanto aos fatores agronômicos pode-se citar a composição química e altas doses do herbicida, herbicidas com residuais prolongados (CHRISTOFFOLETI; NICOLAI, 2016).

Algumas características podem favorecer a seleção de biótipos de plantas daninhas resistentes em uma área, como exemplo, espécies com ciclo anual estão sujeitas ao maior número de gerações submetidas ao agente selecionador. Da mesma forma, quanto maior a frequência inicial do genoma herdado maior a probabilidade de aumentar a proporção de indivíduos resistentes na população em menor período de tempo. Além disso, a aplicação de herbicidas com residuais prolongados e/ou herbicidas com o mesmo mecanismo de ação alteram a composição genética das populações de plantas daninhas, aumentando a frequência dos alelos de resistência e conseqüentemente o número de indivíduos resistentes na população (MONQUEIRO et al., 2000; CHRISTOFFOLETI; NICOLAI, 2016).

Desde o primeiro relato de resistência a 2,4-D em 1957 em *Daucus carota* L. (SWITZER, 1957) e do biótipo de *Senecio vulgaris* L. resistente a triazine nos Estados Unidos houve um rápido aumento de casos notificados envolvendo outras espécies de plantas daninhas resistentes e tipos de herbicidas. Atualmente, há registros de 481 casos únicos (espécie x local de ação) de plantas daninhas resistentes a herbicidas, totalizando 251 espécies, das quais 146 dicotiledôneas e 105 monocotiledôneas. Especificamente para o glyphosate, existem 41 espécies de plantas daninhas

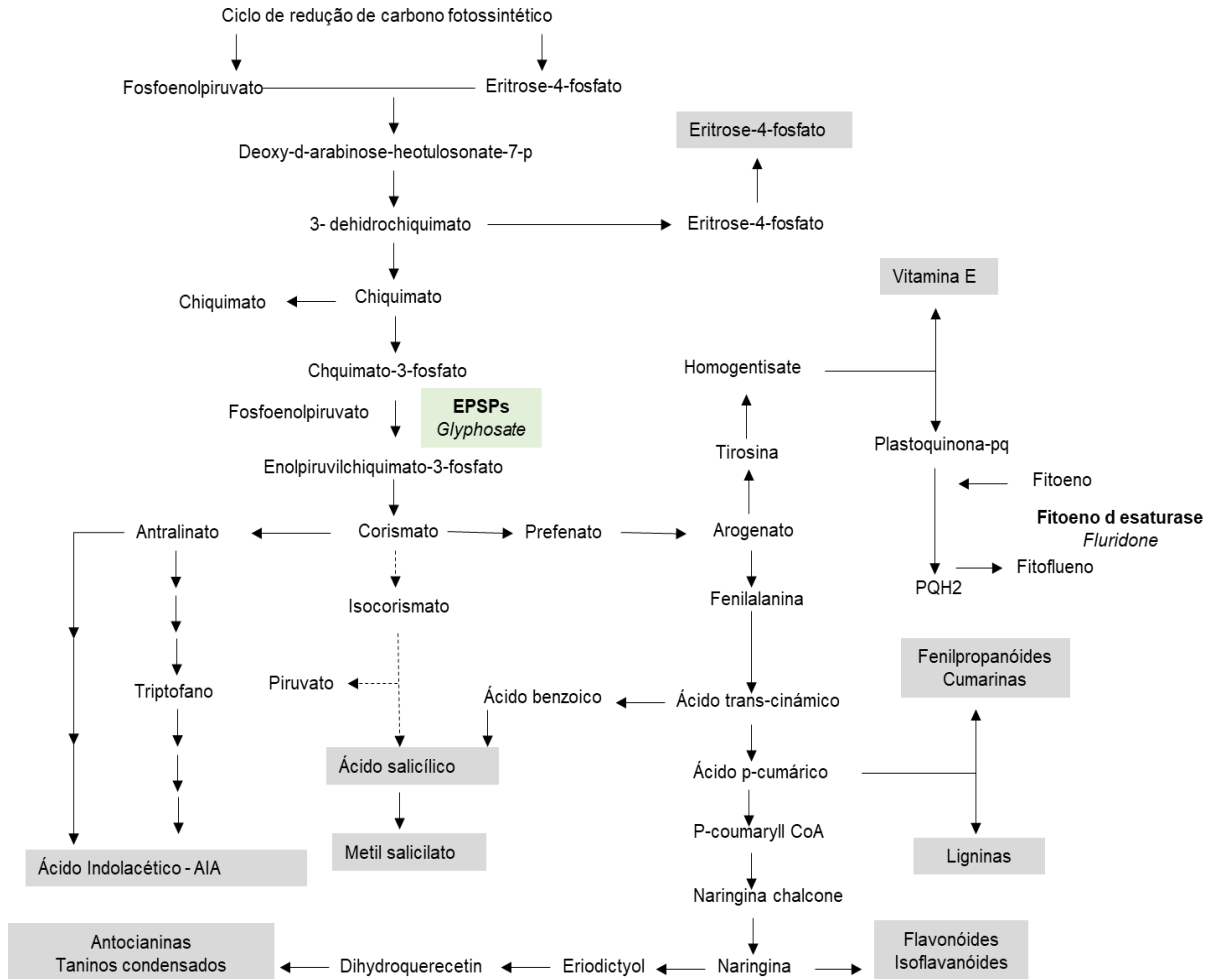
resistentes a este herbicida. O primeiro caso confirmado ocorreu na Austrália, em 2003, para o *Lolium rigidum* (WAKELIN et al., 2004). No Brasil, ocorreu no Rio Grande do Sul para a espécie *Lolium multiflorum*, em 2004 (ROMAN et al., 2004).

Os principais mecanismos de resistência de plantas daninhas ao glyphosate já ultrapassam os descritos por qualquer outro herbicida, os quais incluem: (1) mutações, representada por substituições na sequência de aminoácidos que afetam a interação do herbicida com a enzima alvo (CARVALHO et al., 2012; WAKELIN; PRESTON, 2005; PEREZ-JONES et al., 2005); (2) duplicação do gene no sítio de ação; (3) metabolismo diferencial, caracterizado pela redução da concentração do herbicida no sítio de ação; (3) exclusão do herbicida do alvo, por meio de barreiras estruturais (cutícula mais espessa) ou fisiológicas (sequestro do herbicida pelo vacúolo) (POWLES, 2008; SAMMONS; GAINES, 2014); (4) capacidade bioquímica das plantas em evitar que os agentes tóxicos produzidos pelos herbicidas causem estresse oxidativo, como exemplo a superexpressão de enzimas após aplicação de glyphosate (YUAN; TRANEL; STEWART, 2007; SAMMONS; GANNES, 2014; MAROLI et al., 2015).

O glyphosate (N-fosfometil glicina) é um herbicida de aplicação em pós-emergência, pertencente à classe dos derivados do aminoácido glicina, classificado como não seletivo, com translocação via simplasto e absorção facilitada por proteínas transportadoras de grupos fosfato presentes na membrana. Apresenta largo espectro de ação, pelo controle de plantas daninhas anuais e perenes, de folhas largas e estreitas (SAMMONS; GAINES, 2014). Possui ação sistêmica pela absorção nas folhas e tecidos verdes, em seguida é translocado até as raízes, rizomas e meristemas apicais, via floema e xilema, preferencialmente pelo floema, que é o principal mecanismo de transporte de herbicidas aplicados em pós emergência das plantas daninhas (SATCHIVI et al., 2000).

Esse herbicida inibe especificamente a enzima EPSPS sintase (5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato sintase) por competição com o substrato fosfoenolpiruvato (PEP). Essa enzima catalisa a condensação do ácido chiquímico-3-fosfato e do fosfoenolpiruvato (PEP), responsáveis pela formação de 5-enolpiruvilchiquimato 3-fosfato (EPSP) e fósforo inorgânico. A inibição da EPSPS afeta a produção dos principais produtos que derivam do corismato: aminoácidos

aromáticos (tirosina, fenilalanina e triptofan) (JAWORSKI, 1972; SAMMONS; GAINES, 2014) (Figura 1).



**Figura 1.** Esquema da rota de ação do herbicida glyphosate e de produção de aminoácidos aromáticos e compostos fenólicos. Sumário das informações apresentadas por: Velini et al. (2012).

Essa via é responsável pela síntese de todos os compostos fenólicos da planta, além do ácido indol-acético (IAA) e compostos nitrogenados secundários (poliaminas, alcalóides, etc.), como consequência, afeta o processo de divisão celular, paralisando o crescimento das plantas. O herbicida é o mais importante a afetar a síntese de metabólitos secundários devido ao bloqueio da rota do ácido chiquímico (LYDON; DUKE, 1989), incluindo compostos relacionados à fotossíntese, como quinonas (causando a inibição da fotossíntese). O glyphosate também afeta a fotossíntese das

plantas modificando o metabolismo de carbono. Após a aplicação do herbicida, a troca líquida de carbono e a condutância estomática diminuem. Nestas condições, a capacidade de assimilação de CO<sub>2</sub> é reduzida, levando a um aumento da concentração intracelular de CO<sub>2</sub> (GOMES et al., 2014).

Outros compostos que são prejudicados incluem: a síntese de fitoalexinas e de lignina, síntese de proteínas, respiração, transpiração, permeabilidade de membranas, síntese de algumas vitaminas e hormônios, síntese de clorofila (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004), diminuição de aminoácidos aromáticos (AHSAN et al., 2008). Prejudica também a síntese de clorofila, pelo decréscimo do conteúdo de Mg nas folhas (ZABLOTOWICZ; REDDY, 2004; GOMES et al., 2014).

Outros efeitos causados pelo glyphosate nas plantas estão relacionados ao estresse oxidativo ocasionado, provavelmente, pelo efeito secundário do bloqueio do ácido shiquímico (AHSAN et al., 2008) e aos distúrbios na nutrição mineral das plantas, devido ao fato que a molécula de glyphosate foi introduzida como um agente quelante de metais e, deste modo, poderia exercer alguns efeitos sobre a nutrição das plantas e, portanto, afetar o crescimento, mesmo em plantas resistentes (ZOBIOLE et al., 2011; GOMES et al., 2014). Em plantas de soja geneticamente modificada expostas ao glyphosate foi observado diminuições significativas em todos os teores de macro e micronutrientes (ZOBIOLE et al., 2011, 2012).

A resistência aos herbicidas pode ou não pode constituir uma desvantagem competitiva nas populações resistentes. O desenvolvimento de estratégias de manejo integradas para a resistência de plantas daninhas aos herbicidas requer claramente uma compreensão da dinâmica populacional (TRAVLOS, 2013). Dessa forma, o estudo da biologia dos biótipos resistentes e suscetíveis apresenta implicações importantes para o manejo de plantas daninhas resistentes, principalmente quanto às medidas de adaptabilidade que descrevem o potencial de sucesso evolutivo de um genótipo baseado na sobrevivência, habilidade competitiva e reprodutiva, com o indivíduo mais apto deixando o maior número de descendentes e contribuindo, assim, com uma maior proporção dos seus genes para o pool genético da população. Na prática, as diferenças de adaptabilidade entre biótipos resistentes e suscetíveis são geralmente determinadas a partir de medidas de produtividade relativa da planta ou competitividade.

### **2.3. Aumento das concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico no controle e no crescimento de plantas daninhas**

As mudanças climáticas observadas nas últimas décadas têm sido objeto de discussões entre a comunidade científica com relação às suas possíveis causas. Parte das pesquisas defendidas por especialistas implicam que as alterações são decorrentes de processos cíclicos naturais e a maior parte afirma que, provavelmente, podem ser atribuídos a atividades humanas, em uma taxa sem precedentes nos últimos 1.300 anos (IPCC, 2017; NASA, 2017). Os avanços na compreensão de como o clima está mudando em termos espaciais e temporais, influenciado pelas atividades antrópicas no seu aquecimento, ocorre através da melhoria e da ampliação dos numerosos conjuntos de dados apurados, das análises dos dados, da cobertura geográfica e da maior variedade de medições, desde 1750 (IPCC, 2017).

A análise dos dados coletados ao longo das últimas décadas e as projeções para o final deste século revelam (NASA, 2017):

1. Aumento de 17 centímetros no nível do mar no último século e, se esta aceleração continuar, em 2100 o nível poderá ser 30 cm  $\pm$  3 cm maior que em 1990 (CHURCH; WHITE, 2006);
2. Os oceanos têm absorvido muito deste aumento de calor da Terra, o que provoca a expansão da água do mar, contribuindo para a elevação do seu nível. Desde 1969, a temperatura aumentou em cerca de 17°C, na profundidade de 700 metros (LEVITUS et. al, 2009).
3. A temperatura média global terrestre de janeiro a novembro de 2016 foi de 0,94°C acima da média registrada durante o século XX, que é de 13,9°C. Essa temperatura é a mais alta já registrada desde 1880, superando o recorde anterior estabelecido em 2015 por 0,06 °C (NOAA, 2016). O aumento da temperatura média da Terra entre 1990 a 2005 foi entre 0.15 °C e 0.3 °C por década. Em 2100, a projeção global prevê um aumento médio entre 1.0 e 4.0°C (IPCC, 2017).
4. As geleiras do Ártico e os lençóis de gelo da Groenlândia e da Antártida estão em declínio e perdendo massa rapidamente. O continente da Antártida vem



- perdendo cerca de 130 gigas toneladas de gelo por ano desde 2002, enquanto a Groenlândia tem perdido cerca de 280 gigas toneladas por ano (NASA, 2017). As geleiras do mar do Ártico estão diminuindo a uma taxa de 13,3% por década, relativa a 1981 a 2010 (NOAA, 2017). Reduções generalizadas das geleiras e calotas de gelo contribuem também para a elevação do nível do mar.
5. As concentrações atmosféricas globais de dióxido de carbono, metano e óxido nitroso tiveram aumento acentuado em consequência das atividades humanas desde 1750 e agora ultrapassam em muito os valores pré-industriais (1750). O dióxido de carbono é o gás de efeito estufa antrópico mais importante e, mais do que qualquer outro gás, teve a maior contribuição para a mudança climática entre 1750 e 2005 (IPCC, 2017). Em resposta ao aumento de CO<sub>2</sub>, poderão ocorrer mudanças na quantidade de chuva e distribuição de frequência da precipitação diária.

Os gases de efeito estufa são os principais fatores responsáveis pelo aumento da temperatura da Terra, especialmente o CO<sub>2</sub>. As fontes de aumento desse gás na atmosfera ocorrem principalmente pela queima de combustível fóssil usado nos transportes, pelo aquecimento e arrefecimento de construções, pela produção de cimento e desmatamento. A taxa de aumento da concentração anual de dióxido de carbono foi a mais elevada durante os últimos 20 anos (média de 1995 a 2005: 1,9 ppm por ano). A proporção de CO<sub>2</sub> atmosférico aumentou globalmente em cerca de 100 ppm (36%) nos últimos 250 anos, passando de 285 ppm na era pré-industrial (1000-1750) para 379 ppm em 2005 (FORSTER et al., 2007). Entre 2005 e 2016, a concentração média de CO<sub>2</sub> no mundo teve um aumento progressivo de 379 ppm para 405 ppm (NOAA, 2017). Projeções futuras com relação à concentração de dióxido de carbono atmosférico indicam que os níveis de CO<sub>2</sub> poderão atingir entre 500 a 600 ppm na metade deste século e até 1000 ppm em 2100 (IPCC, 2017).

Os aumentos atuais e as projeções do CO<sub>2</sub> atmosférico global indicam que, a biologia das plantas daninhas agrícolas poderá mudar devido a duas vias fundamentais: pelas variações climáticas previstas (como aumento da temperatura global, mudança na quantidade e distribuição diária de chuva) ou pelo impacto do efeito de "fertilização" de [CO<sub>2</sub>] na fotossíntese e no crescimento das plantas, ou seja, esses dois fatores poderão estimular a fotossíntese e o crescimento das plantas

(ZISKA; GOINS, 2006). Dessa forma, poderá então, o aumento de CO<sub>2</sub> atmosférico global afetar o crescimento e/ou controle de plantas daninhas resistentes ou suscetíveis ao herbicida?

Vários estudos mostram que o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico não teria grande impacto na taxa de fixação de CO<sub>2</sub>, no crescimento e/ou na produção de biomassa das plantas C4 (tolerantes ou não ao herbicida) que são fotossinteticamente saturadas ao nível atual de [CO<sub>2</sub>], em condições ideais (AINSWORTH; ROGERS, 2007; ZHANG et al., 2015). Contudo, há alguns trabalhos indicando que a fotossíntese de muitas espécies C4 (tolerantes ou não ao herbicida) pode não ser completamente saturada a elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>. Dessa forma, algumas espécies de plantas C4 respondem positivamente ao incremento de biomassa, crescimento e/ou alteração da susceptibilidade das plantas daninhas (MANEA; LEISHMAN; DOWNEY, 2011; ZHANG et al., 2015).

Quanto à alteração da susceptibilidade observada em plantas daninhas, sob alta concentração de CO<sub>2</sub>, esta pode estar relacionada a uma série de mecanismo e rotas. Em plantas C4, o CO<sub>2</sub> atmosférico é fixado no mesófilo do cloroplasto pela fosfoenolpiruvato carboxilase (PEP-carboxilase) gerando um composto ácido de 4C. Esse composto é, então, transportado para as células da bainha do feixe vascular e descarboxilado por enzimas produzindo um composto de 3C e liberando CO<sub>2</sub>, o qual é fixado pela ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) (TAIZ et al., 2014).

O esquema geral de fixação do CO<sub>2</sub> para as espécies C4 é a mesma, contudo o processo de descarboxilação ocorre de três maneiras diferentes, agrupando as espécies C4 em três subtipos bioquímicos: enzimas NADP-málica (NADP-ME), NAD-málica (NAD-ME) ou fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEP-CK). Cada subgrupo C4 possui características estruturais, bioquímicas e fisiológicas particulares, bem como também diferenças no mecanismo utilizado para regenerar a PEP. Estas diferenças entre os subtipos C4 parecem desempenhar um papel fundamental na determinação da resistência ao glyphosate (FERNANDO et al., 2016).

Outra resposta que justifica a alteração no controle das espécies C4 está relacionada à restrição da condutância estomática (isto ocorre pela despolarização da membrana – consequente abertura dos canais de saída de íons potássio das células

guardas- Assmann, 1993), provocado pela elevação na concentração de CO<sub>2</sub>, em curto prazo. A detecção de CO<sub>2</sub> é uma propriedade intrínseca das células guardas, as quais respondem a concentração de CO<sub>2</sub> intercelular (C<sub>i</sub>) ao invés de responder pela concentração do gás na superfície da folha. A redução na condutância reduz a penetração do glyphosate e, conseqüentemente, a sua eficácia e, também pelo aumento na espessura da cutícula foliar provocados pelas elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> (FERNANDO et al., 2016).

Outro fator associado às respostas encontradas na tolerância de espécies C<sub>4</sub>, em atmosfera com elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>, é em função do aumento da área foliar e conseqüente ganho na biomassa. Com maior crescimento e produção de biomassa, particularmente biomassa folhosa, isso aumentará sua tolerância à aplicação de glyphosate (MANEA; LEISHMAN; DOWNEY, 2011; FERNANDO et al., 2016).

As respostas positivas no crescimento das plantas daninhas à elevada concentração de CO<sub>2</sub> também podem ser relacionadas a mais de um mecanismo. Duas rotas principais podem estimular o crescimento das plantas C<sub>4</sub> tanto em condições com e sem estresse hídrico. Em primeiro lugar, através do aumento das taxas de assimilação de CO<sub>2</sub> foliar devido ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub> intercelular. Em segundo lugar, através da redução da condutância estomática e, subseqüentemente, das taxas de transpiração das folhas. Taxas de transpiração reduzidas podem estimular a assimilação de CO<sub>2</sub> pelas folhas e as taxas de crescimento através da conservação da água do solo, melhorando as relações entre água-planta e aumentando a temperatura da folha (GHANNOUM et al., 2000)

Como já citado anteriormente a redução na condutância é provocada pela despolarização da membrana, o que leva à redução das taxas de transpiração e, conseqüentemente promove maior eficiência no uso da água pela parte aérea devido à redução na perda de água. A redução das taxas de transpiração também pode provocar aumento da assimilação de CO<sub>2</sub> (intercelular), levando a um aumento na oferta de carboidratos para o crescimento das folhas, caules e raízes, com conseqüente ganho de biomassa na planta toda (LONG et al. 2004; AINSWORTH; ROGERS, 2007).

Alguns trabalhos têm evidenciado que a estimulação expressiva da fotossíntese sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> é um efeito indireto resultante da interação do estresse hídrico com a redução da *g<sub>s</sub>* (GHANNOUM et al., 2000; AINSWORTH; ROGERS, 2007). Leakey et al. 2004 mostraram que aumento na assimilação de CO<sub>2</sub> na cultura do milho foi associado a um período de melhora no status da água no solo ou a limitados períodos de baixa frequência de chuvas. Kang et al. (2002) demonstraram que a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub>, em uma concentração de 700 μmol mol<sup>-1</sup> de CO<sub>2</sub> foi de 15%, 19% e 47% nos tratamentos com alta, média e baixa disponibilidade de água, respectivamente. Esses fatores podem alterar a curva de saturação entre a taxa de assimilação e pressão parcial de CO<sub>2</sub> intercelular (GHANNOUM et al., 2000).

A avaliação do impacto do aumento da concentração de gases em diversos países tem sido realizada através das câmaras de topo aberto (OTCs, open top chambers). As OCTs foram baseadas no design de Raleigh (EUA) e utilizadas pela primeira vez em estudos de campo para investigar o efeito de poluentes ambientais em *Vicia faba* cv, Ticol. Mais tarde, foram adaptadas para avaliar pesquisas com o aumento de CO<sub>2</sub> (SANDERS et al., 1991)

As OTCs apresentam a forma de um cilindro, parede lateral coberta com plástico transparente e topo aberto. Essa estrutura permite a interação das plantas com o ambiente externo. As vantagens que esse sistema apresenta é o menor consumo de gás (devido à presença do plástico, reduzindo os custos) e por serem experimentos instalados em campo, expõem as plantas às alterações do ambiente (TOZZI; GHINI, 2016).

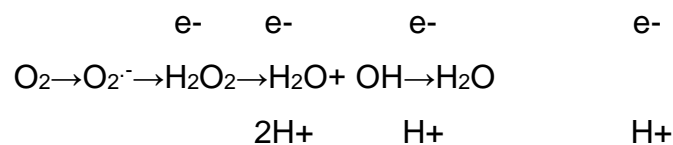
#### **2.4. Estresse oxidativo e o sistema antioxidante**

O estresse oxidativo é um fator central nos fenômenos de estresse abióticos e bióticos que ocorre quando há um sério desequilíbrio em qualquer compartimento da célula entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e da atuação dos sistemas de defesa antioxidante (FOYER; SHIGEOKA, 2010).

Os mecanismos de geração de ERO ocorrem normalmente nas plantas, como consequência de seu metabolismo, em organelas como peroxissomas, mitocôndrias,

cloroplastos. Em condições fisiológicas normais, os elétrons são transportados entre PS I e PS II nos cloroplastos, na membrana mitocondrial e no peroxissoma. Esses elétrons, mais tarde reagem com o oxigênio molecular para produzir o radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ). Os organismos aeróbicos ganham vantagens energéticas significativas usando o oxigênio molecular como oxidante terminal na respiração. Embora, o  $O_2$  possui potencial para ser reduzido parcialmente e formar as espécies reativas de oxigênio. (MALLICK; MOHN, 2000).

O  $O_2$  molecular para produzir 2 moléculas de água deve aceitar quatro elétrons. No entanto, o  $O_2$  não pode incorporar 4 elétrons de uma vez (devido à restrição spin), aceitando um de cada vez. Assim, o radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) é subsequentemente convertido em radical hidropéroxilo ( $HO_2^{\cdot-}$ ) e, finalmente a  $H_2O_2$  (peróxido de hidrogênio). Assim, durante a redução de  $O_2$ , intermediários estáveis são formados de forma gradual, conforme a equação abaixo (MALLICK; MOHN, 2000):



Dessa forma, as ERO incluem os radicais superóxidos ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxilo ( $OH^{\cdot-}$ ). Esses radicais são compostos altamente tóxicos que podem oxidar a maioria dos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos que causam a morte da célula devido a peroxidação lipídica, danos na membrana e inativação de enzimas (FAROOQ et al., 2013).

A peroxidação lipídica é um processo fisiológico que ocorre em todas as células aeróbicas sendo iniciada pela extração ou adição de um radical hidrogênio. A peroxidação é um dos principais mecanismos moleculares envolvidos no dano oxidativo a estruturas celulares que conduzem à morte celular. Os ácidos graxos insaturados, que são parte estrutural das membranas celulares são submetidos à peroxidação lipídica por reações em cadeia não enzimáticas e de espécies reativas de oxigênio (REPETTO et al., 2012).

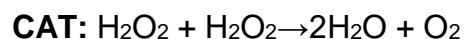
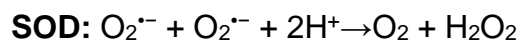
Embora a geração de ERO ocorra normalmente no organismo, a sua produção pode ser intensificada devido a exposição a estresses abióticos como extremos de temperatura (GAVELIENE et al., 2013), metais pesados (GRATÃO et al.,

2012), estresse hídrico (JEYARAMRAJA; THUSHARA, 2013), altas concentrações salinas (ELLOUZI et al., 2013), aplicação de herbicidas (ZABALZA et al., 2007; ZOBIOLE et al., 2010), entre outros.

As ERO (aumento ou decréscimo), por outro lado, atuam como indicativo de estresse sofrido pelas plantas e como mensageiras secundárias envolvidas em todos os aspectos da biologia vegetal da expressão gênica e de tradução para enzima química, ou seja, na sinalização para a ativação do sistema antioxidante (FOYER; NOCTOR 2003). O sistema de defesa antioxidante das plantas é essencial para a manutenção de baixos níveis intracelulares de ERO e, conseqüentemente para processar de maneira eficiente o estresse oxidativo, dessa forma, a fim de minimizar os danos oxidativos celulares, as plantas produzem enzimas antioxidantes, que incluem glutatona, superóxido (SOD), catalase (CAT), peroxidases (POD), acorbato peroxidases (APX), glutatona peroxidase (GPx), glutatona redutase (GR), entre outras (FOYER; SHIGEOKA, 2010).

A superóxido dismutase (SOD) constitui a primeira defesa antioxidante nas plantas, catalisando a dismutação dos radicais superóxidos. O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) gerado pela dismutação do radical superóxido é posteriormente detoxificado pela ação de catalases e outras peroxidases. As SODs são classificadas em três grupos baseado no co-fator metálico utilizado pela enzima: ferro (Fe-SOD), manganês (Mn-SOD) e cobre-zinco (Cu-Zn-SOD). Estas estão localizadas em diferentes compartimentos das células como: Fe-SOD nos cloroplastos, a Mn-SOD na mitocôndria e no peroxissomo e a Cu-Zn SODs no cloroplasto, no citossol e, possivelmente, nos espaços extracelulares (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002).

As catalases (CAT) foram as primeiras enzimas antioxidantes descobertas e caracterizadas. Dessa forma, SOD e CAT servem em conjunto como defensas antioxidantes na linha de frente:



Portanto, é possível encontrar SOD e CAT em múltiplos locais subcelulares. A reação da catalase ocorre pela desmutação de duas moléculas de  $H_2O_2$  em água e oxigênio molecular ( $O_2$ ). As CATs foram classificadas baseadas na nomeação dos genes do tabaco. De acordo com este agrupamento: Classe I são as catalases

fortemente expressas nos tecidos fotossintéticos; Classe II estão associadas aos tecidos vasculares e Classe III são expressas especialmente nas sementes e nos tecidos reprodutivos. As catalases têm uma taxa de rotatividade muito rápida, contudo uma afinidade muito menor para o  $H_2O_2$  do que a APX (MHAMDI et al., 2010).

Outra importante rota de defesa da planta é através das peroxidases, essas enzimas pertencem a uma larga família de enzimas que estão presentes em toda classe de fungos, plantas e vertebrados. Dentre o grupo de peroxidases, as peroxidases de guaiacol são proteínas do grupo prostético heme que preferencialmente oxidam doadores de elétrons aromáticos tais como guaiacol e pirogalol à custa de  $H_2O_2$  e, também atuam na extinção de formas intermediárias reativas de radicais  $O_2$  (SHARMA et al., 2012).

Vários trabalhos têm reportado o aumento da atividade de enzimas que constituem o sistema de defesa antioxidante de plantas para combater o estresse oxidativo induzido por algum agente estressor. Tem sido relatado que folhas de arroz expostas ao herbicida glyphosate mostraram incremento no acúmulo de enzimas antioxidantes incluindo ascorbato peroxidase, superóxido dismutase, glutathione S-transferase e detectou que a aplicação de glyphosate gerou ERO, o que resultou em peroxidação lipídica (AHSAN et al., 2008). Também, a exposição de folhas de milho ao glyphosate aumentou o nível de peroxidação lipídica, glutathione (GSH) e conteúdo de prolina livre (SERGIEV et al., 2006). Os autores sugerem que o tratamento com glyphosate pode resultar em estresse oxidativo. Kielak et al. (2011) observaram aumento na atividade das enzimas CAT e APX, e danos ocasionados pelo herbicida glyphosate às plantas de lentilha d'água.

Alguns trabalhos têm mostrado que plantas mantidas em condições de elevada concentração de  $CO_2$ , apresentaram alteração na concentração das enzimas antioxidantes (redução ou aumento) e mitigação do estresse, tanto em plantas C3, quanto em C4 (ALBERT et al., 2011; ZINTA et al., 2014; ABDELGAWAD et al., 2015). PEREZ-LOPEZ *et al.* (2009) observaram que os tratamentos com alta salinidade, quando expostos a ambiente com elevada concentração de  $CO_2$ , tiveram redução no estresse oxidativo causado pela salinidade. PRITCHARD et al. (2000) encontraram diferenças na atividade das enzimas redutases (monodehydroascorbato e

dehydroascorbato) entre a soja resistente e suscetível a glyphosate, na concentração de 720  $\mu\text{L L}^{-1}$  de  $\text{CO}_2$ .

Segundo Abdelgawad et al. (2016), o fator 'elevada concentração de  $\text{CO}_2$ ', sozinho, não causa danos celulares e, o aumento de  $\text{CO}_2$ , na maioria das observações realizadas em trabalhos publicados, reduziu em média 47% do estresse oxidativo. Um processo chave, que provavelmente está envolvido na atenuação do estresse, é o mecanismo de fotorespiração, uma vez que elevadas concentrações de  $\text{CO}_2$  promove a carboxilação sobre a oxigenação da rubisco, reduzindo a formação de espécies reativas de oxigênio.

### 3. REFERÊNCIAS

ABDELGAWADA, H.; FARFAN-VIGNOLOA, E. R.; VOS, D.; ASARD, H. Elevated  $\text{CO}_2$  mitigates drought and temperature-induced oxidative stress differently in grasses and legumes. **Plant Science**, v. 231, p. 1–10, 2015.

ADEGAS, F. S.; GAZZIERO, D. L. P.; VOLL, E.; OSIPE, R. 2010. Diagnóstico da existência de *Digitaria insularis* resistente ao herbicida glyphosate no sul do Brasil. Ribeirão Preto. **Anais...Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, 2010. p. 761-765.

