

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**SENSIBILIDADE DE INDIVÍDUOS E PROGÊNIES DE *Bidens pilosa* E
Conyza sumatrensis AO AMÔNIO GLUFOSINATE**

IVANA PAULA FERRAZ SANTOS DE BRITO

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia (Agricultura).

BOTUCATU - SP

Novembro-2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**SENSIBILIDADE DE INDIVÍDUOS E PROGÊNIES DE *Bidens pilosa* E
Conyza sumatrensis AO AMÔNIO GLUFOSINATE**

IVANA PAULA FERRAZ SANTOS DE BRITO

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor
em Agronomia (Agricultura).

BOTUCATU - SP

Novembro-2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO- BOTUCATU (SP)

B862s Brito, Ivana Paula Ferraz Santos de, 1986-
Sensibilidade de indivíduos e progênies de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate / Ivana Paula Ferraz Santos de Brito. - Botucatu : [s.n.], 2016
vii, 64 f.: ils., color, grafs., tabs.

Tese (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2016

Orientador: Edivaldo Domingues Velini

Inclui bibliografia

1. Amônia. 2. Herbicidas. 3. Glutamina. I. Velini, Edivaldo Domingues. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu. III. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: SENSIBILIDADE DE INDIVÍDUOS E PROGÊNIES DE *Bidens pilosa* E *Conyza sumatrensis* AO AMÔNIO GLUFOSINATE

AUTORA: IVANA PAULA FERRAZ SANTOS DE BRITO

ORIENTADOR: EDIVALDO DOMINGUES VELINI

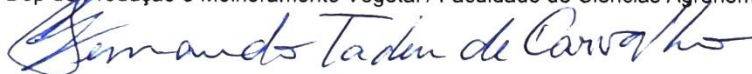
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI
Dep de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu



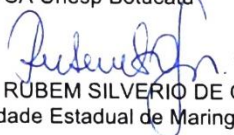
Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI
Dep de Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu



Prof. Dr. FERNANDO TADEU DE CARVALHO
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira



Profa. Dra. NATÁLIA CORNIANI
Fepaf - FCA Unesp Botucatu



Prof. Dr. RUBEM SILVERIO DE OLIVEIRA JUNIOR
Universidade Estadual de Maringá

Botucatu, 11 de novembro de 2016

Aos meus pais Norma e Adelino,
de quem muito me orgulho, minhas eternas
referências de determinação e honestidade,

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo cuidado e por me ajudar a seguir em frente, sempre reservando o melhor em meu caminho;

Àqueles que tenho muito orgulho de dividir a vida:

À minha mãe Norma Santos de Brito, pelo amor, cuidado, apoio e dedicação incondicional em todos os dias da minha vida. Por vibrar a cada vitória, e me fazer esquecer toda a distância quando volto para casa;

Ao meu pai Adelino Eustáquio de Brito e à minha avó Lindaura Viana, exemplos de vida, minhas maiores saudades, pelas doces lembranças de tempos que não se apagam;

À Adeline Ferraz S. Brito e Rosângela Ferraz S. Brito, minhas irmãs, por tudo que já vivemos e superamos juntas, por todo amor e carinho; e ao Alexandre Dourado e Kaíque Moreira, meus cunhados, pela amizade em todos os momentos;

À Isadora e André, os mais lindos sobrinhos, que com tanto carinho e sorrisos iluminam nossa família, e fazem a tia contar os dias para revê-los.

Àqueles que os laços deixaram de ser apenas profissionais:

Ao Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini, tudo que posso fazer é agradecer, por ter sido fundamental para a realização e conclusão do curso de doutorado. Pela amizade e confiança, por todos os conselhos e ensinamentos, orientação e tantas oportunidades, muito obrigada;

Ao Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari, na prática o coorientador desse trabalho, muito obrigada pela disponibilidade e colaboração durante todo o doutorado. Pelas diversas contribuições desde o início dos experimentos, análise dos dados, e redação dos artigos e da tese;

Ao Prof. Dr. Alcebíades Rebouças São José, agradeço imensamente todos os conselhos, o incentivo para a realização do doutorado, e, mesmo estando distante, por ter vivido comigo todas as etapas do curso;

À Bruna Barboza Marchesi, por se tornar uma grande amiga, pela amizade, presença, preocupação e essencial colaboração em tantos diferentes momentos. E também, pela total dedicação e disponibilidade na realização de todos os experimentos, inclusive fazendo por mim, quando não pude. Obrigada, esse trabalho é tão meu quanto seu;

À Carolina Pucci de Moraes e Leandro Tropaldi, pela amizade, palavras de apoio e incentivo, e imensa colaboração em diversas etapas dos estudos; À Ana Karollyna Alves de Matos, Diego Belapart, Roque de Carvalho Dias e Tais Dadazio pela amizade, disponibilidade em ajudar, e pelas parcerias em diversos trabalhos realizados;

À Ilca Puertas de Freitas e Silva, Natália Corniani, Rosilaine Araldi, Ana Carolina Kummer, Marcelo Giroto, por me acolherem tão bem, pela ajuda nos trabalhos e amizade em tantos diferentes momentos em Botucatu;

Ao Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia, e aos técnicos José Roberto Marques Silva, Luis Marcelo Siono e José Guilherme Ferreira Cordeiro por toda ajuda e atenção, colaborando diariamente para a realização dos trabalhos.

Àqueles que mostram que amizade não tem limites e distâncias:

À Gleice Nunes Pereira, pela companhia, amizade e ajuda em Conquista e em Botucatu, pela presença e apoio em inúmeros momentos, mesmo que muitos deles à distância; e à Aline Fernanda Brito, Marylia Gabriella Costa e Paula Leite, amigas e presenças fundamentais, por todos os momentos partilhados desde minha chegada em Botucatu;

À Daniela Farias, Glauce Portela, Sabrina Novaes, amigas queridas, pela torcida; Ao Valdemiro Conceição, pela amizade, incentivo e incontáveis conselhos por tantos anos; e a tantos outros que próximos a poucos ou muitos anos, não deixaram de estar presentes.

Às instituições que diretamente colaboraram para a obtenção desse título:

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Agricultura) da Faculdade de Ciências Agrônomicas - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu-SP por permitir a obtenção desse título;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que direta e indiretamente, contribuíram para essa realização,

Obrigada!

*“Penso que...
Eu sozinho não sou ninguém;
Três coisas são fundamentais a todo ser humano:
respeito ao outro, solidariedade e tolerância;
O tempo e a distância não nos separam de quem amamos verdadeiramente;
Nossa vitória é do tamanho de nossa luta;
O que o estudo oferece de mais significativo é a possibilidade
de compartilhar conhecimentos;
Planejar e alcançar objetivos, superando as adversidades, é algo gratificante;
Acreditar que dias melhores virão, às vezes, é a única saída;
O respeito à diferença é um valor capaz de diminuir a violência;
Agradecer a Deus por uma conquista é algo muito prazeroso.”*
(MS)

SUMÁRIO

	Página
1 RESUMO	1
2 SUMMARY	3
3 INTRODUÇÃO	5
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
4.1 Biologia de plantas daninhas	8
4.1.1 Características da espécie <i>Bidens pilosa</i>	10
4.1.2 Características da espécie <i>Conyza sumatrensis</i>	12
4.2 Variabilidade genética e suscetibilidade diferencial em plantas daninhas	14
4.3 Herbicida amônio glufosinate	17
5 MATERIAL E MÉTODOS	20
5.1 Estudo de dose-resposta de <i>Bidens pilosa</i> e <i>Conyza sumatrensis</i> ao amônio glufosinate	21
5.2 Estudo da sensibilidade de <i>Bidens pilosa</i> e <i>Conyza sumatrensis</i> ao amônio glufosinate	22
5.3 Estudo da sensibilidade de progênies de <i>Bidens pilosa</i> e <i>Conyza sumatrensis</i> ao amônio glufosinate.....	24
5.4 Avaliações e análises dos estudos.....	26
5.5 Análise estatística	29
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6.1 Estudo de dose-resposta de plantas de <i>Bidens pilosa</i> e <i>Conyza sumatrensis</i> ao amônio glufosinate.....	31
6.2 Estudo de sensibilidade de <i>Bidens pilosa</i> e <i>Conyza sumatrensis</i> ao amônio glufosinate	39
6.3 Estudo de sensibilidade das progênies de <i>Bidens pilosa</i> e <i>Conyza sumatrensis</i> ao amônio glufosinate.....	43
7 CONCLUSÕES	50
8 REFERÊNCIAS	51

1 RESUMO

A sensibilidade de plantas daninhas a herbicidas frequentemente se apresenta variável, em função de diversos fatores. O herbicida amônio glufosinate tem ação de contato e inibe a atividade da enzima glutamina sintetase, causando dentre outros efeitos, o acúmulo de amônia nos tecidos foliares, sendo esse um bom indicativo da intoxicação das plantas. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi identificar a resposta de plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* a diferentes doses do herbicida amônio glufosinate, e a variação da sensibilidade em populações das plantas e de suas progênies ao herbicida. Foram realizados três estudos, todos em casa-de-vegetação e repetidos em diferentes momentos. No primeiro estudo, dois experimentos de dose-resposta foram conduzidos, e foram aplicadas sete diferentes doses do herbicida amônio glufosinate (0, 50, 100, 200, 400, 800, e 1600 g ha⁻¹), com quatro repetições, para cada espécie, sendo realizada análise de amônia e avaliações visuais de fitointoxicação. No segundo estudo, de variação de sensibilidade de *B. pilosa* e *C. sumatrensis* ao amônio glufosinate, 44 plantas de *B. pilosa* e 16 de *C. sumatrensis* foram aplicadas com a dose de 200 g ha⁻¹ do herbicida, sendo nesse momento a região meristemática e folha mais nova de cada planta protegidas com saco plástico para que não recebessem o herbicida e possibilitasse a manutenção das plantas vivas. Dois dias após a aplicação (DAA) realizou-se a análise do teor de amônia, nas folhas expostas à aplicação, e as folhas protegidas foram mantidas nas plantas para que as mesmas se recuperassem do tratamento e produzissem sementes, utilizadas no estudo de sensibilidade de progênies. Ao atingirem o estágio reprodutivo os botões florais das plantas foram protegidos com sacos de papel para evitar a polinização cruzada e garantir a produção de sementes somente por autofecundação. No terceiro estudo, de variação da sensibilidade das progênies de *B. pilosa*

e *C. sumatrensis* ao amônio glufosinate, progênies de sete das plantas anteriores foram também tratadas com 200 g ha⁻¹ do amônio glufosinate. Foram quantificados os teores de amônia nos tecidos e porcentagens de controle foram avaliadas visualmente. A amônia foi extraída do tecido foliar fresco das plantas das duas espécies e quantificada por espectrofotometria. Foram realizadas avaliações visuais de controle aos 0, 3, 7, 14 e 21 DAA utilizando-se escala visual de notas variando de 0 a 100%. Os dados obtidos foram analisados pelo teste T e ajustados modelos de regressão não-linear. O estudo de dose-resposta demonstrou que o teor de amônia aumenta de forma assintótica com o aumento da dose do herbicida e que a porcentagem de intoxicação das espécies estudadas também aumenta de modo assintótico com o aumento tanto da dose do herbicida quanto do teor de amônia nos tecidos. O segundo estudo, de variação da sensibilidade, demonstrou haver variabilidade entre indivíduos de uma mesma população sensível ao herbicida, para as duas espécies analisadas; e o terceiro, de estudo das progênies, demonstrou que, para *Bidens pilosa*, as progênies das plantas com as diferentes capacidades de acumular amônia nos tecidos foram similares em termos de nível de acúmulo; no entanto, no caso de *Conyza sumatrensis*, as progênies de plantas com maior capacidade em acumulá-la, também exibiram maiores teores internos após o tratamento com glufosinate. Para as duas espécies, a variabilidade dos teores internos de amônia para cada progênie foi bastante alta, suplantando as diferenças médias entre as diferentes progênies, indicando pequena herdabilidade dessa característica.

2 SUMMARY

SENSITIVITY OF *Bidens pilosa* AND *Conyza sumatrensis* INDIVIDUALS AND PROGENIES TO GLUFOSINATE AMMONIUM. Botucatu, 2016, 64 p. Tese (Doutorado em Agronomia / Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: IVANA PAULA FERRAZ SANTOS DE BRITO

Adviser: Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI

The sensitivity of weeds to herbicide is often variable, due to several factors. The glufosinate-ammonium is a contact herbicide and inhibits the activity of the glutamine synthetase enzyme causing, among others, ammonia accumulation in the leaves, an indicator of the plants intoxication. The objective of this study was to evaluate the response of *Bidens pilosa* and *Conyza sumatrensis* to different doses of glufosinate ammonium and the sensitivity range of the plants and their progenies to the herbicide. Three studies were conducted, all in a greenhouse and repeated at different times. In the first study, two experiments were conducted to examine the dose-response curve, and the treatments were seven different doses of the herbicide glufosinate ammonium (0, 50, 100, 200, 400, 800, and 1600 g ha⁻¹), with four replicates for each specie. In the second study, which examined the sensitivity range of *B. pilosa* and *C. sumatrensis* to glufosinate ammonium, 44 *B. pilosa* plants and 16 *C. sumatrensis* plants were sprayed with 200 g ha⁻¹ of the herbicide. At the time of spraying, the meristematic region and the youngest leaf of each plant were protected with a plastic bag so that they would not receive the herbicide, thus keeping the plants alive. At two days after treatment (DAT), an analysis of the ammonium content on

the sprayed leaves them was conducted. The protected leaves were kept on the plants enabling to recover from herbicide treatment and to produce seeds used to assess the sensitivity of *B. pilosa* and *C. sumatrensis* progenies to glufosinate ammonium. When the plants had reached the reproductive stage, the flower buds were covered with paper bags to prevent cross-pollination and guarantee that only self-pollination would take place. In the third study, the sensitivity range of the progeny of *B. pilosa* and *C. sumatrensis* to glufosinate ammonium was investigated; in this experiment, the progenies of seven of the previous plants were sprayed with 200 g ha⁻¹ of glufosinate ammonium. It was measured the ammonium contents in the tissues and herbicide injury to plants was visually assessed. Ammonium was extracted from fresh leaf tissue immediately after leaf collection from the two species, and quantified per spectrophotometry. Evaluations of visual injury were conducted at 0, 3, 7, 14, and 21 DAT using a visual scale with grades ranging from 0 to 100%. The data were analyzed for t test ($p \leq 0,05$) and adjusted by non-linear regression models. The dose-response study showed that increase in ammonia content is related to the treatments used, being correlated to toxicity in the two species. The second study, the sensitivity variation showed that there was variability among individuals of the same population, for both species. The progenies study demonstrated that, *Bidens pilosa*, progeny plants with different capacities to accumulate ammonia in the tissues were similar in terms of buildup level; However, for *Conyza sumatrensis*, progeny plants with the greatest ability to accumulate it also exhibited higher internal levels after treatment with glufosinate. The variability of internal ammonia levels for each progeny was quite high, for both species, surpassing the average differences between different progenies, indicating low heritability of this characteristic.

Keywords: Ammonia, hairy beggartick, herbicide, horseweed, glutamine synthetase, weed.

3 INTRODUÇÃO

As plantas daninhas possuem características que as tornam capazes de sobreviver em ambientes agrícolas e desenvolver resistência ao controle dentre as quais podem ser citadas: habilidade competitiva, alta capacidade de produção de propágulo, desuniformidade no processo germinativo, algumas espécies podem germinar e emergir a grandes profundidades, viabilidade dos propágulos em condições desfavoráveis, mecanismos alternativos de reprodução, facilidade na disseminação dos propágulos, crescimento e rápido desenvolvimento inicial. A combinação de várias dessas características pode levar a expressiva variabilidade genética com a presença de amplo número de biótipos nas populações que ocorrem em agroecossistemas.

Algumas espécies de plantas daninhas se destacam das demais, por estarem amplamente disseminadas, por causarem perdas superiores, por serem naturalmente tolerantes ou por terem desenvolvido resistência a herbicidas comumente utilizados. *Bidens pilosa* pode ser considerada uma dessas espécies, visto a sua ampla disseminação, danos causados nas culturas do milho e soja, e principalmente na do algodão, por reduzir diretamente a qualidade do produto colhido. Populações resistentes foram selecionadas por herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) amplamente utilizados no seu controle (BAIO; PIRES; TOMQUELSK, 2013). Assim, o uso intensivo de herbicidas com esse mecanismo de ação tem selecionado biótipos de picão preto resistentes (HERNANDES; VIDAL; WINKLER, 2005), sendo que a enzima torna-se insensível à ação do herbicida, pela substituição dos aminoácidos.

O gênero *Conyza* pode ser considerado um dos com maior destaque nos últimos anos, pela resistência das plantas de *Conyza bonariensis*, *C. canadensis* e *C. sumatrensis* ao herbicida glyphosate, e às resistências múltiplas em alguns biótipos. *C. sumatrensis* é facilmente polinizada e possui alta produção de sementes, com estruturas para dispersão, que associados à resistência de biótipos da espécie ao herbicida glyphosate a tornaram uma importante infestante de áreas agrícolas e não-agrícolas, principalmente em áreas onde o distúrbio do solo é limitado (sistemas conservacionistas) (VIDAL et al., 2007). Com a expansão do sistema de plantio direto aliado às lavouras com culturas transgênicas, a utilização do herbicida glyphosate foi ampliada, provocando pressão de seleção que propiciou a seleção de biótipos de plantas de buva resistentes.

Métodos de manejo e controle de plantas daninhas são recomendados e realizados em função de uma população, porém, as plantas apresentam características individuais diferenciadas que, conseqüentemente, podem levá-las a responder de diversos modos a um mesmo método de controle. Assim, é possível que haja dentro de populações, plantas mais e menos sensíveis ao herbicida amônio glufosinate. A sensibilidade diferencial de diferentes plantas de uma mesma espécie a herbicidas tem implicações diretas sobre o manejo a ser utilizado e na possibilidade de evolução de biótipos resistentes.

O herbicida amônio glufosinate é um sal de amônia que leva as plantas à morte pela inibição da ação da enzima glutamina sintetase (CHOMPOO; PORNPROM, 2008). A glutamina sintetase (GS) tem como função catalisar a reação de glutamato e amônio, produzindo glutamina, e a sua inibição impede, dentre outros efeitos, a assimilação de amônia, gerando o acúmulo deste composto nos tecidos foliares.

