

VINICIUS GABRIEL CANEPPELE PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE *Conyza sumatrensis* AO
HERBICIDA PARAQUAT**

Botucatu

2019

VINICIUS GABRIEL CANEPPELE PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE *Conyza sumatrensis* AO
HERBICIDA PARAQUAT**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Agricultura).

Orientador: Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari

Botucatu

2019

P436c Pereira, Vinicius Gabriel Caneppele
Caracterização da resistência de *Conyza sumatrensis* ao herbicida paraquat / Vinicius Gabriel Caneppele Pereira. -- Botucatu, 2019
84 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
Orientador: Caio Antonio Carbonari

1. Buva. 2. Estresse oxidativo. 3. Inibidores do fotossistema I. 4. Adaptabilidade ecológica. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

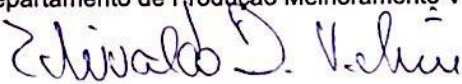
Título: **“CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE *Conyza sumatrensis* AO HERBICIDA PARAQUAT”**

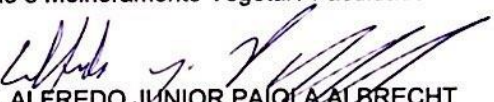
AUTOR: VINICIUS GABRIEL CANEPPELE PEREIRA

ORIENTADOR: CAIO ANTONIO CARBONARI

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


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


Prof. Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI
Produção e Melhoramento Vegetal / Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP - Câmpus de Botucatu


Prof. Dr. ALFREDO JUNIOR PAIOLA ALBRECHT
Setor Palotina / Universidade Federal do Paraná

Botucatu, 19 de julho de 2019.

Aos meus amados pais e irmãos

Marcio, Tonara, Gabriella e Bruno

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, por me proporcionar paciência e sabedoria para vencer os obstáculos e por me agraciar com pessoas especiais nesta jornada.

Agradeço aos meus pais Marcio e Ionara e aos meus irmãos Gabriella e Bruno, pela base familiar e por todos ensinamentos, momentos compartilhados e apoio incondicional. A família é o principal alicerce em nossas vidas.

A minha noiva Tainara, por todo amor, carinho, atenção, paciência e motivação durante esta jornada e a sua família pela receptividade, amizade e confiança.

Aos professores Caio Antonio Carbonari e Edivaldo Domingues Velini, pela orientação durante a condução destes estudos, pelas oportunidades proporcionadas, pela confiança depositada e por compartilharem seus conhecimentos.

Aos amigos e professores Alfredo Junior Paiola Albrecht e Leandro Paiola Albrecht, pelo incentivo a pesquisa e a pós-graduação.

Ao Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM) por toda estrutura e condições de trabalho proporcionadas durante estes anos de estudo.

Ao Laboratório de Ecofisiologia Aplicada à Agricultura (LECA), em especial ao professor Marcelo de Almeida Silva e as doutorandas Anna Luiza e Vanessa Rosa, por todo o suporte na condução das pesquisas

A faculdade de ciências agrônômicas (FCA – Unesp Botucatu), ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Agricultura e a todos os docentes que fizeram parte desta formação.

Aos amigos Bruno, Danilo, Fabio, Natalia, Renato e Victor pelo apoio e amizade durante estes anos e pelos momentos de descontração proporcionados. Aos técnicos e amigos do NUPAM José Guilherme, Marcelo Siono e José Roberto por toda ajuda proporcionada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – pela bolsa de estudos concedida.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma estiveram presentes e fazem parte desta conquista.

Muito Obrigado!

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

Ayrton Senna

RESUMO

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é um problema que tem se agravado nos últimos anos, principalmente devido a seleção de biótipos resistentes de buva (*Conyza* spp.) a importantes herbicidas no manejo destas plantas daninhas, como é o caso do paraquat. Este herbicida atua no aparato fotossintético das plantas, desviando elétrons no fotossistema I, o que leva a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), causando reações oxidativas e morte das plantas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o comportamento das plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes frente à biótipos suscetíveis ao paraquat, com relação a adaptabilidade ecológica e respostas à ação do herbicida. Ensaio para a caracterização da resistência dos biótipos foram conduzidos através de curvas dose-resposta, a fim de identificar o fator de resistência destas plantas ao paraquat, selecionando-se o biotipo mais resistente para estudos posteriores (FR: 184,71). Foram conduzidos experimentos de adaptabilidade ecológica da espécie, sem a aplicação do herbicida, avaliando-se variáveis morfológicas das plantas como acúmulo de biomassa seca, área foliar, altura das plantas, densidade e tamanho de estômatos além de parâmetros relacionados a fluorescência das plantas (ETR, Fv/Fm). Um terceiro experimento foi conduzido com os mesmos biótipos, trabalhando-se com duas doses de paraquat (0 e 800 g i.a ha⁻¹), a fim de avaliar variáveis fisiológicas no período de 2, 4 e 24 horas após a aplicação (HAA). Algumas plantas foram coletadas 4 HAA para a realização de análises bioquímicas de enzimas antioxidantes da planta como SOD, CAT, APX, POX e MDA. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de tukey ($p \leq 0,05$) calculando-se o intervalo de confiança. Os biótipos resistentes ao paraquat quando na ausência do herbicida, naturalmente apresentaram maior acúmulo de biomassa seca e área foliar, além de maior taxa de assimilação líquida de CO₂ (A), eficiência de carboxilação (EC), condutância estomática (gs) e eficiência no uso da água (EUA). Estes biótipos apresentaram maior densidade estomática tanto na face adaxial quanto na face abaxial das folhas, no entanto apresentam estômatos menores com relação ao biotipo suscetível. A taxa de transporte de elétrons (ETR) e o rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm) foram similares entre os biótipos resistentes e suscetível, porém quando houve a aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat, apenas os biótipos

resistentes apresentaram recuperação 16 HAA. As plantas resistentes apresentaram maior atividade natural das enzimas CAT, SOD, APX, e menor acúmulo de MDA após a aplicação. Os biótipos de *C. sumatrensis* além de apresentarem elevado fator de resistência, demonstram diferenças morfológicas, fisiológicas e bioquímicas com relação às plantas suscetíveis, além de demonstrarem rápida recuperação dos efeitos deletérios causados pela aplicação de paraquat.

Palavras-chave: Buva. Estresse oxidativo. Inibidores do fotossistema I. Adaptabilidade ecológica.

ABSTRACT

The weeds resistance to herbicides is a problem that has worsened in recent years, mainly due to the selection of resistant fleabane biotypes (*Conyza* spp.) to important herbicides in the management of these weeds, as is the case of paraquat. This herbicide acts on the photosynthetic apparatus of plants, diverting electrons from photosystem I, which leads to the formation of reactive oxygen species (ROS), causing oxidative reactions and plant death. In this context, the objective of this study was to characterize the behavior of resistant *Conyza sumatrensis* plants in relation to the paraquat susceptible biotypes, in terms of ecological adaptability and responses to herbicide effect. Resistance characterization tests were carried out through dose-response curves (assay 1) to identify the resistance factor of these plants to paraquat, selecting the most resistant biotype for later studies (FR: 184,71). Ecological adaptability experiments were carried out without herbicide application (assay 2), evaluating plant morphological variables such as accumulation of dry biomass, leaf area, plant height, stomata density and size, as well as parameters related to plant fluorescence (ETR, Fv/Fm). A third experiment was carried out with the same biotypes, two doses of paraquat (0 and 800 g ha⁻¹) were applied, in order to evaluate physiological variables at 2, 4 and 24 hours after application (HAA). Some plants were collected 4 HAA to perform biochemical analyzes of plant antioxidant enzymes such as SOD, CAT, APX, POX and MDA. The data were submitted to analysis of variance by the F test ($p \leq 0.05$) and the means were compared by the tukey test ($p \leq 0.05$), and the confidence interval was calculated. The biotypes resistant to paraquat when in the absence of the herbicide, naturally presented greater accumulation of dry biomass and leaf area, besides higher CO₂ assimilation rate (A), carboxylation efficiency (EC), stomatal conductance (gs) and water use efficiency (WUE). These biotypes presented higher stomatal density on both the adaxial and abaxial sides of the leaves, but generally present smaller stomata in relation to the sensitive biotype. The electron transfer rate (ETR) and the quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm) were similar between resistant and susceptible biotypes, but when 800 g i.a ha⁻¹ of paraquat were applied, only the resistant biotypes recovered 16 HAA. Resistant plants showed higher natural activity of CAT, SOD, APX, and lower accumulation of MDA after application. *C. sumatrensis* biotypes, besides showing a high resistance factor, also demonstrated

morphological, physiological and biochemical differences in relation to susceptible plants, as well as showing a rapid recovery of deleterious effects induced by paraquat application.