AHSAN, N.; LEE, D. G.; LEE, K. W.; ALAM, I.; LEE, S. H.; BAHK, J. D.; LEE, B. H. Glyphosate-induced oxidative stress in rice leaves revealed by proteomic approach. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 46, n. 12, p. 1062-1070, 2008

AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising  $[\text{CO}_2]$ : mechanisms and environmental interactions. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n.3, p. 258– 270, 2007.

ALBERT, K. R.; MIKKELSEN, T. N. ; MICHELSEN, A. ; RO-POULSEN, H.; VAN DER LINDEN, L. Interactive effects of drought, elevated  $\text{CO}_2$  and warming on photosynthetic capacity and photosystem performance in temperate heath plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 13, p. 1550–1561, 2011.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 53, n. 372, p. 1331-41, 2002.



AHSAN, N.; LEE, D. G.; LEE, K. W.; ALAM, 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.

ASSMANN, S. M. Signal transduction in guard cells. **Annual Review Cell Biology**, v. 9, p. 345-75, 1993.

BARROSO, A. A. M.; GALEANO, E.; ALBRECHT, A. J. P.; REIS, F. C.; VICTORIA FILHO, R. Does Sourgrass leaf anatomy influence glyphosate resistance? **Comunicata Scientiae**, v. 6, n.4, p. 445-453, 2015.

BENBROOK, C. M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. **Environmental Sciences Europe**. v. 28, n. 3, p. 2-15, 2016.

BRUNHARO, C. A. C. G.; PATTERSON, D. R. C.; MELO, M. S. C.; NICOLAI, M.; GAINES, T. A.; NISSEN, S. J.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Confirmation and mechanism of glyphosate resistance in tall windmill grass (*Chloris elata*) from Brazil. **Pest Management Science**, v.72, n. 9, p.1758-1764, 2016.

CANTO-DOROW, T. S.; LONGHI-WAGNER, H. M. Novidades taxonômicas em *Digitaria* Haller (Poaceae) e novas citações para o gênero no Brasil. **Insula**, v.30, p. 21-34, 2001.

CARVALHO, L. B.; BIANCO, M. S.; BIANCO, S. Accumulation of dry mass and macronutrients by sourgrass plants. **Planta daninha**, v. 31, n. 4, p. 785-792, 2013.

CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L.; GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; CRUZ-HIPOLITO, H. E.; ROJANO-DELGADO, A. M.; DE PRADO, R.; GIL-HUMANES, J.; BARRO, F.; CASTRO, M. D. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of Agriculture Food and Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 615-22 2012.

CARVALHO, L.B., CRUZ-HIPOLITO, H., GONZÁLEZ-TORRALVA, F., ALVES, P. L. C. A., CHRISTOFFOLETI, P. J., DE PRADO, R. Detection of sourgrass (*Digitaria insularis*) biotypes resistant to glyphosate in Brazil. **Weed Science**, v. 59, n. 2, p. 171–176, 2011.

CARVALHO S. J. P.; NETTO, A. G.; CAVENAGHI, A. L.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CHRISTOFFOLET, P. J. Detection of glyphosate-resistant palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) in agricultural areas of Mato Grosso, Brazil. **Planta Daninha**, v. 33, n. 3, p. 579-86, 2015.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 4. ed. Piracicaba: Associação Brasileira de Ação à Resistência de Plantas Daninhas ao Herbicidas, 2016.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3.ed. Campinas: HRAC-BR, 9-34, 2008.

CHURCH, J. A.; WHITE, N.J. **A 20th century acceleration in global sea level rise**. Geophysical Research Letters, v. 33, n.1, 2006.

DAVIS, V. M.; KRUGER, G. R.; STACHLER, J. M.; LOUX, M. M.; JOHNSON, W.G. Growth and seed production of horseweed (*Conyza canadensis*) populations resistant to glyphosate, als-inhibiting, and multiple (glyphosate + alsinhibiting) herbicides. **Weed Science**, v. 57, n. 5, p. 494-504, 2009.

DÉLYE, C.; JASIENIUK, M.; LE CORRE, V. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. **Trends in Genetics** , v. 29, n. 11, p. 649–658, 2013.

ELLOUZI, H.; BENHAMED. K.; JANA, C.; MUNNÉ-BOSCH, S.; ABDELLY, C. Early effects of salt stress on the physiological and oxidative status of *Cakile maritima* (halophyte) and *Arabidopsis thaliana* (glycophyte) seedlings. **Physiology Plant**, v. 16, p.128–143, 2011.

FAROOQ, M. A.; ALI, S.; HAMEED, A.; ISHAQUE, W.; MAHMOOD, K.; IQBAL, Z. Alleviation of cadmium toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes; suppressed cadmium uptake and oxidative stress in cotton. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 96, n. 1, p. 242–249, 2013.

FERNANDO, M.; MANALIL, S.; FLORENTINE,S. K.; BHAGIRATH,; CHAUHAN, S.; SENEWEERA, S. Glyphosate resistance of c<sub>3</sub> and c<sub>4</sub> weeds under rising atmospheric CO<sub>2</sub>. **Front Plant Science**, v. 7, artigo 910, p. 1-11, 2016.

FERREIRA, E. A.; CONCENÇO, G.; GALON, L.; DELGADO, M. N.; ASPIAZÚ, I.; SILVA, A. F.; FERREIRA, F. A.; MEIRA, R. M. S. A. Características micromorfológicas de biótipos de capim-arroz resistente e suscetível ao quinclorac. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.47, n.8, p.1048-1056, 2012.

FORSTER, P. V. RAMASWAMY, P.; ARTAXO, T.; BERNTSEN, R.; BETTS, D. W.; FAHEY, J.; HAYWOOD, J.; LEAN, D. C.; LOWE, G.; MYHRE, J.; NGANGA, R.; PRINN, G.; RAGA, M.; SCHULZ, R. VAN DORLAND. **Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*** [SOLOMON, S. D.; QIN, M.; MANNING, Z.; CHEN, M.; MARQUIS, K. B.; AVERYT, M.; TIGNOR, H.L. MILLER (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2007.

FOYER, C. H.; SHIGEOKA, S. Understanding Oxidative Stress and Antioxidant Functions to Enhance Photosynthesis. **Plant Physiology**, v. 155, n. 1, p. 93-100, 2010.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v. 119, n. 3, p. 355–364, 2003.

FRAGA, D. S.; AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L.; NOHATTO, M. A.; THÜRMER, L.; HOLZ, M. T. Adaptive value of ryegrass biotypes with low-level resistance and susceptible to the herbicide fluazifop and competitive ability with the wheat culture. **Planta Daninha**, v. 31, n. 4, p. 875-885, 2013.

GAVELIENE, V.; NOVICKIENE, L.; KYTE, L. P. Effect of auxin physiological analogues on rapeseed (*Brassica napus*) cold hardening, seed yield and quality. **Journal of Plant Research**, v. 126, n. 2, p. 283–292, 2013.

GAZZIERO, D. L. P., VOLL, E., FORNAROLLI, D., VARGAS, L., ADEGAS, F. S. Efeitos da convivência do capim-amargoso na produtividade da soja. In: Congresso Brasileiro Da Ciência Das Plantas Daninhas, 28, 2012, Campo Grande, 2012. **Anais...** Campo Grande, 2012. p. 345-350.

GHANNOUM, O.; VON CAEMMERER, S.; ZISKA, L. H.; CONROY, J. P. The response of C<sub>4</sub> plants to elevated CO<sub>2</sub> partial pressure: a reassessment. **Plant, Cell and Environment**, v. 23; n. 9, p. 931–942, 2000.

GOMES, M. P.; SMEDBOL, E.; CHALIFOUR, C.; HÉNAULT-ETHIER, L.; LABRECQUE, M.; LEPAGE, L.; LUCOTTE, M.; JUNEAU, P. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: an overview, **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 17, p. 4691–4703, 2014.

GRATÃO, P.L.; MONTEIRO, C.C.; CARVALHO, R.F.; TEZOTTO, T.; PIOTTO, F.A.; PERES, L.E.P.; AZEVEDO, R.A. Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, V. 56, p.79-96, 2012.

HEAP, I. **The international survey of herbicide resistance weeds**. 2018. Disponível em: <[www.weedscience.com](http://www.weedscience.com)>. Acesso em: 13/02/2017.

IPCC-INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Climate Change 2017: The Physical Science Basis**. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2017, 1535 pp.

JAWORSKI, E. G. Mode of action of N-phosphonomethylglycine: inhibition of aromatic amino acid biosynthesis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 6, p. 1195-1198, 1972.

JEYARAMRAJA, P. R.; THUSHARA, S. S. Sequence of physiological responses in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) subjected to soil moisture deficit. **Photosynthetica**, v. 51, n.3, p. 395-403, 2013.

KANG, S. Z.; ZHANG, F. C.; HU, X. T.; ZHANG, J. Benefits of CO<sub>2</sub> enrichment on crop plants are modified by soil water status. **Plant and Soil**, v. 238, n. 1, p. 69–77, 2002.

KIELAK, E. et al. Phytotoxicity of Roundup Ultra 360 SL in aquatic ecosystems: Biochemical evaluation with duckweed (*Lemna minor* L.) as a model plant. **Pestic. Biochem. Physiol.**, v. 99, n. 3, p. 237-243, 2011.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 3.ed. São Paulo: Basf Brasileira, 2007. Tomo I. CD ROM.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, R. A.; BURGOS, N. R. Competitiveness of als inhibitors resistant and susceptible biotypes of greater beggarticks (*Bidens subalternans*). **Planta Daninha**, v. 29, n. 2, p. 457-464, 2011.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, R. A. Resistência ao glyphosate em biótipos de *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 467-471, 2008.

LEAKEY, A. D. B.; BERNACCHI, C. J.; DOHLEMAN, F. G.; ORT, D. R., LONG, S. P. Will photosynthesis of maize (*Zea mays*) in the US Corn Belt increase in future [CO<sub>2</sub>] rich atmospheres? An analysis of diurnal courses of CO<sub>2</sub> uptake under free-air concentration enrichment (FACE). **Global Change Biology**, v. 10, n. 6, p. 951–962, 2004.

LEVITUS, S.; ANTONOV, J. I.; BOYER, T. P.; LOCARNINI, R. A.; GARCIA, H. E.; MISHONOV, A. V. **Global ocean heat content 1955–2008 in light of recently revealed instrumentation problems**. Geophysical Research Letters, v. 36, n. 7, 2009.

LONG, S. P.; AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A.; ORT, D. R. Rising atmospheric carbon dioxide: plants FACE the future. **Annual Reviews of Plant Biology**, v.55, n. 1, p. 591–628, 2004.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 4 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 672 p.

LYDON, J.; DUKE, S. O. Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants. **Pesticide Science**, v. 25, n.4, p. 361-373, 1989.

MACHADO, A. F. L.; MEIRA, R. M. S.; FERREIRA, L. R.; FERREIRA, F. A.; TUFFI SANTOS, L. D.; FIALHO, C. M. T.; MACHADO, M. S. Caracterização anatômica de folha, colmo e rizoma de *Digitaria insularis*. **Planta Daninha**, v. 26, n. 1, p. 1-8, 2008.

MACHADO, A. F. L. et al. Análise de crescimento de *Digitaria insularis*. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 641-647, 2006.

MAGRO, T. D.; SCHAEGLER, C. E.; FONTANA, L. C.; AGOSTINETTO, D.; LEANDRO 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, n. 2, p. 294-301, 2011.

MALLICK, N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n. 2, p. 183–193, 2000.

MANEA, A.; LEISHMAN, M. R.; DOWNEY, P. O. Exotic C4 grasses have increased tolerance to glyphosate under elevated carbon dioxide. **Weed Science**, v. 59, n. 1, p. 28–36, 2011.

MARQUES, B. S.; SILVA, A. P. P.; LIMA, R. S. O.; MACHADO, E. C. R.; GONÇALVES, M. F.; CARVALHO, S. J. P. Growth and development of sourgrass based on days or thermal units. **Planta Daninha**, v. 32, n. 3, p. 483-490, 2014.

MAROLI, A. S.; NANDULA, V. K.; DAYAN, F. E.; DUKE, S. O.; GERARD, P.; THARAYIL, N. Metabolic profiling and enzyme analyses indicate a potential role of antioxidant systems in complementing glyphosate resistance in an *Amaranthus palmeri* biotype. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 63, v. 41, p. 9199-209, 2015.

MHAMDI, A.; QUEVAL, G.; CHAOUCH, S.; VANDERAUWERA, S.; VAN BREUSEGEM, F.; NOCTOR, G. Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 15, p. 4197-4220, 2010.

MONQUEIRO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; DIAS, C. T. S. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja (*Glycine max*). **Planta Daninha**, v.18, n.3, p.419-425, 2000.

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, n. 3, p. 591-598, 2010.

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

NASA - National Aeronautics and Space Act. **Climate change: How do we know?** Disponível em: <https://climate.nasa.gov/evidence/>. Acesso em: 20 de jan. 2017.

NOAA – National oceanic and Atmospheric Administration. **Record annual increase of carbon dioxide observed at Mauna Loa for 2015.** Disponível em: <http://www.noaa.gov/news/record-annual-increase-of-carbon-dioxide-observed-at-mauna-loa-for-2015>. Acesso em: 20 de jan. 2017.

OERKE, E-C. Crop losses to pests. **Journal of Agricultural Science**. v. 144, n. 1, p. 31–43, 2006.

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, n.3, p. 258—268, 2007.

PEREZ-LOPEZ, U.; ROBREDO, A.; LACUESTRA, M.; SGHERRI, C.; MUNOZ-RUEDA, A.; NAVARI-IZZO, F.; MENA-PETITE, A. The oxidative stress caused by salinity in two barley cultivars is mitigated by elevated CO<sub>2</sub>. **Physiologia Plantarum**, v. 135, n. 1, p. 29-42, 2009.

PEREZ-JONES, A.; PARK, K.; COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH, C. A.; KOGAN, M. Identification of a mutation in the target enzyme EPSP synthase in a glyphosate resistant *Lolium multiflorum* biotype. In: **Proceedings 2005 Meeting of the Weed Science Society of America** (ed. RJ Kramer), Honolulu, Hawaii. WSSA, Lawrence, KS, USA, 2005.

POWLES, S. B. Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 360-365, 2008.

PRITCHARD, S. G.; JU, Z.; VAN SANTEN, E.; QIU, J.; WEAVER, D. B.; PRIOR, S. A.; ROGERS, H. H. The influence of elevated CO<sub>2</sub> on the activities of antioxidative enzymes in two soybean genotypes. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 27, n. 11, p. 1061-1068, 2000.

REPETTO, M.; SEMPRINE, J.; BOVERIS, A. **Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination.** In: Catala A (ed) Lipid peroxidation. InTech, Rijeka, 2012. p. 3-30.

ROMAN, E. S. et al. Resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 22, n. 2, p. 301-306, 2004.

SAMMONS, R. D.; GAINES, T. A. Glyphosate resistance: state of knowledge. **Pest Management Science**, v. 70, n. 9, p. 1367–1377, 2014.

SANDERS, G. E.; CLARK, A. G.; COLL, J. J. The influence of open-top chambers on the growth and development of field bean. **New Phytology**, v. 117, n. 3, p. 439-447, 1991.

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

SATCHIVI, N. M.; WAX, L. M.; STOLLER, E. W.; BRISKIN, D. P. Absorption and translocation of glyphosate isopropylamine and trimethylsulfonium salts in *Abutilon theophrasti* and *Setaria faberi*. **Weed Science**, v. 48, n. 6, p. 675 – 679, 2000.

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 Physiologist**, v.85, n. 3, p. 139–146, 2006.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, n. 2012, p. 1–26, 2012.

SHRESTHA, A.; HANSON, B. D.; FIDELIBUS, M. W.; ALCORTA, M. Growth, phenology, and intraspecific competition between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible horseweeds (*Conyza canadensis*) in the San Joaquin Valley of California. **Weed Science**, v. 58, n. 2, p. 147–153, 2010.

SWITZER, C. M. The existence of 2,4-D-resistant strains of wild carrot. **Proc. Northeast. Weed Control Conf.**, v. 11, p. 315–318, 1957.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Plant physiology and development**. 6 edition. Sunderland, USA: Sinauer Associates, Inc., 2014. 761 p.



TAKANO, H. K.; OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J. **Capim pé-de-galinha: novo caso de resistência ao glyphosate no Brasil**. Informa Técnico PGA-UEM, v. 3, n. 002, 2016.

TOZZI, F. R. O.; GHINI, R. Impacto do aumento da concentração atmosférica do dióxido de carbono sobre a ferrugem e o crescimento do cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 8, p. 933-941, 2016.

TRAVLOS, I. S. Competition between accase-inhibitor resistant and susceptible sterile wild oat (*Avena sterilis*) biotypes. **Weed Science**, v. 61, n. 1, p. 26-31, 2013.

TRAVLOS, I. S.; CHACHALIS, D. Relative competitiveness of glyphosate-resistant and glyphosate susceptible populations of hairy fleabane, *Conyza bonariensis*. **Journal Pesticide Science**, v. 8, n.6, p.345–351, 2013.

VARGAS, L. ULGUIM, A.; AGOSTINETO, D.; MAGRO, T.; THUMER, L. Low level resistance of goosegrass (*Eleusina indica*) to glyphosate in Rio Grande do sul-Brazil. **Planta Daninha**, v. 31, n. 3, p. 677-686, 2013.

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, n. 3, p. 573-578, 2007.

VELINI, E. D. et al. **Modo de ação do glyphosate**. In: VELINI, E. D. et al. Glyphosate: uso sustentável. Fepaf: Botucatu, 2012. 213 p

VIDAL, R. A.; TREZZI, M. M. Análise de crescimento de biótipos de leiteira (*Euphorbia heterophylla*) resistentes e suscetível aos herbicidas inibidores da ALS. **Planta daninha**, v.18, n.3, 2000.

ZABALZA, A.; GASTON, S.; SANDALIO, L. M.; RÍO, L.A.; ROYUELA, M. Oxidative stress is not related to the mode of action of herbicides that inhibit acetolactate synthase. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, n.2, p.150–159, 2007.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Impact of glyphosate on the *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean. **Journal Environmental Quality**, v. 33, n. 3, p. 825-831, 2004.

ZHANG T. J.; FENG L.; TIAN X. S.; PENG C. L.; YANG C. H.; YUE M. F. Differential response of two biotypes of goosegrass (*Eleusine indica*) with different sensitivities to glyphosate to elevated CO<sub>2</sub> concentrations. **Internacional Journal of Agriculture & Biology**, v. 17, n. 5, p. 969–982, 2015.

ZINTA, G.; ABDELGAWAD, H.; DOMAGALSKA, M. A.; VERGAUWEN, L.; KNAPEN, D.; NIJS, I.; JANSSENS, I. A.; BEEMSTER, G. T.; ASARD, H. Physiological, biochemical, and genome-wide transcriptional analysis reveals that elevated CO<sub>2</sub> mitigates the impact of combined heat wave and drought stress in *Arabidopsis thaliana* at multiple organizational levels. **Global Change Biology**, v. 20, n. 12, p. 3670-85, 2014.

ZISKA, L. H; W. GOINS, E. W. Elevated atmospheric carbon dioxide and weed populations in glyphosate treated soybean. **Crop Science**, v. 46, n. 3, p. 1354-1359, 2006.

ZOBIOLE, L. H. S.; OLIVEIRA, J. R. 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, n. 3, p. 182–193, 2010.

ZOBIOLE, L. H. S.; KREMER, R. J.; OLIVEIRA, R. S.; CONSTANTIN, J. Glyphosate affects micro-organisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans. **Journal of Applied Microbiology**, v. 110, p. 118–27, 2011.

ZOBIOLE, L. H. S.; KREMER, R. J.; OLIVEIRA, R. S.; JR. CONSTANTIN, J. Glyphosate effects on photosynthesis, nutrient accumulation, and nodulation in glyphosate-resistant soybean. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 175, p. 319–330, 2012.

WAKELIN, A. M.; PRESTON, C. Target-site glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*Gaudin). **Weed Sci. Soc. Am.** Abstr. 417. Lawrence, KS: Weed Sci. Soc. Am. 2005.

WAKELIN, A. M; LORRAINE-COWILL, D. F.; PRESTON, C. Glyphosate resistance in four diferente populations of *Lolium rigidum* is associated with reduced translocation of glyphosate to meristematic zones. **Weed Research**, v. 44, p. 453-459, 2004.

YUAN J. S.; TRANEL P. J.; STEWART C. N. Jr. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends Plant Science**, v. 12, n. 1, p. 6-13, 2007.

## **CAPÍTULO 2 – Curvas de dose-resposta de populações de capim-amargoso submetidas ao herbicida glyphosate**

**RESUMO** – O trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a ocorrência de plantas resistentes e suscetíveis ao herbicida glyphosate em populações de capim-amargoso, por meio de curvas de dose resposta. Duas populações de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) foram avaliadas, uma suspeita por apresentar plantas com resistência ao herbicida glyphosate (área com histórico de aplicação) e outra com plantas suscetíveis (área natural, sem histórico de aplicação). O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x7: 2 populações e 7 doses de glyphosate (0; 135; 270; 540; 1980; 2160 e 4320 g e.a.ha<sup>-1</sup>), com 10 repetições. As avaliações foram realizadas aos 28 dias após a aplicação (DAA) do herbicida, por meio de análise visual de controle, realizando a quantificação da massa seca na sequência. Pelos resultados obtidos, a dose de glyphosate necessária para controlar 50% das plantas (C<sub>50</sub>) e da biomassa (GR<sub>50</sub>) da população com suspeita de resistência foi, respectivamente, quatro e três vezes mais elevada que necessária para a população suscetível.

**Palavras-chave:** controle de plantas daninhas, fator de resistência, resistência aos herbicidas

### **Dose-response curves of sourgrass populations submitted to glyphosate**

**ABSTRACT** – This work was carried out aiming at evaluating the occurrence of resistant and susceptible plants to glyphosate in sourgrass populations. Two biotypes of sourgrass (*Digitaria insularis*) were evaluated one susceptible (from a natural area without glyphosate application) and one suspected of resistance (application history) to glyphosate, it was tested for resistance to glyphosate based on dose-response. The experimental design was completely randomized, with treatments arranged in a 2x7 factorial scheme, 2 biotypes (resistant and susceptible to glyphosate) and 7 doses of glyphosate (0; 135; 270; 540; 1980; 2160 e 4320 g e.a.ha<sup>-1</sup>), with 10 replications. Evaluations were carried out at 28 days after herbicide application (DAA), using visual analysis control, performing shoot dry mass quantification in sequence. Based on the results, glyphosate dose required to control plants by 50% (C<sub>50</sub>), and reduce shoot biomass plants by 50% (GR<sub>50</sub>) for the resistant populations was, respectively, four and three times higher than susceptible population.

**Keywords:** herbicide resistance, resistance factor, weed control.

## **1. INTRODUÇÃO**

O uso intensivo de herbicidas, como o glyphosate, está alterando as populações de plantas daninhas nas lavouras pela seleção de biótipos resistentes a este produto. Isso ocorre em função da pressão de seleção ocasionada pelo uso

repetitivo de herbicidas com mesmo mecanismo de ação, características dos herbicidas e das espécies, entre outros fatores.

No Brasil, o capim-amargoso tem-se tornado uma planta daninha dominante e de difícil controle, pelas características da própria espécie e pela ocorrência de populações resistentes ao herbicida, em lavouras de café, pomares, em áreas de grãos e cereais (LEMES et al., 2010). Quando em convivência com a cultura da soja, essa espécie pode reduzir a produtividade em até 44% (GAZZIERO et al., 2012).

Um dos métodos mais utilizados na detecção da suscetibilidade ou resistência de plantas daninhas aos herbicidas é o da curva dose-resposta (FRIENSEN et al., 1993; CHRISTOFFOLETI, 2002; LACERDA; VICTÓRIA FILHO, 2004; VARGAS et al., 2013; RAIMONDI et al., 2015). Através da curva de dose-resposta obtém-se índices que determinam a dose de herbicida necessária para controlar 50% da população ou reduzir 50% da massa seca, indicando o biótipo resistente e o nível de resistência do biótipo ou da população (SEEFELDT et al., 1995; HALL et al., 1998). O modelo logístico é um dos métodos que mais se ajusta na análise de curva de dose-resposta entre herbicida e planta daninha devido a inúmeras vantagens em relação a outros métodos de análise (SEEFELDT et al., 1995).

Os níveis de resistência podem variar entre os biótipos e, considera-se um caso de resistência quando um biótipo resiste a duas vezes ou mais a dose que normalmente controla os biótipos suscetíveis (LACERDA; VICTÓRIA FILHO, 2004).

O diagnóstico de plantas daninhas resistentes em uma lavoura é essencial para fornecer subsídios quanto ao manejo que deverá ser adotado pelo produtor, para evitar a disseminação e estabelecimento desses biótipos na área. Para a identificação inicial de um provável biótipo de planta daninha resistente, um dos métodos mais utilizados é o experimento de curva de dose-resposta. Dessa forma, o trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a ocorrência de biótipos resistentes e suscetíveis ao herbicida glyphosate em populações de capim-amargoso, por meio de curvas de dose resposta.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA), no campus de Jaboticabal, SP – UNESP.

No trabalho, utilizaram-se plantas de capim-amargoso com suspeita por apresentar resistência e plantas coletadas em área sem histórico de aplicação do herbicida. As sementes foram coletadas separadamente por planta. As sementes da população com suspeita de resistência foram coletadas em plantas que sobreviveram à aplicação de 720 g e.a. ha<sup>-1</sup> de glyphosate, em área de produção de grãos com histórico de resistência ao herbicida (Carvalho; Alves, 2012) da Fazenda de Ensino e Pesquisa da FCAV, Unesp Jaboticabal, cujas coordenadas geográficas são 21° 15' 22" Latitude Sul, 48° 18' 58" Longitude Oeste e altitude de 595 m. As sementes da população de Matão, foi coletada em área natural e sem histórico de aplicação, na Fazenda Cambuhy, localizada no município de Matão, região Norte do Estado de São Paulo (latitude: 21035'S; longitude: 48025'W; altitude 551 m).

As amostras coletadas foram semeadas em vasos com capacidade para 500 ml, preenchidos com solo e areia (2:1 v/v). O solo utilizado no experimento foi classificado como latossolo vermelho distrófico, textura argilosa. Os resultados da análise química do substrato estão descritos na Tabela 1. Os resultados da composição granulométrica indicaram: 131 g/Kg de areia fina, 350 g/Kg de areia grossa, 91 g/Kg de silte e 428 g/Kg de argila.

**Tabela 1.** Resultados da análise química do solo utilizado como substrato.

pH	M.O. g dm <sup>-3</sup>	P. resina mg dm <sup>-3</sup>	K	Ca	Mg	H + Al	SB	CTC	V
5,7	18	42	2,5	25	12	31	39,5	70,5	56

SB= soma de bases; CTC= capacidade de troca catiônica; V= saturação por bases.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 2x7: 2 populações de capim-amargoso e 7 doses de glyphosate, com 10 repetições. Os tratamentos e as doses utilizadas no experimento, para as duas populações de capim-amargoso, estão descritos na Tabela 2.

**Tabela 2.** Tratamentos utilizados para o experimento de curvas de dose-resposta para as populações de capim-amargoso.

Tratamento	Dose
------------	------

	L/ha*	g e.a. ha <sup>-1**</sup>
1	0,00	0
2	0,28	135
3	0,56	270
4	1,12	540
5	2,25	1080
6	4,50	2160
7	9,00	4320

\*Produto comercial: Glizmax®, em litros por hectare. \*\*Gramas de equivalente ácido por hectare.

A aplicação do herbicida foi realizada quando as plantas atingiram estágio vegetativo entre 4 e 5 folhas, em câmara de aplicação para herbicidas, com auxílio de um pulverizador costal à pressão constante (CO<sub>2</sub>), equipado com quatro pontas de pulverização do tipo TTJ60-11002 VP. O conjunto foi regulado com 2.2 bar de pressão para distribuir o equivalente a 200 L ha<sup>-1</sup> de calda. No momento da aplicação, foram registrados os dados de temperatura (27°C) e umidade relativa do ar (82%).

A avaliação foi feita com base nos sintomas visuais de controle (ALAM, 1974) e massa seca residual aos 28 dias após a aplicação (DAA) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Escala de notas de Alam (1974) para avaliação da eficácia de controle de plantas daninhas.

Porcentagem de controle (%)	Grau de controle
0-40	Nenhum a pobre
41-60	Regular
61-70	Suficiente
71-80	Bom
81-90	Muito bom
91-100	Excelente

A massa seca foi obtida a partir do material remanescente da parte aérea, e acondicionada em uma estufa de secagem de circulação forçada por 76 horas a uma temperatura de 65°C. Em seguida, as plantas foram pesadas em balança analítica de precisão para determinação de massa seca.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Quando o teste F foi significativo, os dados do experimento de curva de dose-resposta foram ajustados ao modelo de

regressão não-linear. A variável controle foi ajustada pela equação sigmoideal de três parâmetros (Equação 1), e a variável massa seca pela equação logística de três parâmetros (Equação 2), com auxílio do programa SigmaPlot 10.0®:

$$y = \frac{a}{1 + \exp\left[-\frac{x-x_0}{b}\right]} \quad (\text{eq. 1})$$

$$y = \frac{a}{1 + abs\left[-\frac{x}{x_0}\right]^b} \quad (\text{eq. 2})$$

Onde:

Y= corresponde a variável dependente (controle ou massa seca)

x= dose do herbicida

a= assintótica máxima da curva

b= declividade da curva

x<sub>0</sub>= dose que proporciona 50% de resposta da variável (controle ou massa seca)

O fator de resistência (FR) foi calculado através do quociente da dose de herbicida necessário para proporcionar 50% de controle (C<sub>50</sub>) ou reduzir 50% da massa seca (GR<sub>50</sub>) da população com suspeita de resistência (R) pela população suscetível (S). A dose de herbicida necessária para reduzir 80% da população (C<sub>80</sub>) ou massa seca (GR<sub>80</sub>) também foi estimada através da planilha eletrônica Excel®.

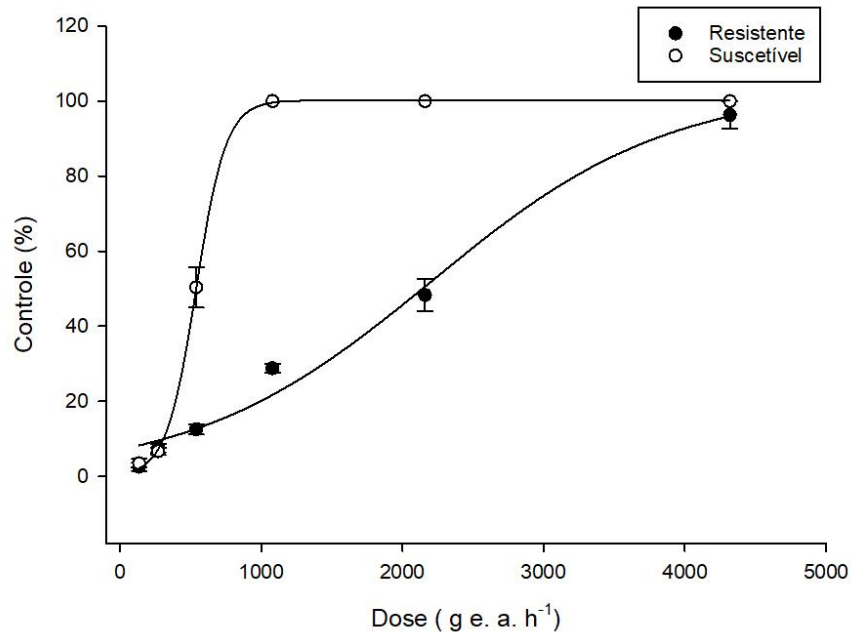
O fator de resistência (FR = R/S) expressa o número de vezes em que a dose necessária para reduzir 50% da massa seca ou controlar 50% da população resistente é superior à dose que controla 50% da população suscetível (CHRISTOFFOLETI, 2002).