A aplicação de amônio glufosinate na agricultura tem vantagens consideráveis, incluindo baixo impacto ambiental, baixa dose de aplicação, não volatilização, rápida degradação no solo, baixo potencial de lixiviação e bioacumulação devido ao baixo Kow (HOERLEIN, 1994; METZ et al., 1998; MULLNER; ECKES; DONN, 1993).

A aplicação de amônio glufosinate pode gerar diferentes níveis de efeito, levando-se em consideração a possível variabilidade da resposta diferenciada de plantas de *B. pilosa* e *C. sumatrensis* a herbicidas. Assim, diferentes níveis de amônia nos tecidos, e conseqüentemente, de sintomas visuais de fitointoxicação, poderão ser verificados entre plantas de uma mesma população de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis*, após a aplicação do herbicida, havendo ainda a hipótese de que diferentes padrões de

comportamento em termos de sensibilidade ao herbicida e acúmulo de amônia sejam transmitidos para as progênies.

Desse modo, o objetivo desse trabalho foi avaliar a resposta de plantas de *B. pilosa* e *C. sumatrensis* submetidas a diferentes doses de amônio glufosinate, e a variação da sensibilidade de indivíduos e suas progênies a esse herbicida.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Biologia de plantas daninhas

As plantas daninhas são plantas que ocorrem em locais onde não são desejadas. A sua presença em áreas de interesse agrônômico interfere negativamente no crescimento e no desenvolvimento das plantas cultivadas reduzindo a possibilidade de expressar o seu maior potencial produtivo (VIDAL et al., 2005) pela competição por fatores ambientais. A competição pode ser definida como a redução na disponibilidade de água, luz, nutrientes e/ou espaço para a cultura de interesse, em decorrência da convivência com plantas daninhas em ambientes com recursos limitados (CARVALHO, 2011), podendo também ocorrer a liberação de substâncias com efeitos alelopáticos (FAY; DUKE, 1977).

As necessidades nutricionais das culturas e plantas daninhas são basicamente as mesmas, entretanto, as invasoras possuem melhor capacidade de captação de nutrientes, principalmente com relação ao N (BLACKSHAW et al., 2003). A maior habilidade em aproveitá-los e o acúmulo de maiores quantidades em seus tecidos beneficia as plantas daninhas na competição com as plantas cultivadas (DEUBER, 1986). Isso afeta a economia agrícola, pois além da sua presença nas culturas ocasionar prejuízos fitotécnicos, o seu controle ainda acarreta despesas que oneram consideravelmente o custeio da cultura (SOUZA et al., 2010).

Na atividade agrícola, estima-se que em média 35% do potencial produtivo das culturas é perdido em decorrência dos danos causados por pragas de pré-

colheita em todo o mundo (OERKE, 2006), sendo que grande parte dos prejuízos econômicos são atribuídos à interferência das plantas daninhas. As consequências da competição com culturas variam de acordo com diversos fatores, segundo Montealegre e Vargas (1989), como o nível de infestação da área com plantas daninhas, as condições edafoclimáticas locais, as características da cultivar, o período de convivência entre as invasoras e a cultura, e o biótipo dessas plantas encontrado na área.

Os efeitos negativos de plantas daninhas em culturas decorrem tanto do aumento na densidade de infestação quanto da duração da interferência (GHERSA; HOLT, 1995). Assim, o conhecimento das características morfofisiológicas das plantas infestantes é importante para o manejo adequado da área, seja ele mecânico e/ou químico (GUILHEN, 2015).

Visando obter o máximo potencial produtivo, as espécies cultivadas passam por processos de melhoramento genético que dentre outros, substituem as características que conferiam agressividade por características de produção. Por outro lado, as plantas daninhas não passaram por esses processos, e naturalmente foram se adaptando às condições ambientais, sendo a rusticidade uma das principais características. De maneira geral essas plantas são mais rústicas do que as culturas comerciais, o que lhes confere grande capacidade de ocupar e se estabelecer nos mais variados ambientes e nas mais adversas condições (OSIPE; ADEGAS; OSIPE, 2013).

Silva et al. (2012) citaram que os processos de reprodução e disseminação das plantas daninhas também as colocam em vantagem em comparação às espécies cultivadas. Elas possuem a capacidade de produzir grande quantidade de disseminulos viáveis e adaptações especiais que facilitam a dispersão. Uma única planta de *Bidens pilosa* chega a produzir de 3.000 a 6.000 sementes (LORENZI, 1991), e de *Conyza* 60.000 sementes. Plantas dos gêneros *Conyza* e *Bidens* têm facilidade de dispersão de propágulos a grandes distâncias pelo vento, água, animais, homem e máquinas.

As sementes de plantas daninhas apresentam germinação desuniforme que assegura a elevada capacidade de competição e perpetuação das plantas daninhas. A desuniformidade no processo germinativo pode ser atribuída aos mecanismos de dormência e à distribuição no perfil do solo. Espécies de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* requerem a incidência de certa quantidade de luz para iniciar o processo de germinação, portanto, conforme o aumento da profundidade em que estas se encontram no

perfil do solo menor é a germinação de suas sementes. Segundo Vidal et al. (2007) em substrato arenoso as condições ideais para a germinação ocorrem quando essas foram posicionadas a 0,5 e a 1,0 cm de profundidade.

Para *B. pilosa*, as sementes enterradas a 10 cm de profundidade apresentam decréscimo considerável na germinação; ainda, sob condições de déficit hídrico houve indução de dormência secundária das sementes dessa espécie (CARMONA; VILLAS-BÔAS, 2001).

A grande habilidade reprodutiva e a eficiência no aproveitamento dos recursos disponíveis no ambiente, garantem às plantas daninhas capacidade de crescer mesmo nas condições mais adversas, tais como ambientes desérticos ou alagados, em ambientes com temperaturas baixas ou altas e solos salinos (MARINIS, 1972), e por se estabelecerem antecipadamente na área apresentam vantagem competitiva em relação àquelas que se estabelecem posteriormente (PAOLINI et al., 1998).

Desse modo nota-se que o conhecimento da biologia das espécies presentes na área de estudo torna-se um fator determinante para a escolha do manejo mais adequado a ser utilizado. Plantas das espécies *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* podem ser consideradas duas das que mais se destacam entre as plantas daninhas, sendo essas as espécies utilizadas na realização dos estudos desse trabalho, e caracterizadas a seguir.

4.1.1 Características da espécie *Bidens pilosa*

O gênero *Bidens* é composto por 230 a 240 espécies em todo o mundo (KARIS; RYDING, 1994), sendo *Bidens pilosa* considerada a espécie de maior importância. *B. pilosa*, popularmente conhecida como picão-preto, é originária da América tropical, e está largamente dispersa em várias regiões do mundo, ocorrendo em maior quantidade na América do Sul (ADEGAS; VOLL; PRETE, 2003).

Segundo Tamashiro e Leitão Filho (1978), ela reúne quase todos os aspectos morfológicos e biológicos que a caracterizam como invasora típica. É uma planta herbácea, ereta, com altura média de 60 cm e máxima de 150 cm em ambientes favoráveis, com folhas verdes e flores brancas ou amarelas (BARTOLOME; VILLASEÑOR; YANG, 2013), dispostas em capítulos (JÚLIO; OLIVEIRA, 2009)

De ciclo anual, autógama, e apresentando até 10% de fecundação cruzada, se reproduz exclusivamente por sementes (SUN; GANDERS, 1990). Os frutos de *B. pilosa* são pretos, secos indeiscentes do tipo aquênio (JOLY, 1991), com pápus em forma de cerdas rígidas, que espontaneamente aderem ao pelo dos animais e superfícies diversas (HATTORI; NAKAJIMA, 2008).

As plantas têm profusa e longa produção de aquênios como uma das principais características de agressividade da espécie, um dos atributos que garantem sua sobrevivência em agroecossistemas (SOUZA et al., 2009). São altamente prolíferas, podendo chegar a produzir cerca de 3.000 sementes por planta (KISSMANN, 1997), que germinam em condições tanto de luminosidade, quanto de escuro (KLEIN; FELLIPE, 1991; AMARAL; TAKAKI, 1998) e em diversas profundidades (MUNIZ FILHO, 2004).

Além disso, as sementes apresentam dormência, o que possibilita a sobrevivência e a viabilidade do banco de sementes em condições externas adversas (VOLL et al., 1997). Aparentemente, o preparo de solo e, como consequência, a variação nas condições edáficas, alteram a dormência de sementes de *B. pilosa* (SANTOS; CURY, 2011).

A elevada produção de sementes e o curto período vegetativo das plantas de *B. pilosa* (SALGADO et al., 2014), a eficiência na absorção e conversão de nutrientes em biomassa (PROCÓPIO et al., 2004), o desenvolvimento tanto em pleno sol quanto com iluminação difusa (KISSMANN; GROTH, 1999), aliados à dispersão e escalonamento de germinação, possibilitam que plantas sejam encontradas durante todo o ano (EMBRAPA, 2016).

B. pilosa é uma importante infestante das áreas agrícolas, apresentando grande variabilidade genética dentro da população (VIDAL et al., 2006), e pode causar danos diretos e indiretos às culturas em geral, como soja, milho, e principalmente na cultura do algodão, prejudicando a qualidade da pluma (CONSTANTIN et al., 2011). Os frutos aderem ao capulho do algodoeiro e, quando presentes na colheita, podem reduzir a qualidade da fibra, dificultando a colheita e o seu beneficiamento (FREITAS et al., 2002; LACA-BUENDIA, 1990).

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas é definida como a capacidade natural e herdável de determinados biótipos, dentro de uma população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição a doses de herbicidas que seriam letais a indivíduos normais (suscetíveis) da mesma espécie (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-

OVEJERO, 2004), e tem causado grandes problemas, principalmente em relação à ineficácia dos tratamentos herbicidas utilizados em plantio direto e ao aumento do custo desses tratamentos (SANTOS et al., 2014b).

Relatado como resistente ao herbicida paraquat em 1991 no Quênia e mais recentemente ao glyphosate no México em 2014 (HEAP, 2016), *B. pilosa* foi, no Brasil, o primeiro caso confirmado de uma população de planta daninha resistente a herbicidas. Relatado por Christoffoleti et al. (1996), em regiões produtoras de soja no ano de 1993, a resistência foi relacionada aos herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS), do grupo químico das imidazolinonas (imazaquin, imazethapyr) (HEAP, 2016).

4.1.2 Características da espécie *Conyza sumatrensis*

O gênero *Conyza* apresenta plantas com alto potencial competitivo e dispersivo. Dentre elas, destacam-se as espécies *Conyza canadensis* (L.) Cronq., *Conyza bonariensis* (L.) Cronq., e *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker (VARGAS et al., 2014), conhecidas como importantes invasoras presentes em diversos tipos de cultivos e diferentes continentes (THEBAUD; ABBOTT, 1995; PRUSKI; SANCHO, 2006).

As espécies que mais se destacam por apresentarem caráter invasivo são *Conyza canadensis*, *C. bonariensis* e *C. sumatrensis*; a primeira se diferencia morfológicamente das outras espécies, no entanto *C. bonariensis* e *C. sumatrensis* apresentam menor grau de diferenciação entre elas (THEBAUD; ABBOTT, 1995).

Pertencente à classe botânica das magnoliopsidas e à família Asteraceae, possuem reprodução autógama, e cerca de 5% de alogamia (CRUDEN, 1976), e, dependendo das condições ambientais, podem apresentar ciclo anual ou bianual (REGEHR; BAZZAZ, 1979), sendo capazes de produzir milhares de sementes por planta (BHOWMIK; BEKECH, 1993; HOLM et al., 1977). A propagação se dá unicamente através de sementes, que podem dispersar-se facilmente pelo vento e pela água (CAMACHO CALERO, 2004).

Plantas de *Conyza sumatrensis* são anuais, densamente folhadas, com caule até 2 m de altura, e flores dispostas em capítulos com brácteas pilosas, e pequenas lígulas. Se diferenciam das demais por possuir folhas inferiores com lâmina oblanceolada,

com margens inteiras ou serradas; enquanto as folhas superiores são progressivamente menores, inteiras ou com 1-4 dentes em cada margem (OLIVELLA et al., 2015). De acordo com Hao et al. (2009), uma planta de tamanho médio pode produzir mais de 60.000 sementes durante um prolongado período de floração e frutificação, com o desenvolvimento das sementes concluído em um período muito curto, entre 8 e 10 dias. Assim, um único evento de imigração vigorosa de *Conyza sumatrensis* para um novo local pode, dentro de uma ou duas gerações, dar origem a uma grande população (HAO et al., 2009).

Apresentam alto grau de variabilidade genética, o que lhes confere alta adaptabilidade (CIRCUNVIS et al., 2014) e capacidade comprovada de desenvolver resistência a herbicidas com um amplo conjunto de mecanismos de ação (HEAP, 2014). A habilidade de autopolinização e a produção de grande número de sementes facilmente disseminadas são fatores que podem contribuir para a sobrevivência, o estabelecimento e a manutenção de densas infestações dos biótipos resistentes de buva (THEBAUD et al., 1996; MOREIRA et al., 2007).

A introdução do sistema conservacionista do solo contribuiu para o aumento do uso de glyphosate, para manejo da vegetação antes do plantio das culturas, principalmente em áreas de plantio direto e para controle de plantas daninhas em culturas perenes (PRICE et al., 2011). Combinado a isso, a possibilidade de uso do glyphosate em qualquer estágio fenológico das culturas tolerantes ao glyphosate aumentou a pressão de seleção exercida por esse herbicida (NEVE et al., 2003), e, conseqüentemente, ocorreu a seleção de plantas daninhas resistentes, dentre elas a buva.

Dentre as três principais espécies de buva, aquela que apresenta maior susceptibilidade ao herbicida glyphosate é a *C. sumatrensis* (GONZÁLEZ-TORRALVA et al., 2010). Porém, trabalho desenvolvido por Santos et al. (2014a), demonstrou que essa susceptibilidade é bastante variável em função do biótipo e do estágio de desenvolvimento em que as plantas se encontram.

Além disso, biótipos dessa espécie desenvolveram resistência a três mecanismos de ação, sendo eles: inibidores do fotossistema I (HANIOKA, 1989; HEAP, 2016), inibidores da EPSPS (SANTOS, 2012) e inibidores da ALS, sendo no Brasil encontrados biótipos com resistência múltipla a inibidores da ALS e EPSPS (HEAP, 2016).

Assim, estudos de alternativas de controle são fundamentais para o adequado manejo dos biótipos resistentes (LÓPEZ-OVEJERO; CHRISTOFFOLETI;

VARGAS, 2004), sendo importante destacar que a mudança do herbicida só se torna viável se existirem alternativas que promovam o controle das plantas daninhas em níveis similares e a custos compatíveis com o do sistema de produção (PETERSON, 1999). Espécies e biótipos do gênero *Conyza*, da mesma maneira que apresentam susceptibilidade diferencial ao herbicida glyphosate, podem também apresentar ao amônio glufosinate, e, por tal, é possível que essas diferenças também ocorram entre plantas de uma mesma espécie, e em diferentes gerações.

4.2 Variabilidade genética e suscetibilidade diferencial em plantas daninhas

Atualmente, o principal método de controle de plantas daninhas em culturas agrícolas é o químico, por meio da aplicação de herbicidas em pré ou pós-emergência das plantas daninhas e/ou das culturas. No cenário agrícola, o uso de herbicidas apresenta-se como uma das opções mais eficazes e econômicas de controle de plantas daninhas, principalmente em extensas áreas de plantio com alta infestação (ALVINO et al., 2011). O controle químico é uma das opções disponíveis e é um método eficiente de controlar as plantas daninhas (GOMES JR; CHRISTOFFOLETI, 2008) devendo ser utilizado de maneira correta, sem prejudicar a cultura de interesse.

Um dos fatores que podem contribuir para determinar respostas diferentes de plantas daninhas à aplicação de herbicidas é a variabilidade genética presente em populações das diferentes espécies (CIRCUNVIS et al., 2014). Essa é uma característica intrínseca às plantas daninhas (VIDAL; MEROTTO, 2001), e é o resultado do processo de evolução natural da espécie, que deriva principalmente da variação mendeliana, da hibridação interespecífica e da poliploidia (WINKLER; VIDAL; BARBOSA NETO, 2002).

A variabilidade genética é um importante pré-requisito para a evolução, para o sucesso no estabelecimento e para a dispersão de sementes, sendo encontrada em plantas daninhas (SILVERSTOWN; LOVETT DOUST, 1993). As espécies de plantas daninhas, em geral, apresentam elevada variabilidade genética entre plantas dentro da população ou entre plantas de populações distintas, exibindo assim potencial para adaptar-se ao manejo realizado para o seu controle (HOLT; HOCHBERG, 1997).

Essa característica dentro de populações pode indicar significativa variação genética para escapar dos efeitos do agente de controle e, também, pode favorecer a seleção de genótipos resistentes (ALLENDORF; LUIKART, 2007), pois, predispõe uma população à elevada frequência inicial do alelo de resistência; e esse é um dos fatores que contribuem com a rápida seleção de biótipos para a resistência aos herbicidas (VARGAS; BORÉM; SILVA, 2001). A dinâmica da evolução da resistência a herbicidas é regida pela biologia das espécies de plantas daninhas, pela determinação genética da característica de resistência e pelas características do herbicida e padrões de uso (NEVE; POWLES, 2005).

Espécies do mesmo gênero ou família de plantas daninhas frequentemente não respondem de maneira uniforme à aplicação de herbicidas, caracterizando a suscetibilidade diferencial das espécies (MATHIS; OLIVER, 1980; GOSSETT; TOLER, 1999; CARVALHO et al., 2006). Diferenças na suscetibilidade de espécies de plantas daninhas a herbicidas são atribuídas ao estágio de desenvolvimento da planta, às diferenças na morfologia, anatomia foliar, e na absorção, translocação, compartimentalização e metabolização da molécula herbicida (VARGAS et al., 1999; TUFFI SANTOS et al., 2004; RUCHEL et al., 2015). A eficácia do herbicida foi também relatada como sendo influenciada por espécies de plantas, pelas condições ambientais, utilização de adjuvantes, e taxa de aplicação (ANDERSON et al., 1993; KÖCHER; KOCUR, 1993; JANSEN; SCHUPHAN; SCHMIDT, 2000; RIDLEY; MCNALLY, 1985).

Essa variabilidade genética pode tornar a suscetibilidade das plantas daninhas diferenciada, conforme já descrito para diversos herbicidas em diversas espécies, e características, como as do gênero *Amaranthus* (CARVALHO et al., 2006), *Commelina* (PENCKOWSKI; ROCHA, 2006), *Digitaria* (DIAS et al., 2003), e *Bidens* (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2006). As espécies do gênero *Ipomoea* destacam-se entre as mais tolerantes ao herbicida glyphosate, tendo mostrado variações de tolerância entre populações da mesma espécie (BALDWIN, 1995), sendo a tolerância relacionada à menor translocação do herbicida nas plantas (MONQUERO et al., 2004).