Keywords: Sumatran Fleabane. Oxidative stress. Photosystem I inhibitors. Ecological adaptability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da molécula de paraquat.....	27
Figura 2 - Representação do mecanismo de ação do herbicida paraquat no fotossistema I das plantas.....	29
Figura 3 - Localização dos pontos de coleta dos biótipos resistentes (R) e suscetível (S) na região de Assis Chateaubriand, PR.....	38
Figura 4 – Microscópio óptico utilizado para as avaliações de densidade estomática e tamanho de estômatos das plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat.....	42
Figura 5 – Espectrofotômetro UV-2700, UV-VIS, Shimadzu®, utilizado para as análises bioquímicas	44
Figura 6 - Curva de dose-resposta para a biomassa seca (%) obtida aos 28 DAA de paraquat para biotipos de <i>Conyza sumatrensis</i>	48
Figura 7 - Comportamento da altura de plantas (cm) e área foliar (cm ²) para o estudo 1 (A e B) e estudo 2 (C e D) de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat.....	49
Figura 8 - Comportamento de acúmulo de biomassa seca (%) de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat no estudo 1 (A) e estudo 2 (B).....	50
Figura 9 - Densidade estomática (A) e tamanho de estômatos (B) dos biotipos de <i>Conyza sumatrensis</i> resistente e suscetível ao paraquat.....	52
Figura 10 – Indicação dos estômatos presentes na superfície adaxial (A e B) e abaxial (C e D) das folhas de <i>Conyza sumatrensis</i> suscetíveis e resistentes ao paraquat.....	54
Figura 11 - Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat.....	55
Figura 12 – Comportamento de ETR (A) e Fv/Fm (B) das plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis após a aplicação de 800 g i.a ha ⁻¹ de paraquat.....	56

Figura 13 - Assimilação líquida de CO ₂ de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha ⁻¹ de paraquat (B).....	58
Figura 14 - Condutância estomática de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha ⁻¹ de paraquat (B).....	60
Figura 15 - Taxa transpiratória de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha ⁻¹ de paraquat (B)	61
Figura 16 - Eficiência do uso da água de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha ⁻¹ de paraquat (B).....	62
Figura 17 - Concentração interna de CO ₂ de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha ⁻¹ de paraquat (B).....	63
Figura 18 - Eficiência de carboxilação de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha ⁻¹ de paraquat (B).....	64
Figura 19 - Concentração do complexo aldeído malônico-TBA de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat.....	67
Figura 20 - Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), peroxidases (POX) (C) e ascorbato peroxidase (APX) (D) de plantas de <i>Conyza sumatrensis</i> resistentes e suscetíveis ao paraquat	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
A	Assimilação líquida de CO_2
APX	Ascorbato peroxidase
C_{50}	Dose necessária para controlar 50% das plantas
CAT	Catalase
Ci	Concentração interna de carbono
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
E	Taxa transpiratória
EC	Eficiência de carboxilação
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ETR	Taxa de transporte de elétrons
EUA	Eficiência no uso da água
FR	Fator de Resistência
GR_{50}	Dose necessária para reduzir 50% da biomassa seca
gs	Condutância estomática
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
IRGA	Infra Red gas analyzer
MDA	Malondialdeído
NUPAM	Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Ânion superóxido
OH^{\cdot}	Radical hidroxila
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa
POX	Peroxidases
PSI	Fotossistema I
ROS	Reactive oxygen species
SOD	Superóxido dismutase
TBA	Ácido tiobarbitúrico
USDA	United State Department of Agriculture

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1	IMPACTO DA MATOINTERFERÊNCIA NA AGRICULTURA	23
2.2	BIOLOGIA DO GÊNERO <i>CONYZA</i> SPP.....	25
2.3	O HERBICIDA PARAQUAT	27
2.4	RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AO PARAQUAT	29
2.5	RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS À HERBICIDAS	30
2.6	MECANISMOS DE RESISTÊNCIA	34
2.6.1	ALTERAÇÃO DO SÍTIO DE AÇÃO	34
2.6.2	AMPLIFICAÇÃO GÊNICA	35
2.6.3	METABOLIZAÇÃO OU DESINTOXICAÇÃO DO HERBICIDA	36
2.6.4	ABSORÇÃO E/OU TRANSLOCAÇÃO DIFERENCIAL.....	36
2.6.5	COMPARTIMENTALIZAÇÃO DO HERBICIDA.....	36
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1	EXPERIMENTO I: CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA.....	39
3.2	EXPERIMENTO II: ANÁLISES MORFOLÓGICAS E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA.....	40
3.3	EXPERIMENTO III: ANÁLISES BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS	42
3.3.1	ATIVIDADE DA SOD.....	43
3.3.2	ATIVIDADE DA CAT	44
3.3.3	ATIVIDADE DA POX.....	44
3.3.4	ATIVIDADE DA APX	45

3.3.5	CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA.....	45
3.3.6	PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDEOS.....	45
3.4	ANÁLISES DOS DADOS	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1	EXPERIMENTO I: CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA.....	47
4.2	EXPERIMENTO II: ANÁLISES MORFOLÓGICAS E FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA	49
4.3	EXPERIMENTO III: ANÁLISES BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS.....	57
5	CONCLUSÕES.....	73
	REFERÊNCIAS.....	75

1 INTRODUÇÃO

O herbicida paraquat é não seletivo de amplo espectro, utilizado em pós-emergência para o controle de plantas daninhas monocotiledôneas e dicotiledôneas. São caracterizados por serem cátions fortes, logo são rapidamente sorvidos aos colóides do solo, resultando em sua rápida inativação. Apresenta rápida absorção foliar, e os sintomas de fitointoxicação aparecem tão rapidamente quanto maior for a intensidade luminosa em que as plantas estão expostas após a aplicação.

Paraquat e diquat são herbicidas pertencentes ao grupo químico dos bipyridílios, classificados segundo seu mecanismo de ação como inibidores do fotossistema I. Estas moléculas herbicidas são capazes de desviarem elétrons da cadeia transportadora de elétrons do fotossistema I, devido ao potencial redutor que apresentam. Durante este processo, há a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (OH^\cdot), os quais promovem a oxidação de proteínas, lipídeos, moléculas de DNA e RNA, levando ao extravasamento do conteúdo celular e morte da planta.

Estes herbicidas são uma importante ferramenta ao produtor rural, seja na dessecação pré-colheita de culturas como a soja ou na dessecação de plantas daninhas no pré-plantio da cultura de verão. Devido à eficiência de controle de plantas daninhas, o volume de aplicação de paraquat, bem como a frequência de uso deste herbicida é elevada, resultando em um aumento na pressão de seleção exercida pelo herbicida sobre populações de plantas daninhas e conseqüentemente o aumento na seleção de biótipos resistentes.

O primeiro caso de resistência de plantas daninhas ao paraquat foi registrado na década de 80 para *Erigeron philadelphicus* no Japão. Atualmente têm-se o relato de 70 casos em todo o mundo, seja através da resistência isolada a este herbicida ou múltipla com outros mecanismos de ação. No Brasil já foram relatados 3 casos envolvendo o paraquat, todos estes referentes a resistência de *Conyza sumatrensis*, sendo um caso de resistência simples ao paraquat, resistência múltipla a paraquat, chlorimuron-ethyl e glyphosate e o caso mais recente de resistência múltipla ao paraquat, glyphosate, saflufenacil, diuron e 2,4-D. (HEAP, 2019).

A buva (*C. sumatrensis*) é uma planta daninha da família Asteraceae, caracterizada por sua elevada produção de sementes leves e de fácil dispersão pelo vento, fator que facilita sua disseminação. Plantas de buva apresentam alta

diversidade genética, favorecendo a seleção de biótipos resistentes à herbicidas em uma determinada população. Características como a autopolinização aliada a elevada produção de sementes contribuem para que biótipos de *C. sumatrensis* apresentem alta adaptabilidade ecológica, favorecendo a expansão e o impacto da matointerferência desta espécie em áreas agrícolas.

O maior fluxo de emergência de buva nas áreas agrícolas do Brasil está situado nos períodos de outono/inverno, coincidindo com épocas em que, em alguns casos, as áreas permanecem sem a devida cobertura vegetal, favorecendo a germinação das sementes que necessitam de luz para que o processo ocorra. O maior fluxo de emergência de buva também coincide com o período em que o herbicida paraquat é mais utilizado, durante a dessecação para o plantio da soja no verão. Assim, a pressão de seleção exercida pelo herbicida sobre populações de buva, resulta na seleção de biótipos resistentes.