### 3. RESULTADOS

Os resultados apresentados indicam que a menor dose de glyphosate (135 g e.a. ha<sup>-1</sup>) foi insuficiente para controlar os dois biótipos estudados (Figura 1). Na dose de 540 g e.a.ha<sup>-1</sup> o herbicida proporcionou controle de 50% para a população suscetível. Enquanto para população com suspeita de resistência, o controle foi apenas de 12,5%.

A partir da dose de 1080 g e.a.ha<sup>-1</sup>, que está dentro da dose recomendada para a espécie (720 e 2160 g e.a.ha<sup>-1</sup>) glyphosate promoveu controle de 100% para a

população suscetível. Enquanto, para a população com suspeita de resistência, tal fato só foi observado na dose de 4320 g e.a.ha<sup>-1</sup>.



**Figura 1.** Controle de populações de capim-amargoso, uma supostamente resistente e uma suscetível, submetidas a diferentes doses do herbicida glyphosate, aos 28 dias após a aplicação.

Assim como o aumento das doses reduziu a população das plantas, também reduziu a massa seca da parte aérea. Na primeira dose aplicada (135 g e.a. ha<sup>-1</sup>), a redução da massa foi semelhante para os dois biótipos, em torno de 40%. Contudo, a partir da segunda dose (270 g e.a. ha<sup>-1</sup>), nota-se que, o glyphosate além de reduzir a população do suscetível de forma mais intensa que a resistente, também provocou uma redução mais acentuada da massa, em torno de 47% para o resistente e 81% para o suscetível.

Nas demais doses aplicadas, a massa seca das plantas da população com suspeita de resistência manteve-se próxima, em torno de 0,45 g. Com relação as plantas da população suscetível, o valor da massa seca nas doses de 540, 1980 e 2160 g e.a. ha<sup>-1</sup> foi em torno de 0,30 g, contudo, na última dose aplicada (4320 g e.a. ha<sup>-1</sup>), ocorreu uma redução mais acentuada, e a massa obtida foi de 0,13 g, uma redução de 91%, em relação ao tratamento controle.





<b>Controle</b>	<b>S</b>	100,25 ±0,5	105,39 ±5,2	539,15 ±3,9	0,99	1	685
	<b>R</b>	103,71 ±9,8	843,05 ±89	2200,5 ±294,3	0,99	4,08	3226
<b>Massa seca</b>	<b>S</b>	1,42 ±0,2	0,69 ±0,3	113,89 ±75,3	0,96	1,0	867
	<b>R</b>	1,16 ±0,1	0,35 ±0,2	378,38 ±35,5	0,94	3,3	> 4320

<sup>1</sup>Parâmetros da equação logística: a =assintótica máxima, b =declividade da curva, C<sub>50</sub> = dose que proporciona 50% de controle; GR<sub>50</sub>= dose que reduz 50% da massa seca. R<sup>2</sup>= coeficiente de determinação da curva. FR= fator de resistência. C<sub>80</sub> = dose que proporciona 80% de controle; GR<sub>80</sub>= dose que reduz 80% da massa seca.

#### 4. DISCUSSÃO

Para a população suscetível, doses superiores a 270 g e.a. ha<sup>-1</sup> foram necessárias para promover o controle e redução da biomassa em mais de 80% das plantas, enquanto para a população resistente, a dose necessária foi superior a 2160 g e.a. ha<sup>-1</sup>, ou seja, uma dose maior que a recomendada pela bula do produto. Trabalhos conduzidos anteriormente relatam a ocorrência de resistência de populações de capim-amargoso na mesma área em que foram coletadas as sementes desse experimento (CORREIA; LEITE; GARCIA, 2010; CARVALHO et al., 2011).

A diversidade genética de uma população ocorre por vários fatores evolutivos, entre os quais, sistema de produção, a interação entre a cultura e a planta daninha (fluxo gênico através da dispersão do pólen e da semente), a distribuição geográfica e a seleção natural. Devido à variação genética, a taxa de evolução da resistência aos herbicidas dependerá da eficácia e da frequência da aplicação de herbicidas, dos padrões de reprodução, da aptidão relativa dos fenótipos suscetíveis e resistentes e, da existência de processos de fluxo gênico (HUANGUF; SONG; QIANG, 2009).

O aumento dos níveis de resistência nas populações de plantas daninhas resulta em maiores taxas de sobrevivência para os indivíduos mais resistentes, e mortalidade para os mais sensíveis, o que aumenta a frequência de genes de tolerância na população sobrevivente, levando ao deslocamento ou aumento gradual dos valores de C<sub>50</sub> (NEVE; VILA-AIUB; ROUX, 2009), o que conseqüentemente prejudica a produtividade da lavoura, dificulta o manejo da planta daninha e encarece o processo produtivo.

Nos últimos anos, o número de espécie de plantas daninhas resistentes ao glyphosate e, lavouras com casos de resistência, principalmente em áreas cultivadas com soja e milho RR, têm aumentado de forma contínua. Com isso, é fundamental

evitar o uso sucessivo de um mesmo herbicida ou de herbicidas com mesmo mecanismo de ação para reduzir a pressão de seleção e prevenir a evolução da resistência, sendo necessário, portanto, realizar aplicações sequenciais com herbicidas de diferentes mecanismos de ação.

## 5. CONCLUSÃO

A população de capim-amargoso de Jaboticabal é constituída predominantemente por biótipos resistentes ao herbicida glyphosate e a população de Matão por biótipos suscetíveis.

## 6. REFÊRENCIAS

ALAM- ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE MALEZAS. Recomendaciones sobre unificación de los sistemas de evaluación en ensayos de control de malezas. **ALAM**, v.1, n.1, p.35-38, 1974.

CARVALHO, L. B., CRUZ-HIPOLITO, H., GONZÁLEZ-TORRALVA, F., ALVES, P. L. C. A., CHRISTOFFOLETI, P. J., DE PRADO, R. Detection of sourgrass (*Digitaria insularis*) biotypes resistant to glyphosate in Brazil. **Weed Science**, v. 59, n. 2, p. 171–176, 2011.

CHRISTOFFOLETI, P. J. Curvas de dose-resposta de biótipos resistente e suscetível de *Bidens pilosa* l. aos herbicidas inibidores da als. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 3, p. 513-519, 2002.

CORREIA, N. M; LEITE, G. J; GARCIA, L. D. Resposta de diferentes populações de *Digitaria insularis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 28, n. 4, p. 769-776, 2010.

FRIENSEN, L. F; MORRISON, I. N.; RASHID, A.; DEVINE, M. D. Response of a chlorosulfuron resistant biotype of *Kochia scoparia* to sulfonylurea and alternative herbicides. **Weed Science**, v.41, n.1, p.100-106. 1993.

GAZZIERO, D. L. P.; VOLL, E.; FORNAROLLI, D.; VARGAS, L.; ADEGAS, F. S. Efeitos da convivência do capim-amargoso na produtividade da soja. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 28, 2012, Campo Grande, 2012. **Anais...** Campo Grande, 2012. p. 345-350.

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

HUANGUF, C. H.; SONG, X. L.; QIANG S. ISSR variation within and among wild *Brassica juncea* populations: implication for herbicide resistance evolution. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 56, n. 7, p. 913-924, 2009.

LACERDA, A. L. S.; VICTORIA FILHO, R. Curvas dose-resposta em espécies de plantas daninhas com o uso do herbicida glyphosate. **Bragantia**, v.63, n.1, p.73-79, 2004.

LEMES, L. N., CARVALHO, L. B., SOUZA, M. C., ALVES, P. L. C. A. Weed interference on coffee fruit production during a four-year investigation after planting. **African Journal of Agricultural Research**, v.5, n.10, p.1138-1143, 2010.

NEVE, P.; VILA-AIUB, M.; ROUX, F. Evolutionary-thinking in agricultural weed management. **New Phytologist**, v. 184, n. 4, p. 783-93, 2009.

RAIMONDI, M. A.; OLIVEIRA J. R., R. S.; CONSTANTIN, J.; RIOS, F. A.; GEMELLI, A.; RAIMONDI, R. T. Dose-response curve to soil applied herbicides and susceptibility evaluation of different *amaranthus* species using model identity. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 137-146, 2015.

SEEFELDT, S. S.; JENSEN, S. E.; FUERST, E. P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationship. **Weed Technology**, v.9, p.218-227, 1995.

### **CAPÍTULO 3 - Acúmulo de massa seca e macronutrientes em biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate**

**RESUMO** – A resistência de plantas daninhas aos herbicidas está associada a alterações morfológicas, fisiológicas e metabólicas. Essas alterações podem refletir

em mudanças no *status* nutricional das plantas resistentes e no seu crescimento, o que pode inferir em maior adaptabilidade e habilidade competitiva. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi determinar o acúmulo e a distribuição de massa seca e de macronutrientes por biótipos de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) resistente e suscetível ao glyphosate, cultivadas em condições padronizadas de nutrição mineral. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com onze tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos consistiram de avaliações aos 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150 e 165 dias após a emergência (DAE). Pelos resultados obtidos, os pontos de acúmulo máximo teórico (PtMax) e de inflexão (PtInf) de massa seca e macronutrientes foram menores para o biótipo suscetível, sendo estes aos 133 DAE e 99 DAE, respectivamente, em relação ao resistente (141 DAE; 105 DAE), contudo, considerando o menor período de tempo (133 DAE e 99 DAE), o acúmulo da massa seca e de micronutrientes foi maior no biótipo resistente. O biótipo resistente apresentou maior acúmulo de parte aérea, enquanto o suscetível maior acúmulo de raízes. A sequência decrescente de acúmulo de nutrientes foi semelhante para os biótipos de capim-amargoso: K, N, Ca, Mg, P e S.

**Palavras-chave:** análise crescimento, *Digitaria insularis*, nutrição mineral, resistência.

### **Dry matter and macronutrient accumulation of resistant and susceptible sourgrass biotypes to glyphosate**

**ABSTRACT-** Herbicide resistant is associated with morphological, physiological and metabolic alterations in weeds. These alterations may reflect changes in the nutritional status of resistant plants and their growth, it can be inferred in greater adaptability and competitive ability of the resistant biotypes. Thus, the aim of this research was to determine the dry matter and macronutrient accumulation and distribution by glyphosate-resistant and susceptible plants of sourgrass (*Digitaria insularis*), growing under mineral nutrition standard conditions. The experimental design was completely randomized, with eleven treatments and four replicates. The treatments consisted of times of evaluation at 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150 e 165 days after emergence (DAE). The average time for maximum theoretical accumulation (PtMax) and for inflection points of dry mass and macronutrient were lower for susceptible (133 DAE; 99 DAE) than for resistant biotype (141 DAE; 105 DAE). However, considering the average time obtained by susceptible, dry mass (g) and macronutrients (mg) accumulation was always higher for resistant biotype. The resistant biotype accumulated more leaf dry mass, while the susceptible one accumulated more root dry mass. The decreasing sequence of nutrient accumulation was similar for both sourgrass biotypes: K, N, Ca, Mg, P and S.

**Keywords:** growth analysis, mineral nutrition, resistance, *Digitaria insularis*

## **1. INTRODUÇÃO**

A espécie *D. insularis* é uma planta daninha perene que se destaca pela formação de rizomas e touceiras, fatores que dificultam o controle pelo herbicida

glyphosate. Tais características também estão relacionadas a sua agressividade como invasora e podem proporcionar alta competitividade à espécie pelos recursos naturais. A competição por nutrientes é um dos principais fatores ecológicos que podem afetar a produtividade das culturas agrícolas (PITELLI, 1985).

Outro fator que tem dificultado o controle da espécie são as diferenças encontradas entre indivíduos na lavoura. Sua persistência no campo, além das características da própria espécie, tem crescido devido à seleção de biótipos resistentes ao herbicida glyphosate. Os mecanismos que estão relacionados a resistência dessa espécie ocorrem por meio da absorção e translocação mais reduzidas do herbicida, alterações na metabolização do glyphosate, mutação e alterações morfológicas (CARVALHO et al., 2012; BARROSO et al., 2015).

O glyphosate é um herbicida intensivamente usado em diversos sistemas de produção e é o único composto disponível que atua sobre a enzima EPSPs (5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfatossintase), na rota de síntese dos aminoácidos aromáticos e do ácido chiquímico (VELINI et al., 2009). Atualmente existem oito espécies confirmadas de plantas daninhas resistentes ao glyphosate no Brasil: *Amaranthus palmeri*; *Chloris elata*; *Coryza bonariensis*, *C. canadensis* e *C. sumatrensis*; *D. insularis*; *Eleusine indica*; *Lolium perenne* ssp. *multiflorum* (HEAP, 2018).

A resistência aos herbicidas pode ou não constituir uma desvantagem competitiva nas populações resistentes (TRAVLOS, 2013), e assegurar o seu sucesso evolutivo baseado na sobrevivência, habilidade competitiva e reprodutiva, no qual o indivíduo mais apto fornece o maior número de descendentes e contribui, assim, com uma maior proporção dos seus genes na população (WARWICK; BLACK, 1994). Estudos básicos como a marcha de absorção de nutrientes e a utilização dos nutrientes acumulados pelas espécies de plantas daninhas são fundamentais para entender o comportamento dos indivíduos e para fornecer subsídios para predições de seu sucesso como infestante em função de novas práticas agrícolas (BIANCO et al., 2004a,b).

Dessa forma, analisar as diferenças entre biótipos de capim-amargos resistente e suscetível ao glyphosate através de estudos relacionados à nutrição mineral e crescimento das plantas, torna-se necessário, uma vez que a resistência de plantas

daninhas pode refletir em maior requerimento nutricional e crescimento, o que pode inferir que estes sejam mais competitivos e prejudiciais às culturas. Diante do exposto, o trabalho foi conduzido com o objetivo de determinar o acúmulo e a distribuição de massa seca e de macronutrientes em biótipos resistentes e suscetíveis de capim-amargoso.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Laboratório de Plantas Daninhas (LAPDA), no campus de Jaboticabal, SP – UNESP –no período entre março e setembro de 2015. Os dados meteorológicos mensais coletados durante o experimento são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Dados climáticos obtidos durante o período de condução do experimento.

<b>Mês</b>	<b>Tmax</b>	<b>Tmin</b>	<b>UR<sup>2</sup></b>	<b>ND</b>	<b>Insolação</b>
<b>Março</b>	32,4	19,2	79,3	21	148,3
<b>Abril</b>	33,2	16,9	24	7,0	234,5
<b>Mai</b>	28,6	15,2	20,1	8,0	180,9
<b>Junho</b>	29,1	13,7	18,1	2,0	239,3
<b>Julho</b>	29,5	11,5	19,3	5,0	189,4
<b>Agosto</b>	32,9	14,5	20,7	2,0	283,4
<b>Setembro</b>	33,7	15,3	22,5	12,0	208,5

Fonte: Dados coletados pela Estação Agroclimatológica da FCAV/UNESP. Tmax: temperatura máxima; Tmin: temperatura mínima; UR: umidade relativa do ar; ND: número de dias com chuva.

As sementes dos biótipos resistente (biótipo-R) e suscetível (biótipo-S) foram semeadas em vasos plásticos com capacidade de 8 L, preenchidos com areia de rio lavada e peneirada. Os vasos foram irrigados com solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950). Inicialmente, para promover a adaptação das plântulas à solução nutritiva, foi realizado o aumento gradual e semanal da força iônica da solução. Na primeira semana, a solução nutritiva foi ajustada para 25%, sendo substituída por uma nova solução com 50% de força iônica por mais sete dias, e assim consecutivamente até atingir 100% de força iônica (totalizando assim 28 dias de

adaptação). O pH da solução foi mantido próximo a 6,0 (adicionando-se HCl, 0,01M e/ou NaOH, 0,01M, quando necessário) (Tabela 6).

**Tabela 6.** Composição da solução nutritiva proposta por Hoagland e Arnon (1950).

<b>Solução nutritiva proposta Hoagland e Arnon (1950)</b>	
<b>Macronutrientes</b>	
----- mg L <sup>-1</sup> de solução nutritiva -----	
<b>Nitrogênio</b>	210,1
<b>Fósforo</b>	31,0
<b>Potássio</b>	234,6
<b>Cálcio</b>	200,4
<b>Magnésio</b>	48,6
<b>Enxofre</b>	64,2
<b>Micronutrientes</b>	
----- mg L <sup>-1</sup> de solução nutritiva -----	
<b>Boro</b>	0,5
<b>Cobre</b>	0,02
<b>Cloro</b>	0,6
<b>Ferro</b>	5,0
<b>Manganês</b>	0,5
<b>Molibdênio</b>	0,01
<b>Zinco</b>	0,05

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com onze tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos constaram de avaliações destrutivas, a partir da coleta das plantas dos biótipos em intervalos de 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150 e 165 dias após a emergência (DAE), correspondendo a 11 períodos de coleta. Em cada época de avaliação, as plantas foram coletadas e separadas em folhas, colmos e raízes. A seguir, todo o material foi submetido à rápida imersão em solução diluída de detergente neutro, lavagem por imersão em água destilada e, finalmente, imersão em água deionizada (SARRUGE; HAAG, 1974). Em cada época de avaliação, as plantas foram coletadas e separadas em folhas, caules e raízes.

Logo após, as partes aéreas e raízes foram colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C, durante 48 horas, para então determinarmos a massa seca das partes aéreas e das raízes (g). O material vegetal foi triturado em micromoinho Wiley utilizando peneira de 40 mesh para determinação dos macronutrientes.



O nitrogênio total ( $N_{total}$ ) e o fósforo (P) foram determinados pelos métodos semimicro Kjeldahl e colorimétrico do ácido fosfovanadato-molibdico, respectivamente (SARRUGE; HAAG, 1974). Na extração de potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foi utilizado o método descrito por Jorgensen (1977), por meio de espectrofotometria de absorção atômica. O enxofre (S) foi determinado pelo método turbidimétrico, descrito por Vitti (1989).

Através dos teores de nutrientes obtidos ao longo do ciclo da planta, foi determinado a amplitude de variação do teor total de cada nutriente pelo maior e o menor valor de teor total observados. Os acúmulos de nutrientes para cada uma das partes da planta foram conseguidos multiplicando-se o teor do nutriente pela massa seca correspondente. O acúmulo total foi obtido por meio da somatória dos acúmulos das diferentes partes da planta, ao passo que o teor total da planta foi obtido pela relação entre o acúmulo total da planta e a massa seca total correspondente.

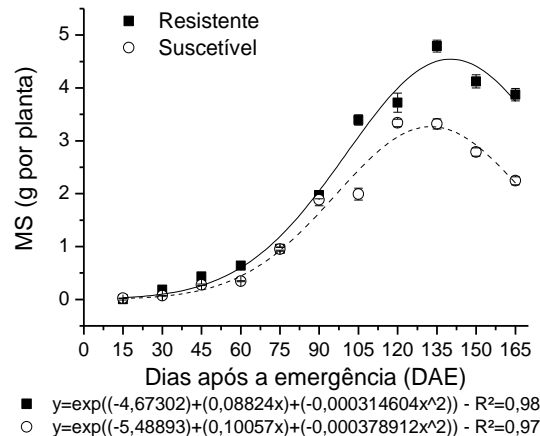
Os pontos de inflexão (PtInf) e do acúmulo total teórico (PtMax) de massa seca e macronutrientes foram determinados pela equação exponencial  $y = \exp(a + b \cdot x + c \cdot x^2)$ , sendo y o acúmulo de massa seca e macronutriente e, x os dias após a emergência. A análise de regressão foi realizada com auxílio do OringinPro 8.5

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na fase inicial do experimento (dos 15 aos 60 DAA), o acúmulo de massa seca pelos dois biótipos foi lento, com acúmulo médio de 0,4 g por planta para o resistente e 0,2 g para o suscetível (Figura 3). A partir dos 60 DAE, o crescimento das plantas dos dois biótipos intensificou-se, alcançando o acúmulo máximo de massa seca total (PtMax) aos 140 DAE, com o valor teórico de 4,5 g de massa seca por planta (resistente) e aos 133 DAE com 3,3 g por planta de massa seca (suscetível). O valor do ponto de inflexão (PtInf) obtido para as plantas do resistente foi aos 101 DAE com acúmulo teórico médio de 3,5 g por planta e, para as plantas do suscetível aos 97 DAE, com acúmulo teórico médio de 2,5 g por planta.

Ao final do experimento, o acúmulo máximo foi de 3,8 g por planta para o biótipo-R e 2,24 g por planta para o biótipo-S. Nota-se que, a média de massa seca

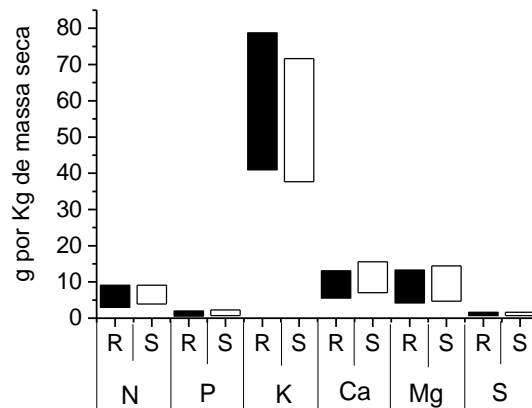
acumulada pelo biótipo-R foi 40%. O crescimento mais elevado pelas plantas resistentes já foi relatado na literatura. Um trabalho conduzido por Barroso et al. (2015) evidenciou menor distância dos feixes vasculares para os biótipos resistentes. Folhas com feixes próximos indicam menor resistência hidráulica e altas taxas fotossintéticas, o que poderia explicar o desenvolvimento mais rápido.



**Figura 3.** Acúmulo de massa seca total (MS) em biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível a glyphosate, cultivada em condições padronizada de nutrição mineral. Média  $\pm$  Erro padrão (n=4).

Martins et al. (2016) também relataram que os biótipos-R apresentaram crescimento mais rápido e uma taxa de assimilação (incremento de massa seca total em função da área foliar) maior que o biótipo-S. Os autores explicam que a taxa de assimilação mais elevada indica que o biótipo é mais adaptado a altos níveis de irradiância durante o estágio inicial de desenvolvimento devido a maior eficiência do sistema fotossintético.

As amplitudes dos valores das concentrações dos nutrientes tiveram diferenças apenas para K, Ca e Mg (Figura 4). A amplitude do teor de K foi mais elevada para o biótipo-R e, para o teor de Ca e Mg mais elevados para o biótipo-S. Dessa forma, a eficiência no requerimento de K, por unidade de biomassa acumulada foi maior para o resistente e, quanto ao requerimento de Ca e Mg, maior para o suscetível.



**Figura 4.** Amplitude da variação dos teores totais de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (k), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) nos biótipos de capim-amargoso resistente (R) e suscetível (S) a glyphosate quando cultivadas em areia de rio lavada e irrigadas com solução nutritiva.

O nutriente K é o que mais frequentemente limita o crescimento das plantas e os rendimentos das culturas. É um nutriente essencial em vários processos, como na regulação da abertura e fechamento dos estômatos (HOSY et al., 2003), atua na ativação ou como cofator em vários sistemas enzimáticos (JIN et al., 2011), síntese de proteínas, metabolismo de carboidratos, transporte de açúcares, na transferência e utilização de energia (RÖMHELD; KIRKBY 2010).

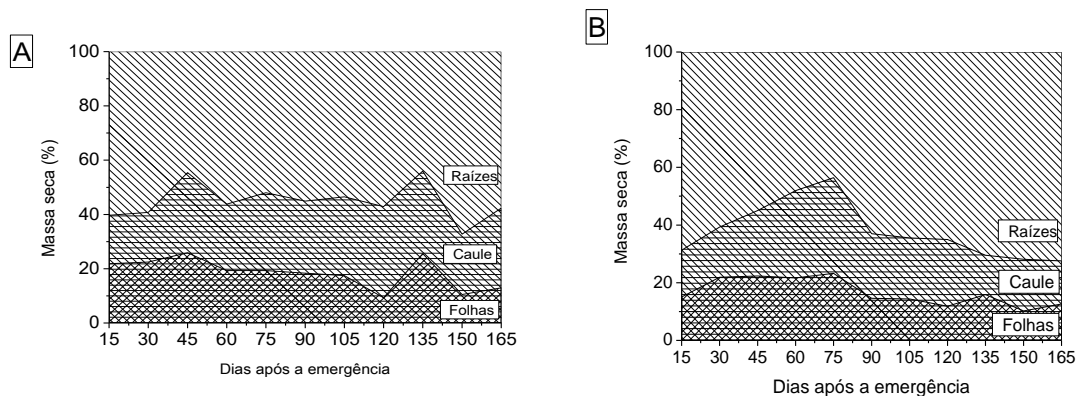
A capacidade da fotossíntese das plantas muda drasticamente em resposta a diferentes suprimentos de K. Quando ocorre a sua deficiência, tanto a fotossíntese quanto a taxa de produção de ATP diminuem (WENG et al., 2007). Durante a produção de ATP, o balanço de carga elétrica é mantido pelos íons de K, o que é importante para maximizar a produção de ATP durante a fotossíntese (ALBERTS et al., 2002). Com citado anteriormente, taxas fotossintéticas mais elevadas foram encontradas nos biótipos resistentes (CARVALHO et al., 2012, BARROSO et al., 2015; MARTINS et al., 2016), o que pode estar ligado ao maior requerimento de K para o biótipo R.

As plantas dos biótipos resistente e suscetível apresentaram distribuição de massa seca diferencial entre as partes da planta ao longo das avaliações (Figura 5). O incremento de biomassa durante todo o período experimental foi maior nas raízes em relação às folhas e o colmo, para os dois biótipos. As raízes do biótipo-S

acumularam mais massa que as do resistente ao longo de todo o experimento, exceto entre 60 e 75 DAE. O acúmulo médio nas raízes, durante todo o ciclo, para os biótipos resistente e suscetível foi de 53 e 60%, respectivamente.

Com relação ao acúmulo de massa seca nas folhas, durante todo o período experimental, nota-se que o biótipo-R apresentou maior acúmulo que o suscetível, exceto aos 60 DAE. Na segunda metade do ciclo, o acúmulo médio nas folhas diminuiu em relação à primeira metade do ciclo para os dois biótipos.

O percentual de massa seca do colmo, ao longo das avaliações, também foi maior para o biótipo resistente, exceto aos 60 e 75 DAE. Além disso, pelos resultados obtidos, também é possível observar que aos 30 DAE, comparando a distribuição entre as partes aéreas, o acúmulo de massa seca foi maior nas folhas (22%) que nos colmos (18%). A partir dos 30 DAE ocorreu uma inversão e o colmo apresentou maior acúmulo de massa.



**Figura 5.** Distribuição percentual da massa seca acumulada nas diferentes partes das plantas dos biótipos de capim-amargoso resistente (A) e suscetível (B), cultivada em condições padronizadas de nutrição mineral.

Os dados de produção de biomassa nas diferentes partes das plantas neste trabalho diferem dos encontrados por Pereira et al. (2017), no qual o suscetível acumulou mais massa seca de folha, enquanto o resistente acumulou mais massa seca de raízes. Machado et al. (2006), estudando o crescimento de plantas de capim-amargoso, sem distinção de resistência, e para o mesmo período estudado neste trabalho, mostrou que as folhas foram os principais órgãos acumuladores.

Os padrões de alocação de biomassa nas plantas podem ser influenciados por alguns fatores como ambiente de crescimento, tamanho da planta, competição, entre

outros. Condições do meio ambiente, como baixas temperaturas e aumento dos níveis de irradiância podem promover maior acúmulo nas raízes em detrimento das folhas e ramos (POORTER et al., 2012). O intenso crescimento do sistema radicular permite aumentar o volume de solo explorado, proporcionando maior contato dos nutrientes pela interceptação radicular (BIANCO et al., 2004a,b) e tornando o sistema mais eficiente para captação e utilização de nutrientes.

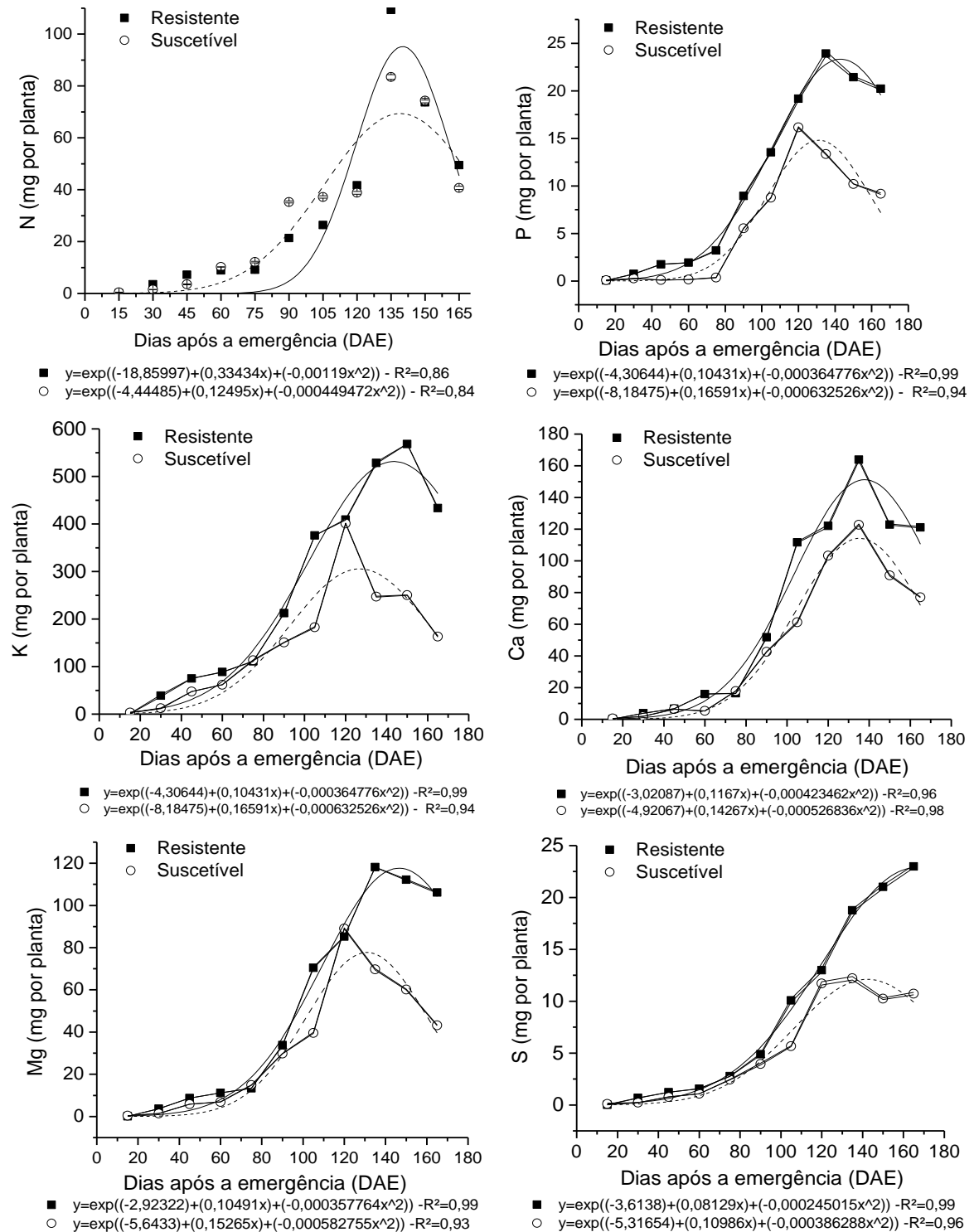
O acúmulo total de macronutrientes no início do desenvolvimento das plantas foi lento (Figura 6). De maneira geral, a partir dos 75 DAE o acúmulo foi mais intenso para todos os nutrientes. A sequência dos maiores acúmulos de macronutrientes nas plantas de capim-amargoso foram K, N, Ca, Mg, P e S.