Trabalho realizado com populações de *Conyza canadensis* demonstrou haver sensibilidade diferencial dentro de uma mesma espécie. Kruger et al. (2008) relataram que a dose de 2,4-D necessária para reduzir em 90% o acúmulo de massa seca nas plantas aos 28 DAA esteve no intervalo de 121 a 513 g ha⁻¹, sendo que para 90% de controle, as doses foram de 42 a 107 g ha⁻¹. Para o gênero *Bidens*, López-Ovejero et al.

(2006) verificaram diferenças de sensibilidade entre biótipos de *Bidens pilosa*, e a espécie *Bidens subalternans* foi menos sensível à ação dos herbicidas inibidores da ALS (KIZZMAN; GROTH, 1999) do que a *B. pilosa*.

Espécies que são mais sensíveis ao herbicida amônio glufosinate absorvem e movimentam mais o herbicida do que as menos sensíveis (ACASTER; WEITZMAN, 1985; PLINE; WU; HATZIOS, 1999; SKORA-NETO; COBLE; CORBIN, 2000), mesmo o amônio glufosinate sendo um produto de ação de contato, com baixa translocação; e algumas espécies apresentam degradação metabólica, desintoxicando ou inativando o herbicida, reduzindo a sensibilidade ao glufosinate (HAAS; MULLER, 1987; MERSEY et al., 1990). Pline, Wu e Hatzios (1999) relataram que nenhum metabólito do glufosinate foi encontrado em plantas daninhas sensíveis, mas o MPP (ácido 3-(hydroxymethylphosphinyl) propanoico) foi encontrado em *Chenopodium album* L., que é tolerante, apoiando o papel do metabolismo do glufosinate.

Ridley e McNally (1985), encontraram diferença de 70 vezes na sensibilidade de sete espécies de plantas ao amônio glufosinate, e a inibição da enzima glutamina sintetase nessas plantas foi considerada semelhante. Assim, as diferenças na susceptibilidade ocorreram entre a aplicação e o local de ação, mas não no próprio nível da enzima.

Porém, em se tratando de plantas daninhas, não se pode generalizar o nível dessas características em todas as plantas de uma população de uma determinada espécie. A variabilidade de sensibilidade a um herbicida pode existir entre espécies e entre populações da mesma espécie daninha (PAZUCH et al., 2013), e plantas anuais são conhecidas por exibirem sensibilidade diferencial aos tratamentos com glufosinate (PLINE; WU; HATZIOS, 1999). Desse modo, buscou-se verificar a ocorrência dessa diversidade em plantas de *B. pilosa* e *C. sumatrensis*.

As diferenças de sensibilidade das plantas daninhas aos herbicidas podem caracterizar resistência de nível baixo (SANTOS, 2015). A ocorrência de resistência, evoluindo lentamente em plantas, sendo verificada pela redução quantitativa na eficácia do herbicida na sequência de repetidas aplicações é comumente debatida. Dados com essas características foram descritas em populações experimentais por Vila-Aiub e Ghersa (2005) e Kniss et al. (2007) em plantas de *Lolium multiflorum* e *Chenopodium album*, respectivamente.

4.3 Herbicida amônio glufosinate

O herbicida amônio glufosinate é o ammonium-DL-homoalanin-4-yl(methyl)phosphinate (IUPAC), número CAS 77182-82-2 (FAO/WHO, 2013), e pertencente à classe dos herbicidas não seletivos de ação total do grupo homoalanina substituída. É um sal de amônio derivado de uma toxina natural isolada a partir de duas espécies bacterianas: *Streptomyces viridochromogenes* e *S. hygrosopicus* (DUKE; LYDON, 1987).

É um composto constituído por uma mistura de dois isômeros óticos D e L do composto fosfinitricina, o qual é um dos tripeptídeos de bialafós (phosphinitricin-L-alanyl-L-alanine). Bialafós é um bioherbicida, que depois de absorvido pelas plantas é metabolizado em fosfinitricina e alanina (ROSS; LEMBI, 1985; DEVINE; DUKE; FEDTKE, 1993).

Ele controla largo espectro de gramíneas e plantas de folha larga, anuais e perenes, requerendo algumas que lhe são mais tolerantes, doses elevadas e/ou aplicações repetidas (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). Apresenta classificação toxicológica I e classificação do potencial de periculosidade ambiental II. É altamente solúvel em água ($1,37 \times 10^6$ mg L⁻¹); tem comportamento de ácido fraco ($pK_a < 2,0$); coeficiente de partição N (coeficiente octanol/água (K_{ow}) $< 0,1$; e não é volátil (pressão de vapor $< 0,1$ mPa) (AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE-ARS, 2009; RODRIGUES; ALMEIDA, 2011). No solo, é pouco sorvido, rapidamente degradado por microrganismos a 3-metil-nonphytotoxic ácido phosphinopropionic, como sendo um intermediário da degradação do produto (HOERLEIN 1994; ULLRICH; ULLRICH-EBERIUS; KÖCHER, 1990).

Glufosinate tem um grupo de ácido fosfórico semelhante ao glyphosate, mas apresenta movimentação limitada no floema por provocar rápida fitointoxicação (BÉRIAULT; HORSMAN; DEVINE, 1999). Dessa forma, são comuns as misturas com herbicidas residuais para lhe prolongar o efeito de controle (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011), ampliando o espectro e reduzindo a emergência de novos fluxos de plantas daninhas (KOGER et al., 2007).

Ele é o único herbicida disponível comercialmente que atua sobre a glutamina sintetase (CARBONARI et al., 2016; VELINI et al., 2005), enzima responsável por desempenhar um importante papel na via de assimilação de nitrogênio inorgânico a compostos orgânicos e na assimilação de amônio (RAY, 1989).

A glutamina sintetase (GS) (EC 6.3.1.2) que catalisa a formação de glutamina a partir de glutamato e amônio é uma das enzimas mais importantes no metabolismo de nitrogênio vegetal (BERLICKI, 2008). Essa reação necessita da hidrólise de uma molécula de ATP e envolve um cátion bivalente, como o Mg^{2+} , Mn^{2+} ou Co^{2+} como cofator (TAIZ; ZEIGER, 2004). As plantas possuem duas classes de GS, uma no citosol e a outra nos plastídeos das raízes ou nos cloroplastos das partes aéreas (MANDERSCHIED; WILD, 1986). A GS nos plastídeos das raízes forma o nitrogênio amida que é consumido localmente, enquanto que a GS dos cloroplastos das partes aéreas reassimila o NH_4^+ da fotorrespiração (LAM et al., 1996).

Depois de ser fosforilado pela GS, o amônio glufosinate se comporta como um inibidor irreversível dessa enzima (MANDERSCHIED; WILD 1986). A inibição da GS suprime a assimilação de amônio, associada à ruptura da estrutura do cloroplasto, indiretamente a fase fotoquímica da fotossíntese, bloqueando a cadeia de transporte de elétrons (TAN; EVANS; SINGH, 2006; DAYAN; ZACCARO 2012), e a fotorrespiração devido a níveis reduzidos de aminoácidos (DAYAN; DUKE 2014). O herbicida inibe a síntese de proteínas e o transporte de elétrons, acumulando glioxilato tóxico, devido à falta de aminoácidos e insuficiente regeneração de intermediários do ciclo C_3 (DEVINE; DUKE; FEDTKE, 1993).

A inibição da atividade da glutamina sintetase pelo amônio glufosinate leva ao rápido acúmulo de elevados níveis de amônia, devido à falta de metabolismo do nitrogênio, bem como à depleção do aminoácido glutamina (COETZER; AL-KHATIB, 2001; AVILA-GARCIA; MALLORY-SMITH, 2011). As células vegetais evitam a toxicidade do amônio pela rápida conversão do amônio gerado a partir da assimilação do nitrato ou da fotorrespiração em aminoácidos (SAUER; WILD; RÜHLE, 1987; WILD; SAUER; RÜHLE, 1987; LACUESTA et al. 1992), sendo essa assimilação interrompida pela ação do herbicida. Esses efeitos são seguidos por clorose, murchamento, e necrose, levando as plantas à morte em até duas semanas (SILVA et al., 2016; BRUNHARO; CHRISTOFFOLETI; NICOLAI, 2014).

O acúmulo de amônia observado após tratamentos com fosfinotricina foi inferior em plantas C₄, quando comparada às plantas C₃ (WENDLER; BARNISKE; WILD, 1990). Assim, a taxa de formação de amônia fotorrespiratória é maior em plantas C₃ do que em plantas C₄ (DEVI; RAGHAVENDRA, 1993).

Estudos têm demonstrado ao longo dos anos que os teores internos de amônia estão relacionados à intoxicação das plantas pelo amônio glufosinate (BARBERIS, 2012; CARBONARI et al., 2016; COETZER; AL-KHATIB, 2001; FLECK et al., 2001; LATORRE, 2014; SELLERS; SMEDA; LI, 2004; TSAI; WANG; WANG, 2006; WENDLER; BARNISKE; WILD, 1990; WILD; SAUER; RÜHLE, 1987). Trabalhos realizados por Silva et al. (2016) demonstraram que plantas de *Ipomoea grandifolia* apresentaram altos níveis de intoxicação após a aplicação de glufosinate, provocando redução nos teores de glutamato e glutamina, e acúmulo de amônia nas plantas tratadas a partir de 6 horas após a aplicação.

Assim, o acúmulo de amônia após a aplicação de amônio glufosinate pode ser utilizado como um marcador bioquímico da inibição da glutamina sintetase (PORNPROM; CHOMPOO; GRACE, 2003; SANKULA; BRAVERMAN; OARD, 1998), e consequentemente, como um indicador da ação do herbicida (PETERSEN; HURLE, 2001), e do nível de sensibilidade das plantas.

Plantas submetidas à mesma dose do herbicida amônio glufosinate e que apresentam maiores teores de amônia nos tecidos celulares podem ser consideradas mais sensíveis à ação do produto, sendo o contrário também verdadeiro. Com menores teores de amônia, e possivelmente menor inibição da glutamina sintetase, essas plantas podem então ser consideradas menos sensíveis ao herbicida, porém, informações a esse respeito ainda são escassas na literatura.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados três estudos, sendo todos repetidos em diferentes momentos. O primeiro, referente à curva de dose-resposta, o segundo, de variação da sensibilidade de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate, e o terceiro, de variação da sensibilidade das progênies de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao mesmo herbicida. Todos foram conduzidos na Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Botucatu- SP, implantados em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), (22°84’S; 48°42’W Gr.), com temperatura de 27°C ± 2°C sob condições fotoperiódicas naturais.

Para a realização dos estudos, sementes de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis*, foram semeadas em tubetes, preenchidos com substrato comercial (turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada), sendo realizado desbaste, mantendo-se apenas uma planta por tubete.

As avaliações e análises dos três estudos foram realizadas após a aplicação do herbicida amônio glufosinate, por meio do produto comercial Finale® (Bayer CropScience, 200 g i.a. L⁻¹). Para as aplicações do herbicida utilizou-se um pulverizador estacionário, em sala fechada, com barra de pulverização com quatro pontas XR 110.02 (Teejet, Jacto Máquinas Agrícolas SA), espaçadas em 0,5 m e posicionadas a 0,5 m de altura em relação às plantas, com volume de calda correspondente a 200 L ha⁻¹, sob pressão constante de 150 kPa, pressurizado por ar comprimido (Figura 1).

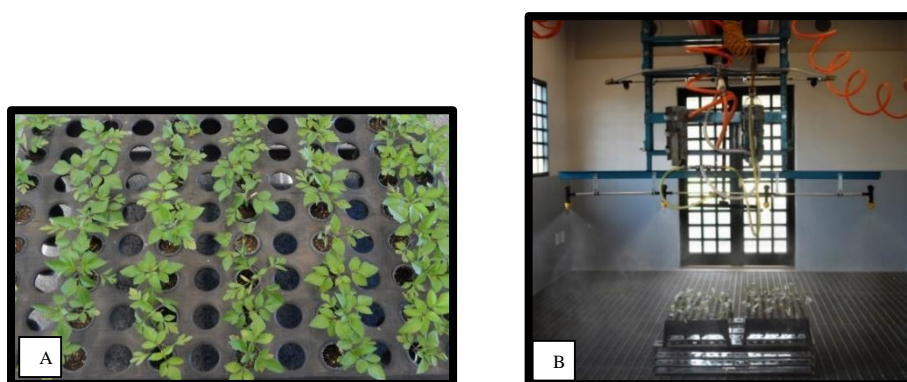


Figura 1. A) Bandeja de tubetes com plantas de *Bidens pilosa*; B) Pulverizador estacionário utilizado para a aplicação dos tratamentos herbicidas.

5.1 Estudo de dose-resposta de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate

Foram realizados dois experimentos de dose-resposta para cada espécie. O primeiro teve como objetivo verificar o teor de amônia nos tecidos foliares das plantas em função da dose de amônio glufosinate, e o segundo verificar o nível de controle das plantas, também em função da dose do herbicida. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com sete doses do herbicida amônio glufosinate e quatro repetições (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamentos realizados nos experimentos do estudo dose-resposta para teor de amônia e nível de controle das plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis*.

Tratamento	Dose (g i.a. ha ⁻¹)	Dose (L p.c ha ⁻¹)
1	0	0,0
2	50	0,25
3	100	0,50
4	200	1,0
5	400	2,0
6	800	4,0
7	1600	8,0

i.a.: Ingrediente ativo; p.c.: Produto comercial.

Para tal, sementes de *B. pilosa*, provenientes do município de Engenheiro Coelho-SP (22°48'S; 47°20'W Gr), e de *C. sumatrensis*, coletadas na

FCA/UNESP, município de Botucatu-SP (22°85'S; 48°43'W Gr), foram semeadas em tubetes. Aos 10 dias após a emergência (DAE) para *B. pilosa*, e aos 21 DAE para *C. sumatrensis* foi realizado desbaste, sendo mantida apenas uma planta por tubete, e selecionadas 56 plantas mais uniformes. A aplicação dos tratamentos foi realizada aos 30 DAE nas plantas de *B. pilosa*, e aos 60 DAE nas de *C. sumatrensis*, sendo aos 2 dias após a aplicação (DAA), realizada análise do teor de amônia, e aos 0, 3, 7, 14 e 21 DAA análises visuais de controle em ambas as espécies.

Ao término das avaliações foi realizada a repetição dos experimentos.

5.2 Estudo da sensibilidade de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate

Para verificar a sensibilidade de populações das plantas daninhas ao amônio glufosinate, realizou-se os mesmos procedimentos de semeadura e desbaste em tubetes anteriormente descrito, sendo realizada seleção para obtenção de uma população homogênea por espécie. Dessa forma foram realizados os experimentos com número variável de plantas por espécie (Tabela 2). Nesse estudo as plantas foram tratadas com a dose de 200 g ha⁻¹ do herbicida. Essa dose foi identificada no estudo de dose-resposta, por ser suficiente para causar sintomas de intoxicação alta e acúmulo de amônia nos tecidos foliares das plantas de *B. pilosa* e *C. sumatrensis*.

Tabela 2. Populações de plantas da primeira geração de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis*, utilizadas nos experimentos realizados no estudo de sensibilidade ao amônio glufosinate.

Espécie	1º experimento			2º experimento		
	População	Plantas tratadas	Testemunhas	População	Plantas tratadas	Testemunhas
<i>Bidens pilosa</i>	50	44	6	50	44	6
<i>Conyza sumatrensis</i>	22	16	6	22	16	6

Aos 30 DAE para as plantas de *B. pilosa* e aos 60 DAE para as de *C.*

sumatrensis foi aplicada a dose de 200 g ha⁻¹ do amônio glufosinate. No momento da aplicação a região meristemática e a folha mais nova de cada planta foram protegidas com um saco plástico para que não recebessem o herbicida e fosse possível assim, a manutenção das plantas vivas. Após a completa secagem do herbicida sobre as folhas, a proteção foi retirada.

Aos 2 DAA realizou-se a análise do teor de amônia nas folhas expostas à aplicação. As folhas protegidas foram mantidas nas plantas para que as mesmas se recuperassem do tratamento herbicida e produzissem as sementes utilizadas para o estudo de variabilidade da sensibilidade das progênes de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate. As plantas foram transplantadas para vasos contendo 1L de substrato, e conduzidas individualmente (Figura 2).

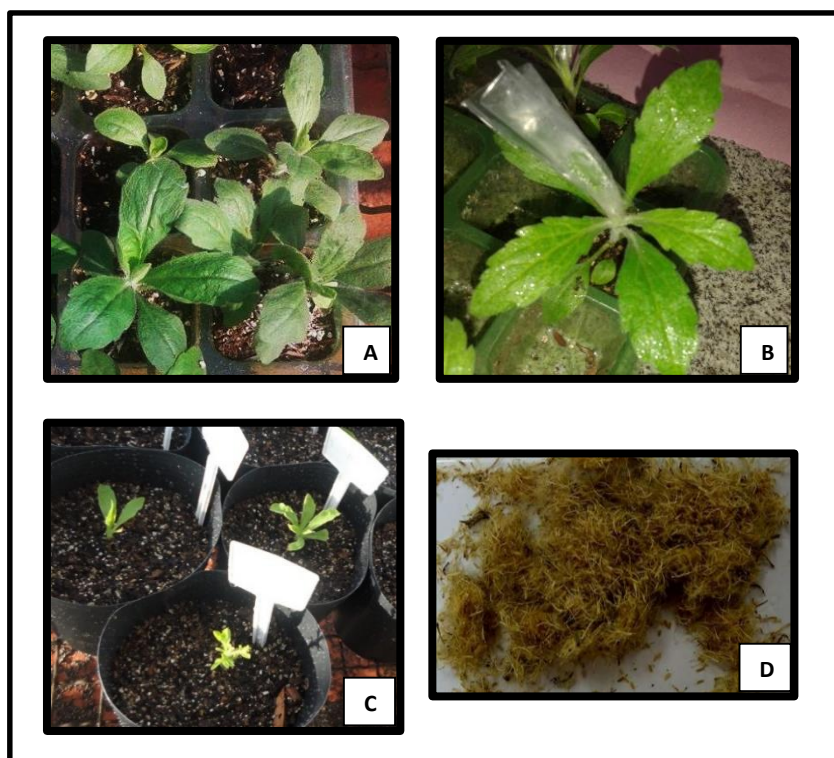


Figura 2. Sequência realizada nos experimentos do estudo da sensibilidade de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate. A) Plantas de *Conyza sumatrensis*; B) Planta com região protegida no momento da aplicação; C) Vasos com plantas após o transplante; D) Coleta de sementes após condução individual das plantas.