Um do mecanismo que pode conferir resistência de plantas daninhas ao paraquat é a maior atividade de enzimas antioxidantes na planta, como ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e peroxidases totais (POXs). A maior atividade enzimática é capaz de eliminar espécies reativas de oxigênio, impedindo efeitos deletérios à planta, podendo ser relacionado como um mecanismo de resistência da espécie. Em alguns casos, o mecanismo que promove a resistência pode apresentar algum custo para a planta como, por exemplo, algumas espécies resistentes às triazinas apresentam uma atividade fotossintética menos eficiente com relação à biótipos suscetíveis, devido a alteração do sítio de ação do herbicida, o que confere a resistência.

A identificação de *C. sumatrensis* resistente ao paraquat no Brasil é algo recente (ZOBIOLE et al., 2019), pouco se sabe sobre o comportamento destes biótipos resistentes frente à indivíduos suscetíveis da mesma espécie. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o comportamento da resistência de *C. sumatrensis* ao paraquat com relação a aspectos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, partindo-se da hipótese de que as plantas resistentes apresentam maior atividade do sistema antioxidante, no entanto apresentam um custo de resistência.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Impacto da matointerferência na agricultura

A produção brasileira de grãos ocupa um papel importante no cenário mundial. A estimativa de produção total no Brasil para a safra 2018/19 é de 236,7 milhões de toneladas, 4% acima da produção total da safra anterior, ocorrendo também um leve aumento na área plantada, com previsão de 62,8 milhões de hectares, 1,8% acima da área plantada na safra 2017/18, sendo que as áreas para o cultivo de soja, milho segunda safra e algodão são as que representam maior expansão (CONAB, 2019).

Com relação a produção de soja, uma das principais commodities do mundo, a projeção de produção brasileira para a safra 2019/20 é de 123 milhões de toneladas, 5,13% superior a produção de 2018/19, enquanto que os Estados Unidos deverá apresentar um queda de aproximadamente 8,67% na produção, reduzindo de 123,66 para 112,95 milhões de toneladas, projetando-se assim o Brasil como o maior produtor de soja do mundo para a safra 2019/20 (USDA, 2019)

O produtor brasileiro de soja tem cada vez mais investido em tecnologias para a produção de grãos, seja através da adoção de cultivares geneticamente modificadas ou através da implementação de técnicas de manejo da cultura e o aprimoramento no posicionamento de produtos fitossanitários. Fato este é comprovado com o salto em produtividade das últimas safras, saindo de uma média de 2823 kg ha⁻¹ na safra 2006/07 para 3193 kg ha⁻¹ durante a safra 2018/19, um incremento de 13,1% (CONAB, 2019). Porém, entre vários gargalos que levam a perdas em produtividade encontram-se as perdas por matointerferência de plantas daninhas.

As plantas daninhas desenvolveram ao longo do tempo diversas características que possibilitaram a sobrevivência das espécies nos mais variados ambientes que poderiam ser limitantes. Desta maneira, estas plantas apresentam características em comum como a agressividade e rusticidade, aliadas principalmente a habilidade competitiva, a capacidade de produção de propágulos, desuniformidade do processo germinativo, viabilidade dos propágulos, facilidade de disseminação e em alguns casos mecanismos alternativos de reprodução (OLIVEIRA JR; CONSTANTIN; INOUE, 2011).

Entende-se por matointerferência as perdas na produção provenientes de efeitos diretos ou indiretos relacionados as plantas daninhas. Os efeitos diretos

estão relacionados a competição entre a planta daninha e a cultura econômica por recursos vitais as plantas, como água, luz, nutrientes e espaço e a alelopatia, a qual relaciona-se a liberação de composto químicos que são prejudiciais ao desenvolvimento de outra espécie. Os efeitos indiretos de interferência estão relacionados ao fato de plantas daninhas servirem como hospedeiros de pragas e doenças (PITELLI, 1985; OLIVEIRA JR; CONSTANTIN; INOUE, 2011).

Entre as principais plantas daninhas que interferem na agricultura brasileira, destaca-se as espécies do gênero *Conyza*, conhecidas popularmente por buva. Estas plantas destacam-se devido a sua elevada capacidade competitiva e adaptabilidade ecológica, o que possibilita a ocorrência da espécie em diferentes regiões, destacando-se as regiões sul, sudeste e centro-oeste do Brasil com maior ocorrência (OLIVEIRA JR; CONSTANTIN; INOUE, 2011).

Além da capacidade competitiva que espécies do gênero *Conyza* apresentam, os crescentes casos de resistência destas plantas a diferentes herbicidas, aumentam a dificuldade no manejo, principalmente devido ao fato de biótipos de buva apresentaram resistência a importantes herbicidas no manejo de plantas daninhas, como o glyphosate, 2,4-D, saflufenacil, diuron, chlorimuron-ethyl e o paraquat (HEAP, 2019).

Estudos conduzidos por Gazziero et al. (2010), demonstram os níveis de perdas de produtividade da soja por infestação de plantas de buva, reduzindo 1174 e 1469 kg ha⁻¹ para densidades de 16 e 18 plantas m⁻² respectivamente. O custo médio para o controle de plantas daninhas em áreas que não apresentam casos de resistência é de aproximadamente R\$ 120,00 ha⁻¹, enquanto que em áreas com a presença isolada de buva resistente a herbicidas como o glyphosate, este custo é elevado para R\$ 170,50 ha⁻¹, podendo chegar a um custo médio de R\$ 386,65 ha⁻¹ em áreas com infestação combinada de buva + capim amargoso (*Digitaria insularis*), logo em condições extremas o custo pode chegar a um aumento de até 125% e 403% para infestações de buva e buva + capim amargoso, respectivamente (ADEGAS et al., 2017).

2.2 Biologia do gênero *Conyza* spp.

O gênero *Conyza* spp., pertencente à família Asteraceae, é popularmente conhecido no Brasil como buva ou voadeira, a qual possui aproximadamente 50 espécies no mundo, destacando-se apenas três no meio agrícola devido aos danos causados pela interferência às culturas econômicas, bem como a dificuldade no controle, são elas *Conyza bonariensis*, *Conyza canadensis* e *Conyza sumatrensis* (KISSMANN; GROTH, 1999).

Estas espécies são caracterizadas por serem do tipo herbácea, ereta e pubescente, variando entre 60 a 120 cm de altura com caule folioso e ramos compridos. As raízes são do tipo pivotante e as folhas classificadas como simples e lanceoladas, podendo variar de 6 a 15 cm de comprimento com margens levemente denteadas (LORENZI, 2006). Apresentam maior fluxo de germinação durante o outono/inverno, finalizando seu ciclo no verão, sendo espécies de ciclo anual com reprodução exclusiva por sementes (VARGAS et al., 2007).

As plantas de buva apresentam elevado índice de prolificidade e sementes de fácil dispersão, o que explica a disseminação e expansão destas espécies, uma vez que uma única planta é capaz de produzir de 110 a 200 mil sementes dependendo da espécie em questão (WU; WALKER, 2004; BHOWMIK; BEKECH, 1993; DAUER; MORTENSEN; VANGESSEL, 2007). Outro fator importante relacionado a dispersão das sementes de buva é uma característica morfológica conhecida como “papus”, uma estrutura na qual facilita a dispersão pelo vento ou aderindo-se ao pelo de animais (ANDERSEN, 1993).

Estas plantas daninhas são autopolinizáveis, aspecto este que atrelado a elevada produção de sementes, favorece a adaptabilidade ecológica destas espécies e a sobrevivência de biótipos resistentes (MOREIRA et al., 2007). Outro ponto que acentua a adaptabilidade destas plantas é a baixa diferenciação genética entre as espécies. Mangolin, Oliveira Jr e Fátima (2012), verificaram uma elevada diferenciação genética entre biótipos de uma mesma população de *C. bonariensis*, porém uma baixa variabilidade genética quando feita a comparação entre *C. bonariensis* e *C. canadensis*, sugerindo em seus estudos a ocorrência de troca alélica entre plantas.

Alguns fatores ambientais são decisivos para desencadear o processo de germinação das sementes de buva, como luz, temperatura e água. A incidência de

luz sobre as sementes é fator determinante para que ocorra a germinação, uma vez que o processo não ocorre ou é drasticamente reduzido na sua ausência. Tremmel e Peterson (1983) verificaram que a germinação de *C. canadensis* reduziu 90% quando as sementes foram dispostas a profundidades maiores que 1 cm da superfície do solo, bem como Nandula et al. (2006), não constataram a germinação das sementes a partir de 0,5 cm de profundidade. Isso demonstra que a dinâmica populacional das espécies de buva é totalmente dependente do posicionamento das sementes no solo, bem como se há ou não a presença de biomassa nesta superfície, fator que influenciará a incidência de luz sobre as sementes.