O acúmulo de N foi variável entre os biótipos durante o período experimental. No início do ciclo, entre 15 e 45 DAE, o teor do nutriente foi 50% mais elevado no biótipo-R. Contudo, entre 60 e 105 DAE, ocorre o inverso, e o biótipo-S exibe maior acúmulo de N (30%). A partir dos 120 DAE, os teores são semelhantes para os dois biótipos, exceto aos 135 DAE.

Com relação ao acúmulo dos demais macronutrientes, P, K, S, Mg e Ca, pode ser observado que durante todo o ciclo das plantas os teores dos nutrientes foram mais elevados para o biótipo-R. A diferença no início do experimento, entre 15 e 90 DAE, foi em torno de 20%, e a partir dos 90 DAE, atinge valores em torno de 50% para os nutrientes P, K, S e Mg e 20% para o Ca.

O PtMax encontrado no biótipo-R para os nutrientes N, P, K, Ca, Mg e S foram: aos 140 DAE (101,9 mg por planta), 143 DAE (23 mg por planta), 139 DAE (580 mg por planta), 135 DAE (146 mg), 145 DAE (118 mg) e 157 DAE (22 mg), respectivamente. Já, o PtMax encontrado no biótipo-S para os nutrientes N, P, K, Ca, Mg e S foram aos: 139 DAE (69,3 mg), 131 DAE (14 mg), 124 DAE (297 mg), 135 DAE (114 mg), 131 DAE (77 mg) e 142 DAE (12 mg), respectivamente.

Após as plantas atingirem o PtMax, o acúmulo decresceu em função da senescência das folhas pelo menor requerimento de nutrientes pelas plantas.



**Figura 6.** Acúmulo de macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) em biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível a glyphosate, cultivada em condições padronizadas de nutrição mineral. Média  $\pm$  Erro padrão (n=4).

Os valores de PtMax dos macronutrientes neste trabalho diferiram dos encontrados por Carvalho et al. (2013). Os valores apresentados pelos autores para os nutrientes N (163,2 mg por planta) e P (27,1 mg por planta) foram mais elevados. Contudo, para os nutrientes K (260,5 mg), Ca (47,6 mg), Mg (30,9 mg) e S (13,7 mg) ocorre o inverso e, o acúmulo foi menor. Tal fato pode estar associado com o intenso crescimento do sistema radicular, o que torna o sistema mais eficiente para captação e utilização de nutrientes, como citado anteriormente.

Os valores do Ptl<sub>nf</sub> obtidos para as plantas do resistente foram: 120, 106, 103, 118, 103 e 110 DAE e, para o suscetível foram: 106, 99, 86, 107, 105 e 102 DAE, para os nutrientes N, P, K, S, Ca e Mg, respectivamente (Figura 6). Analisando a média entre os pontos de inflexão dos macronutrientes obtidos pelos biótipos, o valor obtido foi aos 110 DAE (resistente) e 101 DAE (suscetível). Levando em consideração o valor de 101 DAE para os dois biótipos, o acúmulo médio teórico para o resistente e suscetível foi, respectivamente de: 1,3 e 1,4 mg (N), 0,4 e 0,3 mg (P), 10 e 4 mg de K, 3 e 2 mg (Ca), 1,9 e 1,6 mg de Mg e 0,3 e 0,2 mg (S). Apesar do Ptl<sub>nf</sub> para o biótipo suscetível anteceder em 9 dias ao resistente, o acúmulo teórico dos macronutrientes (exceto para o nitrogênio) foi menor quando comparado ao resistente. De maneira geral, tanto o Ptl<sub>nf</sub> quanto o de PtMax foram maiores para o resistente, da mesma forma que o acúmulo de massa seca e nutrientes.

O valor do Ptl<sub>nf</sub> pode ser entendido como o dia em que o acúmulo diário dos macronutrientes da planta chegou ao seu valor máximo, sendo a taxa de absorção diária crescente até esse momento (CARVALHO et al., 2007). Os valores de inflexão encontrados pelo biótipo-R foram superiores ao do biótipo-S, o que pode coincidir com o período em que as culturas de milho e soja iniciam o estágio de maturação fisiológica (em torno de 100 DAE, dependendo da cultivar e da semeadura), período este em que ocorre elevada taxa de absorção dos macronutrientes pelas plantas daninhas, o que poderá causar prejuízos à produção pela competição entre a cultura e a planta daninha.

#### **4. CONCLUSÃO**

O biótipo resistente apresenta maior acúmulo de biomassa total e macronutrientes, o que poderá refletir em maior vantagem competitiva pelos recursos do meio em relação ao biótipo suscetível.

## REFERÊNCIAS

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Molecular biology of the cell**, 4th edition. New York: Garland Science, 2002.

BARROSO, A. A. M.; GALEANO, E.; ALBRECHT, A. J. P.; REIS, F. C.; VICTORIA FILHO, R. Does sourgrass leaf anatomy influence glyphosate resistance? **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 4, p. 445-453, 2015.

BIANCO, S.; BARBOSA JÚNIOR, A. F.; PITELLI, R. A. Crescimento e nutrição mineral de capim-camalote. **Planta Daninha**, v. 22, n. 3, p. 375-380, 2004a.

BIANCO, S.; PITELLI, R. A.; BELLINGIERI, P. A. Crescimento e nutrição mineral de *Desmodium tortuosum* (Sw.) DC. **Cult. Agron.**, v. 13, n. 1, p. 78-88, 2004b.

CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L.; GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; CRUZ-HIPOLITO, H. E.; ROJANO-DELGADO, A. M.; DE PRADO, R.; GIL-HUMANES, J.; BARRO, F.; CASTRO, M. D. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of Agriculture Food and Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 615-22 2012.

CARVALHO, L. B.; BIANCO, M. S.; BIANCO, S. Accumulation of dry mass and macronutrients by sourgrass plants. **Planta Daninha**, v. 31, n. 4, p. 785-792, 2013.

HEAP, I. **The international survey of herbicide resistance weeds**. 2018. Disponível em: <[www.weedscience.com](http://www.weedscience.com)>. Acesso em: 20/05/2018.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. J. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 31 p. (Circular, 347).



HOSY, E; VAVASSEUR, A.; MOULINE, K.; DREYER, I.; GAYMARD, F.; PORÉE, F.; BOUCHEREZ, J.; LEBAUDY, A.; BOUCHEZ, D.; VERY, A. A.; SIMONNEAU, T.; THIBAUD, J. B.; SENTENAC, H. The Arabidopsis outward K<sup>+</sup> channel GORK is involved in regulation of stomatal movements and plant transpiration. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 100, n. 9, p. 5549–5554, 2003.

JIN, S. H.; HUANG, J. Q.; LI, X. Q.; ZHENG, B. S.; WU, J. S.; WANG, Z. J.; LIU, G. H.; CHEN, M. Effects of potassium supply on limitations of photosynthesis by mesophyll diffusion conductance in *Carya cathayensis*. **Tree Physiology**, v.31, n.10, 1142-1151, 2011.

JORGENSEN, S. S. **Metodologia utilizada para análises químicas de rotina: guia analítico**. Piracicaba: CENA, 1977. 24 p.

MACHADO, A. F. L. et al. Análise de crescimento de *Digitaria insularis*. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 641-647, 2006.

MARTINS J. F.; BARROSO, A. A. M.; CARVALHO, L. B. C.; CESARIN, A. E.; AMARAL, C. L.; NEPOMUCENO, M. P.; DESIDÉRIO, J. A.; ALVES, P. L. C. A. Plant growth and genetic polymorphism in glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis* L. Fedde). **Australian Journal Crop of Science**, v. 10, n.10, p. 1466-1473, 2016.

PEREIRA, G. R.; COSTA, N. V.; MORATELLI, G.; RODRIGUES-COSTA, A. C. P. Growth and development of *Digitaria insularis* biotypes susceptible and resistant to glyphosate. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

PITELLI, R. A. Interferências de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Inf. Agropec.**, v. 11, n. 1, p. 16-27, 1985.

POORTER, H.; NIKLAS, K. J.; REICH, P. B.; OLEKSYN, J.; POOT, P.; MOMMER, L. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. **New Phytologist**, v. 193, n. 1, p. 30–50, 2012.

ROMHELD, V.; KIRKBY, E. A. Research on potassium in agriculture: Needs and prospects. **Plant Soil**, v. 335, p. 155–180, 2010.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56 p.

TRAVLOS, I. S.; CHACHALIS, D. Relative competitiveness of glyphosate-resistant and glyphosate susceptible populations of hairy fleabane, *Conyza bonariensis*. **Journal Pesticide Science**, v. 8, n.6, p.345–351, 2013.

VITTI, G.C. **Avaliação e interpretação do enxofre no solo e na planta**. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 37 p.

VELINI, E. D. et al. **Modo de ação do glyphosate**. In: VELINI, E. D. et al. Glyphosate. Fepaf: Botucatu, 2009. 493 p.

WARWICK, S. I; BLACK, L. D. Relative fitness of herbicide-resistant and susceptible biotypes of weeds. **Phytoprotection**, v. 75, n. 4, p. 37-49, 1994.

WENG, X.Y.; ZHENG, C. J; XU, H. X.; SUN, J. Y. Characteristics of photosynthesis and functions of the water-water cycle in rice (*Oryza sativa*) leaves in response to potassium deficiency. **Physiology Plant**, v. 131, n. 4, p. 614–621, 2007.

## **CAPÍTULO 4 - Cinética de absorção de nitrogênio e fósforo em biótipos de capim-amargoso resistentes e suscetíveis ao glyphosate.**

**RESUMO** – A análise dos parâmetros da cinética de absorção iônica de nutrientes são componentes indicativos da adaptabilidade das espécies, sob diversas condições do ambiente, como condições de deficiência nutricional. Nesta pesquisa, objetivou-se avaliar a cinética de absorção de nitrogênio e fósforo pelos biótipos resistente (biótipo-R) e suscetível (biótipo-S) de *Digitaria insularis* e seus reflexos no crescimento das plantas. O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por 2 tratamentos (biótipos resistente e suscetível) e 6 repetições, nas soluções de depleção de nitrogênio (N) e (P). Os parâmetros avaliados foram os morfológicos e fisiológicos. De maneira geral, observaram-se diferenças entre os biótipos de capim-amargos quanto as características morfológicas e os parâmetros cinéticos. Pelos parâmetros morfológicos, o perfilhamento e o acúmulo de massa seca total foram mais elevados nos biótipos suscetíveis, o que não refletiu na eficiência de absorção dos nutrientes. A velocidade máxima de absorção ( $V_{max}$ ) e a constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ) para o nutriente N diferiu entre os biótipos, indicando maior eficiência de absorção do nutriente pelo biótipo resistente.

**Palavras-chave:** *Digitaria insularis*, eficiência nutricional, resistência.

### **Nitrogen and phosphorus uptake kinetics on resistant and susceptible sourgrass biotypes to glyphosate**

**ABSTRACT-** The analysis of the ionic absorption kinetic parameters are indicative of adaptability of plants species under nutritional deficiency conditions. This research aimed to evaluate nitrogen and phosphorus uptake kinetic by resistant and susceptible sourgrass biotypes to glyphosate. The experimental design was completely randomized, with two treatments (resistant and susceptible biotypes) and six replicates, in nitrogen (N) and phosphorus (P) depletion solutions. Morphological and physiological parameters were evaluated for biotypes. In general, there were differences between sourgrass biotypes for morphological characteristics and kinetic parameters. It was observed that, tillering and total dry mass were higher in susceptible biotype than resistant one. The maximum rate of absorption ( $V_{m\acute{a}x}$ ) and the Michaelis-Menten ( $K_m$ ) constant differed between the biotypes, indicating a nitrogen higher efficiency absorption by resistant biotype.

**Keywords:** *Digitaria insularis*, efficiency nutritional, resistance.

## **1. INTRODUÇÃO**

As práticas de manejo utilizadas na agricultura baseadas no uso intensivo de glyphosate têm provocado cada vez mais a seleção de biótipos

resistentes de *D. insularis* em vários países (HEAP, 2018). Os mecanismos que estão relacionados a resistência dessa espécie ao herbicida glyphosate ocorrem por meio da absorção e translocação mais reduzidas do herbicida, alterações na metabolização do glyphosate, mutação gênica e diferenças morfológicas (CARVALHO et al., 2012; BARROSO et al., 2015).

A presença de indivíduos com distinta capacidade de sobreviver aos efeitos dos herbicidas dentro de uma população também pode ser uma indicação de que esses indivíduos apresentam diferentes habilidades adaptativas e competitivas. A alta eficiência nutricional de uma espécie ou genótipo pode resultar em maior eficiência de aquisição de nutrientes do solo, mesmo em condições com baixa disponibilidade de nutrientes (RENGEL; DAMON, 2008).

Para avaliar diferenças na absorção de nutrientes entre espécies e genótipos são conduzidos experimentos que determinam parâmetros morfológicos (massa seca, comprimento de raiz) e fisiológicos. Os parâmetros fisiológicos estudados englobam a cinética de absorção ( $V_{max}$ - taxa máxima de influxo líquido;  $K_m$ -constante de Michaelis-Menten) (GERLOFF; GABELMAN, 1983). O modelo de Michaelis-Menten descreve a relação entre a velocidade de absorção e a concentração de nutriente na solução em contato com a superfície das raízes. Este modelo é amplamente utilizado em estudos de cinética de absorção para avaliar a eficiência de absorção de nutrientes por espécies e por genótipos de uma mesma espécie, a partir dos conceitos clássicos de  $V_{máx}$ ,  $K_m$  (SANES et al., 2013)

Do ponto de vista do processo produtivo, os macronutrientes nitrogênio (N) e fósforo (P) são os elementos mais importantes para as plantas, além de constituírem as deficiências mais comuns encontradas. O fósforo é um macronutriente chave na estrutura de moléculas como ácidos nucleicos, fosfolípidios e ATP, constituindo cerca de 0,2% do peso seco de uma planta (SCHACHTMAN; REID; AYLING, 1998). O nutriente tem uma função importantíssima na fotossíntese (VERSAW; HARRISON, 2002) e a sua deficiência, conseqüentemente poderá comprometer a produção de energia e a absorção dos demais nutrientes (SINGH et al., 2013). O P é o segundo macronutriente mais frequentemente limitante ao crescimento da planta, depois do N (VERSAW; HARRISON, 2002).

O nitrogênio é o elemento mineral mais requerido pelas plantas, participando como constituinte de muitos componentes das células vegetais, tais como aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos. Sua deficiência rapidamente inibe o crescimento das plantas (TAIZ et al., 2014).

Os parâmetros cinéticos de absorção iônica de nutrientes são componentes importantes que funcionam como indicativos da adaptabilidade das espécies. Nesse estudo, a cinética de absorção dos nutrientes N e P visa compreender o comportamento diferencial entre os dois biótipos de *D. insularis* quanto a sua aptidão e eficiência de absorver e utilizar esses nutrientes, para fornecer subsídios quanto as suas capacidades em se adaptar a ambientes adversos, uma vez que a competição por nutrientes é um dos principais fatores ecológicos que prejudicam a produtividade da cultura. Dessa forma, objetivou-se avaliar a cinética de absorção de nitrogênio e fósforo pelos biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate e seus reflexos no crescimento das plantas.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período entre 23/12/2016 a 22/02/2017, no Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP – FCAV), Câmpus de Jaboticabal-SP.

As sementes dos dois biótipos de plantas daninhas (susceptível e resistente) foram semeadas em bandeja (128 células de 18 ml), a qual foi preenchida com substrato (Bioplant®). Após 35 dias de cultivo nas bandejas, os biótipos foram transplantados em vasos com capacidade para 200 ml, onde apenas o sistema radicular estava em contato com a solução nutritiva. No momento do transplante, as plantas do biótipo-R estavam com 24,6 cm de altura, 2 folhas; 0,11 g de massa seca de folhas e 0,03 g de massa seca de raiz. Já as plantas do biótipo-S estavam com 23,6 cm de altura; 2 folhas; 0,11 g de massa seca de folhas e 0,02 g de massa seca de raiz.

Em seguida, foram aclimatadas em uma câmara de crescimento com ambiente controlado (iluminação artificial de  $110 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , aproximadamente, fotoperíodo

de 12 horas, temperaturas diurnas mantidas em torno de 27 °C e noturnas mantidas a cerca de 23 °C e umidade relativa entre 60 e 70 %).

Os vasos foram irrigados com solução nutritiva completa de Hoagland e Arnon (1950) (Tabela 7). Inicialmente, para promover a adaptação das plântulas ao sistema hidropônico, foi realizado o aumento gradual e semanal da força iônica da solução. Na primeira semana, a solução nutritiva foi ajustada para 25%, sendo substituída por uma nova solução com 50% de força iônica por mais sete dias, e assim consecutivamente até atingir 100% de força iônica (totalizando 28 dias de adaptação).

Após o período de adaptação das plantas na solução nutritiva, a solução original foi trocada e substituída por uma solução na ausência de nitrogênio (N) e outra solução na ausência de fósforo (P) por sete dias antes do início da cinética, com intenção de aumentar a capacidade das plantas de absorver este nutriente (LIMA et al., 2005) (Tabela 7).

**Tabela 7.** Composição da solução nutritiva proposta por Hoagland e Arnon (1950) completa e na ausência dos nutrientes N (-N) e P (-P).

<b>Macronutrientes</b>	<b>Completa</b>	<b>-N</b>	<b>-P</b>
	<b>---- mg L<sup>-1</sup> de solução nutritiva ---</b>		
<b>Nitrogênio</b>	210	--	31
<b>Fósforo</b>	31	196	--
<b>Potássio</b>	234	140	31
<b>Cálcio</b>	200	70	31
<b>Magnésio</b>	48	196	31
<b>Enxofre</b>	64	252	31
<b>Micronutrientes</b>	<b>---- mg L<sup>-1</sup> de solução nutritiva ---</b>		
<b>Boro</b>		0,5	
<b>Cobre</b>		0,02	
<b>Cloro</b>		0,7	
<b>Ferro</b>		5,0	
<b>Manganês</b>		0,5	
<b>Molibdênio</b>		0,01	
<b>Zinco</b>		0,05	

Esta solução foi constantemente aerada, com auxílio de bombas de aquário conectadas a borrachas de látex (2 mm de diâmetro interno). Os valores de pH (Analion®, modelo PM602) e condutividade da solução nutritiva foram monitorados. O

pH da solução foi mantido próximo a 6,0 (adicionando-se HCl, 0,01M e/ou NaOH, 0,01M, quando necessário).

Decorridos sete dias, as raízes das plantas foram lavadas com água destilada, permitindo ao sistema atingir as condições de estado estacionário de absorção, requeridas para a aplicação do modelo cinético (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Em seguida, para iniciar a cinética de absorção dos nutrientes, as soluções foram novamente trocadas. Essa solução teve sua concentração de N e P ajustada para  $\frac{1}{4}$  da concentração completa Hogland e Arnon (1950) em 3750 e 250  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Sendo assim, para cada nutriente, os tratamentos foram compostos por dois biótipos de capim-amargoso, resistente e suscetível, dispostos em um delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições.

Amostras de 4 ml da solução de depleção foram coletadas em intervalos de uma hora, durante um período de 12 horas. Decorridos 24 horas após o início do experimento, uma última amostragem foi realizada para quantificar a solução remanescente no vaso. O teor de nitrogênio total e o fósforo foram determinados pelos métodos semimicro Kjeldahl e colorimétrico do ácido fosfovanadato-molibdico, respectivamente (SARRUGE; HAAG, 1974).

Ao término do período de depleção foi mensurado os parâmetros morfológicos, como a altura, número de folhas e perfilhos, massa seca da parte aérea e raiz, e a relação entre a massa seca da raiz pela parte aérea. As partes aéreas e raízes foram pesadas para determinação da massa fresca e, logo após, colocadas para secar em estufa de circulação forçada de ar a 70°C, durante 48 horas, para então determinarmos a massa seca das partes aéreas e das raízes (g).

Os teores dos nutrientes nas soluções de depleção (em cada tempo de amostragem), os dados relativos ao volume inicial e final de solução nos vasos e o peso de massa fresca de raízes foram empregados no software Cinética 2.0®, obtendo-se, desse modo, os valores das constantes cinéticas  $V_{\text{máx}}$  (velocidade máxima de absorção) e  $K_m$  (constante de Michaelis-Menten) (RUIZ; FERNANDES FILHO, 1992). Esse software calcula a  $V_{\text{máx}}$  por meio de uma equação linear e a  $K_m$  por equações do tipo exponencial, potencial ou exponencial-recíproco. A equação do modelo potencial foi a utilizada, uma vez que apresentou melhor ajuste aos dados, apresentando maiores valores para o coeficiente de determinação em todas as

repetições. O “poder de absorção de nitrogênio e fósforo” -  $\alpha$  foi calculado pela divisão da  $V_{m\acute{a}x}$  pelo  $K_m$  (MARSCHNER, 1995).

As características de crescimento (altura e número de folhas), as massas secas (parte aérea e raiz) e os parâmetros cinéticos ( $V_{m\acute{a}x}$ ,  $K_m$  e  $\alpha$  – poder de absorção) foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade, com auxílio do programa estatístico AgroStat® (BARBOSA; MALDONADO JUNIOR, 2015).

### 3. RESULTADOS

Os parâmetros altura e número de folhas não apresentaram diferença significativa entre os biótipos, tanto no tratamento com N quanto em P (Tabela 8). Já o número de perfilhos emitido pelo biótipo-S foi, em média, 86% maior que o emitido pelo biótipo-R, nos tratamentos com N e P.

**Tabela 8.** Altura (cm) e número de folhas dos biótipos de capim-amargoso resistente (R) e suscetível (S) ao glyphosate na cinética de absorção de N e P.

Biótipos	Altura (cm)		Número folhas		Número de perfilhos	
	N	P	N	P	N	P
R	55,3 ±1,3 a	55,2 ±1,0 a	7,3 ±0,5 a	7,0 ±0,3 a	0,3 ±0,2 b	0,3 ±0,2 b
S	53,4 ±1,2 a	50,1 ±1,4 a	6,3 ±0,3 a	6,0 ±0,4 a	2,3 ±0,4 a	2,0 ±0,5 a
F	1,54 <sup>ns</sup>	0,30 <sup>ns</sup>	3,43 <sup>ns</sup>	1,20 <sup>ns</sup>	13,71 <sup>**</sup>	7,74 <sup>**</sup>
CV (%)	5,75	24,42	11,32	19,86	60,17	58,65

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns- não significativo, pelo teste F.

Nota-se que, de maneira geral, a massa seca da parte aérea e da raiz foram maiores para o biótipo-S, onde os valores foram, em média, 45% (parte aérea) e 66% (raiz) maiores que o (Tabela 9). Os valores da relação entre raiz e parte aérea para os tratamentos com N e P não apresentaram diferença entre os biótipos.

**Tabela 9.** Massa seca (MS) da parte aérea e de raízes e relação entre MS raízes e parte aérea dos biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate na cinética de absorção de N e P.

Biótipos	Massa seca (g)		Relação
	Parte aérea	Raiz	MS <sub>raízes</sub> /MS <sub>parte aérea</sub>



	N	P	N	P	N	P
<b>R</b>	0,3 ±0,1 b	0,3 ±0,02 a	0,03 ±0,01 b	0,02 ±0,1 b	0,10 ±0,1 a	0,07 ±0,1 a
<b>S</b>	0,5 ±0,1 a	0,5 ±0,04 a	0,08 ±0,01 a	0,06 ±0,1 a	0,16 ±0,1 a	0,13 ±0,1 a
<b>F</b>	8,71*	1,40 <sup>ns</sup>	16,03**	8,36*	9,90 <sup>ns</sup>	8,6 <sup>ns</sup>
<b>CV (%)</b>	22,45	26,8	29,31	31,05	15,6	6,42

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. \*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F. \* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F; ns- não significativo.

Ao final da cinética de absorção, o volume final da solução de depleção para o biótipo-R foi de 0,12 L e para o biótipo-S de 0,11 L, o que representou um consumo de 80 e 90 ml, respectivamente (Tabela 10). Contudo, não foi observado diferença significativa entre eles.

**Tabela 10.** Volume final de solução de depleção (VFS) e teores de nitrogênio ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) na solução de depleção ao longo da cinética de absorção em horas após o início da cinética (h) para os biótipos resistente (R) e suscetível (S).

Biótipos	VFS (L)	0 h	1 h	2 h	3 h
<b>R</b>	0,12 ±0,01 a	3749 ±25 a	2672 ±21 a	2524 ±36 a	2413 ±27 a
<b>S</b>	0,11 ±0,01 a	3750 ±37 a	2836 ±41 a	2624 ±34 a	2562 ±23 a
<b>F</b>	0,15 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	2,16 <sup>ns</sup>	1,25 <sup>ns</sup>	1,60 <sup>ns</sup>
<b>CV (%)</b>	10,27	8,33	3,95	5,45	7,07
Biótipos	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
<b>R</b>	2338 ±40 a	2325 ±40 b	1525 ±23 b	1475 ±37 a	1344 ±26 a
<b>S</b>	2547 ±40 a	1925 ±24 a	1875 ±25 a	1350 ±25 a	1306 ±35 a
<b>F</b>	16,96 <sup>ns</sup>	25,60*	19,60*	1,47 <sup>ns</sup>	0,45 <sup>ns</sup>
<b>CV (%)</b>	6,9	7,33	9,93	8	14,01
Biótipos	9 h	10 h	11 h	12 h	24 h
<b>R</b>	1293 ±32 a	1250 ±34 a	632 ±32 a	750 ±24 a	687 ±26 b
<b>S</b>	1244 ±24 a	937 ±22 b	687 ±24 a	537 ±28 a	437 ±24 a
<b>F</b>	0,58 <sup>ns</sup>	25,00**	0,14 <sup>ns</sup>	3,70 <sup>ns</sup>	1,46 <sup>ns</sup>
<b>CV (%)</b>	19,77	7,41	21,08	13,17	23,56

<sup>1</sup>Coefficiente de variação das médias. Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. \*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F; ns- não significativo.

A curva de depleção dos nutrientes permite observar como ocorreu a absorção ao longo das 24 horas de cinética. A maior parte do N fornecido inicialmente na solução de depleção foi absorvido durante as 6 horas de cinética, o que representou um consumo em torno de 55%. Ao longo do experimento, a absorção do nutriente foi

mais lenta, e ao final da cinética, às 24 horas, 85% do N já tinha sido absorvido pelos dois biótipos (Tabela 10).

As únicas diferenças encontradas entre os biótipos foram as 5, 6, 10 e 24 horas. Às 5 horas, o consumo de N pelo biótipo-S foi mais elevado que pelo resistente, em torno de 95%, enquanto às 6 horas o consumo foi 93% maior para o biótipo-R. Às 10 e 24 horas, o consumo foi 25% e 35%, respectivamente, maiores para o biótipo-S (Tabela 10).

Com relação a depleção de P, ao final da cinética de absorção, o volume final da solução de depleção para os dois biótipos foi de 0,11 L o que representou um consumo de 90 ml (Tabela 11). Ao longo da cinética de absorção não foi observado diferenças entre eles.

**Tabela 11.** Volume final de solução de depleção (VFS) e teores de P ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) na solução de depleção ao longo da cinética de absorção em horas após o início da cinética (h) para os biótipos resistente (R) e suscetível (S).

<b>Biótipos</b>	<b>VFS (L)</b>	<b>0 h</b>	<b>1 h</b>	<b>2 h</b>	<b>3 h</b>
<b>R</b>	0,12 $\pm$ 0,01 a	250 $\pm$ 0,7 a	192 $\pm$ 0,6 a	186 $\pm$ 0,2 a	178 $\pm$ 0,1 a
<b>S</b>	0,11 $\pm$ 0,01 a	249 $\pm$ 0,1 a	190 $\pm$ 1,1 a	185 $\pm$ 0,8 a	184 $\pm$ 0,7 a
<b>F</b>	5,66 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,36 <sup>ns</sup>
<b>CV(%)</b>	6,22	12,69	5,3	3,45	4,64
<b>Biótipos</b>	<b>4 h</b>	<b>5 h</b>	<b>6 h</b>	<b>7 h</b>	<b>8 h</b>
<b>R</b>	175 $\pm$ 1,1 a	174 $\pm$ 0,5 a	163 $\pm$ 0,5 a	143 $\pm$ 0,1 a	129 $\pm$ 1,1 a
<b>S</b>	183 $\pm$ 0,8 a	173 $\pm$ 1,3 a	167 $\pm$ 1,3 a	141 $\pm$ 0,9 a	131 $\pm$ 0,5 a
<b>F</b>	1,00 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,13 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>	0,05 <sup>ns</sup>
<b>CV(%)</b>	3,59	7,48	6,74	9,95	7,07
<b>Biótipos</b>	<b>9 h</b>	<b>10 h</b>	<b>11 h</b>	<b>12 h</b>	<b>24 h</b>
<b>R</b>	128 $\pm$ 0,9 a	125 $\pm$ 0,1 a	117 $\pm$ 0,8 a	111 $\pm$ 0,1 a	90 $\pm$ 0,3 a
<b>S</b>	126 $\pm$ 0,6 a	121 $\pm$ 0,7 a	118 $\pm$ 0,5 a	110 $\pm$ 0,1 a	85 $\pm$ 0,3 a
<b>F</b>	0,07 <sup>ns</sup>	0,32 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	1,00 <sup>ns</sup>	2,00 <sup>ns</sup>
<b>CV (%)</b>	5,91	5,84	8,17	4,48	5,16

<sup>1</sup>Coeficiente de variação das médias. Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ns- não significativo, pelo teste F.

Quanto aos valores de P na depleção, o consumo do nutriente no início da depleção, à 1 hora, foi em torno de 24% para os dois biótipos. A absorção foi lenta durante o período de avaliação, e ao atingir 12 horas da cinética, metade do P disponível ainda não tinha sido absorvido pelos biótipos. Ao final da cinética de

absorção, às 24 horas, o teor do nutriente absorvido pelos biótipos foi de 65% (Tabela 11).

Todos os parâmetros cinéticos analisados para o nutriente N apresentaram diferenças significativas entre os biótipos (Tabela 12). Os valores de Km (concentração de N na qual foi atingida metade da velocidade máxima), V<sub>máx</sub> (quantidade de N absorvida quando todos os carregadores estiverem saturados) e o  $\alpha$  (poder de absorção de N) foram 14, 48 e 40% mais elevados para o biótipo resistente.

Com relação aos parâmetros Km, V<sub>máx</sub> e  $\alpha$  para o nutriente P, os valores não diferiram entre os biótipos.