Ao atingirem o estágio reprodutivo, os botões florais das plantas

foram protegidos com sacos de papel para impedir a polinização cruzada e garantir a produção de sementes somente por autofecundação. As sementes foram coletadas e identificadas, sendo as plantas classificadas em ordem crescente pelo teor de amônia acumulado nos tecidos foliares. Logo após o transplântio foi realizada a repetição do experimento, e os períodos de realização dos experimentos desse estudo encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Períodos de realização dos experimentos do estudo da sensibilidade de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate.

1º experimento					
Espécie	Semeadura	Seleção e Desbaste	Aplicação dos tratamentos	Análise do teor de amônia	Coleta de sementes
<i>Bidens pilosa</i>	06/01/14	20/01/14	09/02/14	11/02/14	04 a 06/14
<i>Conyza sumatrensis</i>	14/02/14	03/03/14	16/04/14	18/04/14	06 a 07/14
2º experimento					
Espécie	Semeadura	Seleção e Desbaste	Aplicação dos tratamentos	Análise do teor de amônia	
<i>Bidens pilosa</i>	17/03/14	31/03/14	22/04/14	24/04/14	
<i>Conyza sumatrensis</i>	14/03/14	07/04/14	19/05/14	21/05/14	

5.3 Estudo da sensibilidade de progênes de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate

Esse estudo foi realizado com as sementes coletadas das plantas do estudo anterior após a autofecundação das plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis*, nos períodos descritos na Tabela 4.

As plantas objeto das análises do estudo anterior foram classificadas em ordem crescente do teor de amônia encontrado. Dessa forma, foi possível selecionar plantas com maiores teores de amônia, com menores teores, e com teores intermediários, para as plantas da espécie *Bidens pilosa*. Para *Conyza sumatrensis* pela sobrevivência e produção de sementes obtida, optou-se por selecionar as plantas em função do teor de amônia

acumulado, sendo assim, foram selecionadas plantas com teores abaixo de 250 mg kg MF⁻¹ e com teores acima de 500 mg kg MF⁻¹, que foram identificadas como de menores e maiores teores de amônia, respectivamente.

Tabela 4. Épocas da realização dos experimentos do estudo da sensibilidade de progênies de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate.

1º experimento				
Espécie	Semeadura	Desbaste	Aplicação dos tratamentos	Análise de acúmulo de amônia
<i>Bidens pilosa</i>	03/11/14	10/11/14	01/12/14	03/12/14
<i>Conyza sumatrensis</i>	09/07/14	30/07/14	09/09/14	11/09/14
2º experimento				
Espécie	Semeadura	Desbaste	Aplicação dos tratamentos	Análise de acúmulo de amônia
<i>Bidens pilosa</i>	15/01/15	22/01/15	19/02/15	21/02/15
<i>Conyza sumatrensis</i>	15/01/15	22/01/15	16/03/15	18/03/15

Metade das sementes produzidas por autofecundação pelas sete plantas selecionadas de cada espécie foi semeada, identificada por planta progenitora, em tubetes similares aos anteriores, em quantidade variável em função do número de sementes disponível de cada planta. Após a germinação foi realizado desbaste para manutenção de uma planta por tubete, totalizando o número de plantas apresentado na Tabela 5.

É importante destacar que a seleção das plantas que deram origem às progênies estudadas quanto ao potencial de acumulação de amônia foi feita considerando apenas as plantas que produziram sementes em número expressivo e suficiente para condução dos experimentos com as progênies em duplicata. No caso de *Bidens pilosa*, foi possível identificar plantas que apresentaram teores de amônia menores (uma planta), intermediários (quatro plantas) e maiores (duas plantas). No caso de *Conyza sumatrensis* apenas duas classes puderam ser estabelecidas (menos e mais amônia), em função da indisponibilidade de plantas prolíferas que pudessem ser classificadas como intermediárias.

Tabela 5. Número de plantas das progênies utilizadas nos experimentos do estudo da sensibilidade de progênies de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate.

Espécie	Classificação	Número de plantas selecionadas	Número de progênies		
			Primeiro experimento	Segundo experimento	Total
<i>Bidens pilosa</i>	Menos amônia	1	15	12	27
	Intermediária	4	39	56	95
	Mais amônia	2	29	31	60
<i>Conyza sumatrensis</i>	Menos amônia	5	97	40	137
	Mais amônia	2	26	22	48

Aos 30 DAE para as plantas de *B. pilosa* e aos 60 DAE para as de *C. sumatrensis* foi aplicada a dose de 200 g i.a. ha⁻¹ do herbicida, e realizada análise de teor de amônia nos tecidos das plantas progênies, 2 DAA. Após essa análise realizou-se a repetição do experimento com a metade restante das sementes.

5.4 Avaliações e análises dos estudos

Para análises de determinação do teor de amônia nos tecidos foliares utilizou-se o protocolo a seguir.

Para a extração da amônia, realizou-se aos 2 DAA a coleta das folhas das plantas, individualmente, que foram cortadas rente ao caule, acondicionadas e pesadas em tubos falcon de 50 mL de capacidade, previamente pesados. Os tubos contendo as folhas foram preenchidos com água acidificada por ácido clorídrico (HCl), a pH 3,5, novamente pesados, e mantidos em banho de ultrassom por 60 minutos. Após esse período as folhas foram retiradas (Figura 3).

Durante o período de sonicação realizou-se o preparo dos reagentes, sulfato manganoso, hipoclorito de sódio, e solução de fenol + hidróxido de sódio. O hipoclorito de sódio foi preparado adicionando 10 mL de NaClO (6%) e 40 mL de água deionizada em um béquer, que, sob agitação, teve seu pH ajustado para entre 6 e 7, com a adição de ácido clorídrico (4N). Para o sulfato manganoso (0,05 Molar), 0,05g de MnSO₄

foi adicionado em um balão volumétrico de 100 mL, que teve o volume máximo completado com água deionizada. Para a solução fenol + hidróxido de sódio adicionou-se 10g de C_6H_5OH e 2,5g de NaOH em um balão volumétrico de 100 mL, completado com água deionizada.

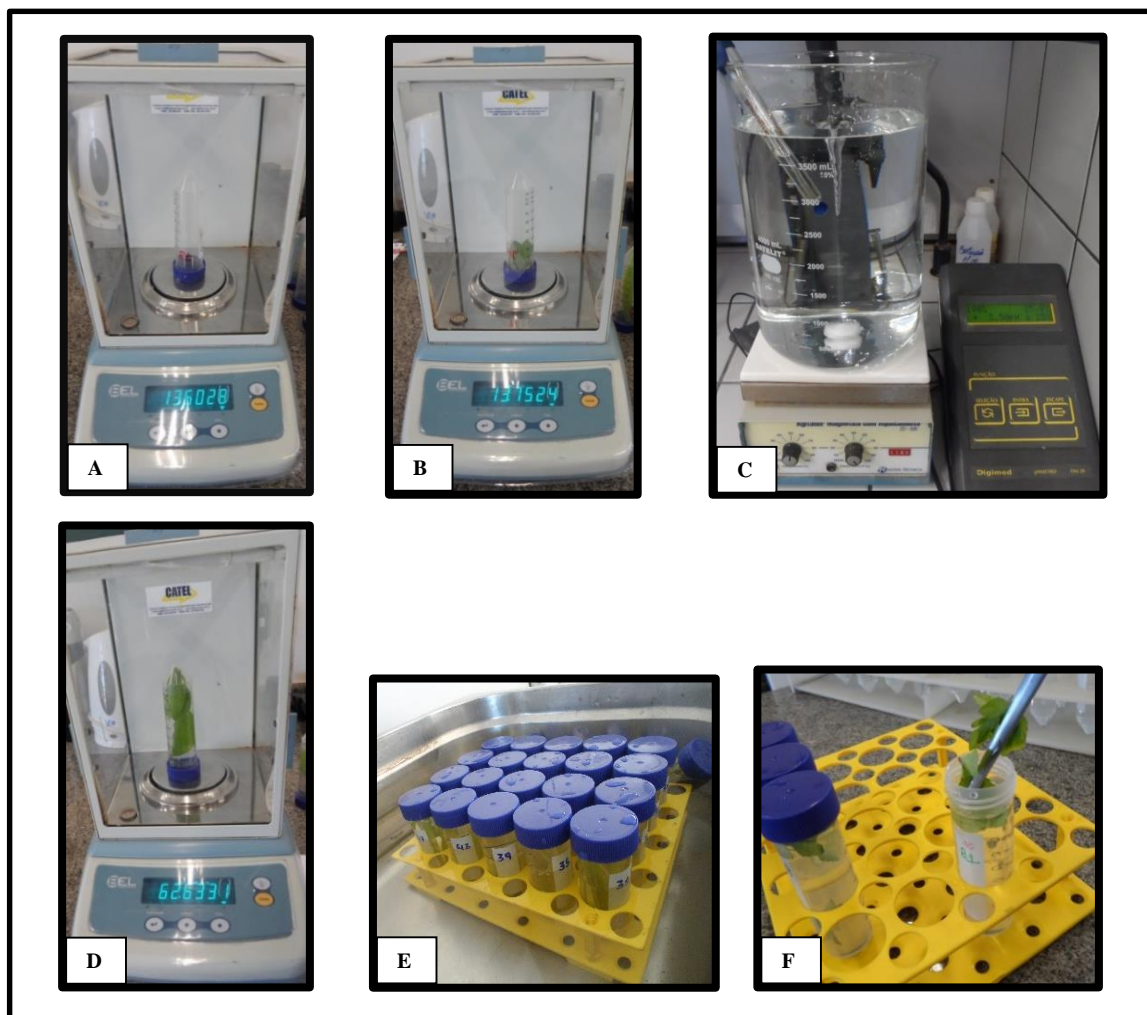


Figura 3. Procedimentos para extração da amônia dos tecidos. A) pesagem dos tubos falcon vazios; B) pesagem dos tubos com as folhas da planta analisada; C) acidificação da água deionizada (pH 3,5); D) Adição da água e pesagem do tubo falcon com água e folhas; E) Sonicação por 60 min; F) Retirada das folhas da solução logo após a sonicação.

Além dos reagentes, utilizando-se uma solução estoque de sulfato de amônia, preparou-se uma curva padrão, com concentrações de 0; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1; 2

e 3 ppm, em balões volumétricos de 100 mL de volume, para possibilitar a correlação de absorvância e concentração de amônia.

Após o período de sonicação e a retirada do material vegetal, alíquotas de 10 mL das soluções foram transferidas para tubos de ensaio identificados, para adição dos reagentes para determinação colorimétrica. Adicionou-se uma gota da solução de sulfato de manganês; 500 μ L da solução de hipoclorito de sódio; e 600 μ L da solução fenol + NaOH. Os tubos de ensaio foram acondicionados em um agitador, por 10 min. Logo após a agitação, realizou-se a leitura da absorvância e a determinação do teor de amônia da solução, tanto das amostras quanto da curva padrão, por espectrofotometria de acordo com métodos publicados (WENDLER; BARNISKE; WILD, 1990; DAYAN et al., 2015) usando um espectrofotômetro de duplo feixe UV visível (Cintra 40, GBC Scientific Equipment Ltd.), no comprimento de onda de 630 nm (Figura 4).

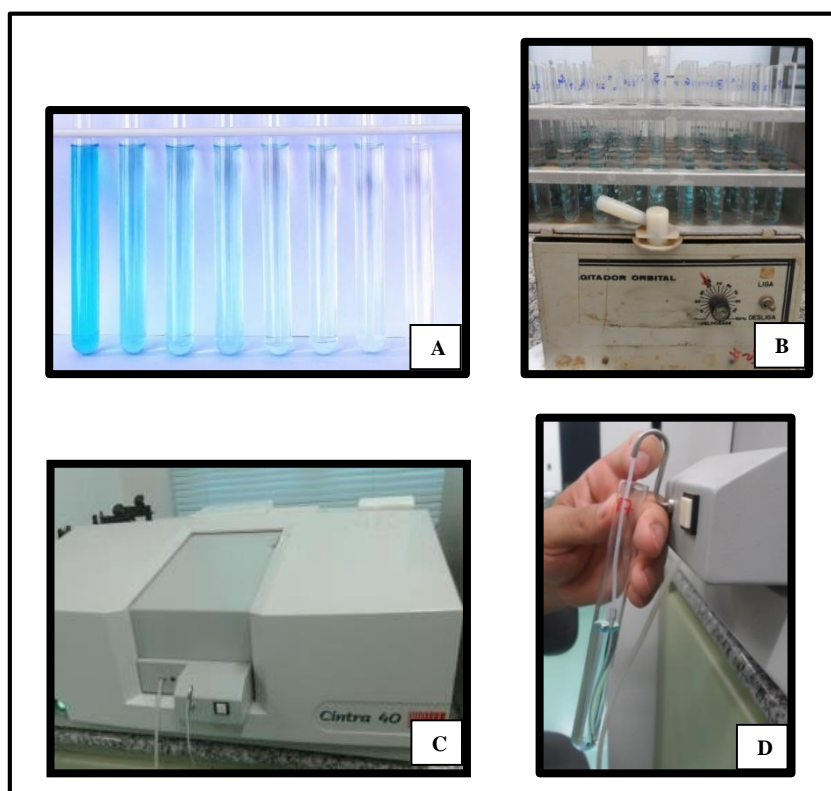


Figura 4. A) Curva padrão com solução estoque de sulfato de amônia; B) Agitação dos tubos de ensaio com alíquota da amostra e reagentes; C) Equipamento espectrofotômetro utilizado; D) Leitura das amostras.

No estudo de dose-resposta, realizou-se avaliações de fitointoxicação aos 0, 3, 7, 14 e 21 DAA, por meio de escala visual de notas variando de 0 a 100, na qual “0” está relacionada à ausência de intoxicação e “100” à morte das plantas (SBCPD, 1995).

5.5 Análise estatística

Os dados obtidos nos experimentos do estudo de dose-resposta, na análise de acúmulo de amônia, foram convertidos em mg kg MF⁻¹ e submetidos à análise de variância, tendo suas médias comparadas pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Para verificação do efeito dos tratamentos foi realizada análise de correlação dos teores de amônia com a intoxicação nas plantas. Por haver correlação significativa, foi ajustado o modelo de regressão não-linear de Mitscherlich, desenvolvido por Mitscherlich (1909) adaptado:

$$Y = 100[1 - 10^{(-c(X+b))}]$$

em que b e c correspondem aos parâmetros da equação. O deslocamento lateral da curva é correspondente ao parâmetro "b", e a concavidade da curva ao parâmetro "c".

No estudo de sensibilidade ao amônio glufosinate na primeira geração e no estudo de sensibilidade das progênies, os dados do primeiro experimento e sua repetição foram agrupados, e foi ajustado o modelo de Gompertz, desenvolvido por Gompertz (1825), seguindo procedimentos adaptados por Velini (1995):

$$Y = e^{[a - e^{(-b - c*x)}]}$$

em que a, b e c correspondem aos parâmetros da equação. A assíntota máxima do modelo é representada pela expressão “e^{ab}”, o deslocamento da curva ao longo do eixo x pelo parâmetro "b", e a inclinação ou concavidade da curva em relação à frequência acumulada, pelo parâmetro "c" (VELINI, 1995). Para melhor visualização, optou-se por apresentar a

frequência não-acumulada, que corresponde à primeira derivada do modelo de acordo com a equação:

$$Y = c * e^{(a-b-c*X-e^{(-b-c*X)})}$$

A precisão do ajuste dos dados no modelo de Gompertz foi avaliada pelos coeficientes de determinação (R^2) das equações. Também com base no modelo de Gompertz, foram determinadas as medidas de posição (moda, média e mediana) e de dispersão (coeficiente de variação) dos dados analisados.

As médias aritméticas foram calculadas, enquanto que os valores de moda foram estimados pelos parâmetros da equação, segundo Velini (1995), com a fórmula:

$$y = -\frac{b}{c}$$

E para as estimativas dos valores de mediana utilizou-se a equação:

$$Y = -\frac{\ln(a - 3,912) + b}{c}$$

As análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, SAS Institute, version 9.1.3., Carry, North Carolina, USA), sendo os gráficos elaborados pelo Sigmaplot (SYSTAT SOFTWARE, versão 12.0, San Jose).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Estudo de dose-resposta de plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate

A relação entre a dose de um herbicida e a resposta da planta é de fundamental importância para a compreensão da eficácia do herbicida e seu modo de ação (KAJINO, 2011). Compreender essa relação é essencial para o planejamento e interpretação dos trabalhos em campo, casa-de-vegetação ou em laboratório (SOUZA et al., 2000).

Nesse estudo foram realizados, para cada espécie, dois experimentos para análise do teor de amônia e dois outros para avaliação visual de controle, que se mostraram bastante similares, e permitiram o ajuste de modelos de regressão linear (Figura 5 e 6). Os resultados obtidos nas análises de variância demonstraram que não houve diferenças significativas entre o primeiro experimento e sua repetição, em ambas as espécies, sendo então, realizadas novas análises, dessa vez, conjuntas dos experimentos.

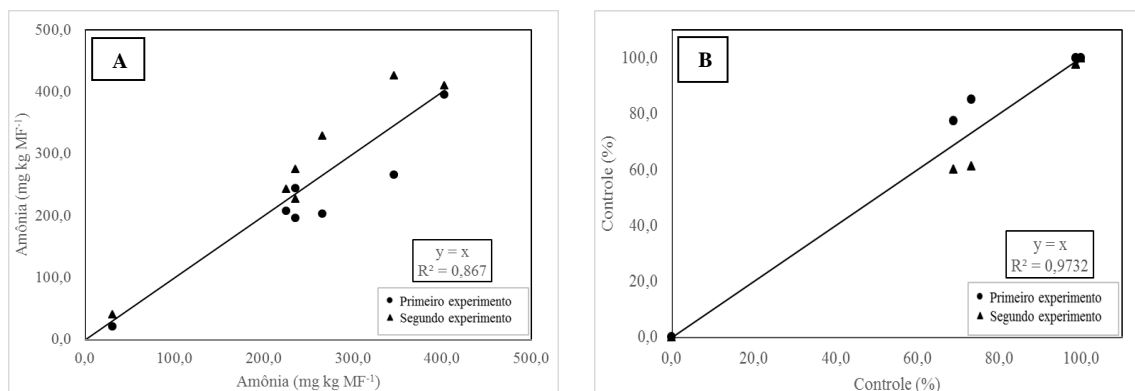


Figura 5. Correlação entre as médias do primeiro experimento e sua repetição para as análises de teor de amônia nos tecidos vegetais (A) e nível de controle (B) do estudo de dose-reposta de plantas de *Bidens pilosa* ao amônio glufosinate.