A temperatura é outro fator determinante para a germinação. Rollin e Tan (2004) verificaram a ocorrência de germinação para *C. bonariensis* na faixa de 4,2°C e 35°C, sendo 20°C a temperatura ótima para o processo. Já para *C. canadensis* apresentaram alta porcentagem de germinação em intervalos de 22:16°C (dia: noite), porém o processo foi inibido para ciclos de 12:6°C (NANDULA et al., 2006), estimando-se 13°C como temperatura mínima para que ocorra germinação (STEINMAUS; PRATHER; HOLT, 2000). Zinzolker et al. (1985), verificaram germinação de *C. sumatrensis* nas faixas de 10°C a 25°C, enquanto Oliveira JR; Constantin e Inoue, (2011), verificaram que quando há ausência de luz, as sementes não germinam independentemente da temperatura, sendo que para o fotoperíodo de 24h o maior índice de germinação ocorre em condições de temperatura de 20°C e 25°C.

Com relação ao potencial hídrico para a germinação das sementes de buva, Nandula et al. (2006), observaram maiores índices em potenciais entre 0 e -0,10 MPa. Já Yamashita e Guimarães (2010) verificaram que 50% da germinação é inibida em condições de potencial hídrico de -0,40 MPa e totalmente inibida a partir de -0,60 MPa. Embora a disponibilidade de água seja fator limitante no processo germinativo, as plantas uma vez estabelecidas mostram-se mais tolerantes ao déficit hídrico, sendo capazes de sobreviverem e produzirem sementes mesmo em condições de estresse que seriam limitantes a culturas econômicas (OLIVEIRA JR; CONSTANTIN; INOUE, 2011).

A buva é considerada uma planta daninha de difícil controle. Dessa forma, o manejo desta espécie deve considerar aspectos referentes a biologia das plantas, ponderando fatores determinantes para a germinação das sementes. O

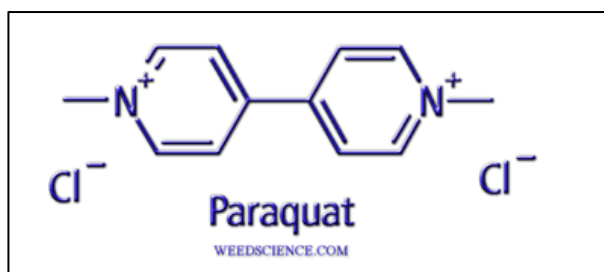
entendimento do fluxo de emergência desta espécie, facilita a adoção de estratégias que visem desfavorecer a emergência das plantas.

Dessa maneira, o manejo integrado de plantas daninhas deve ser adotado, através de técnicas que alterem a relação de competição entre a planta daninha e a espécie econômica, favorecendo a planta de interesse. Técnicas como o manejo de biomassa sobre a superfície do solo, são estratégias que podem desfavorecer a emergência das sementes de buva, logo a manutenção desta palhada nas épocas de ocorrência de maior fluxo germinativo da espécie deve ser adotada, visando reduzir o número de plantas emergidas (OLIVEIRA JR; CONSTANTIN; INOUE, 2011).

2.3 O herbicida paraquat

A molécula de paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride) (Figura 1) é um herbicida com pressão de vapor de $1,0 \times 10^{-4}$ Pa, solubilidade em água de $620.000 \text{ mg l}^{-1}$ (25°C), pertencente ao grupo químico bipyridílios. Quando aplicados sobre as plantas, são rapidamente absorvidos pelas folhas e sua eficácia não é afetada em casos de ocorrência de chuvas 30 minutos após a aplicação. No solo, o paraquat é rapidamente inativado, uma vez que é prontamente adsorvido aos colóides devido a características de ser um cátion forte. Logo, apesar de ser um herbicida com alta persistência no solo com meia vida aproximada de 1000 dias, seus efeitos são nulos devido à intensa adsorção (RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

Figura 1 – Representação da molécula de paraquat



Fonte: HEAP (2019).

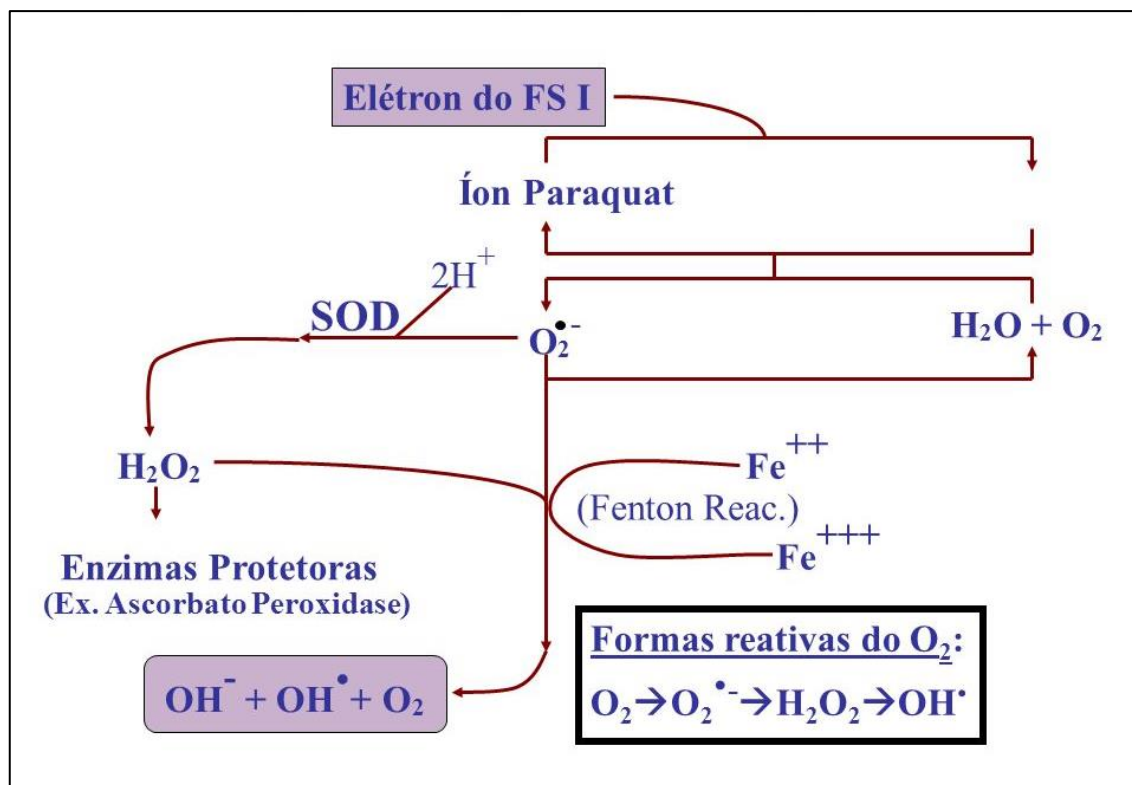
Paraquat é utilizado na aplicação em pós emergência de forma não seletiva, apresentando baixa translocação nas plantas, logo uma boa cobertura das folhas é essencial para a eficiência do herbicida. É recomendado para o controle de monocotiledôneas e dicotiledôneas, caracterizando-se como um herbicida de amplo

espectro, aplicado principalmente em operações de dessecação pré-plantio, através do manejo sequencial ou ainda como desseccante para uniformizar a colheita de soja. De forma geral, são herbicidas não seletivos, no entanto plantas de *Agropyron repens* demonstram tolerância a aplicação deste herbicida nos Estados Unidos. Outra forma de aplicação de paraquat que possibilita a seletividade é através da aplicação dirigida na entre linhas de culturas perenes, como citros, evitando-se o contato do herbicida com as plantas cultivadas (OLIVEIRA JR; CONSTANTIN; INOUE, 2011).