**Tabela 12.** Parâmetros cinéticos Km, V<sub>máx</sub> e  $\alpha$  dos nutrientes N e P para os biótipos resistente e suscetível

Biótipos	N			P		
	Km	V <sub>máx</sub>	$\alpha$	Km	V <sub>máx</sub>	$\alpha$
R	1135,5 a	512,4 a	0,45 a	109,6 a	13,4 a	0,1 a
S	973,31 b	263,9 b	0,27 b	103,8 a	12,6 a	0,1 a
F	184,63**	286,14**	98,33**	14,91 <sup>0</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
CV (%)	4,33	12,74	10,01	1,33	11,14	17,19

<sup>0</sup>Coefficiente de variação das médias. Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. \*\*Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F; ns- não significativo.

#### 4. DISCUSSÃO

A análise de parâmetros morfológicos e fisiológicos (V<sub>máx</sub>,  $\alpha$ ) na cinética de absorção de nutrientes são complementares, e visam compreender as diferenças entre absorção e utilização de um nutriente em diferentes materiais vegetais. Pelos resultados do parâmetro morfológico, ao final de 7 dias na ausência dos nutrientes N e P, o biótipo-S apresentou maior emissão de perfilhos, o que refletiu em maior acúmulo de massa seca total, características que podem conferir maior capacidade de competição com a cultura.

Nos parâmetros cinéticos, o V<sub>máx</sub> é definido como o produto do número de sítios de absorção por unidade de raiz e sua velocidade de absorção (EPSTEIN; BLOOM, 2006), ou seja, é o valor máximo da velocidade inicial quando todos os sítios ativos estão ocupados, dessa forma, o seu valor depende da quantidade de nutriente

utilizada. Este parâmetro tem maior influência quando não há limitação no suprimento dos nutrientes pelo solo às raízes, como normalmente acontece para N, Ca e Mg em solos que já receberam calcário e com boa fertilização nitrogenada (HORN et al., 2006). Em solos sem deficiência de nutrientes, um maior valor de  $V_{máx}$  observado é um indicativo de maior potencial de absorção. Dessa forma, como o valor de  $V_{máx}$  do biótipo resistente foi maior que o do suscetível (no tratamento com N), isso pode implicar em uma maior concentração de sítios de absorção por unidade de raiz nesse biótipo.

O valor de  $K_m$  é o inverso da afinidade do transportador pelo nutriente, ou seja, é numericamente igual à concentração do nutriente na solução quando a velocidade inicial é igual à metade da sua velocidade máxima ( $V_{máx}$ ) (EPSTEIN; BLOOM, 2006). Quando houver alguma restrição na disponibilidade dos nutrientes na solução do solo junto às raízes, o  $V_{máx}$  deixa de ser o parâmetro cinético que mais influencia a absorção de nutrientes, a qual passa a ser controlada pela constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ) (HORN et al., 2006). Dessa forma, quanto maior o valor de  $K_m$ , menor será a afinidade do nutriente com os sítios de absorção e, portanto, menor a eficiência de absorção do nutriente.

Associando os parâmetros  $V_{máx}$  e  $K_m$ , quando as plantas são submetidas a uma solução com baixa concentração de nutriente, a maior eficiência nutricional na absorção de nutrientes por uma planta seria alcançada com altas taxas iniciais de absorção ( $V_{máx}$ ) em função de alta afinidade do carregador com o nutriente (baixo  $K_m$ ), extraindo o máximo possível do nutriente da solução (HORN et al., 2006).

A análise dos resultados dos parâmetros cinéticos, normalmente, é realizada através da interpretação dos dois parâmetros cinéticos,  $V_{máx}$  e  $K_m$ . Contudo, em alguns casos, as diferentes espécies ou genótipos, podem apresentar tanto o  $V_{máx}$  como o  $K_m$  altos ou baixos, dificultando a interpretação dos resultados. Neste trabalho, os valores de  $V_{máx}$  e  $K_m$  obtidos pelo biótipo resistente foram mais elevados que o do suscetível. Então, o poder de absorção ( $\alpha$ ), dado pela razão entre  $V_{máx}$  e  $K_m$ , reflete o efeito conjunto desses dois fatores. A eficiência de absorção de um nutriente será maior quanto maior for o  $V_{máx}$  e menor for o  $K_m$ . Sendo assim, quanto maior o  $\alpha$ , maior será a taxa de absorção por unidade de raiz, o que expressa a maior

eficiência obtida pelo biótipo resistente, refletido através do maior valor de  $V_{\text{máx}}$  desse biótipo.

Geralmente, os estudos sobre a cinética de absorção de nutrientes estão relacionados as culturas de interesse econômico. Na literatura há carência de trabalhos que avaliam a eficiência de absorção de nutrientes entre biótipos resistentes e suscetíveis aos herbicidas pelos parâmetros morfológicos e fisiológicos. A maior parte dos trabalhos encontrados na literatura exploram diferenças em relação a produção e viabilidade de sementes, crescimento e desenvolvimento de plantas, em competição ou não com uma cultura de interesse (BAUCOM; MAURICIO, 2004; PEDERSEN; NEVE; POWLES, 2007; TRAVLOS, 2013; PEREIRA et al., 2017; OSIPITAN; DILLE, 2017). Trabalhos precisam ser conduzidos para avaliar se um alelo resistente ao herbicida reflete na sua capacidade e eficiência em absorver os nutrientes. Além disso, é necessário avaliar diferentes concentrações e diferentes tempos de omissão dos nutrientes para compreender a adaptabilidade de biótipos.

## 5. CONCLUSÃO

Pelos parâmetros morfológicos, o perfilhamento e o acúmulo de massa seca total são mais elevados no biótipo suscetível.

Pelos parâmetros fisiológicos, o biótipo resistente apresenta maior eficiência de absorção de nitrogênio.

## 6. REFERÊNCIAS

BARROSO, A. A. M.; GALEANO, E.; ALBRECHT, A. J. P.; REIS, F. C.; VICTORIA FILHO, R. Does sourgrass leaf anatomy influence glyphosate resistance? **Comunicata Scientiae**, v. 6, n.4, p. 445-453, 2015.

BAUCOM, R. S; MAURICIO, R. Fitness costs and benefits of novel herbicide tolerance in a noxious weed. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, p. 13386–13390, 2004.

BIANCO, S.; BARBOSA JÚNIOR, A. F.; PITELLI, R. A. Crescimento e nutrição mineral de capim-camalote. **Planta Daninha**, v. 3, p. 375-380, 2004a.

BIANCO, S.; PITELLI, R. A.; BELLINGIERI, P. A. Crescimento e nutrição mineral de *Desmodium tortuosum* (Sw.) DC. **Cult. Agron.**, v. 1, p. 78-88, 2004b.

CARVALHO, L. B.; BIANCO, M. S.; BIANCO, S. Accumulation of dry mass and macronutrients by sourgrass plants. **Planta Daninha**, v. 31, n. 4, p. 785-792, 2013.

CARVALHO, L. B. et al. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **J Agric and Food Chem**, v. 60, p. 615-622, 2012.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. Londrina: Editora Planta, 2006. 403p

GERLOFF, G. C.; GABELMAN, W. H. Genetic basis of inorganic plant nutrition. In: Laüchli, A.; Bieleski, R. L. (Eds.). **Inorganic plant nutrition**. Encyclopedia of Plant Physiology. Berlin, New York, Tokyo: Springer-Verlag, v.15B, p.453-486, 1983.

HEAP, I. **The international survey of herbicide resistance weeds**. 2018. Disponível em: <[www.weedscience.com](http://www.weedscience.com)>. Acesso em: 20/02/2018.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. J. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 31 p. (Circular, 347).

HORN, D.; PAULO ROBERTO ERNANI, P. R. E.; SANGOI, L.; SCHWEITZER, C.; CASSOL, P. C. Parâmetros cinéticos e morfológicos da absorção de nutrientes em cultivares de milho com variabilidade genética contrastante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 77-85, 2006.

LIMA, A. M. N.; NEVES, J. C. L.; SILVA, I. R. LEITE, F. P. Cinética de absorção e eficiência nutricional de K, Ca e Mg em plantas jovens de quatro clones de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n. 6, p. 903-909, 2005.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic. 1995. 889 p.

MARTINS J. F.; BARROSO, A. A. M.; CARVALHO, L. B. C.; CESARIN, A. E.; AMARAL, C. L.; NEPOMUCENO, M. P.; DESIDÉRIO, J. A.; ALVES, P. L. C. A. Plant growth and genetic polymorphism in glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis* L. Fedde). **Australian Journal Crop of Science**, v. 10, n.10, p. 1466-1473, 2016.

OSIPITAN, O. A.; DILLE, J. A. Fitness Outcomes Related to Glyphosate Resistance in Kochia (*Kochia scoparia*): What Life History Stage to Examine? **Frontiers of Plant Science**, v. 8, p.1090, 2017.

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.

PEREIRA, G. R.; COSTA, N. V.; MORATELLI, G.; RODRIGUES-COSTA, A. C. P. Growth and development of digitaria insularis biotypes susceptible and resistant to glyphosate. **Planta Daninha**, v. 35, e017160505, 2017.

POWLES, S. B. Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 360-365, 2008.

RENGEL, Z.; DAMON, P.M. Crops and genotypes differ in efficiency of potassium uptake and use. **Physiologia Plantarum**, n. 133, p. 624-636, 2008.

REIS, G. G.; REIS, M. G. F.; FONTAN, I. C. I.; MONTE, M. A.; GOMES, A. N.; OLIVEIRA, C. H. R. Crescimento de raízes e da parte aérea de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e de *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus* spp. submetidos a dois regimes de irrigação no campo. **Revista Árvore**, v. 30, n. 6, p. 921-931, 2006.

RUIZ, H. A.; FERNANDES FILHO, E. I. Cinética: software para estimar as constantes  $V_{max}$  e  $K_m$  da equação de Michaelis-Menten. In: **Reunião brasileira de fertilidade do solo e nutrição de plantas**, 10., 1992, Piracicaba, SP. Anais... Piracicaba: SBCS, 1992. p. 124-125.

SANES, F. S. M.; CASTILHOS, R. M. V.; SCIVITTARO, W. B.; VAHL, L. C.; MORAIS, J. R. Morfologia de raízes e cinética de absorção de potássio em genótipos de arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 688-697, 2013.

SCHACHTMAN, D. P.; REID, R. J.; AYLING, S. M. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 447–453, 1998.

SARRUGE J.R., HAAG H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56 p.

SINGH, S. K.; BADGUJAR, G.; REDDY, V. R.; FLEISHER, D. H.; BUNCE, J. A. Carbon dioxide diffusion across stomata and mesophyll and photo-biochemical processes as affected by growth CO<sub>2</sub> and phosphorus nutrition in cotton. *Journal of Plant Physiology*, v. 170, n. 9, p. 801–813, 2013.

VILA-AIUB, M. M.; NEVE, P.; POWLES, S. B. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytologist*, v. 184; n. 4, p. 751–767, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. *Plant physiology and development*. 6 edition. Sunderland, USA: Sinauer Associates, Inc., 2014. 761 p.

TRAVLOS, I. S.; CHACHALIS, D. Relative competitiveness of glyphosate-resistant and glyphosate susceptible populations of hairy fleabane, *Conyza bonariensis*. *Journal Pesticide Science*, v. 8, n.6, p.345–351, 2013.



## **CAPÍTULO 5 - Respostas de biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate à concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico**

**RESUMO** – A concentração de CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) na atmosfera está aumentando mais rápido do que o esperado e alcançando novos recordes a cada ano, o que poderá implicar em mudanças fisiológicas nas plantas. Dessa forma, este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar as respostas fisiológicas dos biótipos resistentes e suscetíveis de capim-amargoso ao glyphosate em duas condições de concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições. Os tratamentos conduzidos foram: dois biótipos (resistente e suscetível ao glyphosate), dois manejos (com e sem glyphosate) e duas condições de concentração de CO<sub>2</sub> (400 ppm: condição do ambiente; 800 ppm: tratamento enriquecido com CO<sub>2</sub>). Pelos resultados obtidos, nas duas concentrações de CO<sub>2</sub> estudadas, o crescimento do biótipo resistente foi mais elevado em relação ao suscetível. A resposta do controle após aplicação de glyphosate evoluiu de maneira mais rápida quando as plantas do biótipo suscetível cresceram em 800 ppm. A fotossíntese, a eficiência no uso da água e a atividade das enzimas APX e SOD foram mais elevadas quando os biótipos cresceram em 800 ppm, contudo, o acréscimo de CO<sub>2</sub> no ambiente (800 ppm) incrementou significativamente a eficiência do uso da água e o sistema antioxidante das plantas resistentes ao glyphosate.

**Palavras-chave:** *Digitaria insularis*, mudanças climáticas, resistência de plantas daninhas.

### **Responses of resistant and susceptible sourgrass biotypes to glyphosate at atmospheric CO<sub>2</sub> concentration**

**ABSTRACT-** Carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) concentration in the atmosphere is accumulating faster than expected and reaching a new record high every year. Thus, this work was carried out aiming to evaluate physiological responses of resistant and susceptible sourgrass biotypes to glyphosate to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations. The experimental design was completely randomized, with six treatments and six repetitions. The treatments carried out were: two biotypes (resistant and susceptible to glyphosate), two management (with and without glyphosate), arranged in two conditions of CO<sub>2</sub> concentration (400 ppm: environment condition; 800 ppm: CO<sub>2</sub>-enriched treatment). At both CO<sub>2</sub> concentrations, glyphosate-resistant biotype growth was higher than the glyphosate-susceptible one. Glyphosate-susceptible biotype control was higher at 800 ppm. Photosynthesis, water use efficiency, and the activities of APX and SOD enzymes of both biotypes were highest at 800 ppm, however, the increased levels of CO<sub>2</sub> (800 ppm) significantly increased water use efficiency and antioxidant system of glyphosate-resistant plants.

**Keywords:** climate change, carbon dioxide, *Digitaria insularis*, resistance.

## 1. INTRODUÇÃO

O aumento contínuo dos gases de efeito estufa na atmosfera, especialmente o CO<sub>2</sub>, tem sido provocado principalmente pelas atividades antrópicas, e constitui-se como um dos fatores responsáveis pelo aquecimento global. A proporção de CO<sub>2</sub> atmosférico aumentou em cerca de 100 ppm (36%) nos últimos 250 anos, passando de 275 ppm na era pré-industrial (1000-1750) para 405 ppm em 2018 (NOAA, 2018), e no final deste século poderá atingir até 1000 ppm (IPPC, 2013).

Estudos indicam que o aumento do CO<sub>2</sub> atmosférico resulta em alterações anatômicas, morfológicas e fisiológicas das espécies vegetais, tais como: redução da condutância estomática e aumento da fotossíntese, com consequente estímulo do crescimento (AINSWORTH; LONG 2005; ZISKA et al. 2007; ERICKSON et al., 2007; ZHANG et al., 2015; FERNANDO et al., 2016), incremento na atividade das enzimas do sistema de defesa antioxidante (ABDELGAWAD et al., 2016) e alteração na resistência de plantas daninhas aos herbicidas ou redução da eficácia do tratamento herbicida no controle das plantas daninhas (AINSWORTH; LONG 2005; MANEA et al., 2011; ZHANG et al., 2015).

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas, assim como o aquecimento global, é um problema que tem sido muito discutido no mundo todo, por ocasionar prejuízos e aumentar os custos da produção na lavoura. Atualmente, já foram confirmadas 41 espécies de plantas daninhas resistentes ao herbicida glyphosate (HEAP, 2018), incluindo a espécie *Digitaria insularis*, planta daninha nativa de países tropicais e subtropicais na América.

Os principais mecanismos de resistência ao glyphosate descritos incluem mutações, duplicação do gene no sítio de ação, metabolismo diferencial; exclusão do herbicida do alvo e superexpressão de enzimas antioxidantes após aplicação de glyphosate (YUAN; TRANEL; STEWART, 2007; POWLES, 2008; SAMMONS; GANNES, 2014; MAROLI et al., 2015). Especificamente, para a espécie *D. insularis*, os mecanismos de resistência ao glyphosate estão relacionados a presença de um parênquima menos espesso, maior deposição de cera epicuticular nas plantas resistentes (BARROSO et al., 2015), absorção e translocação mais reduzidas do

herbicida, alterações na metabolização do glyphosate e mutação gênica (CARVALHO et al., 2012).

Portanto, analisar a influência de elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> nas respostas de crescimento, controle, sistema de defesa antioxidante enzimático das plantas daninhas resistentes aos herbicidas são fatores importantes para auxiliar o manejo dessas espécies na lavoura. Diante do exposto, o trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar as respostas fisiológicas dos biótipos de capim-amargoso resistentes e suscetíveis ao glyphosate ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Área experimental e descrição do sistema de câmaras de topo aberto**

O experimento foi conduzido em câmaras de sistema de topo aberto (OCT, open-top chambers), em uma estufa localizada na Universidade de São Paulo-USP, em Ribeirão Preto, São Paulo, cujas coordenadas geográficas são 21°17'83"S, 47°80'67"W e altitude média de 620m. As OTCs foram construídas a partir de barras metálicas verticais (4 barras, para dar sustentação) e anéis metálicos (com 1,2 m-diâmetro de base e 0,8 m de topo) com as suas laterais revestidas por um filme duplo de polietileno transparente. A câmara possui dimensões de 1,0 m de diâmetro e 1,5 m de altura e um redutor (0,5 m) com abertura no topo para permitir a saída do ar deslocado.

As câmaras são equipadas com um ventilador, acoplado por um duto circular à sua parte inferior, que é responsável por promover um 8continuo fluxo do gás no interior da câmara em direção ao topo, além de promover a contínua renovação de ar. Na camada interna do duplo revestimento plástico, há orifícios que estão distribuídos de forma regular proporcionando uma entrada mais homogênea do ar.

Um cilindro de alumínio é alocado ao lado das OCTs e libera o CO<sub>2</sub> através de uma válvula que regula a sua pressão e o fluxo do gás para o interior da câmara. Uma válvula solenoide foi conectada a esse sistema para automatiza-lo (mantendo o sistema ligado durante o dia) e controlar o fluxo do fluido para a câmara.

A concentração de CO<sub>2</sub> foi monitorada diariamente através de um analisador infravermelho de gás (IRGA, marca Qubit Systems, Ontário, Canadá) modelo S151, 0 a 2000 ppm) e, quando necessário, os ajustes foram realizados a fim de manter a concentração desejada. Em cada câmara havia um conjunto de sensores que monitoravam a umidade, temperatura interna e radiação solar, armazenando os dados a cada 1 minutos, em um datalogger RICS® (Remote Control System)

## 2.2. Condução e tratamentos experimentais

O experimento foi conduzido no período entre 05/10/2016 a 15/12/2017. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com oito tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram compostos por: a) duas condições de concentração de CO<sub>2</sub>: 400 ppm (condição ambiente) e 800 ppm (tratamento enriquecido com CO<sub>2</sub>); b) dois biótipos de *D. insularis*: resistente e suscetível ao glyphosate; c) dois manejos: com e sem aplicação de glyphosate (sal isopropilamina). No manejo com aplicação de glyphosate, a dose utilizada foi de 2160 g e.a. ha<sup>-1</sup>.

As sementes dos dois biótipos de capim-amargoso (susceptível e resistente ao glyphosate) foram semeadas em bandeja (128 células de 18 ml), a qual foi preenchida com substrato (Bioplant®). Após 20 dias de cultivo na bandeja, as plântulas foram transplantadas vaso, com capacidade para 7 L, preenchidos com solo e areia (2:1 v/v). O solo utilizado no experimento foi classificado como latossolo vermelho distrófico. Os resultados da análise química do substrato estão descritos na Tabela 13. Os resultados da composição granulométrica indicaram: 22 g/Kg de areia fina, 36 g/Kg de areia grossa, 10 g/Kg de silte e 22 g/Kg de argila.

**Tabela 13.** Resultados da análise química do solo utilizado como substrato.

pH	M.O.	P.		K	Ca	Mg	H + Al	SB	CTC	V
		resina								
CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	-----mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----							%
5,4	14	10	4,0	17	12	14	33,3	47,7	70	

SB= soma de bases; CTC= capacidade de troca catiônica; V= saturação por bases.

Os dados meteorológicos mensais coletados durante o experimento estão contidos na Tabela 14.

**Tabela 14.** Dados climáticos obtidos durante o período de condução do experimento, entre o período de outubro a dezembro (2016).

Mês	Tmax	Tmin	Tmed	UR	Precipitação	Insolação
<b>Outubro</b>	36,6	11,1	19,5	81,6	82,2	156,7
<b>Novembro</b>	33,3	10,4	19,9	81,9	187,7	132,4
<b>Dezembro</b>	35,0	12,8	22,3	77,9	137,7	29,1

Fonte: Estação Meteorológica da IAG/USP. Tmax: temperatura máxima; Tmin: temperatura mínima; Tmed: temperatura média; UR: umidade relativa do ar (média mensal);

Os dados da temperatura do ar e da folha no momento da medição dos parâmetros gasosos estão contidos na Tabela 15.

**Tabela 15.** Temperatura do ar e da folha durante a medição dos parâmetros gasosos dos biótipos resistente (**R**) e suscetível (**S**) de capim-amargoso sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> (400 e 800 ppm), no manejo com (**H**) e sem (**T**) aplicação de glyphosate.

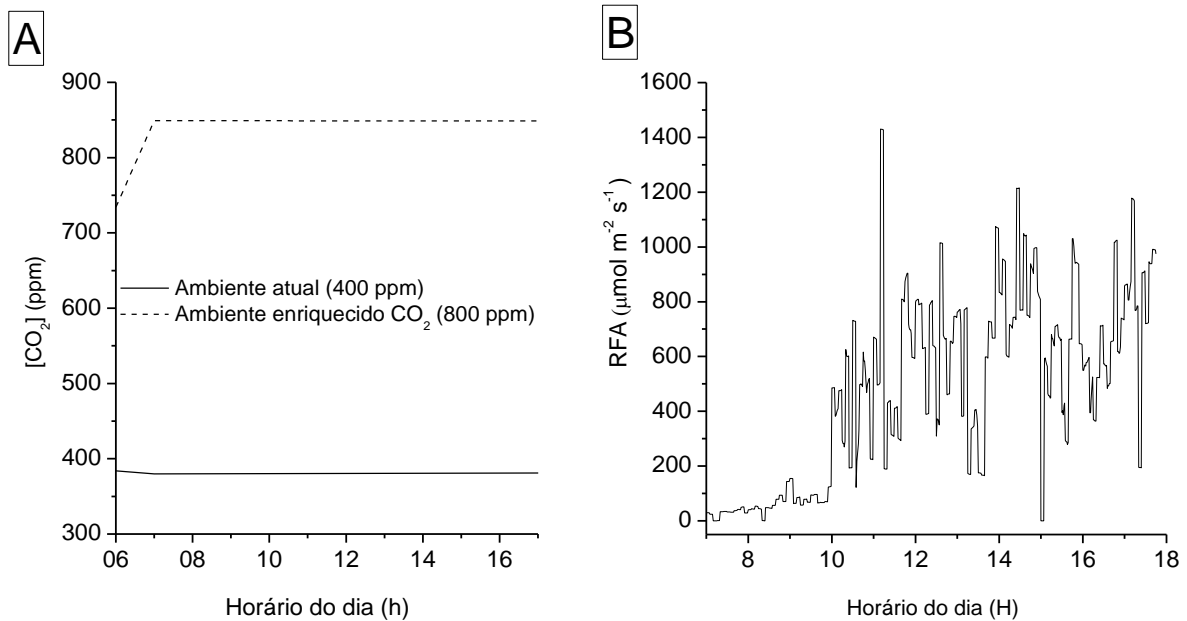
[CO <sub>2</sub> ]*	Biótipo/ Manejo	8h		10h		13h		15h	
		Ar**	Folha	Ar	Folha	Ar	Folha	Ar	Folha
<b>400</b>	<b>RH</b>	25	24	30	30	40	39	39	39
	<b>RT</b>	25	24	29	29	40	39	39	39
<b>800</b>	<b>RH</b>	25	25	32	32	39	39	39	39
	<b>RT</b>	21	26	33	33	39	38	39	39
<b>400</b>	<b>SH</b>	24	24	31	31	40	39	39	39
	<b>ST</b>	25	24	29	29	40	39	39	39
<b>800</b>	<b>SH</b>	28	26	32	34	39	38	39	38
	<b>ST</b>	23	26	33	32	39	38	40	39

\*Concentração de CO<sub>2</sub> em ppm; \*\* Temperatura do ar dentro da estufa

Os valores da concentração de CO<sub>2</sub> (durante a condução do experimento) e da radiação fotossinteticamente ativa estão apresentados na Figura 7. As medidas de trocas gasosas foram efetuadas em dias claros, sem nuvens e com a radiação fotossinteticamente ativa variando entre 50 e 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , ao longo do dia.

Na área experimental foi montado um sistema de irrigação por gotejamento automatizado, através do acionamento de uma válvula solenoide para controlar o abastecimento de água ao sistema. Os ciclos de irrigação foram programados para acionar o sistema duas vezes ao dia, pela manhã e no final da tarde. O tempo e o

volume de água para cada irrigação foram a quantidade necessária para elevar a umidade do solo à capacidade de campo, utilizando-se da curva de retenção de água no solo.



**Figura 7.** Média da concentração de CO<sub>2</sub> (A: [CO<sub>2</sub>]) durante os meses de condução do experimento e a radiação fotossinteticamente ativa (B: RFA) durante o período da avaliação de trocas gasosas em cada horário do dia (h).

No manejo com aplicação de glyphosate, o herbicida foi aplicado quando as plantas atingiram, em média, 12 folhas e 4 perfilhos. A aplicação do herbicida foi realizada com auxílio de um pulverizador costal à pressão constante (CO<sub>2</sub>), equipado com quatro pontas de pulverização do tipo TTJ60-11002 VP. O conjunto foi regulado com 2.2 bar de pressão para distribuir o equivalente a 200 L ha<sup>-1</sup> de calda. No momento da aplicação, foram registrados os dados de temperatura (31°C), umidade relativa do ar (83%), vento (2,5 km h<sup>-1</sup>) e ausência de nuvens.

## 2.3. Avaliações

### 2.3.1 Parâmetros de crescimento

No dia da aplicação, foi realizada uma análise destrutiva para quantificação de área foliar. A área foliar foi mensurada em todas as folhas das plantas através de um medidor eletrônico de área foliar, marca LICOR, modelo 3100.

Após a aplicação do herbicida, avaliações de notas visuais de controle (ALAM, 1974) foram determinadas aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA). Em seguida, aos 28 DAA, o material vegetal foi coletado para a determinação da biomassa seca da parte aérea e raiz. O material vegetal foi encaminhado para uma estufa de secagem de circulação forçada por 76 horas a uma temperatura de 65°C.

Após a determinação da massa seca, o material foi triturado em micromoinho Wiley utilizando-se uma peneira de 40 mesh para a determinação dos macronutrientes. O nitrogênio total ( $N_{total}$ ) e o fósforo (P) foram determinados pelos métodos semimicro Kjeldahl e colorimétrico do ácido fosfovanadato-molibdico, respectivamente (SARRUGE; HAAG, 1974). Na extração de potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foi utilizado o método descrito por Jorgensen (1977), por meio de espectrofotometria de absorção atômica. O enxofre (S) foi determinado pelo método turbidimétrico, descrito por Vitti (1989).

Os tratamentos foram dispostos segundo esquema fatorial 2x2: duas condições de concentração de  $CO_2$  (400 e 800 ppm) por dois biótipos de capim-amargoso (resistente e suscetível a glyphosate), avaliados em dois manejos (com e sem glyphosate).

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. As médias da porcentagem de controle foram ajustadas pelo modelo de regressão polinomial de segundo grau ( $y=ax^2+bx+c$ ), onde Y refere-se à porcentagem de controle e x refere-se aos dias de avaliação.

### **2.3.2. Trocas gasosas foliares**

Os parâmetros analisados foram: condutância estomática ( $gs; mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ), taxa transpiratória ( $E; mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ), concentração interna de  $CO_2$  ( $C_i; \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ) e taxa fotossintética líquida expressa por área ( $A; \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ). As trocas gasosas foram mensuradas 72 horas após a aplicação do herbicida, entre o período da manhã e o período da tarde, totalizando quatro avaliações: às 8, 10, 13 e 15 horas, por meio de

um analisador de gases por infravermelho (IRGA) modelo Li 3000 (Portable Photosynthesis System - LI) da LICOR. A densidade do fluxo de fótons mantida na câmara do IRGA foi fixada de acordo com o horário avaliado, com valores de 200, 700, 1500 e 1.000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , respectivamente, nas avaliações das 8, 10, 13 e 15 horas. Foram selecionadas duas folhas, uma na terço inferior e outra no terço superior das plantas, completamente expandidas e sem sinais de senescência.

Com os dados coletados pelo IRGA foram calculadas a eficiência intrínseca do uso da água ( $E_i$ ;  $\mu\text{mol mmol}^{-1}$ ) através da razão  $A/g_s$  (NOBEL, 2001) e a eficiência instantânea da carboxilação através da razão  $A/C_i$  ( $E_iC$ ).

Os tratamentos foram dispostos segundo esquema fatorial 2x2: duas condições de concentração de  $\text{CO}_2$  (400 e 800 ppm) por dois biótipos de capim-amargoso (resistente e suscetível a glyphosate), avaliados em dois manejos (com e sem glyphosate).

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. As médias das análises de trocas gasosas foram ajustadas pelo modelo exponencial ( $y = \exp(a+b*x+c*x^2)$ ), onde  $y$  corresponde as variáveis de troca gasosa e  $x$  aos horários avaliados. As análises de regressão foram realizadas com auxílio do OriginPro 9.0®.

### **2.3.3. Pigmentos fotossintéticos, sistema antioxidante e peroxidação lipídica**

Os parâmetros analisados foram: a concentração de pigmentos fotossintéticos, clorofila e carotenoides, a peroxidação de lipídeos, que se baseia na determinação de malonaldeído (MDA) e a atividade enzimática das enzimas ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e guaiacol peroxidase (GPX). Os parâmetros foram avaliados 72 horas após a aplicação do herbicida. Duas folhas de cada repetição (exceto as senescentes) foram coletadas às 12:00 horas, e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido para realizar, posteriormente, a extração e quantificação de pigmentos fotossintéticos, de enzimas e a peroxidação de lipídeos.

Os tratamentos foram dispostos segundo esquema fatorial 2x2x2: duas condições de concentração de  $\text{CO}_2$  (400 e 800 ppm), dois biótipos de capim-amargoso



(resistente e suscetível a glyphosate) e dois manejos (com e sem glyphosate). Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

### 2.3.3.1. Concentração de pigmentos fotossintéticos

A extração e quantificação de pigmentos fotossintéticos foram realizadas segundo a metodologia proposta por Hendry e Price (1993), com algumas modificações. Aproximadamente 200 mg, das folhas coletadas, foram macerados em N<sub>2</sub> líquido e homogeneizados em 5,0 mL de acetona 80%. A solução foi transferida para microtubos de 2 mL e centrifugada a 1.735 xg por três minutos, para precipitação das partículas grosseiras. Do sobrenadante, foi realizada a leitura das absorvâncias em três comprimentos de onda distintos: 480, 645 e 663 nm no espectrofotômetro (modelo Spectronic Genesys 5.0). A partir dos valores de absorvância, as concentrações de clorofila a, b, total (Chl a+b) e carotenóides totais foram calculadas utilizando-se as seguintes equações:

$$\text{Clorofila a (mg/l)} = 12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$$

$$\text{Clorofila b (mg/l)} = 22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$$

$$\text{Clorofila total (mg/l)} = \text{Clorofila a} + \text{clorofila b}$$

$$\text{Carotenóides totais } (\mu\text{mol g}^{-1}) = \frac{(A_{448} + 0,114 \times A_{663} - 0,638 \times A_{645}) \times V \times 10^3}{112,5 \times \text{unidade de área ou massa}}$$

Onde:

A = Absorvância

V = Volume do extrato (L)

As concentrações das clorofilas (a, b e total), foram convertidas e expressas em ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  de massa seca).