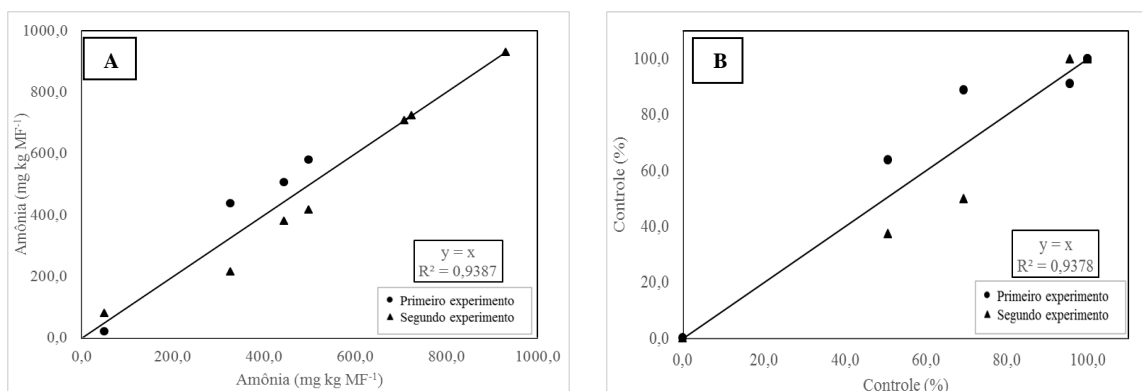


Figura 6. Correlação entre as médias do primeiro experimento e sua repetição para as análises de teor de amônia (A) e nível de controle (B) do estudo de dose-reposta de plantas de *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate.

A análise conjunta dos experimentos indicou não haver diferenças entre os experimentos (realizados em duas épocas), e nem interação entre os tratamentos e experimentos. Diferenças significativas foram observadas apenas entre os tratamentos realizados (doses de amônio glufosinate), para as duas espécies analisadas.

Os contrastes entre o tratamento testemunha e os com aplicação do herbicida amônio glufosinate foram significativos ao nível de $p < 0,01$, demonstrando que todas as doses testadas do herbicida causaram fitointoxicação e aumentaram significativamente o acúmulo de amônia nos tecidos foliares. Os resultados superiores de

teor de amônia foram encontrados em plantas de *B. pilosa* e *C. sumatrensis* que receberam a aplicação do herbicida, e esses são significativamente superiores ($p \leq 0,05$) aos teores das que não receberam aplicação, e consideradas testemunhas dos experimentos.

Todas as doses estudadas provocaram aumento de amônia nos tecidos foliares, sendo na maior dose, de 1600 g i.a. ha⁻¹, o maior teor encontrado, de aproximadamente 403 mg kg MF⁻¹ para *B. pilosa* (Tabela 6), e de 930 mg kg MF⁻¹ para *C. sumatrensis* (Tabela 7).

Tabela 6. Teor de amônia nos tecidos vegetais, em função das doses do herbicida amônio glufosinate aplicado em plantas de *Bidens pilosa*.

Doses (g i.a. ha ⁻¹)	Teor de amônia (mg kg MF ⁻¹)	F	Valor P
0	30,46	-	1
50	235,51	11,07	0,002
100	225,49	10,01	0,003
200	235,39	11,05	0,002
400	346,04	26,21	<0,001
800	266,01	14,60	<0,001
1600	402,90	36,51	<0,001
F Doses		7,20	<0,001
F Experimentos		3,31	0,076
F (Doses x Experimentos)		0,55	0,765
DMS (t $p \leq 0,05$)	124,39		
CV (%)	49,54		

DMS: Diferença mínima significativa; CV: Coeficiente de variação.

Para as duas espécies a maior dose aplicada proporcionou o maior acúmulo de amônia, porém, não houve linearidade na correlação entre dose aplicada e teor de amônia nos tecidos. Estudo realizado com *Lolium perenne* indicou que quanto maior a dose de amônio glufosinate aplicada, menor a atividade da enzima glutamina sintetase (GS) (AVILA-GARCIA; MALLORY-SMITH, 2011). A inibição da GS, pela intoxicação do glufosinate, gera diminuição da glutamina, inibição da biossíntese de aminoácidos e acúmulo de amônia nas plantas (HESS 2000; TSAI; WANG; WANG, 2006), além de ocasionar a ruptura da estrutura do cloroplasto, bloqueando a cadeia de transporte de elétrons (TAN; EVANS; SINGH, 2006; DAYAN; ZACCARO, 2012).

Tabela 7. Teor de amônia nos tecidos vegetais, em função das doses do herbicida amônio glufosinate aplicado em plantas de *Conyza sumatrensis*.

Doses (g i.a. ha ⁻¹)	Teor de amônia (mg kg MF ⁻¹)	F	Valor p
0	50,49	-	1
50	326,67	4,33	0,044
100	498,48	11,38	0,002
200	443,38	8,76	0,005
400	707,49	16,32	<0,001
800	724,35	17,17	<0,001
1600	930,77	29,30	<0,001
F Doses		6,87	<0,001
F Experimentos		1,69	0,204
F (Doses x Experimentos)		0,17	0,983
DMS (t p≤0,05)	271,17		
CV (%)	58,42		

DMS: Diferença mínima significativa; CV: Coeficiente de variação.

Após a aplicação do herbicida amônio glufosinate a enzima glutamina sintetase é inibida, e com isso deixa de converter os substratos amônia e glutamato em glutamina. Assim, ocorre acúmulo de amônia nos tecidos, o qual pode ser medido (WENDLER; BARNISKE; WILD, 1990) e utilizado como indicador de desempenho do herbicida (WILD; SAUER; RÜHLE, 1987; CARBONARI et al., 2016). Pesquisas demonstraram que teores de amônia nas plantas estão relacionados com a toxicidade do herbicida às plantas (PETERSEN; HURLE, 2001; BRITTO; KRONZUCKER, 2002; BARBERIS, 2012; LATORRE, 2014).

Com relação ao nível de controle em função das doses de amônio glufosinate foi possível ajustar o modelo de Mitscherlich aos dados, estando os parâmetros das equações apresentados na Tabela 8. A utilização do modelo de Mitscherlich se justifica quando há um comportamento assintótico claro. Aos três parâmetros do modelo foram atribuídos significados biológicos, sendo o parâmetro "a", o máximo de controle esperado, fixado em 100, visto que as doses aplicadas atingiram 100% de controle; o parâmetro "b" foi identificado como sendo a dose do herbicida que gera intoxicação zero; e o parâmetro "c" determina a concavidade do modelo, indicando o avanço da intoxicação em função da dose

do herbicida.

Tabela 8. Estimativas dos parâmetros do modelo de Mitscherlich ajustado para a correlação entre nível de controle (%) e dose de amônio glufosinate (g i.a. ha⁻¹) em plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis*.

Espécie	Parâmetros do modelo*	Valores
<i>Bidens pilosa</i>	b	0
	c	0,00801
	R ²	0,9960
	F	1497,42**
<i>Conyza sumatrensis</i>	b	0
	c	0,00572
	R ²	0,9923
	F	9785,03**

*Parâmetros estimados pelo modelo Mitscherlich $Y = 100[1 - 10^{-c(X+b)}]$; **Significativo a $p < 0,01$.

Verificou-se que aos 21 DAA houve incremento do percentual de controle com o aumento da dosagem utilizada. As doses de 37,6 g i.a. ha⁻¹ e 87,3 g i.a. ha⁻¹, proporcionaram 50% e 80% de controle em plantas de *B. pilosa*, respectivamente, enquanto que a igual ou superior a 300 g i.a. ha⁻¹ foi suficiente para proporcionar o máximo de controle (Figura 7A). Esse resultado corrobora com o verificado por Braz et al. (2011), que, testando diferentes doses do amônio glufosinate para o controle de plantas de *B. pilosa* resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ALS relataram fitointoxicação superior a 95% em doses a partir de 300 g i.a. ha⁻¹.

Em plantas de *C. sumatrensis* verificou-se que as doses necessárias para 50% e 80% de controle das plantas foram de 52,5 g i.a. ha⁻¹ e 122,3 g i.a. ha⁻¹, respectivamente, sendo verificado nas doses iguais ou superiores a 400 g i.a. ha⁻¹ o máximo de controle (Figura 7B). Santos et al. (2015) também verificaram ser essa a dose para o máximo controle de plantas de *C. sumatrensis*, aos 28 DAA, sendo ela isolada ou associada ao herbicida glyphosate, com as plantas apresentando 5 a 7 cm de altura. Porém, Moreira et al. (2010) relataram que, no controle de buva resistente ao glyphosate, a eficiência do herbicida amônio glufosinate pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento da planta.

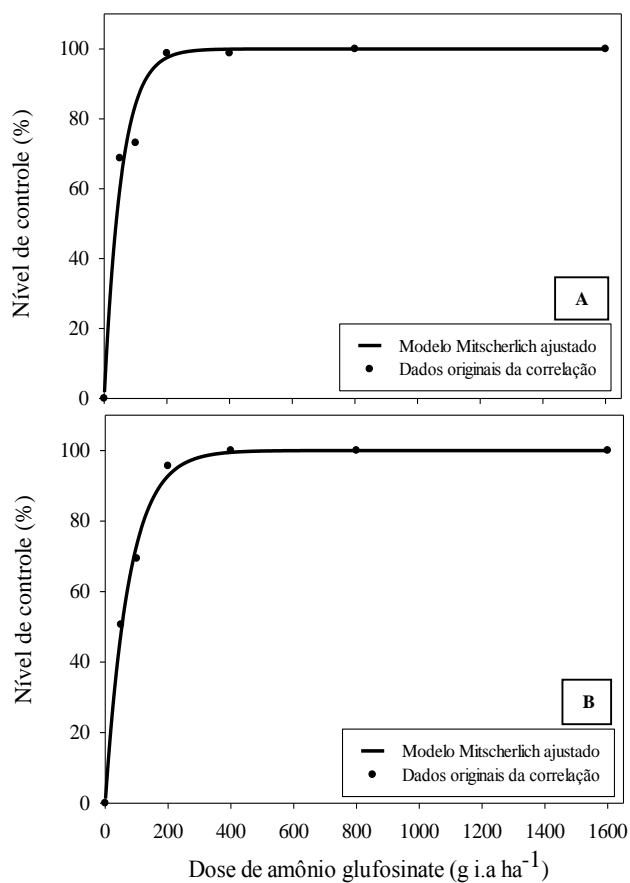


Figura 7. Modelo de Mitscherlich ajustado para a correlação do nível de controle (%) e dose do herbicida amônio glufosinate aplicada (g i.a. ha⁻¹), no estudo de dose-resposta em plantas de *Bidens pilosa* (A) e *Conyza sumatrensis* (B).

As porcentagens de controle das plantas aos 21 DAA aumentaram contínua e assintoticamente com o aumento do teor de amônia presente nos tecidos foliares, e possibilitou o ajuste do modelo de regressão não-linear de Mitscherlich, sendo as estimativas dos parâmetros das equações para plantas de *B. pilosa* e *C. sumatrensis* apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Estimativas dos parâmetros do modelo de Mitscherlich ajustado para a correlação de teor de amônia (mg kg MF⁻¹) e nível de controle (%) em plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis*.

Espécie	Parâmetros do modelo*	Valores
<i>Bidens pilosa</i>	b	-30,9697
	c	0,0040
	R ²	0,9855
	F	170,31**
<i>Conyza sumatrensis</i>	b	-55,8015
	c	0,0017
	R ²	0,9823
	F	138,95**

*Parâmetros estimados pelo modelo Mitscherlich $Y = 100[1 - 10^{(-c(x+b))}]$; **Significativo a $p < 0,01$.

Para plantas de *B. pilosa* o modelo de Mitscherlich apresentou bom ajuste aos dados originais ($R^2=0,9855$). Verificou-se que quanto maior o teor de amônia nos tecidos, maiores são as porcentagens de controle, sendo que, para a total intoxicação das plantas, foram suficientes cerca de 300 mg kg MF⁻¹ nos tecidos (Figura 8A). Para plantas de *C. sumatrensis* o modelo ajustou-se com $R^2=0,9823$, e o aumento do acúmulo de amônia nos tecidos também provocou maior fitointoxicação, porém, para atingir 100% de controle foi necessário teor de amônia superior a 700 mg kg MF⁻¹ (Figura 8B).

Em comparação com as plantas de *B. pilosa*, as de *C. sumatrensis* apresentaram maiores teores de amônia nos tecidos e maior variabilidade entre os teores mínimo e máximo, porém, essa comparação é limitada, em função das particularidades de cada espécie.

A aplicação de um herbicida, mesmo não seletivo, tal como o amônio glufosinate, pode ocasionar diferentes respostas de sensibilidade em plantas daninhas, devido, principalmente, à ampla variabilidade presente nas mesmas. As causas podem ser explicadas por diversos fatores. Espécies que são mais sensíveis ao glufosinate absorvem e translocam mais o herbicida do que as menos sensíveis (PLINE; WU; HATZIOS, 1999, SKORA-NETO; COBLE; CORBIN, 2000), mesmo o amônio glufosinate sendo um produto de ação de contato, com baixa translocação; e ainda, algumas espécies apresentam degradação metabólica, reduzindo a sensibilidade ao glufosinate (MERSEY et al. 1990).

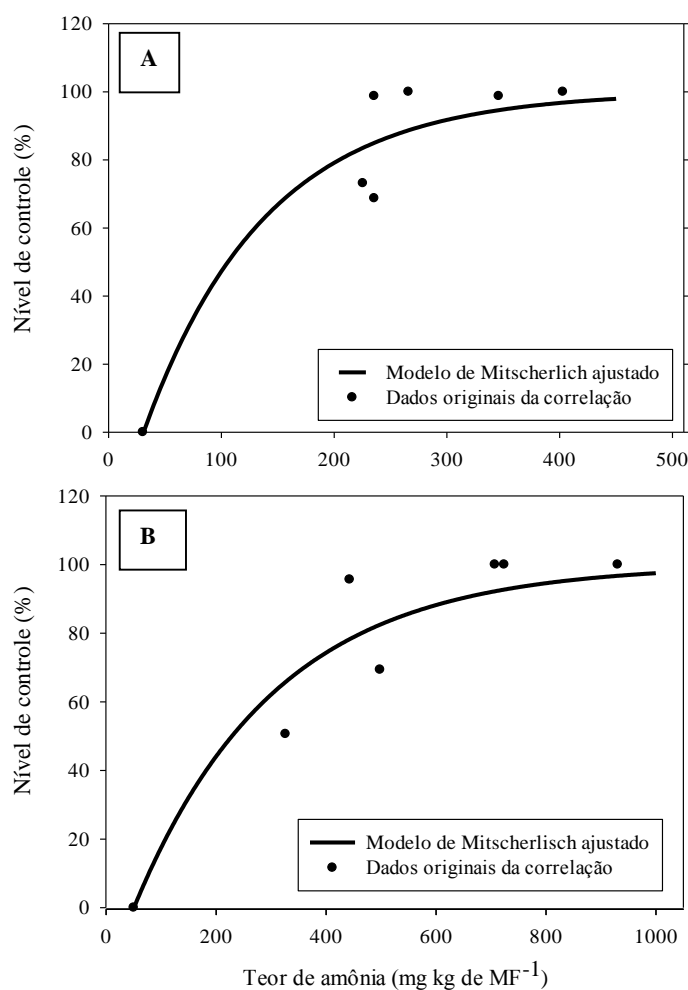


Figura 8. Modelo de Mitscherlich ajustado para a correlação de nível de controle (%) e teor de amônia nos tecidos foliares no estudo de dose-resposta de plantas de *Bidens pilosa* (A) e *Conyza sumatrensis* (B) ao amônio glufosinate.

Além disso, ressalta-se que os teores apresentados podem não ser o total que foi produzido pelas plantas analisadas, mas sim o que estava presente nas folhas no momento da coleta. Manderscheid et al. (2005), analisando quatro espécies de plantas, sendo elas, *Chenopodium album*, *Echinochloa crus-galli*, *Solanum nigrum* e *Tripleurospermum inodorum*, observaram que houve volatilização de amônia para a atmosfera, após a pulverização de 1400 g ha⁻¹ de amônio glufosinate. Os teores foram considerados baixos em todas as espécies, porém também verificou-se diferenças entre elas. Os teores volatilizados pelas plantas de *C. album* foram cerca de um terço do total das plantas de *S. nigrum*.

Nesse estudo, os resultados das avaliações dos níveis de controle permitiram identificar que a aplicação da dose de 200 g i.a. ha⁻¹ de amônio glufosinate

intoxicou as plantas, porém não as levaram à morte. Assim, utilizou-se essa dose durante a realização do estudo de sensibilidade das plantas de *B. pilosa* e *C. sumatrensis* ao herbicida amônio glufosinate, visando a manutenção das plantas vivas para viabilizar a produção de sementes, e a realização do terceiro estudo, com as progênies de plantas selecionadas.

6.2 Estudo de sensibilidade de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate

Visando verificar o comportamento de diversos indivíduos de uma população de *B. pilosa* e de *C. sumatrensis* à aplicação de amônio glufosinate, foi realizado o estudo de sensibilidade ao herbicida. O modelo de regressão não-linear de Gompertz foi ajustado aos dados, considerando o teor de amônia e as frequências acumuladas como variáveis independente e dependente, respectivamente, para as duas populações estudadas, sendo as estimativas dos parâmetros e as medidas de posição e dispersão apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10. Estimativas dos parâmetros da equação, medidas de posição e dispersão dos modelos de Gompertz ajustados para os dados obtidos nas análises de teor de amônia na primeira geração de plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis*.

Modelo		<i>Bidens pilosa</i>	<i>Conyza sumatrensis</i>
Estimativa dos parâmetros*	a	4,60517	4,60517
	b	-1,1695	-2,2011
	c	0,0083	0,0120
Média		218,50	250,56
Mediana		184,18	213,97
Moda		140,23	183,42
R ²		0,9971	0,9970
CV (%)		68,18	58,33
F		14085,6**	4943,83**

* Parâmetros estimados pelo modelo de Gompertz $Y = e^{[a - e^{(-b-cx)}]}$; CV: Coeficiente de variação; **Significativo a $p < 0,01$.