A molécula de paraquat possui a habilidade de receber elétrons provenientes do fotossistema I (PSI) das plantas durante o processo de fotossíntese, tornando-se uma molécula de radical livre, interrompendo o fluxo de elétrons e impedindo a formação de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP). Porém os radicais livres de paraquat não são os responsáveis pelos danos causados à planta, uma vez que estas moléculas são altamente instáveis sofrendo rapidamente “auto oxidação” e retornando a sua conformação original, desviando mais elétrons do PSI. Durante o processo de auto oxidação, ocorre a interação com moléculas de água e oxigênio, resultando na formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), por intermédio da enzima superóxido dismutase (SOD) e a formação de radicais hidroxila (OH^\cdot) e ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (LASCANO et al., 2003; NORMAN; FUERST, 1997). Estes radicais são compostos altamente oxidantes e prontamente iniciam o processo de peroxidação lipídica, levando ao elevado estado de estresse oxidativo e morte da planta (Figura 2) (MONACO; WELLER; ASHTON, 2002).

Em condições em que não há a aplicação do herbicida, baixos níveis de espécies reativas de oxigênio são formados, porém o mecanismo de defesa da planta a partir de enzimas como SOD, APX e glutathione são capazes de degradar estes agentes oxidantes, sem grandes danos a planta. No entanto, a quantidade de espécies reativas formadas a partir da ação do paraquat são elevadas, sobrecarregando o mecanismo protetor das plantas, não sendo possível impedir a peroxidação de lipídeos e rompimento da membrana (MONACO; WELLER; ASHTON, 2002).

Figura 2 - Representação do mecanismo de ação do herbicida paraquat no fotossistema I das plantas



Fonte: MONACO; WELLER; ASHTON (2002).

Os sintomas nas plantas decorrentes da aplicação de paraquat são visíveis algumas horas após a aplicação, aparecendo tão rapidamente quanto maior for a intensidade luminosa em que as plantas estão expostas. Devido ao fato deste herbicida possuir translocação limitada na planta, os sintomas manifestam-se exatamente nas regiões de contato entre a folha e o herbicida, através de pontuações verde escuras seguidas de necrose do tecido foliar (MONACO; WELLER; ASHTON; 2002).

2.4 Resistência de plantas daninhas ao paraquat

Atualmente, tem-se registros de 70 casos de resistência de plantas daninhas ao paraquat em todo o mundo, distribuídos em 30 diferentes espécies (HEAP, 2019). Vários países relataram casos de resistência a este herbicida, iniciando em 1980 na Hungria (PÖLÖS et al., 1987), Taiwan, Japão, Egito, Malásia, Canada, Estados Unidos, Bélgica, Sri Lanka, África do Sul, Austrália e o último caso foi relatado em 2018 na Austrália. Os últimos seis relatos de resistência foram feitos para espécies

do gênero *Conyza*, sendo cinco deles para *Conyza sumatrensis* e três destes casos identificados no Brasil, especificamente na região Oeste do Paraná (HEAP, 2019).

O primeiro caso de resistência de buva ao paraquat no Brasil foi relatado por Zobiolo et al. (2019), para biótipos de *Conyza sumatrensis* coletados no Paraná, encontrando-se fatores de resistência que variaram entre 3,57 e 34,29, indicando altos níveis de resistência, bem como a dose necessária para reduzir em 50% a biomassa seca das plantas resistentes (GR_{50}) foi de 2007 g ha⁻¹ paraquat.

Fuerst et al. (1985), a fim de elucidar o mecanismo de resistência de *Conyza bonariensis* ao paraquat, verificou que o herbicida foi absorvido normalmente pela planta, porém não atingiu seu ponto de ação no fotossistema, sugerindo-se que o possível mecanismo desenvolvido pela planta para sobreviver a aplicação de paraquat, seja pela compartimentalização do herbicida em algum órgão da planta, possivelmente no vacúolo. Já Chase, Bewick e Shilling, (1998) estudou plantas de *Solanum americanum* resistentes a este mesmo herbicida, e verificou que o mecanismo de resistência desta espécie é o fluxo reduzido de elétrons no fotossistema I da planta, fazendo com que as quantidades de espécies reativas de oxigênio que são produzidas na planta após a aplicação do herbicida, não alcancem concentrações tóxicas.

Um dos mecanismos já identificados de desintoxicação de paraquat é através da elevada atividade de enzimas antioxidantes em plantas de tomate (*Lycopersicum* spp.) e ervilha (*Pisum sativum* L.) (TURCSÁNYI et al., 1994; VARTAK; BHARGAVA, 1999). Chiang et al. (2008), verificando o papel do sistema antioxidante em plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes ao paraquat constatou um rápido aumento da enzima glutatona redutase logo após a aplicação (1 HAA), além de uma maior atividade de enzimas como a ascorbato peroxidase, superóxido dismutase e um maior acúmulo de malondialdeído (MDA) por parte das plantas sensíveis ao herbicida, indicando uma maior peroxidação das membranas.

2.5 Resistência de plantas daninhas à herbicidas

A utilização de herbicidas para o manejo de plantas daninhas é uma prática que tem se expandido em todas as condições agrícolas e não agrícolas. É um dos métodos mais eficientes e, em muitos casos, o mais econômico. Desta maneira, o volume de aplicações de herbicidas em áreas agrícolas leva ao desenvolvimento de

um dos maiores problemas dos agricultores atualmente, a resistência de plantas daninhas à herbicidas.

O termo resistência de plantas daninhas a herbicidas é definido segundo Christoffoleti e Nicolai (2016) como a capacidade inerente e herdável de alguns biótipos, dentro de uma determinada população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição à dose de um herbicida que normalmente seria letal a uma população suscetível da mesma espécie. Diferentemente de tolerância, sendo este uma característica inata da espécie de sobreviver e se reproduzir após a exposição ao herbicida, logo uma planta daninha tolerante sempre possuiu a característica de tolerar determinado herbicida, antes mesmo da exposição a este produto, como por exemplo *Richardia brasiliensis*, *Commelina benghalensis* e *Ipomoea* spp. são espécies tolerantes ao herbicida glyphosate.

O primeiro relato de um caso de planta daninha resistente no mundo foi realizado nos Estados Unidos para *Convolvulus arvensis* resistente ao 2,4-D no estado do Kansas em 1964. No Brasil, o primeiro caso foi relatado em 1993 para *Bidens pilosa* resistente aos inibidores da ALS e atualmente, tem-se 50 casos de resistência no Brasil, sendo o caso mais recente referente a resistência múltipla de *Conyza sumatrensis* a cinco diferentes mecanismos de ação (HEAP, 2019).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas existe basicamente devido a diversidade genética natural existente em uma população da espécie em questão. Trata-se de uma frequência inicial, normalmente baixa, de indivíduos resistentes em uma população, sendo o herbicida um agente de seleção da resistência e não o causador propriamente dito. Uma vez que se tem a ocorrência de biótipos resistentes em baixa frequência inicial, após a aplicação do herbicida apenas estes indivíduos deverão sobreviver e se reproduzir, aumentando a frequência de plantas que expressam a característica da resistência (CHRISTOFFOLETI; NICOLAI, 2016). Dessa maneira, o aumento no número de casos de resistência de um determinado herbicida irá depender da frequência inicial destes indivíduos e da pressão de seleção exercida pelo herbicida através do uso repetitivo de um mesmo mecanismo de ação.

A resistência de plantas daninhas pode ser simples, cruzada ou múltipla. A resistência simples refere-se a uma espécie que resiste a aplicação de único herbicida, como por exemplo *Chloris elata* resistente ao glyphosate (BRUNHARO et al., 2016). A resistência cruzada trata-se de uma planta daninha que resiste a

herbicidas de um mesmo mecanismo de ação, porém pertencentes a grupos químicos distintos. Este fato ocorre devido a alterações no sítio de ligação do herbicida, tendo como exemplo a resistência de *Amaranthus palmeri* ao chlorimuron-ethyl, imazethapyr e cloransulan-methyl classificados nos grupos químicos das sulfonilureias, imidazolinonas e triazolpirimidinas, respectivamente, todos inibidores da ALS (GONÇALVES NETTO et al., 2016). Já os casos de resistência múltipla são referentes a biotipos que resistem a herbicidas de mecanismos de ação diferentes, como por exemplo o caso de *Conyza sumatrensis* resistente aos inibidores da EPSPs, ALS e PSI. Este tipo de resistência caracteriza-se como um dos mais preocupantes no cenário atual, uma vez que nestes casos as opções de produtos disponíveis para a aplicação tornam-se escassos, limitando as alternativas de controle (CHRISTOFFOLETTI; NICOLAI, 2016; HEAP, 2019).

Sabe-se que a resistência se desenvolve devido a aplicação repetida de um mesmo mecanismo de ação de herbicida, uma vez que as populações de plantas daninhas se adaptam à esta seleção, alterando sua composição genética de tal modo que a frequência alélica aumenta, consequentemente conferindo aumento no número de indivíduos resistentes (JASIENIUK; BRÛLÉ-BABEL; MORRISON, 1996).