### 2.3.3.2. Peroxidação de lipídeos

O nível de peroxidação de lipídios de membrana nos tecidos foliares foi medido através do conteúdo de malondialdeído (MDA) determinado pela reação do ácido tiobarbitúrico (TBA), segundo método descrito por Heath e Packer (1968) com algumas modificações.

Amostras de 100 mg de folha foram maceradas com N<sub>2</sub> líquido e homogeneizadas em 2,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v). O homogenato foi transferido para microtubos e centrifugado a 10.884 xg por 10 minutos a 4°C. Uma alíquota de 500 µL do sobrenadante foi colocada em tubos de ensaio com tampa, e adicionou-se 2,0 mL de TCA (20%) contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5%. A mistura foi aquecida a 95°C por 30 minutos e resfriada em gelo para interromper a reação. As amostras foram novamente centrifugadas a 10.884 xg por 10 minutos e a absorbância do sobrenadante a 532 e 600 nm foi determinada em espectrofotômetro. A concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 155 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> (HEATH; PACKER, 1968). A unidade do MDA foi nmol g<sup>-1</sup> de massa seca.

### **2.3.3.3. Extração e quantificação de enzimas**

O extrato enzimático bruto foi obtido a partir de tecido foliar (1,0 g) macerado com N<sub>2</sub> líquido e homogeneizado com 10,0 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 7,5 contendo EDTA 1 mM, DTT 3 mM e 2% de PVP (m/v) (AZEVEDO et al.,1998). O homogenato foi centrifugado a 17.000 xg por 30 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado e estocado em alíquotas em freezer a -20°C. A concentração de proteínas totais de cada amostra foi determinada em espectrofotômetro a 595 nm, como descrito por Bradford (1976).

#### **2.3.3.3.1. Quantificação da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)**

A atividade da SOD foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico, descrito por Giannopolitis e Ries (1977). A mistura de reação continha tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 13 mM, riboflavina 2

$\mu\text{M}$ , nitroblue tetrazólio (NBT)  $75 \mu\text{M}$ , EDTA  $0,1 \text{ mM}$ , e  $100 \mu\text{L}$  de extrato enzimático. A produção fotoquímica da formazana azul a partir do NBT foi monitorada pelo incremento da absorbância a  $560 \text{ nm}$ . A reação foi realizada em tubos de ensaio a  $25^\circ\text{C}$ , dentro de uma câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de  $15 \text{ W}$ , mantida acesa por  $15$  minutos. Como controle, tubos com a mistura de reação foram mantidos no escuro. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe a fotorredução do NBT em  $50\%$  (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).

#### **2.3.3.3.2. Quantificação da Catalase (CAT, EC 1.11.1.6)**

A atividade da CAT foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico descrito por Azevedo et al. (1998). A mistura de reação consistia de  $1,9 \text{ mL}$  de tampão fosfato de potássio  $100 \text{ mM}$  ( $\text{pH } 7,5$ ) e  $\text{H}_2\text{O}_2$   $20 \text{ mM}$ , preparada imediatamente antes do uso. A reação foi iniciada pela adição de  $100 \mu\text{L}$  de extrato enzimático e a atividade determinada pela decomposição do  $\text{H}_2\text{O}_2$  através do decréscimo na absorbância a  $240 \text{ nm}$  durante  $1$  minuto ( $25^\circ\text{C}$ ). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína utilizando para os cálculos o coeficiente de extinção molar  $40,0 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , determinado para nossas condições experimentais.

#### **2.3.3.3.3. Quantificação da ascorbato peroxidase (APX, EC,1.11.1.11)**

A atividade da APX foi determinada de acordo com o método de Nakano e Asada (1981). Onde o meio reacional continha  $1,9 \text{ mL}$  de tampão fosfato de potássio  $0,25 \text{ mM}$  ( $\text{pH } 7,0$ ) com  $0,1 \text{ mM}$  de EDTA,  $1 \text{ mM}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $5 \text{ mM}$  de ascorbato. Todos os reagentes foram preparados separadamente. O ascorbato altera o  $\text{pH}$  do tampão que deve ser corrigido para  $\text{pH } 7,0$ . O início da reação se deu pela adição de  $100 \mu\text{L}$  de extrato enzimático e a atividade determinada em espectrofotômetro monitorando a degradação do ascorbato em  $290 \text{ nm}$  durante um minuto a  $25^\circ\text{C}$ . A atividade foi expressa em  $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína. Para os cálculos utilizou-se o coeficiente de extinção molar  $3051,4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , determinado para nossas condições experimentais. A atividade da enzima Ascorbato Oxidase foi também monitorada para correção da

oxidação do ascorbato na ausência de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Isto foi feito excluindo-se do meio de reação o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### 2.3.3.3.4. Quantificação da Guaiacol Peroxidase (POD III, EC 1.11.1.7)

A atividade das peroxidases não específica foram determinadas segundo Zeraik et al. (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato. A mistura de reação continha 1,0 mL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,5), 1,0 mL de guaiacol 15 mM e 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 mM. Após a homogeneização dessa solução foi adicionado 50 µL de extrato. A oxidação do guaiacol (a tetraguaiacol) foi medida através do aumento na absorbância a 470 nm. Os resultados foram expressos em µmol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> proteína utilizando para os cálculos o coeficiente de extinção molar de 26,6 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (CHANCE; MAEHLI, 1955).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Parâmetros de crescimento e de trocas gasosas

Na Tabela 16 está disponível o resumo da análise de variância em relação à área foliar dos fatores concentração de CO<sub>2</sub> e biótipo.

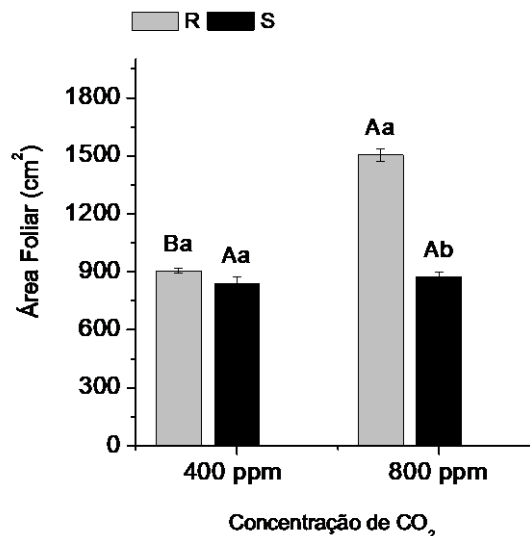
**Tabela 16.** Análise de variância em relação à área foliar (cm<sup>2</sup>) e desdobramento da interação dos fatores concentração de CO<sub>2</sub> (A) e biótipos (B).

Tratamentos	Área foliar
F(A)	316,48**
F(B)	360,73**
F(AxB)	273,43**
CV(%)	4,08

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

A área foliar do biótipo-R em 400 ppm foi de 904,3 cm<sup>2</sup> e do suscetível de 840,3 cm<sup>2</sup>, o que não promoveu diferença significativa entre eles. Já na concentração de 800 ppm, a diferença entre os biótipos foi acentuada (44%), onde o valor correspondente da área foliar foi de 1550 cm<sup>2</sup> (resistente) e 873 cm<sup>2</sup> (suscetível). Nota-

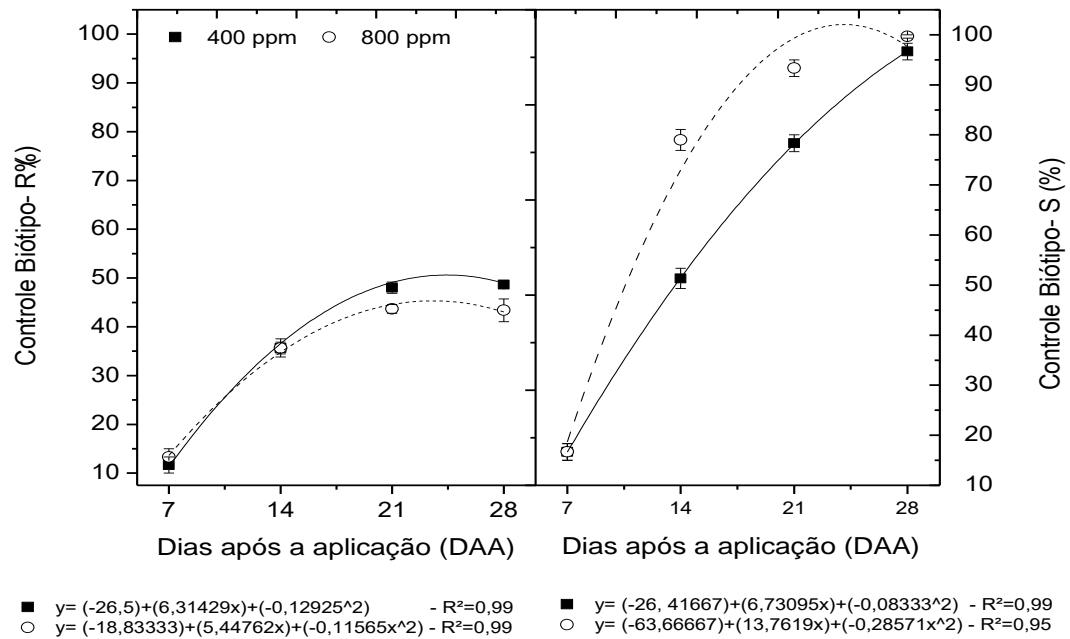
se que o biótipo-R desenvolveu mais área foliar quando as plantas cresceram em 800 ppm, onde o aumento foi de 41% ( $p < 0,05$ ) (Figura 8).



**Figura 8.** Área foliar de biótipos resistente e suscetível de capim-amargoso, no manejo sem aplicação de glyphosate, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico (400 e 800 ppm). Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as concentrações de CO<sub>2</sub>, dentro do mesmo biótipo e letras minúsculas comparam os biótipos, dentro da mesma concentração de CO<sub>2</sub>. Média ± Erro padrão (n=6).

Com relação ao biótipo-R, entre o período de 7 e 28 DAA, o herbicida provocou sintomas de intoxicação, os quais evoluíram durante o período de condução do experimento, contudo estes sintomas não diferiram entre as concentrações de 400 e 800 ppm (Figura 9). As porcentagens do controle ao final do experimento, aos 28 DAA, situou-se em torno de 50% (400 ppm) e 40% (800 ppm). Os sintomas observados, durante o período de condução desse experimento, foram de folhas amareladas e necrose, e redução no crescimento. Contudo, ao final das avaliações, as plantas estavam se recuperando dos sintomas iniciais.

Os níveis de controle para o biótipo-S, aos 7 DAA, não diferiram entre os tratamentos de 400 e 800 ppm. Contudo, aos 14 DAA, as plantas que cresceram em ambiente com 800 ppm, apresentaram controle 35% superior em relação as que cresceram em 400 ppm. Os sintomas evoluíram a partir dessa data e, aos 21 DAA, a maioria das plantas já estava morta. As porcentagens de controle aos 28 DAA, foi em torno de 97% (400 ppm) e 99% (800 ppm) (Figura 9).



**Figura 9.** Porcentagem de controle (%) de biótipos resistente (R) e suscetível (S) de capim-amargoso avaliados aos 7,14,21 e 28 dias após aplicação de glyphosate sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico (400 e 800 ppm). Média ± Erro padrão (n=6).

Na Tabela 17 encontra-se o resumo da análise de variância em relação à massa seca da parte aérea, raiz e total dos fatores concentração de CO<sub>2</sub> e biótipo, no manejo com e sem glyphosate.

**Tabela 17.** Análise de variância em relação à massa seca (g) da parte aérea, raiz e total aos 28 DAA e desdobramento da interação dos fatores concentração de CO<sub>2</sub> (A) e biótipos (B).

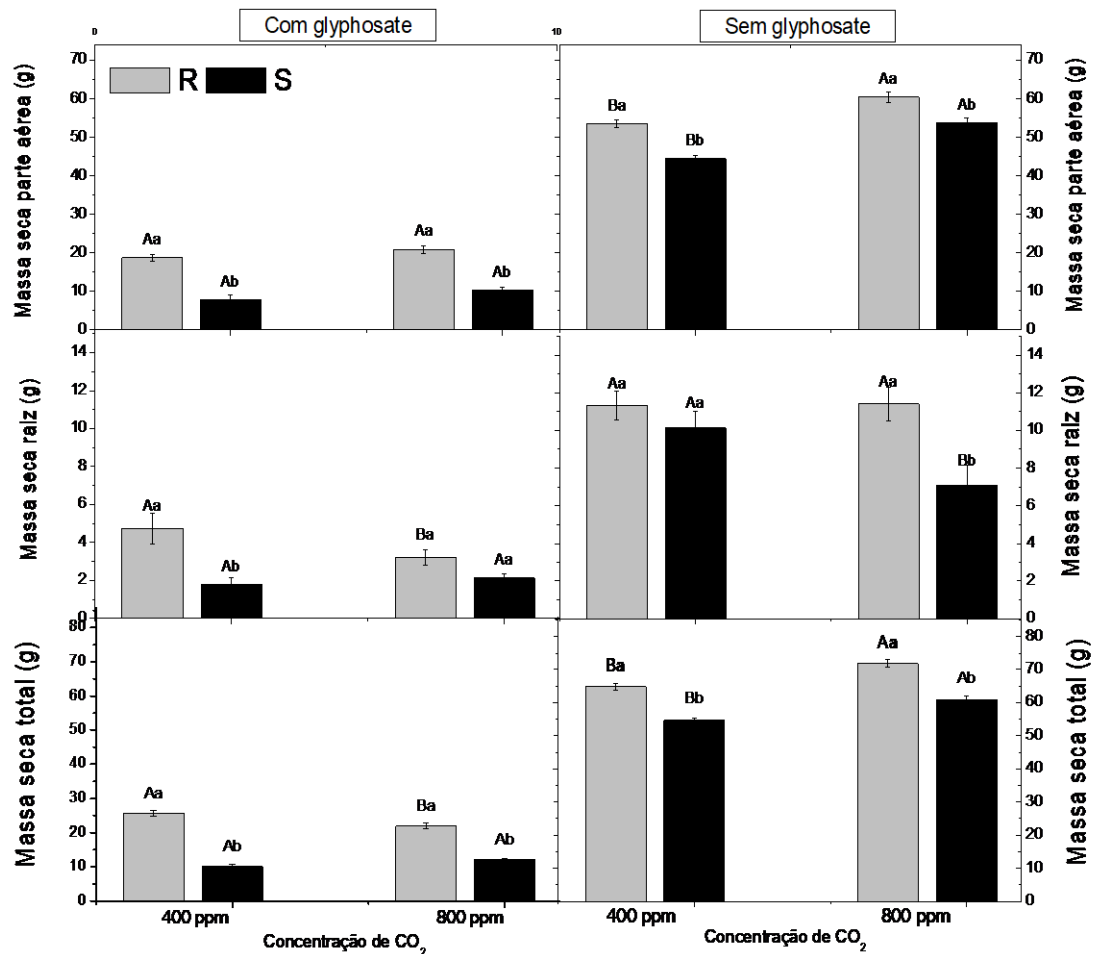
Tratamentos	Com glyphosate			Sem glyphosate		
	Parte aérea	Raiz	Total	Parte aérea	Raiz	Total
<b>F(A)</b>	0,02 <sup>ns</sup>	3,39 <sup>ns</sup>	0,99 <sup>ns</sup>	48,34 <sup>**</sup>	2,65 <sup>ns</sup>	21,84 <sup>**</sup>
<b>F(B)</b>	121,22 <sup>**</sup>	15,60 <sup>**</sup>	256,75 <sup>**</sup>	45,06 <sup>**</sup>	9,14 <sup>**</sup>	55,61 <sup>**</sup>
<b>F(AxB)</b>	5,65 <sup>*</sup>	1,30 <sup>ns</sup>	13,30 <sup>**</sup>	0,98 <sup>ns</sup>	3,01 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>
<b>CV(%)</b>	16,37	42,21	11,11	5,39	22,03	5,51

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F; \* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F; ns- não significativo.

Pelos resultados apresentados na Figura 10, pode ser observado que nos tratamentos com aplicação de glyphosate a massa seca dos biótipos foi reduzida acentuadamente. Além disso, o acúmulo de massa seca total, em todos os tratamentos, foi maior para o biótipo-R quando comparado ao biótipo-S. Os valores

da massa seca total produzida pelas plantas do biótipo-R foram 52% e 18% mais elevados, respectivamente, nos manejos com glyphosate e sem glyphosate.

Analisando as diferenças entre as duas condições de CO<sub>2</sub>, na parte aérea, a única diferença observada foi no manejo sem glyphosate, onde os biótipos que cresceram em 800 ppm produziram mais massa que em 400 ppm, com aumento em torno de 15% (Figura 10).



**Figura 10.** Massa seca da parte aérea, raiz e total de biótipos resistente (R) e suscetível (S) de capim-amargoso, no manejo com e sem glyphosate, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico (400 e 800 ppm). Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as concentrações de CO<sub>2</sub>, dentro do mesmo biótipo e letras minúsculas comparam os biótipos, dentro da mesma concentração de CO<sub>2</sub>. Média ± Erro padrão (n=6).

Nas raízes, sob aplicação de glyphosate, somente foi observado diferença nas plantas resistentes, onde a alocação de massa seca foi maior quando as plantas cresceram em 400 ppm (32%). Já no manejo sem glyphosate, a única diferença foi

que a massa de raízes do biótipo-S foi 30% maior em ambiente com 400 ppm (Figura 6). Nota-se que o biótipo-S alocou mais massa para as raízes em detrimento da parte aérea, em 400 ppm, enquanto em 800 ppm, ocorreu o inverso, o biótipo alocou mais massa para parte aérea em detrimento das raízes (Figura 10).

Com relação aos valores dos nutrientes na parte aérea das plantas, as diferenças observadas foram para o N e K (Tabela 18). Para o teor de N, a única diferença foi no manejo sem glyphosate, onde o teor deste nutriente foi 16% mais elevado no biótipo-S. Quanto ao teor de K, foi observada interação nos dois manejos, os quais serão abordados na Figura 11.

**Tabela 18.** Teor de macronutrientes da parte aérea ( $\text{g Kg}^{-1}$ ) dos biótipos resistente e suscetível de capim-amargoso sob duas concentrações de  $\text{CO}_2$  atmosférico (400 e 800 ppm), no manejo com e sem glyphosate, aos 28 DAA.

Tratamentos	Manejo com glyphosate					
	N	P	K	Ca	Mg	S
<b>[CO<sub>2</sub>]<sup>1</sup> (A)</b>						
400	24 ±0,2 a	2 ±0,02 a	26 ±0,6 a	9 ±0,6 a	5 ±0,1 a	2 ±0,1 a
800	26 ±1,2 a	2 ±0,1 a	27 ±1,1 b	8 ±0,2 a	5 ±0,2 a	1 ±0,03 a
<b>Biótipo (B)</b>						
Resistente	24 ±0,4 a	2 ±0,1 a	24 ±2,4 b	10 ±1,1 a	6 ±0,2 a	2 ±0,1 a
Suscetível	25 ±0,9 a	2 ±0,1 a	29 ±1,6 a	7 ±0,3 a	4 ±0,2 a	2 ±0,1 a
F(A)	3,46 <sup>ns</sup>	0,09 <sup>ns</sup>	0,35 <sup>ns</sup>	0,68 <sup>ns</sup>	0,20 <sup>ns</sup>	1,27 <sup>ns</sup>
F(B)	0,90 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	5,66*	4,34 <sup>ns</sup>	3,79 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
F(AxB)	0,04 <sup>ns</sup>	0,37 <sup>ns</sup>	6,67*	0,94 <sup>ns</sup>	0,56 <sup>ns</sup>	0,54 <sup>ns</sup>
CV (%) <sup>2</sup>	6,57	26,49	15,09	32,9	40	19,03
<b>[CO<sub>2</sub>] (A)</b>						
<b>Manejo sem glyphosate</b>						
400	24 ±1,2 a	2 ±0,6 a	33 ±1,6 a	7 ±0,6 a	4 ±0,1 a	1 ±0,1 a
800	25 ±1,0 a	2 ±0,1 a	24 ±1,1 b	7 ±0,4 a	4 ±0,2 a	1 ±0,1 a
<b>Biótipo (B)</b>						
Resistente	22 ±1,7 b	2 ±0,1 a	26 ±1,6 b	7 ±0,3 a	4 ±0,2 a	1 ±0,1 a
Suscetível	26 ±0,8 a	2 ±0,1 a	29 ±0,6 a	7 ±0,4 a	4 ±0,1 a	2 ±0,1 a
F(A)	0,01 <sup>ns</sup>	0,19 <sup>ns</sup>	472,51**	0,01 <sup>ns</sup>	0,82 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
F(B)	9,34*	0,37 <sup>ns</sup>	29,77**	0,00 <sup>ns</sup>	0,10 <sup>ns</sup>	1,56 <sup>ns</sup>
F(AxB)	0,00 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	6,31*	0,19 <sup>ns</sup>	3,18 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>
CV (%)	9,18	50,63	3,99	28,98	24,44	65,55

<sup>1</sup>Concentração de  $\text{CO}_2$  em ppm. <sup>2</sup>Coeficiente de variação das médias. Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade \*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F; \* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F; ns- não significativo.



Com relação aos dados dos nutrientes nas raízes, destaca-se diferenças que ocorreram somente entre os biótipos para os nutrientes N, P, K e S, os quais foram encontrados em maior teor no biótipo R, exceto o N, o qual foi 22% maior no biótipo-S (Tabela 19). Além disso, houve interação dos fatores para o nutriente K, o qual será abordado a seguir na Figura 11.

**Tabela 19.** Teor de macronutrientes das raízes ( $\text{g Kg}^{-1}$ ) dos biótipos resistente e suscetível de capim-amargoso sob duas concentrações de  $\text{CO}_2$  atmosférico (400 e 800 ppm), no manejo com e sem glyphosate, aos 28 DAA.

Tratamentos	Manejo com glyphosate					
	N	P	K	Ca	Mg	S
<b>[CO<sub>2</sub>]<sup>1</sup> (A)</b>						
<b>400</b>	19 ±1,3 a	1 ±0,02 a	11 ±0,4 a	7 ±0,1 a	2 ±0,1 a	1 ±0,1 a
<b>800</b>	17 ±0,8 a	1 ±0,01 a	10 ±0,8 b	8 ±0,1 a	3 ±0,1 a	1 ±0,1 a
<b>Biótipo (B)</b>						
<b>Resistente</b>	20 ±0,5 a	2 ±0,04 a	11 ±0,9 a	9 ±0,2 a	3 ±0,1 a	1,2 ±0,1 a
<b>Suscetível</b>	16 ±1,4 b	1 ±0,08 b	9 ±0,3 b	7 ±0,3 a	2 ±0,1 a	0,8 ±0,1 b
<b>F(A)</b>	1,27 <sup>ns</sup>	0,86 <sup>ns</sup>	1,20 <sup>ns</sup>	0,71 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>
<b>F(B)</b>	8,92*	17,08**	10,61*	2,73 <sup>ns</sup>	5,09 <sup>ns</sup>	32,46**
<b>F(AxB)</b>	0,31 <sup>ns</sup>	1,54 <sup>ns</sup>	7,44*	0,19 <sup>ns</sup>	0,54 <sup>ns</sup>	0,43 <sup>ns</sup>
<b>CV (%)<sup>2</sup></b>	11,87	11,49	12,42	26,21	42,01	10,27
<b>[CO<sub>2</sub>] (A)</b>						
<b>Manejo sem glyphosate</b>						
<b>400</b>	16 ±0,9 a	1 ±0,1 a	11 ±0,5 a	7 ±0,6 a	2 ±0,1 a	1 ±0,1 a
<b>800</b>	16 ±0,6 a	1 ±0,1 a	13 ±0,6 a	7 ±0,1 a	2 ±0,1 a	1 ±0,1 a
<b>Biótipo (B)</b>						
<b>Resistente</b>	14 ±0,6 b	1 ±0,1 a	11 ±0,5 a	7 ±0,1 a	2 ±0,1 a	1 ±0,1 a
<b>Suscetível</b>	18 ±0,8 a	1 ±0,1 a	14 ±0,4 b	7 ±0,1 a	2 ±0,1 a	1 ±0,1 a
<b>F(A)</b>	0,21 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	3,31 <sup>ns</sup>	1,08 <sup>ns</sup>	1,89 <sup>ns</sup>	0,94 <sup>ns</sup>
<b>F(B)</b>	24,11**	0,16 <sup>ns</sup>	33,67**	0,03 <sup>ns</sup>	1,12 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>
<b>F(AxB)</b>	0,21 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>	0,48 <sup>ns</sup>	0,72 <sup>ns</sup>	2,33 <sup>ns</sup>
<b>CV (%)</b>	8,18	41,77	8,11	28,98	27,08	19,66

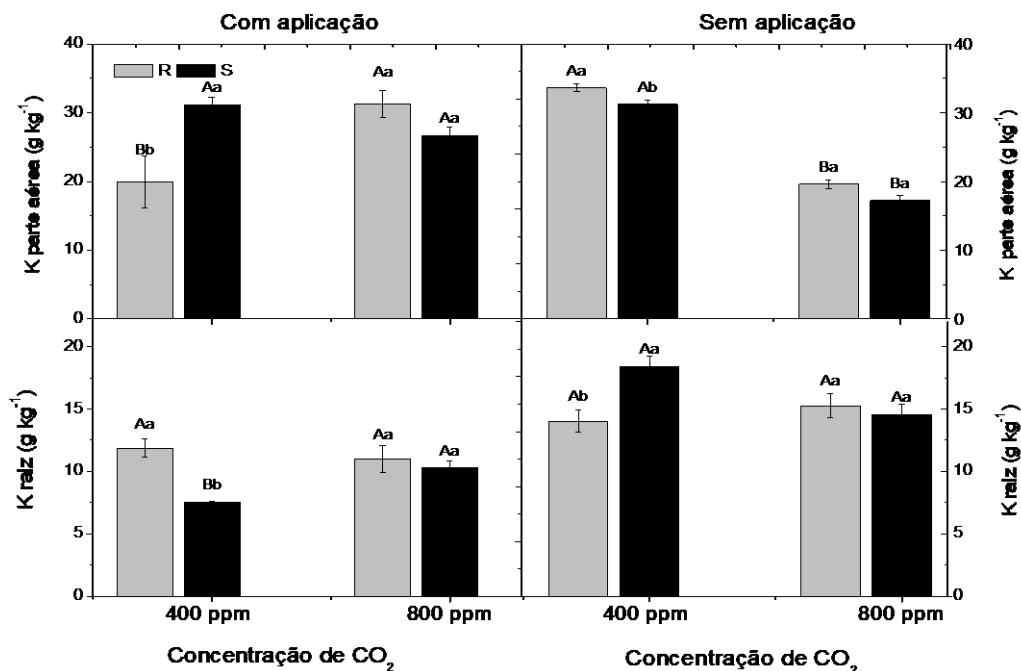
<sup>1</sup>Concentração de  $\text{CO}_2$  em ppm. <sup>2</sup>Coeficiente de variação das médias. Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade \*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F; \* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F; ns- não significativo.

Analisando o conteúdo de K, no manejo com glyphosate, na atmosfera com 400 ppm, o glyphosate pode ter afetado mais a concentração de K na parte aérea do biótipo-R do que na sua raiz, enquanto no biótipo-S afetou mais a concentração de K nas raízes do que na sua parte aérea (Figura 11). Isso pode ser observado pela

redução que o glyphosate provocou nas diferentes partes avaliadas, onde na parte aérea, o teor de K é 40% menor no biótipo-R do que no biótipo-S, enquanto na raiz o teor é 47% maior no biótipo-R que no biótipo-S.

A mesma correlação pode ser observada quando se compara os manejos com e sem glyphosate, em 400 ppm. Nota-se que o glyphosate reduziu o teor de K na parte aérea do biótipo-R, enquanto sua aplicação reduziu o teor de K na raiz do biótipo-S.

Quando as plantas dos dois biótipos cresceram em atmosfera com 800 ppm, tanto no manejo com glyphosate quanto no manejo sem o herbicida, as concentrações de K na parte aérea e na raiz dos dois biótipos foram semelhantes ( $p>0,05$ ).



**Figura 11.** Teor de K na parte aérea e raiz dos biótipos resistente (R) e suscetível (S) de capim-amargoso no manejo com e sem glyphosate, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> atmosférico (400 e 800 ppm). Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as concentrações de CO<sub>2</sub>, dentro do mesmo biótipo e letras minúsculas comparam os biótipos, dentro da mesma concentração de CO<sub>2</sub>. Média ± Erro padrão (n=6).

Quando se analisa o efeito do herbicida no valor de K, nota-se que o glyphosate pode ter afetado o teor de K nas raízes dos dois biótipos, e então as plantas alocaram esse nutriente para a parte aérea. A redução do teor de K nas raízes que receberam

aplicação de glyphosate foi em torno de 30% em relação ao tratamento sem aplicação (parâmetro não avaliado estatisticamente). Contudo, no manejo sem aplicação de glyphosate (ausência de agente estressor), a concentração de K foi maior nas raízes, com redução significativa na parte aérea das plantas (Figura 11).