O modelo de Gompertz se encaixa bem às frequências acumuladas expressas em função de alguma informação biológica, como teor de amônia, se for observada assimetria positiva das frequências não-acumuladas, que é a primeira derivada do modelo de Gompertz original conforme observado por Velini (1995).

Os valores do coeficiente de determinação (R^2) foram acima de 0,99 para as duas espécies, demonstrando ajuste satisfatório dos modelos de Gompertz aos dados. Com o cálculo das médias do teor de amônia para as duas espécies pôde-se identificar que as plantas de *C. sumatrensis* apresentaram em média maior acúmulo de amônia que as de *B. pilosa*. Os valores estimados de mediana permitiram determinar o valor máximo encontrado em 50% das plantas das populações analisadas, e os de moda os teores predominantes.

Tanto para a população de *B. pilosa* quanto para a de *C. sumatrensis* os valores observados para média, mediana e moda são diferentes entre si, apresentando, assim, distribuições assimétricas das frequências. Os valores de média e mediana são superiores ao valor modal, portanto, essas distribuições são assimétricas positivas. Desse modo é possível identificar que as curvas apresentam tendência a subir rapidamente e descer de forma mais lenta (ARALDI et al., 2013), comportamento verificado nas Figuras 9 e 10, com a primeira derivada do modelo de Gompertz.

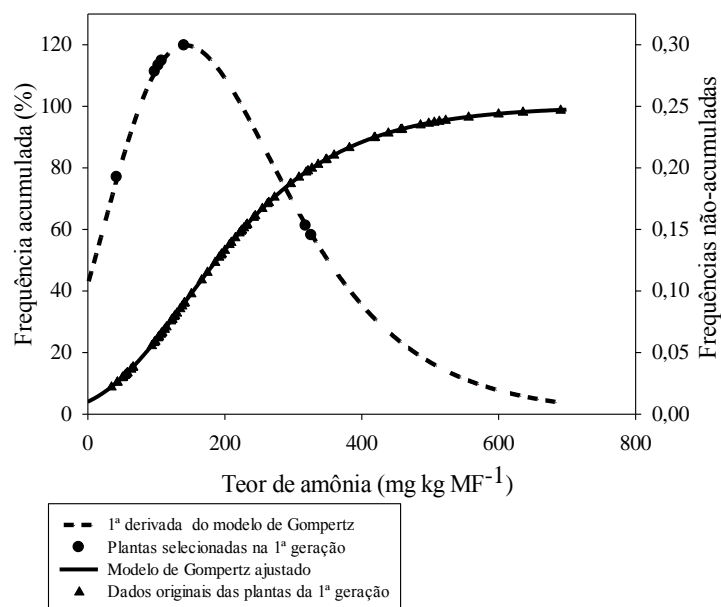


Figura 9. Modelo de Gompertz ajustado (frequência acumulada, %) e frequências não acumuladas para dispersão do teor de amônia das plantas da população de *Bidens pilosa*, e identificação das selecionadas para coleta de sementes.

Conforme os modelos ajustados, foi possível verificar a variabilidade da população à aplicação do glufosinate, tendo em vista a diversidade dos teores de amônia obtidos nas plantas avaliadas. Para a população de *B. pilosa* o intervalo de variação foi de 0 a 690 mg kg MF⁻¹ (Figura 9), enquanto que para a de *C. sumatrensis* essa variação foi de 0 a 745 mg kg MF⁻¹ (Figura 10). A variabilidade de sensibilidade a um herbicida pode existir entre espécies e entre populações da mesma espécie daninha (PAZUCH et al., 2013).

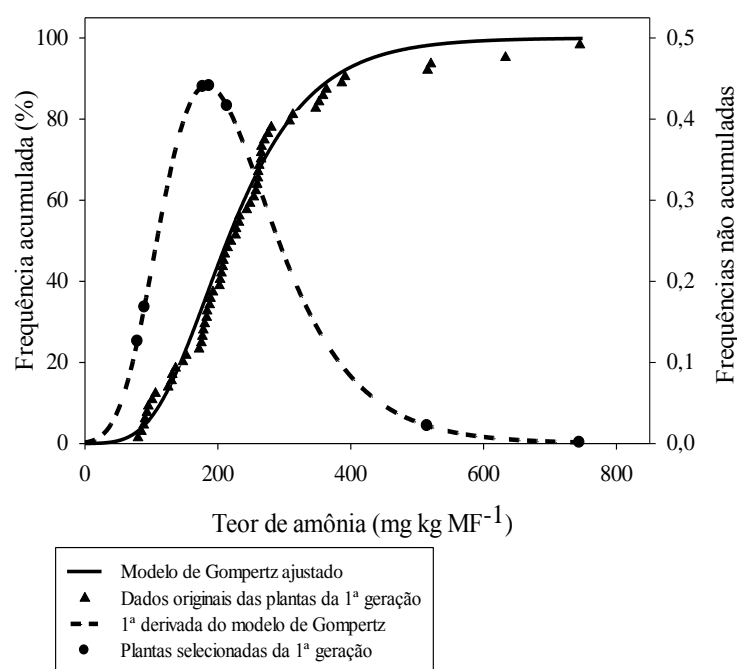


Figura 10. Modelo de Gompertz ajustado (frequência acumulada, %) e frequências não acumuladas para dispersão do teor de amônia das plantas da população de *Conyza sumatrensis*, e identificação das selecionadas para coleta de sementes.

Controlar todas as plantas de uma população de plantas daninhas em uma área, utilizando exatamente a dose recomendada não é praticável nem economicamente viável, visto que a aplicação é realizada com base no crescimento das plantas, e nos estádios de desenvolvimento das mesmas no momento da aplicação (VILA-AIUB; GHERSA, 2005). Considerando-se a desuniformidade de estádios fenológicos e tamanho das plantas nas áreas ao serem realizadas as pulverizações, é altamente provável a consequente desuniformidade

da operação, gerando, segundo Vila-Aiub e Ghera (2005), variação na quantidade de ingrediente ativo que chega por unidade de peso ou de área foliar das plantas alvo.

Nessas condições, doses sub letais de herbicidas atingem as plantas, levando ao controle deficiente e contribuindo para a seleção de plantas menos sensíveis da população (WAUCHOPE; SUMNER; DOWLER, 1997; VILA-AIUB; GHERSA; CARCELLER, 2003). Os indivíduos menos sensíveis ao herbicida têm grande vantagem seletiva em populações de plantas daninhas repetidamente tratadas com o mesmo herbicida e, assim, aumentam em frequência até que as populações mudem para uma predominância de indivíduos resistentes a herbicidas (DÉLYE et al., 2015). Desse modo, a condição de análise utilizada nesse trabalho, mesmo não sendo “proposital”, pode acontecer em condições de campo, mesmo realizando as operações de pulverização de acordo com as recomendações.

Além dessas condições, um dos fatores que podem contribuir para determinar respostas diferentes de plantas daninhas à aplicação de herbicidas é a variabilidade genética presente em populações das diferentes espécies (CIRCUNVIS et al. 2014). Sobre a variabilidade genética em populações de plantas daninhas, Velini et al. (2016) consideram que o tradicional conceito de que um conjunto de genes de uma determinada espécie é praticamente constante, uniformemente expresso e esporadicamente alterado por uma mutação, atualmente não é mais válido. Admite-se atualmente que apenas uma fração dos genes presentes nos genótipos são expressos, e que muitos dos genes estão envolvidos no controle da expressão de outros genes, possibilitando a existência de diversos fenótipos a partir de um único genótipo. Assim, a variabilidade fenotípica pode ser ainda maior do que a variabilidade genotípica que resulta da produção de um elevado número de sementes (VELINI et al., 2016).

Os teores de amônia verificados nas plantas analisadas foram classificados em ordem crescente, o que permitiu identificar diferentes grupos de plantas nas duas espécies, em função dos teores acumulados, após a aplicação do herbicida glufosinate. Foram selecionadas sete plantas de cada espécie para a realização do terceiro estudo, de sensibilidade das progênies de *B. pilosa* e *C. sumatrensis* ao amônio glufosinate, estando as mesmas destacadas nas curvas referentes à frequências não-acumuladas nas Figuras 9 e 10.

Para *B. pilosa*, a planta que acumulou menos amônia encontra-se à esquerda da primeira derivada do modelo de Gompertz, está na região de menor percentual de fitointoxicação do modelo ajustado para a correlação entre percentual de controle e teor

de amônia; as de mais amônia acumulada, à direita da curva, na região de maior percentual de fitointoxicação; e quatro de teores intermediários de amônia e percentual de fitointoxicação, localizadas próximo ao pico da curva, demonstram a seleção de plantas representativas do comportamento das populações analisadas.

Para *C. sumatrensis*, cinco plantas com teores abaixo de 250 mg kg MF⁻¹, consideradas de menos amônia, à esquerda da curva da primeira derivada do modelo de Gompertz, estão na região de menor percentual de fitointoxicação do modelo ajustado para a correlação entre percentual de controle e teor de amônia; e duas com teores acima de 500 mg kg MF⁻¹, consideradas de mais amônia acumulada, à direita da curva, na região de maior percentual de fitointoxicação.

Informações acerca da variabilidade genética ou ambiental da sensibilidade das plantas ao amônio glufosinate são bastante restritas, mas estudo realizado com *Convolvulus arvensis* verificou que uma única população continha cinco biótipos com diferentes níveis de suscetibilidade ao herbicida glyphosate, apresentando níveis de injúrias visuais variando de cerca de 30 a 100%, utilizando escala de 0 a 100% (DEGENNARO; WELLER 1984).

6.3 Estudo de sensibilidade das progênies de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao amônio glufosinate

As plantas de *B. pilosa* e *C. sumatrensis* selecionadas no estudo anterior foram conduzidas para produzirem sementes, somente por autofecundação, que foram semeadas e geraram as progênies analisadas nesse estudo. Nesse estudo foram avaliados os teores de amônia nos tecidos das progênies das três classes de sensibilidade identificadas no estudo anterior.

As plantas de *B. pilosa* produziram sementes em quantidade adequada ao porte, não sendo, assim, identificada autoincompatibilidade nas mesmas, fato também verificado em outros estudos (GROMBONE-GUARATINI; SOLFERINI; SEMIR, 2004). Os dados das frequências acumuladas dos teores de amônia (mg kg MF⁻¹) das progênies das três classes possibilitaram o ajuste do modelo de Gompertz, com R² acima de 0,99, sendo os parâmetros das equações apresentadas na Tabela 11.

Tabela 11. Estimativas dos parâmetros, medidas de posição e dispersão dos modelos de Gompertz ajustados para os dados obtidos nas análises de teor de amônia na primeira geração e suas progênies em plantas de *Bidens pilosa*.

Modelo	Progênies			
	Menos amônia	Intermediárias	Mais amônia	
Estimativa dos parâmetros ¹	a	4,60517	4,60517	4,60517
	b	-1,9830	-1,8244	-1,4911
	c	0,0273	0,0260	0,0254
Média	100,54	91,21	81,86	
Mediana	83,22	84,35	73,14	
Moda	72,77	70,24	58,70	
R ²	0,9591	0,9919	0,9982	
CV (%)	49,77	46,74	55,13	
F	1230,59**	22911,02**	1931,31**	

¹Parâmetros estimados pelo modelo de Gompertz $Y = e^{[a - e^{(-b - c \cdot x)}]}$; CV: Coeficiente de variação; **Significativo a $p < 0,01$.

Os dados obtidos permitiram concluir que não houve herdabilidade da característica de sensibilidade ao amônio glufosinate em plantas de *B. pilosa*, não havendo diferenças entre as progênies das três classes identificadas inicialmente na primeira geração (Figura 11A). As progênies, geradas por autofecundação, apresentaram comportamento similar às das plantas que foram selecionadas para essa análise (plantas-mãe), porém, não reproduziram as pronunciadas diferenças de acúmulo de amônia.

As progênies apresentaram redução na variação do teor de amônia nos tecidos analisados. Em relação à população progenitora, os teores de amônia variaram até 250 mg kg MF⁻¹, enquanto que na primeira geração variaram até cerca de 700 mg kg MF⁻¹, porém, deve-se ressaltar que tal fato pode estar relacionado às diferentes épocas do ano em que tais estudos foram conduzidos, não sendo possível relacionar esses resultados à redução de sensibilidade das plantas.

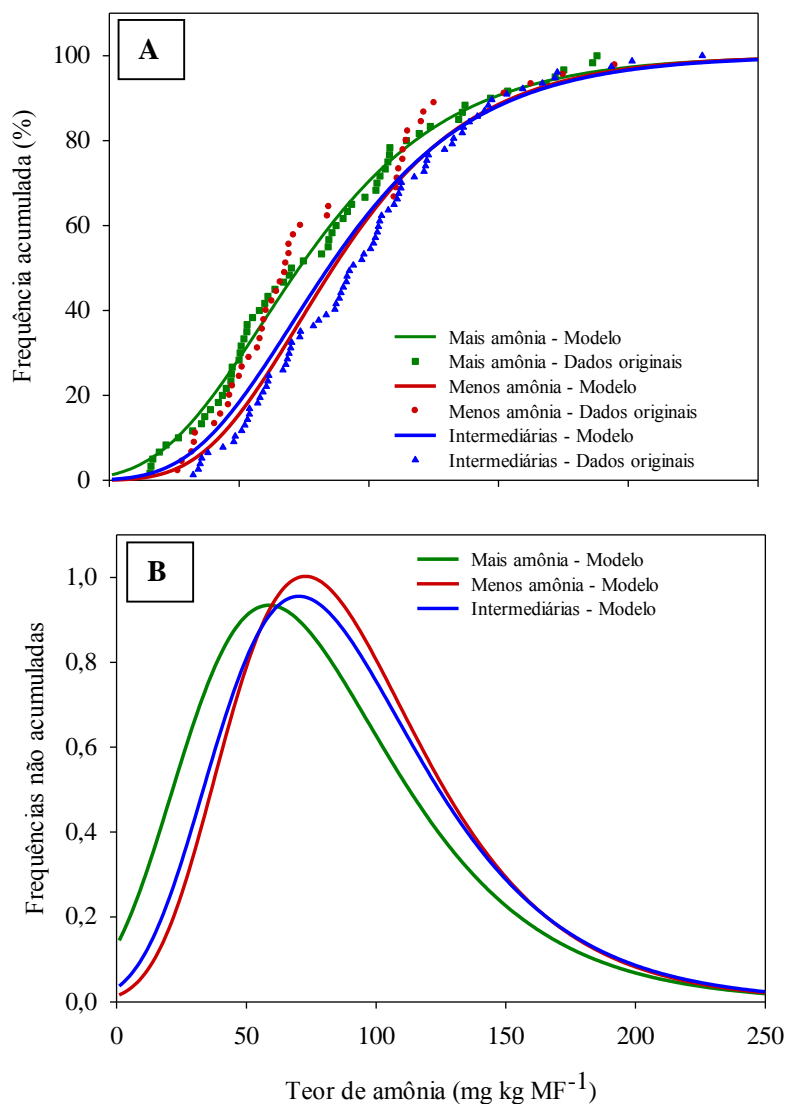


Figura 11. Modelo de Gompertz ajustado (frequência acumulada, %) (A) e frequências não acumuladas (B) para a dispersão do teor de amônia das progênes de *Bidens pilosa*.

Como discutido no estudo com a primeira geração das plantas de *B. pilosa*, os valores observados para média, mediana e moda para as progênes também diferiram entre si, apresentando distribuição assimétrica positiva das frequências não acumuladas. Assim, as curvas tenderam a subir rapidamente e descer de forma mais lenta, comportamento verificado na Figura 11B.

A *C. sumatrensis* é uma planta hexaploide e autocompatível, não sendo comumente polinizadas por insetos (THÉBAUD, et al., 1996; CIRCUNVIS, et al.,

2014), e as plantas analisadas produziram sementes viáveis para realização desse estudo. Os dados das frequências acumuladas dos teores de amônia (mg kg MF^{-1}) das progênes das duas classes possibilitaram o ajuste do modelo de Gompertz, com R^2 acima de 0,99, sendo os parâmetros das equações apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12. Estimativas dos parâmetros, medidas de posição e dispersão dos modelos de Gompertz ajustados para os dados obtidos nas análises de teor de amônia na primeira geração e suas progênes em plantas de *Conyza sumatrensis*.

Modelo	Progênes		
	Menos amônia	Mais amônia	
Estimativa dos parâmetros	a	4,6151	5,0238
	b	-1,8792	-1,8497
	c	0,0059	0,0030
Média	413,22	565,14	
Mediana	378,22	571,71	
Moda	318,51	606,46	
R^2	0,9965	0,9990	
CV (%)	46,99	35,40	
F	112326**	15909,2**	

*Parâmetros estimados pelo modelo de Gompertz $F = e^{[a - e^{(-b - c \cdot x)}]}$; CV: Coeficiente de variação.

As populações de progênes não repetiram as pronunciadas diferenças identificadas entre as plantas da primeira geração, e foi verificada ampliação do espectro de variação do teor de amônia nos tecidos analisados. Nas plantas da primeira geração foram observados teores variando entre 0 e $740 \text{ mg kg MF}^{-1}$ (Figura 10), enquanto que nas progênes os teores variaram de 0 a $940 \text{ mg kg MF}^{-1}$ (Figura 12A). No entanto, enfatiza-se que essa variação pode estar relacionada com as diferentes épocas do ano em que os estudos foram conduzidos.

As plantas que apresentaram maiores concentrações de amônia nos tecidos, após serem tratadas com amônio glufosinate produziram progênes que também acumularam concentrações de amônia mais elevadas em consequência da aplicação do herbicida, no entanto, houve grande variação no acúmulo de amônia dentro das progênes, independente da capacidade das plantas-mãe para acumular amônia como consequência do

mesmo tratamento. À medida que o acúmulo de amônia foliar foi relacionado com a fitointoxicação em plantas de *C. sumatrensis* após a aplicação do glufosinate, os resultados mostraram que a capacidade de acumular menos amônia, possivelmente indicativo de menor sensibilidade para o herbicida, pode ser herdada em níveis baixos em populações de *C. sumatrensis* após autopolinização.

As progênes foram avaliadas por classe identificada, conforme descrito anteriormente, e os valores das medidas de posição (média, mediana e moda) estão apresentadas na Tabela 12. Os valores são diferentes entre si, nas duas classes, de maior e menor teor de amônia nos tecidos, apresentando, assim, uma distribuição assimétrica das frequências não acumuladas.