A evolução dos casos de resistência pode ser explicada por fatores agrupados em genéticos, bioecológicos e agrônômicos. Os fatores inerentes a população de planta daninha são classificados em genéticos, a interação entre a planta e o ecossistema em que ela se encontra é responsável pelos fatores bioecológicos, já fatores decorrentes das práticas agrícolas utilizadas no campo são atribuídos aos fatores agrônômicos (CHRISTOFFOLETTI e NICOLAI, 2016).

Entre os fatores genéticos que mais impactam a evolução da resistência, tem-se a frequência inicial do genoma resistente em uma população de planta daninha. Segundo Harms e Dimairo (1991) e Saari; Cotterman; Thill, (1994) estima-se que a frequência inicial de indivíduos resistentes em populações de *Arabidopsis thaliana* e *Nicotiana tabacum* é de 1×10^{-9} e $2,7 \times 10^{-8}$, respectivamente. A dominância do gene de resistência é outro ponto importante sobre a evolução dos casos, pois alelos dominantes podem ocorrer em maior frequência em uma população, além de ocorrerem em genótipos heterozigotos (CHARLESWORTH, 1992; JAMES, 1965).

Características das plantas daninhas como o ciclo de vida curto, produção de sementes elevada, várias gerações reprodutivas em um mesmo ano e a diversidade genética são fatores bioecológicos importantes no aparecimento de resistência

(CHRISTOFFOLETI; VICTORIA FILHO; SILVA, 1994; VIDAL; FLECK, 1997). O banco de sementes de determinada espécie pode retardar o aparecimento da resistência, pois o tempo para esgotar as sementes de biótipos suscetíveis pode ser maior (CHRISTOFFOLETTI; NICOLAI, 2016).

Os fatores agrônômicos são atribuídos as práticas agrícolas que levam a seleção de biótipos resistentes, como o uso repetido de um mesmo herbicida ou de herbicidas de um mesmo mecanismo de ação durante várias safras seguidas, exercendo uma elevada pressão de seleção sobre uma população específica. Outro ponto é o uso de herbicidas com residuais prolongados, como por exemplo os pertencentes ao grupo químico das triazinas, uma vez que as germinações sucessivas de novas plantas sob efeito do herbicida levam a um aumento de indivíduos resistentes na população (VIDAL; FLECK, 1997).

A suspeita de plantas daninhas resistentes inicia-se a partir de falhas de controle em áreas agrícolas. Porém estas falhas podem ser atribuídas a outros fatores, os quais devem ser investigados antes de assumir um possível caso de resistência. Estes fatores são referentes as características do herbicida utilizado, biologia da planta daninha em questão, fatores referentes a aplicação e condições climáticas durante a aplicação e nas primeiras horas seguintes. Fatores históricos também devem ser considerados, como o histórico de controle desta espécie e a ocorrência de falhas em áreas vizinhas (CHRISTOFFOLETI et al., 2016).

O método mais comum de diagnosticar resistência é através da curva de dose resposta, que consiste em coletar sementes das plantas com suspeita de resistência e cultivar em vasos em casa de vegetação. São realizadas avaliações de controle e quantificação da biomassa seca das plantas aos 28 DAA, obtendo-se assim o C_{50} e GR_{50} , ou seja, a dose necessária para controlar 50% do biótipo em questão (C_{50}) ou a dose necessária para reduzir em 50% a biomassa seca deste biótipo (GR_{50}). Através da razão entre o GR_{50} do biótipo possivelmente resistente e o GR_{50} do biótipo suscetível, obtêm-se o fator de resistência ($FR = R/S$) valor no qual expressa o número de vezes em que a dose necessária para reduzir 50% da massa seca do biótipo resistente é superior à dose necessária para reduzir 50% da massa do biótipo suscetível. A resistência é confirmada quando o valor de FR é superior a 1,0 (HEAP, 2005).

2.6 Mecanismos de resistência

2.6.1 Alteração do sítio de ação

Cada herbicida possui um local específico de atuação dentro da planta (sítio-alvo de ação), onde sua ação resulta na dificuldade de ocorrência de um processo ou função particular dentro da mesma, ou seja, ocorre perda de afinidade do herbicida pelo local de ação. Se este local de ligação é alterado (alterações na conformação) a molécula herbicida é incapaz de se ligar ao local onde atua como agente inibidor, não ocorrendo interrupção ou inibição dos processos metabólicos em que atua, deixando assim de exercer sua ação herbicida (BORGATO; GONÇALVES NETTO, 2016).

Alteração do local de ação significa que a molécula herbicida diminui sua capacidade de inibir esse ponto, devido a uma ou mais alterações na estrutura deste local. Porém, dentro de uma população de biótipos resistentes ocorrem diferentes níveis de resistência ou de susceptibilidade, que podem estar relacionados com o tipo de mutação ocorrida com as formas alélicas do gene, tipo de molécula ou, tipo de mecanismo que está proporcionando a resistência (SILVA; VARGAS; FERREIRA, 2007).

Resistência de plantas daninhas a herbicidas que apresentam este mecanismo são encontrados para os inibidores da ALS e fotossistema II. A alteração do sítio de ação do herbicida é decorrente de trocas nas sequências de aminoácidos que o constituem. Para os casos de resistência aos inibidores da ALS, segundo Heap (2018) tem-se 36 espécies relatadas com resistência a herbicidas deste mecanismo através da alteração do aminoácido triptofano por uma leucina na posição 574 (Trp574Leu), no entanto tem-se conhecimento de ao menos 15 alterações de diferentes aminoácidos em diferentes posições.

Além dos inibidores da ALS, tem-se relatos de espécies como o capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*) resistente a herbicidas inibidores da ACCase, através da alteração de Asp2078Gly. A mutação do gene *psbA*, que é codificador da proteína D1 (sítio de ligação de herbicidas inibidores do fotossistema II) é responsável por resistência de algumas plantas daninhas a herbicidas deste mecanismo de ação, como é o caso do *Amaranthus powellii*. A substituição de uma valina por uma isoleucina na posição 219, conferiu resistência desta espécie as triazinas.

(DUMONT; LETARTE; TARDIF, 2016). No entanto, diferentes mutações conferem resistência a diferentes herbicidas deste mecanismo de ação, como a resistência de *Poa annua* ao amicarbazone ou de *Echinochloa colona* ao metribuzim devido a alteração de uma serina por uma glycina na posição 284 (CHRISTOFFOLETI; NICOLAI 2016).

2.6.2 Amplificação gênica

Este mecanismo é caracterizado pela presença de diversas cópias da sequência de DNA que codifica a expressão gênica de síntese da enzima relacionada à ação do herbicida. As plantas que possuem esse mecanismo de resistência sintetizam inúmeras cópias da enzima sobre a qual o herbicida atua. Deste modo, a dose do herbicida utilizado se torna insuficiente para inibir todas as enzimas produzidas e o herbicida não causa a morte da planta (BORGATO; GONÇALVES NETTO, 2016).

Estudos realizados por Gaines et al. (2010), indicam uma amplificação do gene EPSPS em biótipos de *Amaranthus palmeri* resistente ao glyphosate, em níveis elevados de expressão, e este mecanismo confere alta resistência ao glyphosate de forma que a concentração do herbicida utilizada não é capaz de inibir todas as enzimas presentes na planta, não apresentando eficácia de controle. Nestes estudos, Gaines et al. (2010), verificaram aumento no número de cópias do gene que expressa a enzima EPSPs, levando a redução no acúmulo de shikimato, metabólito no qual seu acúmulo indica atuação do glyphosate na rota do ácido shikímico. Ainda nestes estudos, os autores verificaram que o número de cópias do gene EPSPs foram de 5 a 160 vezes maior em biótipos resistentes com relação aos biótipos suscetíveis, comprovando-se assim a grande problemática da resistência desta planta daninha ao herbicida glyphosate, apresentando elevados fatores de resistência.

Chatam et al. (2015), estudando diferentes populações de *Amaranthus tuberculatus* resistentes ao glyphosate em Illinois, Estados Unidos verificaram que esta espécie apresenta vários casos de resistência em todo o estado devido à amplificação gênica, a qual variou de 1,4 a 8,6 vezes quando comparado a biótipos sensíveis.