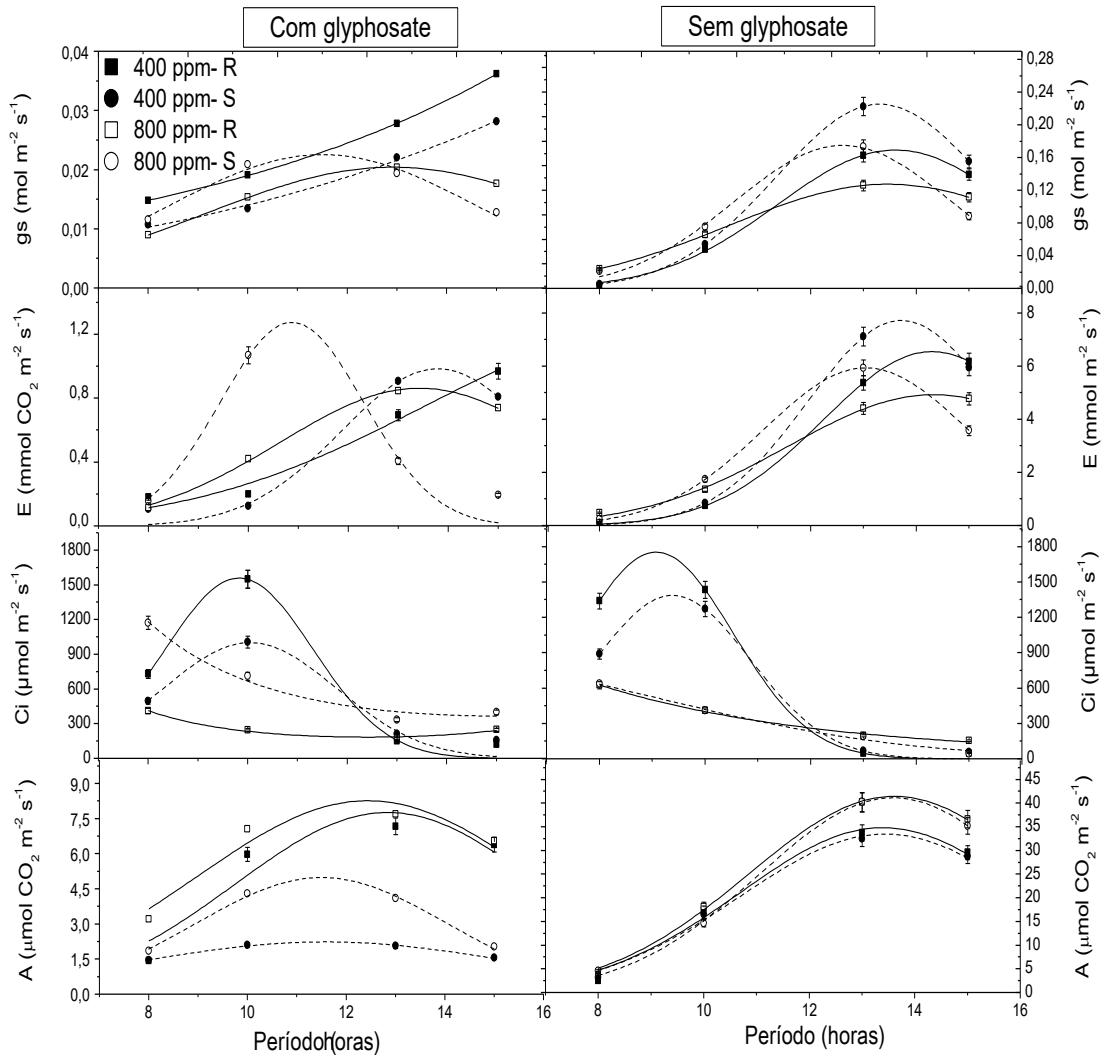
Na Figura 12 estão expostos os resultados das trocas gasosas dos biótipos resistente e suscetível de *D. insularis*, 72 horas após a aplicação de glyphosate. De maneira geral, os valores de  $g_s$ , E e A foram muito mais elevados nas plantas que não receberam aplicação de glyphosate, atingindo uma diferença de 70% nos valores. Os resultados de  $g_s$  e E seguiram o mesmo padrão (crescimento ou queda) em quase todos os tratamentos analisados.

Analisando os padrões dos parâmetros  $g_s$  e E, dentro do manejo com glyphosate, pode ser observado que para o biótipo-R, os picos máximos obtidos pelas variáveis  $g_s$  e E, em 400 ppm, foram às 15 h, com valores de  $0,04 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e  $0,96 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente. Após atingiram o pico máximo os valores começam a decrescer. De maneira contrária, em 800 ppm, o pico máximo atingido pelas duas variáveis ocorreu às 13 h, com valores de  $0,02 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ( $g_s$ ) e  $0,73 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (E). Esses resultados demonstram que, a média dos valores obtidos pela  $g_s$  foi 50% maior em 400 ppm ( $p < 0,05$ ), enquanto para variável E, a diferença obtida não foi significativa.

Com relação aos resultados dos parâmetros da  $g_s$  e E para o biótipo-S (ainda dentro do manejo com glyphosate), em 400 ppm, os valores da  $g_s$  foram progressivos até às 15 h ( $0,03 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), enquanto os valores da E atingiram seu ponto máximo as 10 h ( $0,12 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), o qual a partir desse horário, começa a decrescer. Em 800 ppm, o pico máximo atingido pela  $g_s$  e E são às 13 h ( $0,02 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ;  $1,1 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Os resultados obtidos demonstraram que houve diferença para as variáveis  $g_s$  e E entre as concentrações de 400 ppm e 800 ppm, onde a variável  $g_s$  foi 30% maior em 400 ppm ( $p < 0,05$ ) e a variável E foi 90% maior em 800 ppm ( $p < 0,05$ ).

Já, no manejo sem aplicação de glyphosate, nas plantas resistentes, os valores de  $g_s$  e E foram crescentes até às 15 h (em 400 e 800 ppm), atingindo os valores máximos de  $0,14 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ( $g_s$ ) e  $6,2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (E) em 400 ppm e, de  $0,12 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ( $g_s$ ) e  $4,8 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (E) em 800 ppm. Esses resultados demonstraram que a  $g_s$  e E entre 400 e 800 ppm foram próximos. Com relação ao biótipo-S, os valores de

gs e E atingiram o pico máximo até as 13 h, tanto em 400 ppm ( $0,22 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ;  $7,1 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) quanto em 800 ppm ( $0,17 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ;  $5,9 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) decrescendo as 15 h, o que permitiu observar que os valores dos parâmetros foram próximos entre 400 e 800 ppm (Figura 12).



**Figura 12.** Condutância estomática (**gs**), taxa de transpiração (**E**), interna de CO<sub>2</sub> (**Ci**) e fotossíntese líquida (**A**) dos biótipos resistente (**R**) e suscetível (**S**) de capim-amargoso no manejo com e sem glyphosate, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> (400 e 800 ppm). Média ± Erro padrão (n=6).

A única diferença observada, para gs e E, entre os biótipos, foi no manejo com glyphosate quando as plantas cresceram em 400 ppm, onde o biótipo-R apresentou 25% mais condutância que o biótipo-S (Figura 12).

Com relação ao resultado da fotossíntese (A) e da concentração de carbono interno (Ci), dentro do manejo com glyphosate, pode ser observado que com o

aumento de A houve um decréscimo acentuado de Ci após as 10h, para os dois biótipos (nos dois manejos).

Quanto os valores máximos de fotossíntese alcançados pelo biótipo-R, dentro do manejo com glyphosate, os picos máximos de A foram: às 13 ( $6,2 \text{ mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) em 400 ppm; e às 10 ( $8 \text{ mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) em 800 ppm, demonstrando que os valores entre 400 ppm e 800 ppm foram semelhantes ( $p > 0,05$ ). Quanto aos valores de Ci, o biótipo-R em 400 ppm apresentou concentração mais elevada nas duas primeiras avaliações (8 e 10 h), contudo após esse período os valores foram maiores em 800 ppm (Figura 12).

Com relação ao biótipo-S, ainda dentro do manejo com glyphosate, os picos máximos alcançados pela A foram entre as 10 e 13h, tanto em 400 ( $1,7 \text{ mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) quanto em 800 ppm ( $4 \text{ mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), atingindo uma diferença de 57% quando as plantas cresceram em 800 ppm ( $p < 0,05$ ). O biótipo-S, durante todo o período de avaliação, alcançou 28% mais Ci em 800 ppm (Figura 8). Pode ser observado então que os valores de Ci foram mais elevados quando as plantas cresceram em 800 ppm ( $p < 0,05$ ).

Comparando os biótipos entre si, dentro do manejo com glyphosate, tanto A quanto Ci foram mais elevadas nas plantas resistentes, nas duas concentrações de  $\text{CO}_2$ , atingindo uma diferença de quase 50%.

Já, nos tratamentos sem aplicação de glyphosate, os valores de A foram maiores entre as 13 e 15 h, enquanto os valores de Ci diminuíram drasticamente durante as duas últimas avaliações. Nota-se que os valores de A e Ci foram semelhantes para os dois biótipos (pico entre as 13 e 15 h), onde os valores alcançados em 400 e 800 ppm foram, respectivamente, próximos de 30 e 40  $\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (A) e 55 e 190  $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Ci). Comparando as duas concentrações entre si, os valores de A e Ci foram, respectivamente, 25% e 70% maiores quando as plantas cresceram em atmosfera com elevada concentração de  $\text{CO}_2$  ( $p < 0,05$ ).

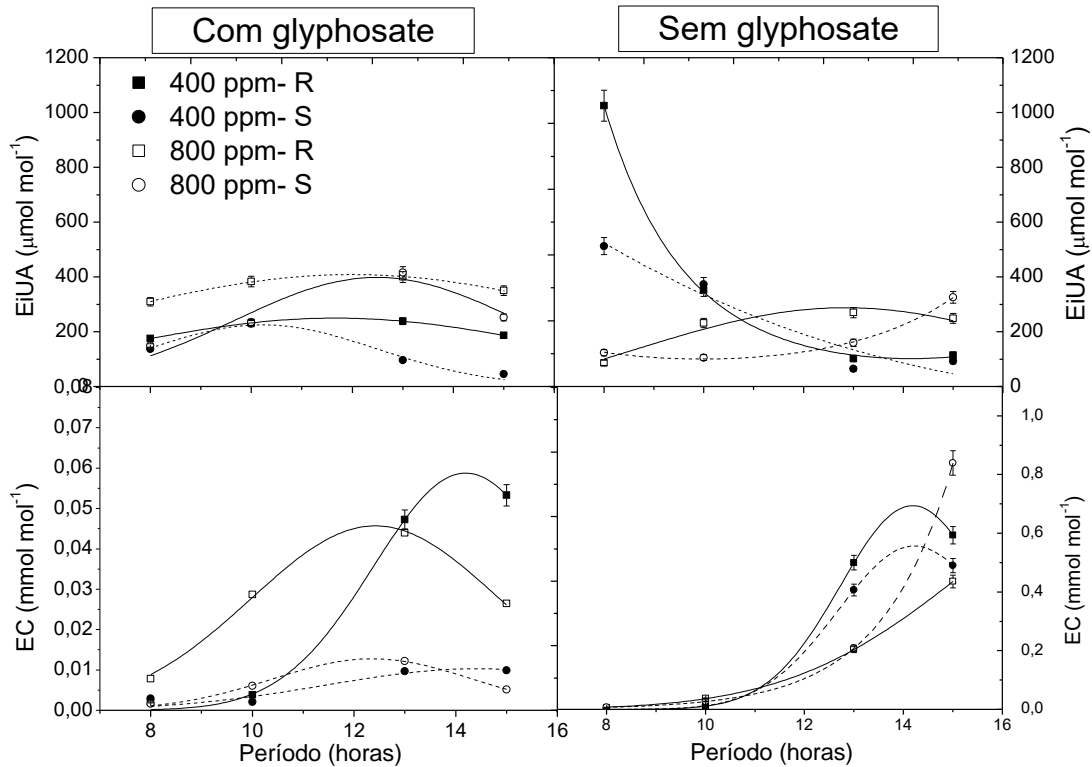
Os parâmetros da regressão estimados pela equação exponencial das variáveis de trocas gasosas no manejo com e sem aplicação de biótipos resistentes e suscetíveis de *D. insularis*, estão apresentados a seguir (Tabela 20).

**Tabela 20.** Parâmetros da regressão estimados pela equação exponencial, para a resposta das variáveis de condutância estomática (**G<sub>s</sub>**; mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), taxa transpiratória (**E**; mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e fotossíntese líquida (**A**; μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>),

Variável	[CO <sub>2</sub> ] (ppm)	Biótipo/Manejo	Parâmetros da equação			R <sup>2</sup>
			A	B	C	
<b>G<sub>s</sub></b>	<b>400</b>	<b>RH</b>	-5,15	0,11	0,00	0,99
		<b>RT</b>	-20,37	2,73	-0,10	0,99
		<b>SH</b>	-5,97	0,19	0,00	0,99
		<b>ST</b>	-24,59	3,47	-0,13	0,99
<b>G<sub>s</sub></b>	<b>800</b>	<b>RH</b>	-9,57	0,88	-0,03	0,99
		<b>RT</b>	-12,18	1,51	-0,06	0,99
		<b>SH</b>	-10,46	1,16	-0,05	0,92
		<b>ST</b>	-20,47	2,97	-0,12	0,98
<b>E</b>	<b>400</b>	<b>RH</b>	-7,36	0,83	-0,02	0,93
		<b>RT</b>	-22,15	3,36	-0,12	0,99
		<b>SH</b>	-25,68	3,72	-0,13	0,95
		<b>ST</b>	-27,93	4,37	-0,16	0,99
<b>E</b>	<b>800</b>	<b>RH</b>	-11,68	1,72	-0,06	0,99
		<b>RT</b>	-11,91	1,89	-0,07	0,99
		<b>SH</b>	-28,32	5,26	-0,24	0,83
		<b>ST</b>	-20,73	3,45	-0,13	0,99
<b>Ci</b>	<b>400</b>	<b>RH</b>	-14,59	4,47	-0,23	0,97
		<b>RT</b>	-11,74	4,23	-0,23	0,99
		<b>SH</b>	-9,78	3,32	-0,17	0,87
		<b>ST</b>	-13,05	4,32	-0,23	0,99
<b>Ci</b>	<b>800</b>	<b>RH</b>	11,57	-1,02	0,04	0,97
		<b>RT</b>	8,46	-0,27	0,00	0,99
		<b>SH</b>	11,25	-0,71	0,02	0,95
		<b>ST</b>	6,32	0,19	-0,02	0,97
<b>A</b>	<b>400</b>	<b>RH</b>	-6,59	1,35	-0,05	0,71
		<b>RT</b>	8,71	1,83	-0,07	0,96
		<b>SH</b>	-3,54	0,75	-0,03	0,96
		<b>ST</b>	-8,44	1,78	-0,07	0,97
<b>A</b>	<b>800</b>	<b>RH</b>	-4,30	1,03	-0,04	0,79
		<b>RT</b>	-8,50	1,80	-0,07	0,99
		<b>SH</b>	-8,56	1,77	-0,08	0,98
		<b>ST</b>	-10,57	2,10	-0,08	0,99

De maneira geral, a EiUA das plantas que conviveram em ambiente com 800 ppm foi significativamente mais elevada que em 400 ppm. Pode ser observado que no tratamento com aplicação de glyphosate, a EiUA foi, em média, 30% mais elevada

em 800 ppm (Figura 13). Já, na ausência do herbicida, até as 10 h, a eficiência foi maior em 400 ppm e, nos períodos mais quentes do dia (avaliações das 13 e 15 h), tornou-se maior em 800 ppm.



**Figura 13.** Eficiência intrínseca do uso da água (EiUA) e eficiência instantânea da carboxilação (EC) dos biótipos resistente (R) e suscetível (S) de capim-amargoso, no manejo com e sem glyphosate, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> (400 e 800 ppm). Média ± Erro padrão (n=6).

A EiUA nas plantas do biótipo-R também se mostrou mais elevada na maioria dos tratamentos e nos horários avaliados, com aumento em torno de 40%. No manejo sem glyphosate, as únicas exceções foram às 8 h (em 400 ppm) e às 13 h (800 ppm), onde os valores foram semelhantes. No manejo com a aplicação de glyphosate, em 400 ppm, a única diferença ocorreu às 8h da manhã, onde o biótipo-R apresentou maior eficiência. Já na concentração de 800 ppm, a única exceção foi às 15 h, onde o biótipo-S atinge 17% mais eficiência (Figura 13).

Quanto aos resultados de EC, de maneira geral, estes foram mais elevados nas plantas que não receberam aplicação de glyphosate, atingindo uma diferença de 50% nos diferentes horários avaliados (Figura 13). Ainda, neste manejo sem o herbicida, comparando o efeito das duas concentrações de CO<sub>2</sub> na EC, para o biótipo-

R, a eficiência foi maior quando as plantas cresceram na concentração de 400 ppm (19%) ( $p < 0,05$ ), enquanto para o biótipo-S, a EC foi maior quando cresceram em 800 ppm (42%). Com relação as possíveis diferenças entre os biótipos, de maneira geral, o resultado foi semelhante para ambos nos tratamentos analisados.

Pelos resultados de EC obtidos dentro do tratamento que recebeu aplicação de glyphosate, nota-se que, a EC foi mais elevada em 800 ppm no período da manhã, entre às 8 e 12 h, e mais elevada em 400 ppm no período da tarde, após as 13 h. Entre os biótipos, diferenças ocorreram a partir das 10 h e, de maneira geral, o biótipo-R teve maior eficiência que o biótipo-S, nas duas condições de CO<sub>2</sub>.

Os parâmetros da regressão estimados pela equação exponencial das variáveis de trocas gasosas no manejo com e sem aplicação de biótipos resistentes e suscetíveis de *D. insularis*, estão apresentados a seguir (Tabela 21).

**Tabela 21.** Parâmetros da regressão estimados pela equação exponencial, para a resposta das variáveis eficiência intrínseca do uso da água (**EiUA**:  $\mu\text{mol mmol}^{-1}$ ) e eficiência instantânea da carboxilação (**EC**;  $\text{mmol mol}^{-1}$ ) dos biótipos resistente (**R**) e suscetível (**S**) de capim-amargoso no manejo com (**H**) e sem (**T**) glyphosate, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> (400 e 800 ppm).

<b>EiUA</b>	<b>400</b>	<b>RH</b>	-5,87	1,83	-0,09	0,70
		<b>RT</b>	17,20	-2,14	0,07	0,99
		<b>SH</b>	-40,70	8,99	-0,44	0,99
		<b>ST</b>	-1,66	1,09	-0,06	0,82
<b>EiUA</b>	<b>800</b>	<b>RH</b>	5,07	-0,26	0,01	0,95
		<b>RT</b>	2,80	-0,03	0,00	0,96
		<b>SH</b>	-1,59	0,83	-0,03	0,91
		<b>ST</b>	11,20	-1,53	0,06	0,98
<b>EC</b>	<b>400</b>	<b>RH</b>	-33,49	4,32	-0,15	0,99
		<b>RT</b>	-47,51	6,65	-0,23	0,99
		<b>SH</b>	-16,31	1,63	-0,06	0,68
		<b>ST</b>	-43,18	5,99	-0,21	0,99
<b>EC</b>	<b>800</b>	<b>RH</b>	-16,05	2,09	-0,08	0,99
		<b>RT</b>	-13,99	1,45	-0,03	0,99
		<b>SH</b>	-24,01	3,18	-0,13	0,99
		<b>ST</b>	-9,95	0,60	0,00	1,00

### 3.2. Pigmentos fotossintéticos, sistema antioxidante enzimático e peroxidação lipídica

#### 3.2.1. Pigmentos fotossintéticos



Na Tabela 22 encontra-se o resumo da análise de variância em relação aos carotenoides e clorofila total dos fatores concentração de CO<sub>2</sub>, biótipo e manejo.

**Tabela 22.** Análise de variância em relação aos carotenoides ( $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS) e clorofila total (Chl total:  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MS) e desdobramento da interação dos fatores concentração de CO<sub>2</sub> (**A**), biótipos (**B**) e manejo (**C**).

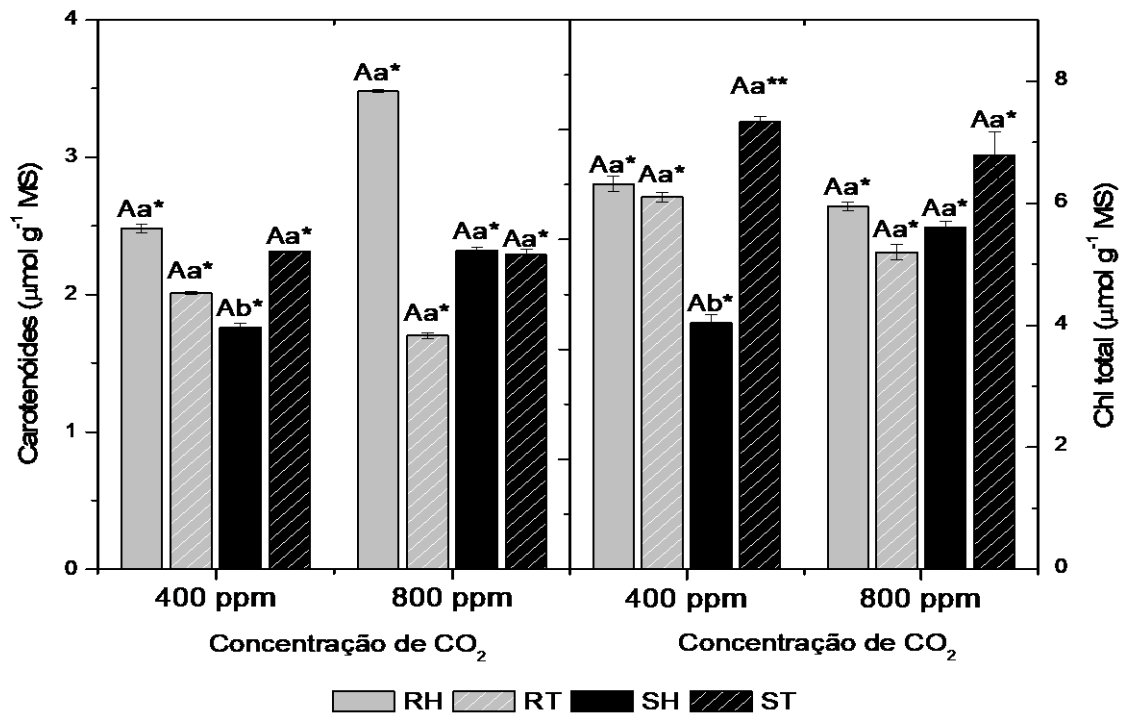
Tratamentos	Carotenoides	Chl Total
F(A)	0,03 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>
F(B)	0,02 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
F(C)	0,84 <sup>ns</sup>	3,73 <sup>ns</sup>
F(AxB)	1,80 <sup>ns</sup>	1,58 <sup>ns</sup>
F(AxC)	1,33 <sup>ns</sup>	2,13 <sup>ns</sup>
F(BxC)	5,76*	9,02**
F(AxBxC)	0,31 <sup>ns</sup>	0,75 <sup>ns</sup>
CV(%)	27,98	26,49

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F; \* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F; ns- Não significativo.

O conteúdo de carotenoides entre as concentrações de CO<sub>2</sub> não apresentou diferença em nenhum tratamento estudado ( $p > 0,05$ ) (Figura 14). Entre os biótipos, a concentração de carotenoides diferiu somente no tratamento com glyphosate, onde os valores em 400 e 800 ppm foram, respectivamente, 29% e 33% ( $p < 0,05$ ) mais elevados no biótipo-R. Comparando o manejo do herbicida entre si, a única diferença observada foi no manejo onde foi aplicado o glyphosate. No tratamento com aplicação de glyphosate as plantas do biótipo-R exibiu teores em torno de 19% (400 ppm) e 51% (800 ppm), enquanto nas plantas do biótipo-S, a aplicação do herbicida reduziu os valores a 24% (400 ppm).

Os níveis de clorofila entre as concentrações de CO<sub>2</sub> não apresentou diferença em nenhum tratamento estudado ( $p > 0,05$ ). Comparando os biótipos entre si, na aplicação de glyphosate, os teores de clorofila no biótipo-R, assim como os de carotenoides, também foram mais elevados que no biótipo-S, esse aumento foi de 36% ( $p < 0,05$ ) em 400 ppm. No tratamento sem herbicida, não houve diferença significativa entre os biótipos. Quanto às diferenças entre o manejo, a aplicação do herbicida não alterou os valores de clorofila nas plantas resistentes. Contudo, nas plantas suscetíveis, a concentração da molécula foi 45% ( $p < 0,01$ ) e 17% ( $p > 0,05$ ) menores no manejo com glyphosate, em 400 e 800 ppm, respectivamente (Figura 10).

Nota-se que o glyphosate reduziu a concentração de carotenoides e clorofila (27%) nas plantas suscetíveis, o que foi perceptível visualmente, pelos sintomas levemente amarelados ao 4º DAA. Este amarelecimento não foi observado nas plantas resistentes até o 7 DAA.



**Figura 14.** Concentração de carotenoides e de clorofila total (**Chl total**) dos biótipos resistente (**R**) e suscetível (**S**) de capim-amargoso, no manejo com (**H**) e sem (**T**) glyphosate, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> (400 e 800 ppm). Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as concentrações de CO<sub>2</sub>, dentro do mesmo biótipo e manejo. Letras minúsculas comparam os biótipos, dentro do mesmo manejo e concentração de CO<sub>2</sub>. Asteriscos comparam os manejos, dentro do mesmo biótipo e concentração de CO<sub>2</sub>. Média ± Erro padrão (n=6).

### 3.2.2. Peroxidação lipídica e atividade enzimática

Na Tabela 23 encontra-se o resumo da análise de variância em relação à concentração de malondialdeído e à atividade específica das enzimas dos fatores concentração de CO<sub>2</sub>, biótipo e manejo.

**Tabela 23.** Análise de variância em relação à concentração de malondialdeído (MDA, nmol g<sup>-1</sup> de massa seca) e à atividade específica (U mg<sup>-1</sup> proteína) das enzimas catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), superóxido dismutase e guaiacol peroxidase (POD III) e desdobramento da interação dos fatores concentração de CO<sub>2</sub> (A), biótipos (B) e manejo (C).

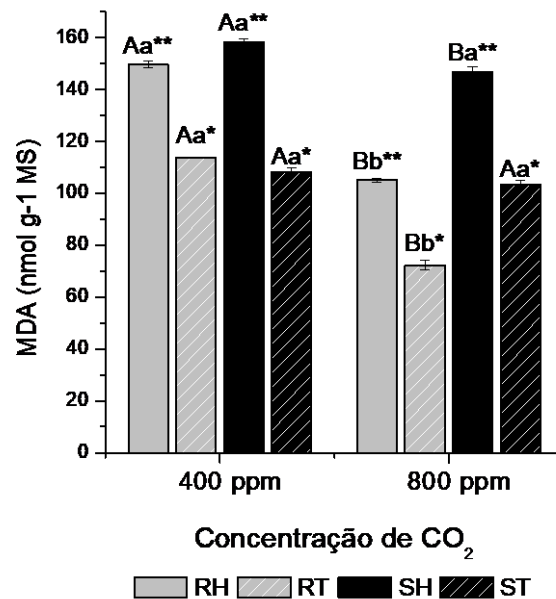
Tratamento	MDA	CAT	APX	SOD	GPX
F(A)	540,90**	16,14**	9,23**	0,03 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>
F(B)	88,53**	0,01 <sup>ns</sup>	14,63**	22,52**	0,57 <sup>ns</sup>
F(C)	559,27**	2,68 <sup>ns</sup>	26,85**	7,77 <sup>ns</sup>	19,45**
F(AxB)	395,55**	1,20 <sup>ns</sup>	0,30 <sup>ns</sup>	0,46 <sup>ns</sup>	4,56*
F(AxC)	8,14**	0,70 <sup>ns</sup>	16,56**	6,71**	0,32 <sup>ns</sup>
F(BxC)	115,67**	1,23 <sup>ns</sup>	4,94**	2,04 <sup>ns</sup>	0,52 <sup>ns</sup>
F(AxBxC)	8,25**	0,01 <sup>ns</sup>	6,94*	2,50 <sup>ns</sup>	0,02 <sup>ns</sup>
CV(%)	14,05	18,00	15,43	26,49	14

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F; \* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F; ns- Não significativo.

De maneira geral, os níveis de MDA em ambiente com 800 ppm foram menores que em 400 ppm, nos manejos com e sem glyphosate (Figura 11). Na concentração mais elevada de CO<sub>2</sub>, 800 ppm, a redução da peroxidação lipídica foi em torno de 33% (p<0,05) e 8% (p<0,05), respectivamente, para os biótipos resistente (nos dois manejos) e suscetível (manejo com glyphosate).

Comparando os biótipos entre si, diferenças entre ambos ocorreram somente em 800 ppm, onde os níveis de MDA para biótipo-R foram significativamente menores que no biótipo-S. No manejo com aplicação, a redução foi de 35% (p<0,05), enquanto no manejo sem glyphosate, a redução foi de 30% (p<0,05).

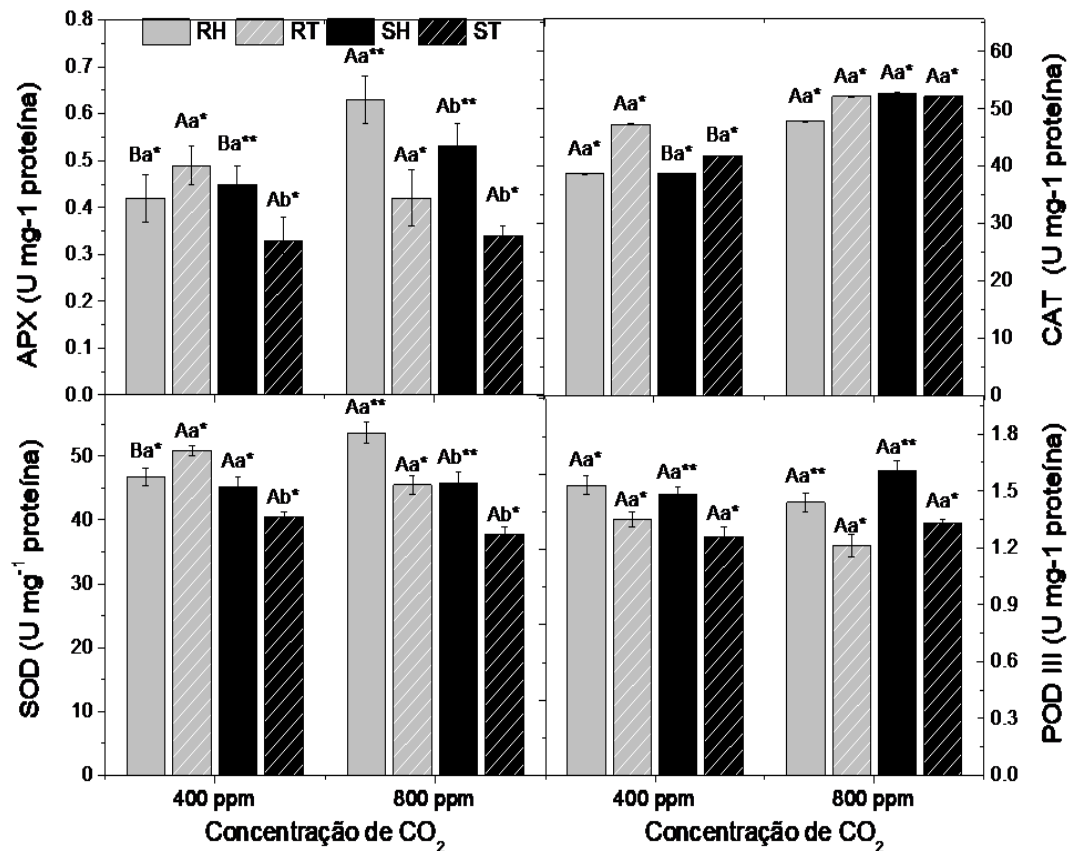
A aplicação de glyphosate nas plantas resistente e suscetível, nas duas concentrações, promoveu em média 27% e 32%, respectivamente, mais peroxidação em relação ao manejo sem herbicida (Figura 11).



**Figura 11.** Concentração de malondialdeído (MDA) dos biótipos resistente (R) e suscetível (S) de capim-amargoso, no manejo com (H) e sem (T) glyphosate, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> (400 e 800 ppm). Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as concentrações de CO<sub>2</sub>, dentro do mesmo biótipo e manejo. Letras minúsculas comparam os biótipos, dentro do mesmo manejo e concentração de CO<sub>2</sub>. Asteriscos comparam os manejos, dentro do mesmo biótipo e concentração de CO<sub>2</sub>. Média ± Erro padrão (n=6).

Com relação ao efeito das concentrações de CO<sub>2</sub> na atividade de APX, a diferença observada foi quando se aplicou o glyphosate, onde os valores foram 33% (biótipo-R) e 15% (biótipo-S) mais elevados em 800 ppm ( $p < 0,05$ ) (Figura 12). Entre os biótipos, de maneira geral, os valores da APX foram, em média, 23% mais elevados nas plantas resistentes que nas suscetíveis ( $p < 0,05$ ), exceto no manejo com glyphosate em 400 ppm. Entre os manejos, as plantas resistentes somente apresentaram diferença na concentração de 800 ppm, onde a atividade da APX foi 33% ( $p < 0,05$ ) maior quando foi aplicado herbicida. Para o biótipo-S, a aplicação de glyphosate elevou os valores de APX, tanto em 400 ppm quanto em 800 ppm. O aumento atingido foi de 27% e 36%, respectivamente.