As progênes da classe de menos amônia, por terem apresentado valores decrescentes de média, mediana e moda, demonstraram assimetria positiva, com curva apresentando tendência a subir rapidamente e descer de forma mais lenta (ARALDI et al., 2013), comportamento verificado na Figura 12B. De modo contrário, as da classe de mais amônia, por terem apresentado valores crescentes de média, mediana e moda, demonstraram assimetria negativa.

Na literatura não foram encontrados trabalhos realizados com a metodologia utilizada nesse trabalho, porém, avaliações de *Chenopodium album* identificaram que a geração parental exposta exclusivamente ao glyphosate influenciou a suscetibilidade da geração seguinte ao herbicida (KNISS et al., 2007). Plantas que sobreviveram às aplicações de 420 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate, avaliadas por até seis anos produziram progênes com susceptibilidade reduzida ao herbicida, em comparação às plantas que não foram expostas ao glyphosate. No entanto, os autores indicaram que os resultados variaram quanto ao nível de suscetibilidade em função do local avaliado, e suas características ambientais (temperatura e umidade relativa), e a dose aplicada do glyphosate.

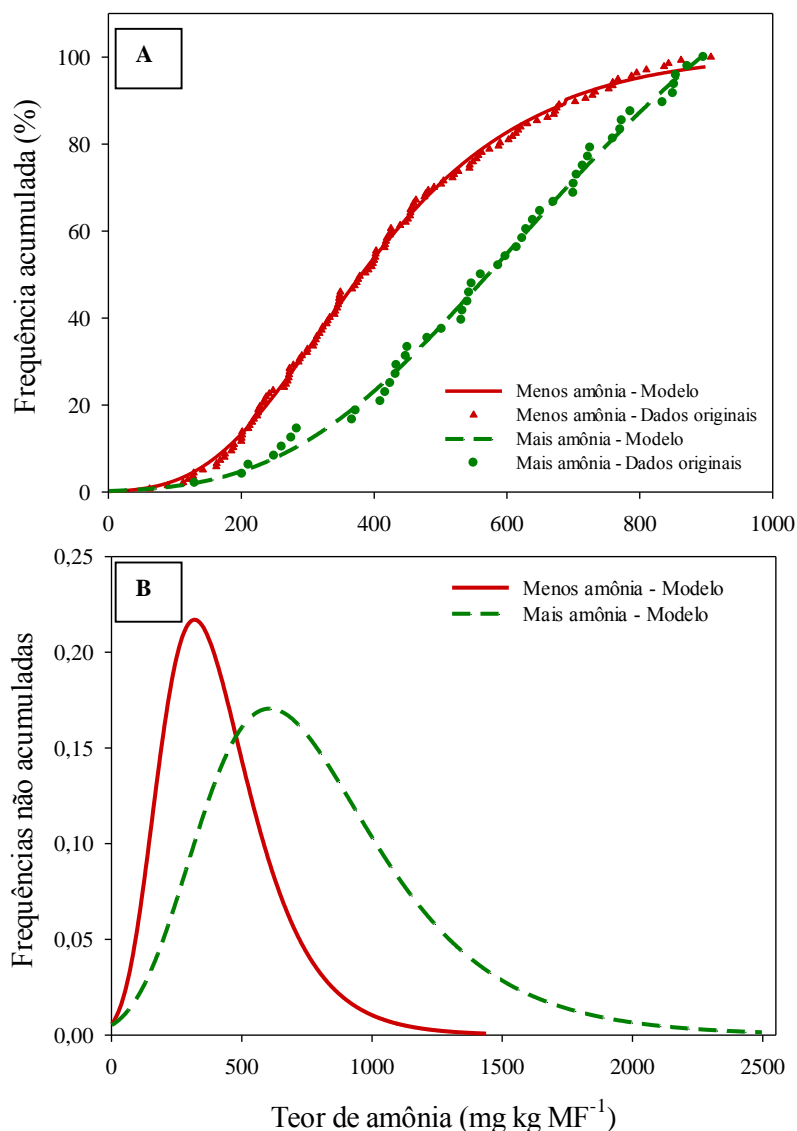


Figura 12. Modelo de Gompertz ajustado (frequência acumulada, %) (A) e frequências não acumuladas (B) para dispersão do teor de amônia das progênes de *Conyza sumatrensis*.

Além disso, análises realizadas com treze seleções de kochia (*Kochia scoparia* (L.) Schrad.), autopolinizadas por quatro gerações, demonstraram diferenças no percentual de injúria visual e produção de sementes entre as plantas, em relação ao herbicida 2,4-D (BELL; NALEWAJA; SCHOOLER, 1972). A progênie mais suscetível apresentou injúrias com a dose de 0,35 kg i.a. ha⁻¹, enquanto que para a mais tolerante foi necessária a dose de 0,70 kg i.a. ha⁻¹. De acordo com Christoffoleti et al. (2000), toda população em que os indivíduos demonstram uma base genética variável quanto à

tolerância a uma medida de controle, irá com o tempo, mudar sua composição populacional como mecanismo de fuga para sobrevivência, diminuindo a sensibilidade a esta medida de controle.

A diversidade genética existente em uma população, principalmente de plantas daninhas, é de se esperar que seja alta. Em *B. pilosa* e *C. sumatrensis* ainda não é claro o modo como esses processos genéticos contribuem para a resistência a herbicidas, e ainda mais especificamente, como poderiam contribuir para o desenvolvimento de resistência ao amônio glufosinate em populações sensíveis a esse herbicida. A sensibilidade ao herbicida é naturalmente variável em uma população, assim, as plantas podem ser caracterizadas como mais ou menos sensíveis ao amônio glufosinate. Devido às importantes consequências relativas à seleção de plantas de *B. pilosa* e *C. sumatrensis* após pulverizações de herbicidas, buscou-se com esse trabalho contribuir para a compreensão da hereditariedade de acúmulo de amônia em tecidos foliares após o tratamento com o herbicida amônio glufosinate.

7 CONCLUSÕES

O acúmulo de amônia é um indicador de sensibilidade de plantas de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* ao herbicida amônio glufosinate, sendo um parâmetro para análises de sensibilidade de plantas daninhas ao herbicida.

As populações de *Bidens pilosa* e *Conyza sumatrensis* estudadas são formadas por indivíduos com elevada variabilidade na capacidade de acumular amônia e apresentar injúrias após a aplicação de amônio glufosinate.

Quando comparadas à população original de *Bidens pilosa*, as progênes geradas após auto-polinização apresentaram menor média e menor amplitude da distribuição dos valores de amônia acumulada após a aplicação do amônio glufosinate.

As plantas de *Conyza sumatrensis* que acumulam maiores teores de amônia após serem tratadas com amônio glufosinate produziram progênes com o mesmo comportamento, porém, com grande variação.

Quando comparadas à população original de *Conyza sumatrensis*, as progênes geradas após auto-polinização apresentaram maior média e maior amplitude da distribuição de valores de amônia acumulada após a aplicação do amônio glufosinate.

8 REFERÊNCIAS

ACASTER, M.A.; WEITZMAN, P.D.J. Kinetic analysis of glutamine synthetases from various plants. **FEBS Letters**, v.189, p.241, 1985.

ADEGAS, F.S.; VOLL, E.; PRETE, C.E.C. Embebição e germinação de sementes de picão-preto (*Bidens pilosa*). **Planta Daninha**, v.21, n.1, p.21-25, 2003.

AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE - ARS. **Pesticide Properties DataBase**. 2009. Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=14199>>. Acesso em: 22 jun. 2016.

ALLENDORF, F.W.; LUIKART, G. **Conservation and the genetics of populations**. Massachusetts: Blackwell Publishing Maden. 642p. 2007.

ALVINO, C.A. et al. Interferência e controle de plantas daninhas nas culturas agrícolas. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**. n.20, p.1-4. 2011.

AMARAL, A.; TAKAKI, M. Achene dimorphism in *Bidens pilosa* L. as determined by germination test. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.41, n.1, p.11-16, 1998.

ANDERSON, D.M. et al. The influence of soil moisture, simulated rainfall and time of application on the efficacy of glufosinate-ammonium. **Weed Research**, v.33, n.2, p.149-160, 1993.

ARALDI, R. et al. Variação do tamanho de sementes de plantas daninhas e sua influência nos padrões de emergência das plântulas. **Planta Daninha** v.31, n.1, p.117-126, 2013.

- AVILA-GARCIA, W.V.; MALLORY-SMITH, C. Glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium perene*) populations also exhibit resistance to glufosinate. **Weed Science**, v.59, n.3, p.305–309, 2011.
- BAIO, F.H.R.; PIRES, L.F.; TOMQUELSK, G. Mapeamento de picão preto resistente aos herbicidas inibidores da ALS na região sul mato-grossense. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.29, n.1, p.59-64, 2013.
- BALDWIN, F.L. Weed control in Roundup tolerant soybeans. **Proc. South. Weed Science Society**, v.48, p.46, 1995.
- BARBERIS, L.R.M. **Metodologia para determinação de efeitos fisiológicos de metabólicos do glufosinate em soja**. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 75p. 2012.
- BARTOLOME, A.P.; VILLASEÑOR, I.M.; YANG, W.E. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical Properties, Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 51p. 2013.
- BELL, A.R.; NALEWAJA, J.D.; SCHOOLER, A.B. Response of kochia selections to 2,4-D, dicamba, and picloram. **Weed Science**, v.20, n.5, p.458–462, 1972.
- BÉRIAULT, J.N.; HORSMAN, G.P.; DEVINE, M.D. Phloem transport of D,L-glufosinate and acetyl-L-glufosinate in glufosinate-resistant and susceptible *Brassica napus*. **Plant Physiology**, v.121, n.2, p.619–628, 1999.
- BERLICKI, L. Inhibitors of glutamine synthetase and their potential application in medicine. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v.8, p.869-878, 2008.
- BHOWMIK, P.C.; BEKECH, M.M. Horseweed (*Conyza canadensis*) seed production, emergence and distribution in no-tillage and conventional-tillage corn (*Zea mays*). **Agronomy**, v.1, n.1, p.67-71, 1993.
- BLACKSHAW, R.E. et al. Differential response of weed species to added nitrogen. **Weed Science**, v.51, n.4, p.532–539, 2003.
- BRAZ, G.B.R. et al. Herbicidas alternativos no controle de *Bidens pilosa* e *Euphorbia heterophylla* resistentes a inibidores de ALS na cultura do algodão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.10, n.2, p.74-85, 2011.
- BRITTO, D.T.; KRONZUCKER, H.J. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. **Journal of Plant Physiology**, v.159, n.6, p.567-584, 2002.

- BRUNHARO, C.A.D.C.G.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M. Aspectos do mecanismo de ação do amônio glufosinato: culturas resistentes e resistência de plantas daninhas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.13, n.2, p.163-177, 2014.
- CAMACHO CALERO, D. 2004. **Estudio del patrón espacial de dispersión de semillas de *Conyza bonariensis*, una mala hierba anemócora**. Beca SEMh 2004. Universidad de Huelva.
- CARBONARI, C.A. et al. Resistance to glufosinate is proportional to phosphinothricin acetyltransferase expression and activity in LibertyLink® and WideStrike® cotton. **Planta**, v.243, n.4, p.925-933, 2016.
- CARMONA, R.; VILLAS-BÔAS, H.D.C. Dinâmica de sementes de *Bidens pilosa* no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.3, p.457-463, 2001.
- CARVALHO, L.B. **Interferência de *Digitaria insularis* em *Coffea arabica* e Respostas destas Espécies ao Glyphosate**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 119p. 2011.
- CARVALHO, S.J.P. et al. Differential susceptibility of *Amaranthus genus* weed species to the herbicides trifloxysulfuron-sodium and chlorimuron-ethyl. **Planta Daninha**, v.24, n.3, p.541-548, 2006.
- CHOMPOO, J.; PORNPROM, T. RT-PCR based detection of resistance conferred by an insensitive GS in glufosinate-resistant maize cell lines. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v.90, p.189-195, 2008.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. et al. Imidazolinone resistant *Bidens pilosa* biotypes in the Brazilian soybean areas. Meeting of the Weed Science Society of America. Norfolk. **WSSA Abstract**. v.36, p.10, 1996.
- CHRISTOFFOLETI, P.J. et al. **Plantas daninhas à cultura da soja: controle químico e resistência a herbicidas**. In: CÂMARA, G.M.S. (Ed.) Soja: tecnologia da produção. Piracicaba: ESALQ, p.179-202. 2000.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Definições e situação da resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil e no Mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.) **Aspectos da resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 2ª ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas (HRAC-BR), p. 3-22 2004.
- CIRCUNVIS, B.C. et al. Caracterização genética de amostras de *Conyza* sp. do estado do Paraná. **Planta Daninha**, v.32, n.1, p.173-179, 2014.

COETZER, E.; AL-KHATIB, K. Photosynthetic inhibition and ammonium accumulation in Palmer amaranth after glufosinate application. **Weed Science**, v.49, n.4, p.454-459, 2001.

CONSTANTIN, J. et al. Desempenho de Gamit em diferentes formulações para o controle de picão-preto proveniente de diferentes locais do Cerrado Brasileiro. CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 8. COTTON EXPO, São Paulo. Evolução da cadeia para construção de um setor forte: **Anais...** Campina Grande, PB: Embrapa Algodão, p.863-868, 2011.

CRUDEN, R.W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution**, v.31, n.1, p.32-46, 1976.

DAYAN, F.E. et al. Biochemical markers and enzyme assays for herbicide mode of action and resistance studies. **Weed Science**, v.63, n.1, p.23-63, 2015.

DAYAN, F.E.; ZACCARO, M.L.d.M. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.102, n.3, p.189-197, 2012.

DAYAN, F.E.; DUKE, S.O. Natural compounds as next-generation herbicides. **Plant Physiology**, v.166, n.3, p.1090-1105, 2014.

DEGENNARO, F.P.; WELLER, S.C. Differential susceptibility of field bindweed (*Convolvulus arvensis*) biotypes to glyphosate. **Weed Science** v.32, n.4, p.472-476, 1984.

DEUBER, R. Controle de plantas daninhas na cultura da soja. In: **A soja no Brasil Central**, v.1, 1986. p.367-392.

DEVI, M.T.; RAGHAVENDRA, A.S. Photorespiration in C₃-C₄ intermediate species of *Alternanthera* and *Parthenium*-reduced ammonia production and increased capacity CO₂ refixation in the light. **Photosynthesis Research**, v.38, n.2, p.177-184, 1993.

DEVINE, M.; DUKE, S.O.; FEDTKE, C. **Physiology of herbicide action**. Englewood Cliffs: PTR Prentice Hall, 1993. 441 p.

DÉLYE, C. et al. Molecular mechanisms of weed resistance. **Weed Science**, v.63, p.91-115, 2015.

DIAS, N.M.P. et al. Absorção e translocação do herbicida diuron por espécies suscetível e tolerante de capim-colchão (*Digitaria* spp.). **Planta Daninha**, v.21, n.2, p.293-300, 2003.

DUKE, S.O.; LYDON, J. Herbicides from natural compounds, **Weed Technology**, v.1,

p.122-128, 1987.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA: **Panorama Fitossanitário**. Disponível em: < <http://panorama.cnpms.embrapa.br>>. Acesso em: 8 ago. 2016.

FAO/WHO. Glufosinate-ammonium. In **Pesticide Residues in Food, Report 2012**. Evaluations. Report of the Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Food and Agriculture Organization of The United Nations/World Health Organization. Rome, p. 209-242, 2013.

FAY, P.K.; DUKE, W.B. An assesment of allelopathic potencial in Avena germoplasm. **Weed Science**, v.25, p.224-228, 1977.

FLECK, N.G. et al. Ação dos herbicidas atrazine e glufosinate de amônio no aproveitamento de nitrogênio pelas plantas de milho. **Planta Daninha**, v.19, n.2, p.235-245, 2001.

FREITAS, R.S. et al. Interferência de plantas daninhas na cultura de algodão em sistema de plantio direto. **Planta Daninha**, v.20, n.2, p.197-205, 2002.

GHERSA, C.M.; HOLT, J.S. Using phenology prediction in weed management: a review. **Weed Research**, v.35, n.6, p.461-470, 1995.

GOMES JR., F.G.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Biologia e manejo de plantas daninhas em áreas de plantio direto. **Planta Daninha**, v.26, n.4, p.789-798, 2008.

GOMPERTZ B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v.115, p.513-583, 1825.

GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; et al. Differential susceptibility to glyphosate among the *Conyza* weed species in Spain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, n.7, p.4361-4366, 2010.

GOSSETT, B.J.; TOLER, J.E. Differential control of palmer amaranth (*Amaranthus palmei*) and smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*) by postemergence herbicides in soybean (*Glycine max*). **Weed Technology**, v.13, n.1, p.165-168, 1999.

GROMBONE-GUARATINI, M.T.; SOLFERINI, V.N.; SEMIR, J. Reproductive biology in species of *Bidens* L. (Asteraceae). **Scientia Agricola**, v.61, n.2, p.185-189, 2004.

GUILHEN, J.H.S. et al. Crescimento e Alocação de Biomassa de Propágulos de

Trapoeiraba: Efeito do Número de Nós e Profundidade de Enterrio. **Nucleus**, v.12, n.1, p.145-150, 2015.

HAAS, P.; MULLER, F. Behaviour of glufosinate-ammonium in weeds. **Proceedings of the British Crop Protection Conference, Weeds**, p. 1075-1082, 1987.

HANIOKA, Y, Paraquat-resistant biotype of *Erigeron sumatrensis* Retz. in mulberry fields in Saitama Prefecture. **Weed Research**, v.34, p.210–214, 1989.

HAO, J.H.; QIANG, S.; LIU, Q.Q.; CAO, F. Reproductive traits associated with invasiveness in *Conyza sumatrensis*. **Journal of Systematics and Evolution**, v. 47, p.245-254, 2009.

HATTORI, E.K.O.; NAKAJIMA, J.N. A família Asteraceae na Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro, Perdizes, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia*, v. 59, p. 687-749. 2008.

HEAP I, **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Online. Internet. Disponível em: <www.weedscience.org>. Acesso em 04 de maio de 2016. 2016.

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

HERNANDES, G. C.; VIDAL, R. A.; WINKLER, L. M. Levantamento de práticas agronômicas e distribuição geográfica de *Bidens* spp. resistentes aos herbicidas inibidores de ALS nos Estados do Rio Grande do Sul e do Paraná. **Planta Daninha**, v.23, p.677-682, 2005.

HESS, F.D. Light dependent herbicides: an overview. **Weed Science** v.48, n.2, p.160-170 2000.