2.6.3 Metabolização ou desintoxicação do herbicida

Este mecanismo de resistência é caracterizado pela rápida decomposição do herbicida pela planta a compostos não tóxicos, ou seja, o herbicida é transformado dentro da planta antes que se ligue ao sítio de ação em concentrações suficientes para causar o efeito herbicida. Estudos conduzidos por Yu et al. (2009), verificaram que a resistência de *Lolium rigidum* ao herbicida chlorsulfuron, inibidor da ALS é devido a rápida metabolização do herbicida pela enzima P450, uma vez que a dose letal para controlar 50% da população resistente (LD_{50}), foi de 200 g i.a ha⁻¹ e quando as plantas resistentes foram submetidas a aplicação de um inseticida que inibe a ação da enzima P450 (malathion) a LD_{50} foi 8 vezes inferior, chegando a 25 g i.a ha⁻¹, demonstrando assim a ação da enzima na rápida metabolização do herbicida.

2.6.4 Absorção e/ou translocação diferencial

Nas plantas que possuem esse mecanismo de resistência, ocorre uma redução no processo de translocação do herbicida nos tecidos vegetais, como também pode ocorrer maior retenção foliar do herbicida, fazendo com que a quantidade do produto que atinge o alvo seja bastante reduzida, não sendo capaz de causar efeitos fitotóxicos significativos à planta (BORGATO; GONÇALVES NETTO, 2016).

Brunharo et al. (2016), estudando o mecanismo de resistência de *Chloris elata* ao glyphosate, constataram que a absorção do herbicida por biótipos resistentes foi inferior aos biótipos suscetíveis, demonstrando assim redução na absorção do herbicida. O mesmo estudo foi possível constatar que a quantidade de glyphosate encontrado nas folhas tratadas de *C. elata* foi maior em plantas resistentes, bem como a quantidade encontrada em folhas não tratadas foi inferior em biótipos resistentes, demonstrando assim a redução da translocação do herbicida na planta, levando o mesmo a localizar-se em maiores concentrações na folha tratada, dificultando a distribuição do herbicida, bem como o controle satisfatório.

2.6.5 Compartimentalização do herbicida

Neste caso a molécula do herbicida torna-se inativa, pois é conjugada com metabólitos da planta, ou também pode ser removida das partes metabolicamente

ativas da célula e armazenada em locais inativos, como o vacúolo. Um exemplo muito conhecido é o caso da resistência de buva (*Conyza canadensis*) ao glyphosate. Ge et al. (2010), constatou acúmulo de glyphosate nos vacúolos celulares de *C. canadensis*. A quantidade de glyphosate armazenada no vacúolo, neste caso foi de até 3 vezes mais com relação ao encontrado no citoplasma da célula após 24 horas da aplicação, demonstrando rápida compartimentalização do herbicida. Com isso, a quantidade da molécula que atinge o sitio de ligação torna-se insuficiente para que ocorra o efeito deletério à planta, podendo ainda em alguns casos a quantidade que atinge o sitio de ação ser uma sub dose, possibilitando efeitos secundários como hormesis, podendo resultar em maior desenvolvimento da planta daninha, além da antecipação do florescimento (GOMES, 2014).

Outro fato interessante relatado por Ge et al. (2011), para este caso de resistência, foi de que este mecanismo é dependente da temperatura ambiente em que a planta se encontra. Em seus estudos, verificou-se que quando as plantas foram cultivadas em temperaturas de 12°C dia e 8°C noite, a proporção do herbicida encontrado no vacúolo e no citoplasma eram basicamente as mesmas. Porém, quando a temperatura foi elevada até 20°C, a quantidade de glyphosate no vacúolo era maior proporcionalmente a quantidade encontrada no citoplasma da célula. Este comportamento refletiu-se no controle desta espécie de planta daninha resistente no campo, onde ao serem aplicadas em temperaturas superiores o controle foi de 40% em doses mais elevadas, porém ao serem tratadas em condições de temperaturas amenas, o controle chegou a 60%.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos em casa de vegetação no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (Nupam), localizado na faculdade de ciências agrônômicas - FCA da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) campus de Botucatu, SP. As condições proporcionadas pela casa de vegetação foram de temperatura média de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e umidade relativa do ar em 60% com incidência de luz natural.

As sementes de buva utilizadas para o estudo (resistentes e suscetíveis) são provenientes de populações conhecidas e com resistência reportada, coletadas na região de Assis Chateaubriand, PR (ZOBIOLE et al., 2019). Os biótipos resistentes foram coletados nas coordenadas $24^{\circ}16'53,8''$ S $53^{\circ}30'47,5''$ O, já o biótipo suscetível foi coletado nas coordenadas $24^{\circ}16'07''$ S $53^{\circ}39'42''$ O (Figura 3). Os biótipos resistentes foram obtidos a partir da coleta de sementes no campo, proveniente de plantas que sobreviveram após a aplicação de 400 g i.a ha^{-1} de paraquat e estas cultivadas em casa de vegetação para obtenção da geração F1.

Figura 3 - Localização dos pontos de coleta dos biótipos resistentes (R) e suscetível (S) na região de Assis Chateaubriand, PR.



A pesquisa foi dividida em três experimentos. Para todos os estudos, sementes de buva foram semeadas superficialmente em bandejas de isopor e após a emergência, foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade de 0,35 l preenchidos com substrato Carolina® composto por turfa de esfagno, vermiculita e casca de arroz carbonizada, com pH 5,7 ($\pm 0,5$). Na condução destes ensaios, 20 vasos com capacidade de 1,7 l foram reservados e as plantas conduzidas até o fim do ciclo para produção de sementes.

Para a aplicação dos tratamentos utilizou-se um simulador de aplicação pertencente ao Nupam, constituído por uma barra de pulverização com 2 metros de largura, tracionada por um conjunto de motor elétrico e modulador de frequência, tornando possível o controle da velocidade de trabalho. A barra é composta por quatro pontas de pulverização XR 110.02 VS, espaçadas em 0,5 m e dispostas a 0,5 m de altura em relação às unidades experimentais. A pressão de trabalho utilizada foi de 2,0 Kgf cm⁻², com velocidade de 3,6 Km h⁻¹ e volume de calda de 200 l ha⁻¹.

3.1 Experimento I: Caracterização da Resistência

Sete biótipos de *C. sumatrensis* resistentes ao paraquat e um suscetível, foram cultivados e submetidos à experimentos de curva dose-resposta, os quais foram dispostos em delineamento inteiramente casualizados (DIC) com 7 tratamentos, destacando-se a dose comercial recomendada em bula (Tabela 1) e quatro repetições. Os tratamentos foram aplicados quando as plantas atingiram de 8 a 10 cm de altura com aproximadamente de 8 a 10 folhas. Para tanto, utilizou-se o produto comercial Gramoxone® 200 (200 g l⁻¹ paraquat) associado ao adjuvante Agral® a 0,1% v/v.

Tabela 1 - Doses de paraquat aplicadas no experimento de curva dose-resposta em biótipos de *Conyza sumatrensis*

Tratamento	Dose de paraquat (l ha ⁻¹)	Dose de paraquat (g i.a ha ⁻¹)	% da dose recomendada (l ha ⁻¹)
1	0,0	0	0
2	0,5	100	25
3	1,0	200	50
4	2,0	400	100
5	4,0	800	200
6	8,0	1600	400
7	16,0	3200	800

As plantas foram conduzidas até 28 dias após a aplicação (DAA), onde foram coletadas e acondicionadas em sacos de papel para secagem em estufa de circulação de ar forçada a 60°C durante 5 dias até atingirem peso constante, posteriormente pesou-se essas amostras em balança de precisão (0,001g) obtendo-se a biomassa seca destas plantas.

A partir dos modelos estatísticos descritos no item 3.4, obteve-se a dose necessária para reduzir em 50% a biomassa seca (GR_{50}) dos biótipos resistentes e do biótipo suscetível. Através da razão entre GR_{50} do biótipo resistente e GR_{50} do biótipo suscetível, obteve-se o fator de resistência ($FR=R/S$), representando quantas vezes a dose necessária para reduzir 50% da biomassa seca do biótipo resistente é superior comparado a dose para controle de 50% das plantas suscetíveis. Dessa maneira, selecionou-se o biótipo que apresentou o maior fator de resistência para estudos comparativos com um biótipo suscetível, sendo representados como resistente (R), e suscetível (S) no presente estudo.