A única diferença encontrada para a atividade da CAT, foi entre as concentrações de CO<sub>2</sub>, quando o biótipo-S se desenvolveu em 800 ppm, onde a atividade foi 36% e 20% mais elevada no manejo com e sem glyphosate, respectivamente.



**Figura 12.** Atividade específica das enzimas ascorbato peroxidase (**APX**), catalase (**CAT**), superóxido dismutase (**SOD**) e guaiacol peroxidase (**POD III**) dos biótipos resistente (**R**) e suscetível (**S**) de capim-amargoso, no manejo com (**H**) e sem (**T**) glyphosate, sob duas concentrações de CO<sub>2</sub> (400 e 800 ppm). Médias seguidas por diferentes letras diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras maiúsculas comparam as concentrações de CO<sub>2</sub>, dentro do mesmo biótipo e manejo. Letras minúsculas comparam os biótipos, dentro do mesmo manejo e concentração de CO<sub>2</sub>. Asteriscos comparam os manejos, dentro do mesmo biótipo e concentração de CO<sub>2</sub>. Média ± Erro padrão (n=6).

Com relação à atividade da SOD, comparando as concentrações de CO<sub>2</sub> entre si, a única diferença observada foi no tratamento com aplicação de glyphosate no biótipo-R, onde a atividade foi 13% maior no ambiente com 800 ppm. Quanto às diferenças entre os biótipos, as plantas resistentes tiveram uma atividade, em média, 18% superior nos dois manejos e nas duas concentrações, exceto em 400 ppm no manejo com aplicação ( $p > 0,05$ ). Além disso, o efeito do manejo na atividade da SOD ocorreu somente quando as plantas dos dois biótipos cresceram em 800 ppm, onde a aplicação de glyphosate provocou um aumento de 16%, em média (Figura 12).

As concentrações de CO<sub>2</sub> não produziram nenhuma alteração na atividade da enzima GPX, e também não houve nenhuma diferença entre os biótipos. Somente foi observado diferenças quanto ao efeito do manejo, onde a aplicação de glyphosate provocou um aumento de 16,5% ( $p < 0,01$ ) quando as plantas se desenvolveram em 800 ppm.

#### **4. DISCUSSÃO**

Pelos resultados obtidos para o controle dos biótipos nas diferentes concentrações de CO<sub>2</sub>, pode ser observado que não foi encontrado diferença no controle, do biótipo-R ao longo das avaliações, apesar do incremento em massa e da atividade enzimática sob 800 ppm. Contudo, para o biótipo-S, a taxa do controle proporcionado pelo herbicida foi maior em 800 ppm, e aos 21 DAA, as plantas já estavam mortas. No manejo químico, maiores taxas de controle obtidas no início da aplicação reduzem o potencial de crescimento das plantas daninhas, o que pode reduzir a competição com a cultura.

Com relação ao maior crescimento do biótipo resistente sobre o suscetível observado neste trabalho, também já foi relatado em outros trabalhos. Martins et al. (2016) relataram que os biótipos resistentes apresentaram crescimento mais rápido e uma taxa de assimilação (incremento de massa seca total em função da área foliar) maior que o biótipo suscetível. A taxa de assimilação encontrada nas plantas resistentes indica que o biótipo é mais adaptado a altos níveis de irradiância durante o estágio inicial de desenvolvimento devido a maior eficiência do sistema fotossintético. Um trabalho conduzido por Barroso et al. (2015) evidenciou menor distância dos feixes vasculares para os biótipos resistentes. Os autores relatam que folhas com feixes próximos possuem menor resistência hidráulica e altas taxas fotossintéticas, portanto, as taxas fotossintéticas mais altas em plantas resistentes podem explicar seu desenvolvimento mais rápido em comparação aos suscetíveis. Os valores de fotossíntese fornecem informações que podem ser relacionadas com a eficiência do uso de recursos disponíveis no ambiente, como a eficiência no uso dos nutrientes ou da água (LARCHER, 2004).

Ainda, com relação aos dados obtidos pela avaliação de massa seca, os dois biótipos apresentaram uma resposta mais elevada no crescimento quando estes estavam alocados em ambiente com 800 ppm, no manejo sem glyphosate. Trabalhos na literatura relatam que o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico não provocaria mudanças na taxa de fixação de CO<sub>2</sub>, no crescimento e/ou na produção de biomassa das plantas C4 (tolerantes ou não ao herbicida) que são fotossinteticamente saturadas ao nível atual de [CO<sub>2</sub>], em condições ideais (ZISKA; GEORGE, 2004; AINSWORTH; LONG, 2005) ou que um aumento expressivo de A seria estimulado por um efeito indireto resultante da interação do estresse hídrico com a redução da gs em níveis elevados de CO<sub>2</sub> (LEAKEY et al., 2004; AINSWORTH; ROGERS, 2007). Contudo, algumas espécies de plantas C4 têm respondido positivamente ao incremento de área foliar e de biomassa, crescimento e/ou alteração da susceptibilidade das plantas daninhas, sem restrição da disponibilidade de recursos do meio (MANEA; LEISHMAN; DOWNEY, 2011; ZHANG et al., 2015).

Essa sensibilidade das plantas a elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> ocorre através do aumento de A e redução da gs (ROELFSEMA et al., 2006; YOUNG et al., 2006; AINSWORTH; ROGERS, 2007), fato este que foi observado neste trabalho. Dois fatores podem contribuir para a redução da gs, um em curto prazo, em função da despolarização do potencial da membrana das células guardas, provocando o fechamento estomático e, outro em longo prazo, onde as diminuições em gs podem ser causadas por alterações na densidade estomática ou no índice estomático (AINSWORTH; ROGERS, 2007).

As respostas positivas no crescimento das plantas daninhas C4 a elevada concentração de CO<sub>2</sub> também podem ser relacionadas a duas rotas principais, em condições tanto com e sem estresse hídrico. Em primeiro lugar, através do aumento das taxas de assimilação de CO<sub>2</sub> foliar devido ao aumento da concentração de CO<sub>2</sub> intercelular. Em segundo lugar, através da redução da condutância estomática e, subsequentemente, das taxas de transpiração das folhas. Taxas de transpiração reduzidas podem estimular a assimilação de CO<sub>2</sub> pelas folhas e as taxas de crescimento através da conservação da água do solo, melhorando as relações da água na planta e aumentando a temperatura da folha (GHANNOUM et al., 2000).

Na maior parte das avaliações, a EiUA foi mais elevada em ambiente com 800 ppm, principalmente nos horários mais quentes do dia (13 e 15 h). Além disso, as plantas resistentes atingiram valores mais elevados que as suscetíveis. A eficiência mais elevada pode ser atingida através da condutância estomática mais baixa ou a maior capacidade fotossintética ou uma combinação de ambos (TAMBUSSI; BORT; ARAUS, 2007). Como já foi citado anteriormente, a elevada concentração de CO<sub>2</sub> provoca o fechamento parcial dos estômatos e, assim, diminui a transpiração das folhas. A conservação da água e o incremento da eficiência como resultado do fechamento parcial dos estômatos têm sido considerados como mecanismos que contribuem para as respostas no crescimento positivo das plantas C4 a elevadas concentrações de CO<sub>2</sub>, provavelmente, o aumento da eficiência no uso da água parece ter maior importância do que o aumento da fotossíntese líquida por si só (DRAKE; GONZALES-MELER; LONG, 1997; ALLEN JR. et al., 2011).

Outro ponto observado neste trabalho foi que o aumento de A provocou queda acentuada em Ci, após as 10 h, onde os valores se tornam constantes, ao passo que gs aumenta. Tal fato pode estar associado a maior taxa de consumo de CO<sub>2</sub> em relação ao influxo de CO<sub>2</sub> através do poro estomático. Com a queda da concentração de Ci há um estímulo para que ocorra abertura dos estômatos, o que provoca maior influxo de CO<sub>2</sub> para a cavidade subestomática, gerando um equilíbrio entre consumo e entrada de CO<sub>2</sub>, mantendo Ci aproximadamente constante (MACHADO et al., 2005).

Os resultados observados para os teores de macronutrientes na parte aérea das plantas mostram que o teor de K foi afetado pela aplicação de glyphosate e pela concentração elevada de CO<sub>2</sub>. Alguns trabalhos têm relatado que as concentrações de nutrientes tendem a ser menores quando as plantas crescem em condições elevadas de CO<sub>2</sub> (PRIOR et al., 2008; TAUB; MILLER; ALLEN, 2008; MYERS et al., 2014) e quando são tratadas com aplicação de glyphosate (ZOBIOLE et al. 2012)

A maior parte dos trabalhos que avaliam a redução de nutrientes em atmosfera elevada de CO<sub>2</sub> tem estudado as mudanças no conteúdo de N. Uma meta-análise com 122 estudos relata que o teor de N total das folhas diminui (16%) em ambientes com altas concentrações de CO<sub>2</sub> (ROBINSON et al., 2012). MCGRATH e LOBELL (2013) sugerem que duas hipóteses (não testadas) estariam ligadas a redução no valor dos nutrientes: (1) que a redução da transpiração do dossel reduz o fluxo maciço



de nutrientes para as raízes, reduzindo assim a absorção de nutrientes (neste trabalho foi observado a redução da transpiração das plantas em ambiente com elevada concentração de CO<sub>2</sub>) e (2) que as mudanças nos processos fisiológicos podem afetar diferencialmente as proteínas e seus constituintes minerais, alterando a alocação e, possivelmente, a demanda total de nutriente.

A presença de carotenoides nas plantas suscetíveis, em relação as resistentes, é maior quando não há manejo do herbicida (400 e 800 ppm). Contudo, após a aplicação do glyphosate essa taxa decresce, e os valores se tornam maiores nas plantas resistentes. Esse aumento após aplicação de glyphosate pode estar envolvido com os mecanismos que envolvem a respostas de defesa das plantas. Alguns autores relatam que as plantas quando expostas ao estresse oxidativo por metais pesados apresentaram uma quantidade mais elevada de carotenoides nas folhas (GUPTA; SRIVASTAVA; SARADHI, 2009; PINTO et al., 2011).

O sistema de defesa das plantas ocorre através de compostos enzimáticos e não-enzimáticos. As plantas mantêm uma gama de variedade antioxidantes não-enzimáticos, de origem endógena ou dietética, como ácido ascórbico, glutathione reduzida, flavonoides, carotenoides, vitaminas, minerais e compostos fenólicos (MALLICK; MOHN, 2000; BARBOSA et al., 2010). Os carotenoides têm sido associados à atividade antioxidante nas plantas contra as ERO e o estresse fotoxidativo, pela capacidade de eliminar as EROS (SENGAR et al., 2008; RAMEL et al., 2012).

A aplicação de glyphosate nas plantas suscetíveis também provocou uma queda acentuada da concentração de clorofila total e aumento dos níveis de MDA. A redução no teor de clorofila já foi relatada por outros autores após a aplicação do herbicida, devido à degradação ou inibição da biossíntese de clorofila (ZOBIOLE et al., 2010; HUANG et al., 2012). O ácido aminometilfosfônico (AMPA), principal metabolito do glyphosate, pode ser um dos responsáveis pelos efeitos deletérios na biossíntese de clorofila, por mecanismos ainda desconhecidos (REDDY; RIMANDO; DUKE, 2004; GOMES et al, 2014). O decréscimo do conteúdo de Mg nas folhas após aplicação do herbicida é outro fator que poderia interferir indiretamente na síntese de clorofila e na taxa fotossintética (como foi observado acima, a aplicação de glyphosate causou redução da fotossíntese nas plantas). Isso ocorre porque a incorporação de

Mg por Mg-chelatase na estrutura de porfirina é um passo necessário que leva à síntese de moléculas de clorofila (ZOBIOLE et al., 2010; GOMES et al., 2014).

Além disso, as diferentes formulações de glyphosate também estão envolvidas no aumento da produção de ânions superóxido e, conseqüentemente, no desencadeamento de estresse oxidativo e das respostas antioxidantes (PEIXOTO, 2005), o que provavelmente é um efeito secundário do bloqueio do ácido shiquímico (GOMES et al., 2014). Quando as plantas estão sob estresse oxidativo (fatores abióticos) podem provocar perdas significativas de clorofila, prejudicando, conseqüentemente, a fotossíntese foliar (HUANG et al. 2005; NEVES et al., 2009).

De maneira geral, a peroxidação lipídica foi mais intensa nos tratamentos que receberam aplicação de glyphosate, independente do biótipo e da concentração de CO<sub>2</sub>, resultado este associado ao estresse oxidativo provocado pelo glyphosate, como descrito acima. Apesar da peroxidação lipídica alcançar valores semelhantes entre os biótipos em ambiente com 400 ppm, foi observado que todas as enzimas das plantas resistentes tiveram valores semelhantes entre os tratamentos com e sem glyphosate, ao passo que a atividade da APX e da GPX nas plantas suscetíveis tiveram incremento após aplicação de glyphosate. Dessa forma, com a atuação dessas duas enzimas nas plantas suscetíveis, os níveis de MDA podem ter decrescido tornando-se semelhantes aos níveis das plantas resistentes.

A peroxidação lipídica é a principal consequência do estresse oxidativo, sendo considerada como um indicador indireto da ação de espécies reativas de oxigênio (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990). O MDA é o produto de decomposição de ácidos graxos polinsaturados de biomembranas (produto secundário da peroxidação lipídica), e seu aumento indica que as plantas estão sob estresse antioxidante de alto nível (DRAPER; HADLEY, 1990). Trabalhos como o de Maroli et al. (2015) e Chiang et al. (2008) demonstraram que os níveis de MDA foram maiores nas plantas suscetíveis que nas resistentes a glyphosate de *Amaranthus palmeri* e a paraquat de *C. sumatrensis*, respectivamente. Os autores relatam ainda que a eficiência na degradação de EROS pelas plantas resistentes possa complementar a resistência de biótipos R.

Os níveis de MDA após aplicação do glyphosate, tanto nas plantas resistentes quanto nas suscetíveis, mantiveram-se menores em ambiente com 800

ppm, ao passo que maior atividade enzimática (APX, CAT e SOD) foi encontrada. Um dos efeitos relatados em plantas sob elevada concentração de CO<sub>2</sub> é a redução do estresse abiótico. Tal fato tem sido demonstrado pela redução do estresse oxidativo celular (peroxidação lipídica) e pela redução das espécies reativas de oxigênio (MISRA; CHEN, 2015). Os mecanismos que possivelmente estão envolvidos nesse processo podem ocorrer através do aumento do sistema antioxidante ou pelo decréscimo da fotorrespiração (elevada atmosfera de CO<sub>2</sub> promove a carboxilação em relação à oxigenação da rubisco, reduzindo a produção H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Mais especificamente com relação ao sistema antioxidante, o aumento da disponibilidade de C, possivelmente resulta em maior oferta de moléculas antioxidantes. Contudo, nas plantas C<sub>4</sub>, a fotorrespiração não é um processo muito ativo, e pode ocorrer a redução das EROS pela elevada concentração de CO<sub>2</sub> sem alteração no sistema antioxidante. Isto pode sugerir que, outros processos não estomáticos além das defesas antioxidantes e fotorrespiração, contribuem para a mitigação do estresse (ABDELGAWAD et al., 2016), incluindo mudanças metabólicas.

Vale ressaltar que, na concentração de 800 ppm, a queda dos níveis de MDA foi muito mais intensa e significativa nas plantas resistentes (30%), da mesma forma que a atividade da APX e SOD foram mais elevadas (16%) que nas suscetíveis, o que pode significar um efeito positivo do aumento do CO<sub>2</sub> no desempenho do sistema antioxidante das resistentes na redução do dano oxidativo nessas plantas. A APX parece desempenhar um papel importante na redução da peroxidação lipídica nas plantas resistentes de *A. palmeri* (CHIANG et al., 2008). Além disso, alguns trabalhos têm reportado aumento da atividade da APX e da SOD após aplicação de glyphosate em plantas tolerantes ou não, indicando que as formulações induzem o estresse oxidativo (AHSAN et al., 2008; ROMERO; MOLINA; JUAREZ, 2011).

Nesse contexto, pelo fato do biótipo resistente produzir mais massa e apresentar um sistema antioxidante mais eficiente em ambiente com elevada concentração de CO<sub>2</sub>, é fundamental que o controle dessas plantas seja realizado em estágios iniciais de crescimento para limitar o desenvolvimento da planta e, conseqüentemente, a formação de rizomas e produção de sementes, a fim de evitar a competição da planta daninha com a cultura. Caso contrário, a adoção tardia do

manejo dessas plantas será ainda mais dificultada pelo fato dessas plantas crescerem mais em ambiente com concentração mais elevada de CO<sub>2</sub>.

## 5. Conclusão

Em atmosfera com 800 ppm, as taxas mais elevadas de fotossíntese ou da eficiência do uso da água nos biótipos de capim-amargoso resistente e suscetível ao glyphosate sugerem que o maior crescimento observado das plantas pode estar relacionado a estes fatores.

O maior crescimento dos biótipos não refletiu na eficiência de controle, portanto, as doses do herbicida glyphosate não necessitam ser ajustadas para o controle de capim-amargoso resistente e suscetível sob concentrações de 800 ppm.

Em ambiente com 800 ppm, o aumento das atividades das enzimas CAT e SOD, e da concentração de carotenoides no biótipo resistente indicam que o ambiente com concentração de CO<sub>2</sub> mais elevada pode favorecer o sistema de defesa enzimático e não-enzimático desse biótipo.

## 6. REFERÊNCIAS

ABDELGAWAD, H.; ZINTA, G.; BEEMSTER, G. T. S.; JANSSENS, I. A.; ASARD, H. Future climate CO<sub>2</sub> levels mitigate stress impact on plants: increased defense or decreased challenge? **Front Plant Science**, v.7, p. 556, 2016.

AHSAN, N.; LEE, D. G.; LEE, K. W.; ALAM, I.; LEE, S. H.; BAHK, J. D.; LEE, B. H. Glyphosate-induced oxidative stress in rice leaves revealed by proteomic approach. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 46, n. 12, p. 1062–1070, 2008.

AINSWORTH, E. A.; ROGERS, A. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO<sub>2</sub>]: mechanisms and environmental interactions. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n.3, p. 258– 270, 2007.

AINSWORTH, E. A.; LONG, S. P. What have we learned from 15 years of free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO<sub>2</sub>. **New Phytologist**, v. 165, n. 2, p. 351–372, 2005.

ALAM- ASOCIACION LATINOAMERICANA DE MALEZAS. Recomendaciones sobre unificación de los sistemas de evaluación en ensayos de control de malezas. **ALAM**, v. 1, n. 1, p. 35-38, 1974.

ALLEN JR., L. H.; KAKANI, V. G.; VU, J. C. V.; BOOTE, K. J. Elevated CO<sub>2</sub> increases water use efficiency by sustaining photosynthesis of water-limited maize and sorghum. **Journal of Plant Physiology**, v.168, n. 1, p. 1909–1918, 2011.

AZEVEDO, R. A.; ALAS, R. M.; SMITH, R. J.; LEA, P. J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologist Plantarum**, v. 104, n. 2, p. 280-292, 1998.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O. P.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARROSO, A. A. M.; GALEANO, E.; ALBRECHT, A. J. P.; REIS, F. C.; VICTORIA FILHO, R. Does sourgrass leaf anatomy influence glyphosate resistance? **Comunicata Scientiae**, v.6, n. 4, p. 445-453, 2015.

BEAUCHAMP, C. O.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gel. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L.; GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; CRUZ-HIPOLITO, H. E.; ROJANO-DELGADO, A. M.; DE PRADO, R.; GIL-HUMANES, J.; BARRO, F.; CASTRO, M. D. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal of Agriculture Food and Chemistry**, v. 60, n. 2, p. 615-22 2012.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A. C. Assay of catalase and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v. 2, n.11, p. 764-775, 1955.

CHIANG, Y.; WU, Y.; CHIANG, M.; WANG, C. Role of antioxidative system in paraquat resistance of tall fleabane (*Conyza sumatrensis*). **Weed Science**, v. 56, n. 3, p. 350-355, 2008.

Draper, H.; Hadley, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 421-31, 1990.

DRAKE, B. G.; GONZÁLEZ-MELER, M. A.; LONG, S. P. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO<sub>2</sub>. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, 609–639, 1997.

ERICKSON, J. E.; MEGONIGAL, J. P.; PERESTA, G.; DRAKE, B. G. Salinity and sea level mediate elevated CO<sub>2</sub> effects on C<sub>3</sub>–C<sub>4</sub> plant interactions and tissue nitrogen in a *Chesapeake Bay* tidal wetland. *Global Change Biology*, v. 13, n. 1, p. 202–215, 2007.

FERNANDO, M.; MANALIL, S.; FLORENTINE, S. K.; BHAGIRATH,; CHAUHAN, S.; SENEWEERA, S. Glyphosate resistance of c<sub>3</sub> and c<sub>4</sub> weeds under rising atmospheric CO<sub>2</sub>, **Front Plant Science**, v. 7, artigo 910, p. 1-11, 2016.

GHANNOUM, O.; VON CAEMMERER, S.; ZISKA, L. H.; CONROY, J. P. The response of C<sub>4</sub> plants to elevated CO<sub>2</sub> partial pressure: a reassessment. **Plant, Cell and Environment**, v. 23; n. 9, p. 931–942, 2000.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutase I Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

GOMES, M. P.; SMEDBOL, E.; CHALIFOUR, C.; HÉNAULT-ETHIER, L.; LABRECQUE, M.; LEPAGE, L.; LUCOTTE, M.; JUNEAU, P. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: an overview, **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 17, p. 4691–4703, 2014.

GUPTA, S.; SRIVASTAVA, S.; SARADHI, P. P. Chromium increases photosystem 2 activity in *Brassica juncea*. **Biology Plantarum**, v. 53:100–104, 2009.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, v. 186, p. 1-85, 1990.

HEAP, I. Global perspective of herbicide-resistant weeds. **Pest Management Science**, v. 70, n. 9, p. 1306–1315, 2014.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I Kinetics and Stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

HENDRY, G. A. F.; PRICE, A. H. **Stress indicators: chlorophylls and carotenoids**. In: HENDRY, G. A. F.; GRIME, J. P. (Eds.) *Methods in comparative plant ecology*. London: Chapman; Hall, 1993, 485p.

HUANG, C.; HE, W.; GUO, J.; CHANG, X.; SU, P.; ZHANG, L. Increased sensitivity to salt stress in an ascorbate-deficient Arabidopsis mutant. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 422, p. 3041-3049, 2005.

IPCC-INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Climate Change 2013: The Physical Science Basis**. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2013, 1535 pp.

JORGENSEN, S. S. **Metodologia utilizada para análises químicas de rotina: guia analítico**. Piracicaba: CENA, 1977. 24 p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Trad. Carlos Henrique B.A. Prado. São Carlos: Rima. 2004. 531p.

LEAKEY, A. D. B.; BERNACCHI, C. J.; DOHLEMAN, F. G.; ORT, D. R., LONG, S. P. Will photosynthesis of maize (*Zea mays*) in the US Corn Belt increase in future [CO<sub>2</sub>] rich atmospheres? An analysis of diurnal courses of CO<sub>2</sub> uptake under free-air concentration enrichment (FACE). **Global Change Biology**, v. 10, n. 6, p. 951–962, 2004.

MACHADO, E. C.; SCHMIDT, P. T. S.; MEDINA, C. L.; RIBEIRO, R. V. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.12, p.1161-1170, 2005.

MALLICK, N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n. 2, p. 183–193, 2000.

MANEA, A.; LEISHMAN, M. R.; DOWNEY, P. O. Exotic C4 grasses have increased tolerance to glyphosate under elevated carbon dioxide. **Weed Science**, v. 59, n. 1, p. 28–36, 2011.

MAROLI, A. S.; NANDULA, V. K.; DAYAN, F. E.; DUKE, S. O.; GERARD, P.; THARAYIL, N. Metabolic profiling and enzyme analyses indicate a potential role of antioxidant systems in complementing glyphosate resistance in an *Amaranthus palmeri* biotype. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 63, v. 41, p. 9199–209, 2015.

MARTINS J. F.; BARROSO, A. A. M.; CARVALHO, L. B. C.; CESARIN, A. E.; AMARAL, C. L.; NEPOMUCENO, M. P.; DESIDÉRIO, J. A.; ALVES, P. L. C. A. Plant growth and genetic polymorphism in glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis* L. Fedde). **Australian Journal Crop of Science**, v. 10, n.10, p. 1466-1473, 2016.

MCGRATH, J. M.; LOBELL, D. B. Reduction of transpiration and altered nutrient allocation contribute to nutrient decline of crops grown in elevated CO<sub>2</sub> concentrations. **Plant, Cell & Environmental**, v. 36, n. 3, p. 697-705, 2013.

MISRA, B. B. CHEN, S. Advances in understanding CO<sub>2</sub> responsive plant metabolomes in the era of climate change. **Metabolomics**, v. 11, n. 6, p. 1478-1491, 2015.

MYERS, S. S.; ZANOBBETTI, A. Z.; KLOOG, I.; HUYBERS, P.; LEAKEY, A. D. B.; BLOOM, A. J.; CARLISLE, E.; DIETTERICH, L. H.; FITZGERALD, G.; HASEGAWA, T.; HOLBROOK, N. M.; NELSON, R. L.; OTTMAN, M. J.; RABOY, V.; SAKAI, H.; SARTOR, K. A.; SCHWARTZ, J.; SENEWEERA, S.; TAUSZ, M.; USUI, Y. Increasing CO<sub>2</sub> threatens human nutrition. **Nature**, v. 510, p.139–142, 2014.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NEVES, N. R.; OLIVA, M. O.; CENTENO, D. C.; COSTA, A. C.; RIBAS, R. F.; PEREIRA, E. G. Photosynthesis and oxidative stress in the resting plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition:



potencial use in environmental risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 12, p. 3740-3745, 2009.

NOBEL, P. S. **Physicochemical; Environmental Plant Physiology**, Academic Press, San Diego, 2001. 477 p.

NOAA – National oceanic and Atmospheric Administration. **Record annual increase of carbon dioxide observed at Mauna Loa for 2015**. Disponível em: <http://www.noaa.gov/news/record-annual-increase-of-carbon-dioxide-observed-at-mauna-loa-for-2015>. Acesso em: 20 de jan. 2017.

PEIXOTO, F. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. **Chemosphere**, v. 61, n. 8, p. 1115-22, 2005.

PINTO, E.; CARVALHO, A. P.; CARDOZO, K. H. M.; MALCATA, F. X.; ANJOS, F. M.; COLEPICOLO, P. Effects of heavy metals and light levels on the biosynthesis of carotenoids and fatty acids in the macroalgae *Gracilaria tenuistipitata* (var. *liui* Zhang & Xia). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 2, p. 349-354, 2011.

POWLES, S. B. Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 360-365, 2008.

PRIOR, S. A.; RUNION, B. R.; ROGERS, H. H.; TORBERT, A. H. Effects of Atmospheric CO<sub>2</sub> Enrichment on Crop Nutrient Dynamics under No-Till Conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v. 31, p. 758–773, 2008.

RAMEL, F.; BIRTIC, S.; CUINÉ, S.; TRIANTAPHYLIDÈS, C.; RAVANAT, J.; HAVAUX, M. Chemical quenching of singlet oxygen by carotenoids in plants. **Plant Physiology**, v. 158, n. 33, p. 1267–1278, 2012.

REDDY, K. N.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate, causes injury in glyphosate-treated, glyphosate-resistant soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 16, p. 5139- 5143, 2004.

ROBINSON, E. A., RYAN, G. D., NEWMAN, J. A. Meta-analytical review of the effects of elevated CO<sub>2</sub> on plant-arthropod interactions highlights the importance of interacting environmental and biological variables. **New Phytology**, v. 194, p. 321–336, 2012.

ROELFSEMA, M. R. G.; KONRAD, K. R.; MARTEN, H.; PSARAS, G. K.; HARTUNG, W.; HEDRICH, R. Guard cells in albino leaf patches do not respond to photosynthetically active radiation, but are sensitive to blue light, CO<sub>2</sub> and abscisic acid. **Plant, Cell & Environment**, v. 29, n. 2, p. 1595–1605.

ROMERO, M.; MOLINA, M. R.; JUAREZ, A. B. Oxidative stress induced by a commercial glyphosate formulation in a tolerant strain of *Chlorella kessleri*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 741–747, 2011.

SAMMONS, R. D.; GAINES, T. A. Glyphosate resistance: state of knowledge. **Pest Management Science**, v. 70, n. 9, p. 1367–1377, 2014.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56 p.

SENGAR, R. K.; GAUTAM, M.; SENGAR, R. K.; GRAG, S. K.; SENGAR, K.; CHAUDHARY, R. Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants. **Reviews of Environmental Contamination Toxicology**, v. 196, p. 73-93, 2008.

TAMBUSSI, E. A.; BORT, J.; ARAUS, J. L. Water use efficiency in C3 cereals under Mediterranean conditions: a review of physiological aspects. **Annals of Applied Biology**, v. 150, n. 3, p. 307-321, 2007.

TAUB, D. R.; MILLER, B.; ALLEN, H. Effects of elevated CO<sub>2</sub> on the protein concentration of food crops: a meta-analysis. **Global Change Biology**, v. 14, 565–575, 2008.

VITTI, G.C. **Avaliação e interpretação do enxofre no solo e na planta**. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 37 p.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O.; LEITE, O. D. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, 31, n. 4, p. 731-734, 2008.

ZISKA, L. H.; SICHER, R. C.; GEORGE, K.; MOHAN, J. E. Rising atmospheric carbon dioxide and potential impacts on the growth and toxicity of poison ivy (*Toxicodendron radicans*). **Weed Science**, v. 55, n. 4, p. 288–292, 2007.

ZISKA, L. H.; GEORGE, K. Rising carbon dioxide and invasive, noxious plants: potential threats and consequences. **World Resource Review**, v. 16, n. 4, p. 427- 447, 2004.

ZHANG T. J.; FENG L.; TIAN X. S.; PENG C. L.; YANG C. H.; YUE M. F. Differential response of two biotypes of goosegrass (*Eleusine indica*) with different sensitivities to glyphosate to elevated CO<sub>2</sub> concentrations. **Internacional Journal of Agriculture & Biololy**, v. 17,n. 5, p. 969–982, 2015.

ZOBIOLE, L. H. S.; BONINI, E. A.; OLIVEIRA, R.; KREMER, R. J.; FERRARESE-FILHO, O. Glyphosate affects lignin content and amino acid production in glyphosate-resistant soybean. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, n. 5, p. 831-837, 2010.

YOUNG, J. J.; MEHTA, S.; ISRAELSSON, M.; GODOSKI, J.; GRILL, E.; SCHROEDER, J. I. CO<sub>2</sub> signaling in guard cells: calcium sensitivity response modulation, a Ca<sup>2+</sup>-independent phase, and CO<sub>2</sub> insensitivity of the *gca2* mutant. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, p. 7506–7511, 2006.

YUAN J. S.; TRANEL P. J.; STEWART C. N. Jr. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends Plant Science**, v. 12, n. 1, p. 6-13, 2007.