HOERLEIN, G. Glufosinate (phosphinothricin), a natural amino acid with unexpected herbicidal properties. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.138, p.73-145, 1994.

HOLM, L.G. et al. **The World's Worst Weeds. Distribution and Biology**. University Press of Hawaii. Honolulu, Hawaii, USA. 610p. 1977.

HOLT, R.D.; HOCHBERG, M.E. When is biological control evolutionarily stable (or is it?). **Ecology**, v.78, n.6, p.1673-1683, 1997

JANSEN, C.; SCHUPHAN, I.; SCHMIDT, B. glufosinate metabolism in excised shoots and leaves of twenty plant species. **Weed Science**. v.48, n.3, p.319-326, 2000.

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 10. ed. São Paulo: Nacional, 1991.v.4.

JÚLIO, P. G. S.; OLIVEIRA, D. M. T. Morfoanatomia comparada e ontogênese do pericarpo de *Bidens gardneri* Baker e *B. pilosa* L. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.32, n.1, p.109-116, 2009.

KAJINO, H.S. **Modelo de análise de populações de plantas daninhas resistentes a herbicidas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, São Carlos. 75 p. 2011.

KARIS, P.O; RYDING, O. **Asteraceae Cladistics and Classification**. BREMER, K. Eds, p.559–569, Timber press, Portland, Ore, USA, 1994.

KISSMANN, K.G. ***Bidens pilosa* L. e *Bidens subalternans* DC**. São Paulo: BASF Brasileira. 6 p. 1997.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. v.2. São Paulo: BASF, 1999. 978p.

KLEIN, A.; FELLIPE, G. M. Efeitos da luz na germinação de sementes de ervas invasoras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n.7, p.955-966, 1991.

KNISS, A.R. et al. Glyphosate susceptibility in common lambsquarters (*Chenopodium album*) is influenced by parental exposure. **Weed Science**, v.55, n.6, p.572–577, 2007.

KÖCHER, H.; KOCUR, J. Influence of wetting agents on the foliar uptake and herbicidal activity of glufosinate. **Journal of Pesticide Science**, v.37, n.2, p.155-158, 1993.

KOGER, C. H. et al. Effect of residual herbicides used in the last post-directed application on weed control and cotton yield in glyphosate-and glufosinate-resistant cotton. **Weed Technology**, v.21, n.2, p.378-383, 2007.

KRUGER, G.R. et al. Response and survival of rosette-stage horseweed (*Conyza canadensis*) after exposure to 2,4-D. **Weed Science**, v.56, n.5, p.748-752, 2008.

LACA-BUENDIA, J.P. Controle das plantas daninhas na cultura algodoeira. **Informativo Agropecuário**, v.8, n.92, p.37-47, 1990.

LACUESTA, M. et al. Effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis and chlorophyll fluorescence emission by barley leaves illuminated under photorespiratory and

nonphotorespiratory conditions. **Journal of Experimental Botany**, v.43, p.246-251, 1992.

LAM, H.M. et al. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.47, p.569-593, 1996.

LATORRE, D.O. **Intoxicação e Alterações Metabólicas do Algodão Sensível e Resistente ao Amônio Glufosinate**. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 65p. 2014.

LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J.; VARGAS, L. Resistência de plantas daninhas a herbicidas. In: VARGAS, L. ROMAN, E.S. (Eds.). **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p.185-214, 2004.

LÓPEZ-OVEJERO, R.F. et al. Resistance and differential susceptibility of *Bidens pilosa* and *B. subalternans* biotypes to ALS-inhibiting herbicides. **Scientia Agricola**, v.63, n.2, p.139-145, 2006.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1991. 440 p.

MANDERSCHIED, R. et al. Glufosinate treatment of weeds results in ammonia emission by plants, **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.109, n.1, p.129-140, 2005.

MANDERSCHIED, R.; WILD, A. Studies on the mechanism of inhibition by phosphinothricin of glutamine synthetase isolated from *Triticum aestivum* L. **Journal of Plant Physiology**, v.123, n.2, p.135-142, 1986.

MARINIS, G. Ecologia de plantas daninhas. In: CAMARGO, P.N. **Texto básico de controle de plantas daninhas**. 4ª ed. ESALQ - Piracicaba, SP. 1972. p.1-74.

MATHIS, W.D.; OLIVER, L.R. Control of six morningglory (*Ipomoea*) species in soybeans (*Glycine max*). **Weed Science**, v.28, n.4, p.409-415, 1980.

MERSEY, B.G. et al. Factors affecting the herbicidal activity of glufosinate-ammonium: absorption, translocation, and metabolism in barley and green foxtail. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.37, n.1, p.90-98, 1990.

METZ, P. et al. A transgene-centered approach to the biosafety of transgenic phosphinothricin-tolerant plants. **Molecular Breeding**, v.4, n.4, p.335-341, 1998.

MITSCHERLICH, E.A. Das gesetz des minimums und das gesetz des abnehmenden bodenertrages. **Landwirtschaftliche Jahrbücher**, v.38, p.537-552, 1909.

MONQUERO, P.A, et al. Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. **Planta Daninha**, v.22, n.3, p.445-451, 2004.

MONTEALEGRE F.; VARGAS, J.P. Efecto de algunas practicas culturales sobre la población de arroz rojo y los rendimientos del arroz comercial. **Arroz**, v.38, n.359, 1989.

MOREIRA, M.S. et al. Herbicidas alternativos para controle de biótipos de *Conyza bonariensis* e *C. canadensis* resistentes ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.28, n.1, p.167-175, 2010.

MOREIRA, M.S. et al. Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, p.157-164, 2007.

MULLNER, H.; ECKES, P.; DONN, G. Engineering crop resistance to the naturally occurring glutamine synthetase inhibitor phosphinothricin. In **Pest Control with Enhanced Environmental Safety**. DUKE, S.O.; MENN, J.J.; PLIMMER, J.R. Eds. Washington D.C., American Chemical Society. Chap. v.3, p.38-47, 1993.

MUNIZ FILHO, A. et al. Capacidade de emergência de picão-preto em diferentes profundidades de semeadura. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.4, n.1, 2004.

NEVE, P. et al. Simulating evolution of glyphosate resistance in *Lolium rigidum*. II. Past, present and future of glyphosate use in Australian cropping. **Weed Research**. v.43, n.2, p.418-427, 2003.

NEVE, P.; POWLES, S. High survival frequencies at low herbicide use rates in populations of *Lolium rigidum* result in rapid evolution of herbicide resistance. **Heredity**, v.95, n.6, p.485-492, 2005.

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

OLIVELLA, J. et al. Aspectos botânicos, ecofisiológicos e diferenciação de espécies do gênero *Conyza*. **Informe Técnico**. CONICET. 2015.

OSIPE, R., ADEGAS, F.S., OSIPE, J.B. Plantas Daninhas na Agricultura: O caso da buva. In: Constantin, J.; Oliveira Jr., R.S.; Oliveira Neto, A.M. **Buva: Fundamentos e Recomendações para Manejo**. Curitiba, PR: Omnipax, 104p. 2013.

PAOLINI, R. et al. Competition between safflower and weeds as influenced by crop genotype and sowing time. **Weed Research**. v.38, n.4, p.247-255, 1998.

PAZUCH, D. et al. Populações de corda-de-viola (*Ipomoea* ssp.) da Região Sudoeste do Paraná: principais espécies e tolerância ao glyphosate. **Informe técnico – NIPED- UFTPR**, v.1, n.1, p.1-5.2013.

PENCKOWSKI, L H.; ROCHA, D.C. **Guia ilustrativo de identificação e controle de espécies de trapoerabas**. Castro: Fundação ABC, 50p. 2006.

PETERSEN, J.; HURLE, K. Influence of climatic conditions and plant physiology on glufosinate-ammonium efficacy. **Weed Research**, v.41, n.1, p.31-39, 2001.

PETERSON, D.E, The impact of herbicide-resistant weeds on Kansas agriculture. **Weed Technology**, v.13, n.13, p.632-635, 1999.

PLINE, W.A.; WU, J.; HATZIOS, K.K. Absorption, translocation, and metabolism of glufosinate in five weed species as influenced by ammonium sulfate and pelargonic acid. **Weed Science**, v.47, n.6, p.636-643, 1999.

PORNPROM, T.; CHOMPOO, J.; GRACE, B. Glufosinate tolerance in hybrid corn varieties based on decreasing ammonia accumulation. **Weed Biology Management**, v.3, n.1, p.41-45, 2003.

PRICE, A.J. et al. Glyphosate-resistant Palmer amaranth: a threat to conservation tillage. **Journal of Soil and Water Conservation**, v.66, n.4, p.265-275, 2011.

PROCÓPIO, S.O. et al. Absorção e utilização do nitrogênio pelas culturas da soja e do feijão e por plantas daninhas. **Planta Daninha**, v.22, n.3, p.365–374, 2004.

PRUSKI, J.F.; SANCHO, G. *Conyza sumatrensis* var. *leiotheca* (Compositae: Astereae), a new combination for a common neotropical weed. **Novon: A Journal for Botanical Nomenclature**, v.16, n.1, p.96-101, 2006.

RAY, T. Herbicides as inhibitors of amino acid biosynthesis. In: BÖGER, P., SANDMAN, G. eds. **Target Sites of Herbicide Action**. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc. p.106-107, 1989.

REGEHR, D.L.; BAZZAZ, F.A. The population dynamics of *Erigeron canadensis*, a successional winter annual. **Journal of Ecology**, v.67, n.3, p.923-933, 1979.

RIDLEY, S.M.; MCNALLY, S.F. Effects of phosphinothricin on the isoenzymes of glutamine synthetase isolated from plant species which exhibit varying degrees of susceptibility to the herbicide. **Plant Science**, v.39, n.1, p.31–36, 1985.

RODRIGUES, B.N.; ALMEIDA, F.S. **Guia de herbicidas**. 6. RODRIGUES, B.N.;

ALMEIDA, F.S. (Eds): Londrina, p. 84, 2011.

ROSS, M. A.; LEMBI, C. A. Applied Weed Science. **Macmillan Publishing Company**, New York, NY. 340 p. 1985.

RUCHEL, Q. et al. Caracterização morfoanatômica, contagem cromossômica e viabilidade polínica de biótipos de azevém suscetível e resistentes ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.33, n.3, p.567-578, 2015.

SALGADO, G.C. et al. Interação do manejo cultural e mecânico no desenvolvimento do Picão Preto (*Bidens pilosa* L.). **Cadernos de Agroecologia**. v.9, n.4, 2014.

SANKULA, S.; BRAVERMAN, M.P.; OARD, J. Genetic analysis of glufosinate resistance in crosses between transformed rice (*Oryza sativa*) and red rice (*Oryza sativa*). **Weed Technology**, v.12, p.209-214, 1998.

SANTOS, F.M. et al. Herbicidas alternativos para o controle de *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. H. Walker resistentes aos inibidores da ALS e EPSPs. **Revista Ceres**, v.62, n.6, p.531-538, 2015.

SANTOS, F.M. et al. Estádio de desenvolvimento e superfície foliar reduzem a eficiência de chlorimuron-ethyl e glyphosate em *Conyza sumatrensis*. **Planta Daninha**, v.32, n.2, p.361-375, 2014a.

SANTOS, G. **Resistência múltipla ao glyphosate e ao chlorimuron-ethyl em biótipos de *Conyza sumatrensis***. Dissertação (Mestrado em Produção de Plantas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá. 87 p. 2012.

SANTOS, G. et al. Multiple resistance of *Conyza sumatrensis* to Chlorimuron-ethyl and to Glyphosate. **Planta Daninha**, v.32, p.409-416, 2014b.

SANTOS, J.B.; CURY, J.P. Picão-preto: uma planta daninha especial em solos tropicais. **Planta Daninha**, v. 29, n. spe, p.1159-1172, 2011.

SAUER, H.; WILD, A.; RÜHLE, W. The effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis, II: the causes of inhibition of photosynthesis. **Zeitschrift für Naturforschung C: A Journal of Biosciences**, v.42, n.3, p.270-287, 1987.

SELLERS, B.A.; SMEDA, R.J.; LI, J. Glutamine synthetase activity and ammonium accumulation is influenced by time of glufosinate application. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.78, n.1 p.9-20, 2004.

SILVA, I.P.F. et al. Absorption velocity of glufosinate and its effects on weeds and cotton. **Agrociencia**, v.50, p.239-249, 2016.

SILVA, K.S. et al. Sensibilidade do capim-capivara a herbicidas. **Planta Daninha**, v.30, n.4, p.817-825, 2012.

SILVERSTOWN, J.W.; LOVETT DOUST, J. **Introduction to plant population ecology**. Oxford: Blackwell Scientific, 1993. 102 p.

SKORA-NETO, F.; COBLE, H.; CORBIN, F. Absorption, translocation and metabolism of ¹⁴C-glufosinate in *Xanthium strumarium*, *Commelina diffusa*, and *Ipomoea purpurea*. **Weed Science**, v.48, n.2, p.171-175, 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS (SBCPD). **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina. 42 p. 1995.

SOUZA, A.P. et al. Logistic equation use in studying the dose-response of glyphosate and imazapyr by using bioassays. **Planta Daninha**, v.18, n.1, p.17-28, 2000.

SOUZA, G.S.F. et al. Tempo para a absorção de herbicidas em *Senna obtusifolia* sob intervalos de chuva. XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas. **Anais...** Ribeirão Preto – SP. 2010.

SOUZA, M.C. et al. Emergência de *Bidens pilosa* em diferentes profundidades de semeadura. **Planta Daninha**, v.27, n.1, p.29-34, 2009.

SUN, M.; GANDERS, F.R. Outcrossing rates and allozyme variation in rayed and rayless morphs of *Bidens pilosa*. **Heredity**, v.64, n.1, p.139-143, 1990.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ª edição. Editora Artmed, 719 p., 2004.

TAMASHIRO, S.Y.; LEITÃO FILHO, H.F. Observações sobre o ciclo de vida de *Bidens pilosa* (Compositae, Heliantheae). **Hoehnea**, v.7, p.27-40, 1978.

TAN, S.; EVANS, R.; SINGH, B. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. **Amino Acids**, v.30, p.195–204, 2006.

THEBAUD, C. et al. Assessing why two introduced *Conyza* differ in their ability to invade Mediterranean old fields. **Ecology**, v.77, p.791-804, 1996.

THEBAUD, C.; ABBOTT, R.J. Characterization of invasive *Conyza species* (Asteraceae) in Europe: quantitative trait and isoenzyme analysis. **American Journal of Botany**, v.82,

p.360-368, 1995.

TSAI, C.J.; WANG, C.S.; WANG, C.Y. Physiological characteristics of glufosinate resistance in rice. **Weed Science**, v.54, n.4, p.634-640, 2006.

TUFFI SANTOS, L. D. et al. Efeito do glyphosate sobre a morfoanatomia das folhas e do caule de *Commelina diffusa* e *C. benghalensis*. **Planta Daninha**, v.22, n.1, p.101-108, 2004.

ULLRICH, W.R.; ULLRICH-EBERIUS, C.I.; KÖCHER, H. Uptake of glufosinate and concomitant membrane potential changes in *Lemna gibba*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.37, p 1-11, 1990.

VARGAS, L.; BOREM, A.; SILVA, A.A. Herança da resistência aos herbicidas inibidores de ALS em biótipos de *Euphorbia heterophylla*. **Planta Daninha**, v.19, n.3, p.331-336, 2001.

VARGAS, L. et al. Glyphosate influence on the physiological parameters of *Conyza bonariensis* biotypes. **Planta Daninha**, v.32, n.1, p.151-159, 2014.

VARGAS, L. et al. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Viçosa, MG: Jard Produções, 1999. 131 p.

VELINI, E.D. **Estudos e desenvolvimento de métodos experimentais e amostrais adaptados à matologia**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 250 p. 1995.

VELINI, E.D. et al. *Eucalyptus* ESTs corresponding to the enzyme glutamine synthetase and the protein D1, sites of action of herbicides that cause oxidative stress. **Genetics and Molecular Biology**, v.28, n.3, p.555-561, 2005.

VELINI, E.D. et al. Perspectivas na evolução dos casos de resistência no Brasil: novos conceitos sobre a resistência de plantas daninhas a herbicidas. In: 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 aos Herbicidas - HRAC-BR, 2016. p.251-262.

VIDAL, R.A. et al. Análise genética de genótipos de *Bidens pilosa* através da técnica RAPD. **Scientia Agricola**, v.8, n.4, p.399-403, 2006.

VIDAL, R.A. et al. Impacto da temperatura, irradiância e profundidade das sementes na emergência e germinação de *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* resistentes ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.25, n.2, p.309-315, 2007.

VIDAL, R.A. et al. Similaridade genética entre acessos de *Bidens pilosa* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS. **Planta Daninha**, v.23, n.3, p.551-556, 2005.

VIDAL, R.A.; MEROTTO JÚNIOR, A. **Herbicidologia**. Porto Alegre: Evangraf, 2001. 152p.

VILA-AIUB, M.M.; GHERSA, C.M. Building up resistance by recurrently exposing target plants to sublethal doses of herbicide, **European Journal of Agronomy**, v.22, n.2, p.195-207, 2005.

VILA-AIUB, M.M.; GHERSA, C.M.; CARCELLER, M. Effect of herbicide diclofop-methyl on proton extrusion from *Lolium multiflorum* seedlings differing in resistance and in fungal endophyte (*Neotyphodium* sp.) infection. **Plant Physiology**, v.119, p.429-439, 2003.

VOLL, E. et al. Embebição e germinação de sementes de capim-marmelada. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, n.1, p.58-61, 1997.

WAUCHOPE, R.D., SUMNER, H.R., DOWLER, C.C., 1997. A measurement of the total mass of spray and irrigation mixtures intercepted by small whole plants. **Weed Technology**, v.11, p.466-472, 1997.

WENDLER, C.; BARNISKE, M.; WILD, A. Effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis and photorespiration of C₃ and C₄ plants. **Photosynthesis Research**, v.24, n.1, p.55-61, 1990.

WILD, A.; SAUER, H.; RÜHLE, W. The effect of phosphinothricin (glufosinate) on photosynthesis I. Inhibition of photosynthesis and accumulation of ammonia. **Zeitschrift für Naturforschung C: A Journal of Biosciences**, v.42, n.3, p.263-269, 1987.

WINKLER, L.M.; VIDAL, R.A.; BARBOSA NETO, J.F. Aspectos genéticos envolvidos na resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Plantio Direto**, v.70, n.4, p.21-24, 2002.