3.2 Experimento II: Análises Morfológicas e Fluorescência da Clorofila

Foram conduzidos experimentos em duplicata entre os meses de outubro a dezembro/2018 (estudo 1) e março a maio/2019 (estudo 2), nos quais foram avaliados a altura de plantas, área foliar e acúmulo de biomassa seca dos biótipos R e S, provenientes da mesma geração F1 a qual a resistência foi caracterizada. Ambos estudos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizados para análise de crescimento dos biótipos selecionados. Para tanto, as plantas foram cultivadas em vasos plásticos de 0,35 l e mantidas em bandejas de metal com lâmina de água de aproximadamente 5 cm durante dez semanas, onde os biótipos não receberam aplicação do herbicida. Semanalmente, cinco plantas de cada biótipo foram selecionadas ao acaso para avaliação de altura (cm), a partir da base até a inserção da última folha, área foliar (cm^2) utilizando um medidor automático de área foliar modelo LI-3100C da LI-COR®, além da coleta das plantas para secagem e obtenção da biomassa seca (g) utilizando o mesmo método adotado no primeiro experimento.

Avaliou-se a densidade estomática (estômatos/ cm^2) e o tamanho médio dos estômatos (μm^2) da parte adaxial e abaxial das folhas no estudo 2. Para isso, selecionou-se cinco plantas de cada biótipo em estágio de aplicação

(aproximadamente 8 cm) que não receberam a aplicação de herbicida, destacando-se 2 folhas por planta para o preparo de lâminas em laboratório.

As lâminas foram preparadas com a aplicação de cola cianoacrilato (“Super Bonder[®]”) sobre a superfície adaxial e abaxial das folhas selecionadas. Após breve secagem da folha sobre a lâmina, retirou-se o material vegetal permanecendo apenas as marcas da estrutura da epiderme sobre a lâmina. Para a observação, utilizou-se microscópio óptico equipado com uma câmera fotográfica (Moticam[®] Pro 282A) (Figura 4), onde com o auxílio do software Motic Images Plus 2.0[®] foi possível a visualização e avaliação dos estômatos. A contagem foi realizada em cinco diferentes regiões de cada folha, bem como a medição do tamanho dos estômatos, sendo cada contagem realizada em uma área média de 8 mm².

A avaliação da taxa de transporte de elétrons (ETR) na ausência do herbicida foi realizada semanalmente, utilizando um fluorômetro portátil (Multi-Mode Chlorophyll Fluorometer OS 5p – Opti Sciences[®]), com cinco repetições de leituras por planta tratada, adotando-se o protocolo Yield para as medições. Um experimento paralelo foi conduzido para o monitoramento de ETR das plantas quando tratadas com paraquat. Para isso, os biotipos foram submetidos a aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat com quatro repetições e monitorados a taxa de transporte de elétrons e o rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm) as 0, 4, 8, 16, 32, 64 e 128 horas após a aplicação (HAA).

Figura 4 – Microscópio óptico utilizado para as avaliações de densidade estomática e tamanho de estômatos das plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat

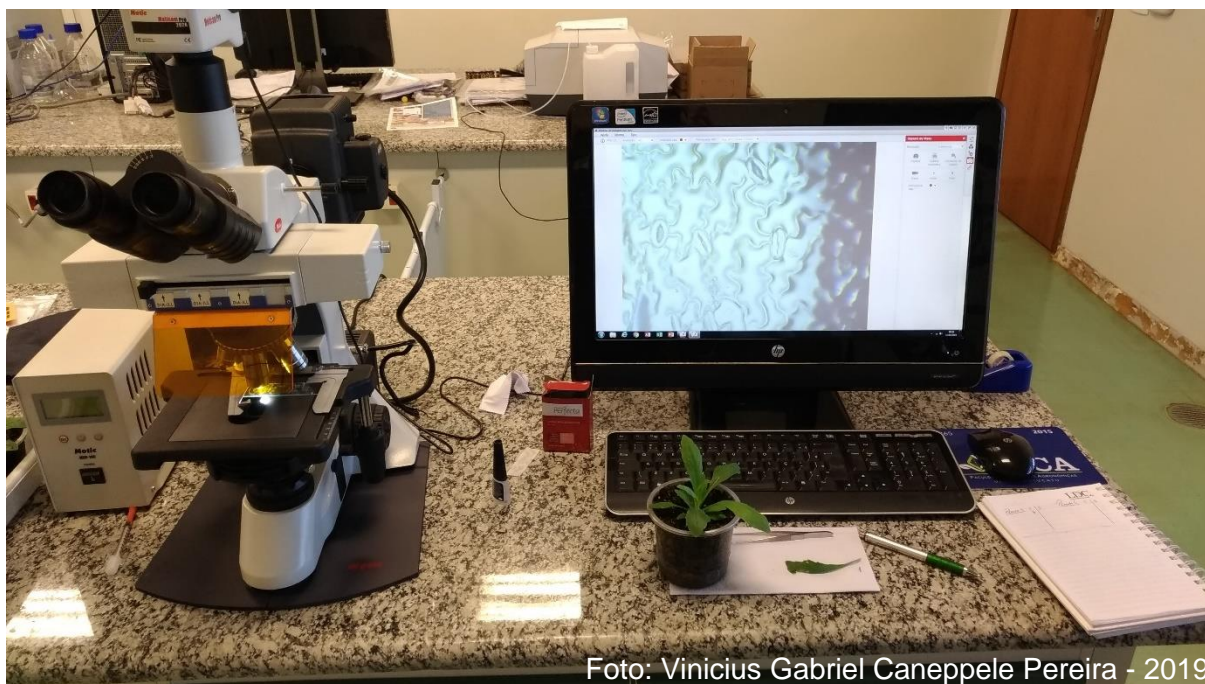


Foto: Vinicius Gabriel Caneppele Pereira - 2019

3.3 Experimento III: Análises Bioquímicas e Fisiológicas

No experimento III, as plantas foram submetidas a aplicação de duas doses de paraquat (0 e 800 g i.a ha⁻¹) com quatro repetições em delineamento inteiramente casualizados (DIC). Após a aplicação, as plantas foram mantidas em pleno sol para a avaliação das trocas gasosas nos períodos de 2, 4 e 24 HAA com analisador de gases a infravermelho (IRGA, modelo portátil LI-6400xt, LI-COR), utilizando radiação fotossinteticamente ativa (PAR) constante (1000 μmol fótons m⁻²s⁻¹), concentração atmosférica de CO₂, temperatura e umidade ambiente.

As variáveis obtidas a partir da análise de trocas gasosas foram: taxa de assimilação líquida do CO₂ (*A*), condutância estomática (*g_s*), taxa transpiratória (*E*) e concentração interna de carbono (*C_i*). A eficiência do uso da água (EUA) foi calculada a partir da razão *A/E* e a eficiência de carboxilação (EC) através da razão *A/C_i*.

Com relação as análises bioquímicas, avaliou-se a atividade das enzimas do sistema antioxidativo: superóxido dismutase (SOD – EC 1.15.1.1), catalase (CAT – E.C 1.11.1.6), peroxidases (POX – EC 1.11.1) e ascorbato peroxidase (APX – 1.11.1.11), visando avaliar o mecanismo antioxidante das plantas. A concentração

do complexo aldeído malônico – TBA (MDA-TBA) foi avaliada, a fim de verificar os danos oxidativos causados a membrana celular. Para isso, as plantas foram amostradas 4 HAA, coletando-se as folhas, armazenando-as em envelopes de papel alumínio sendo instantaneamente alocadas em nitrogênio líquido, e posteriormente armazenadas em ultra freezer a -80°C .

Para a quantificação das enzimas SOD, CAT, POX e APX, alíquotas de 300 mg das folhas foram maceradas em nitrogênio líquido, posteriormente extraídas em tampão fosfato de potássio 0,1M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1mM e polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v). As amostras foram homogeneizadas, centrifugadas a 12.000 g a 4°C por 15 minutos e os sobrenadantes coletados para as análises enzimáticas.

3.3.1 Atividade da SOD

A atividade de SOD foi analisada adicionando-se 50 μl do sobrenadante a 2950 μl de um meio de reação composto por tampão fosfato de sódio 50mM (pH 7,8) contendo metionina 13mM, azul de p-nitro tetrázólio (NBT) 75 μM , EDTA 0,1mM e riboflavina 2 μM . A reação foi conduzida em câmara equipada com luz fluorescente de 15W a 25°C por 10 minutos. A iluminação foi interrompida para a leitura da absorbância da formazana azul, obtida pela fotorredução do NBT em espectrofotômetro (UV-2700, UV-VIS Spectrophotometer, Shimadzu) (Figura 5) em comprimento de onda de 560nm. O branco foi constituído da amostra vegetal e o meio de reação mantidos no escuro durante o mesmo tempo e temperatura. Definiu-se como uma unidade de SOD a quantidade de enzima necessária para inibir 50% a fotorredução do NBT, sendo expresso em $\text{U min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

Figura 5 – Espectrofotômetro UV-2700, UV-VIS, Shimadzu®, utilizado para as análises bioquímicas

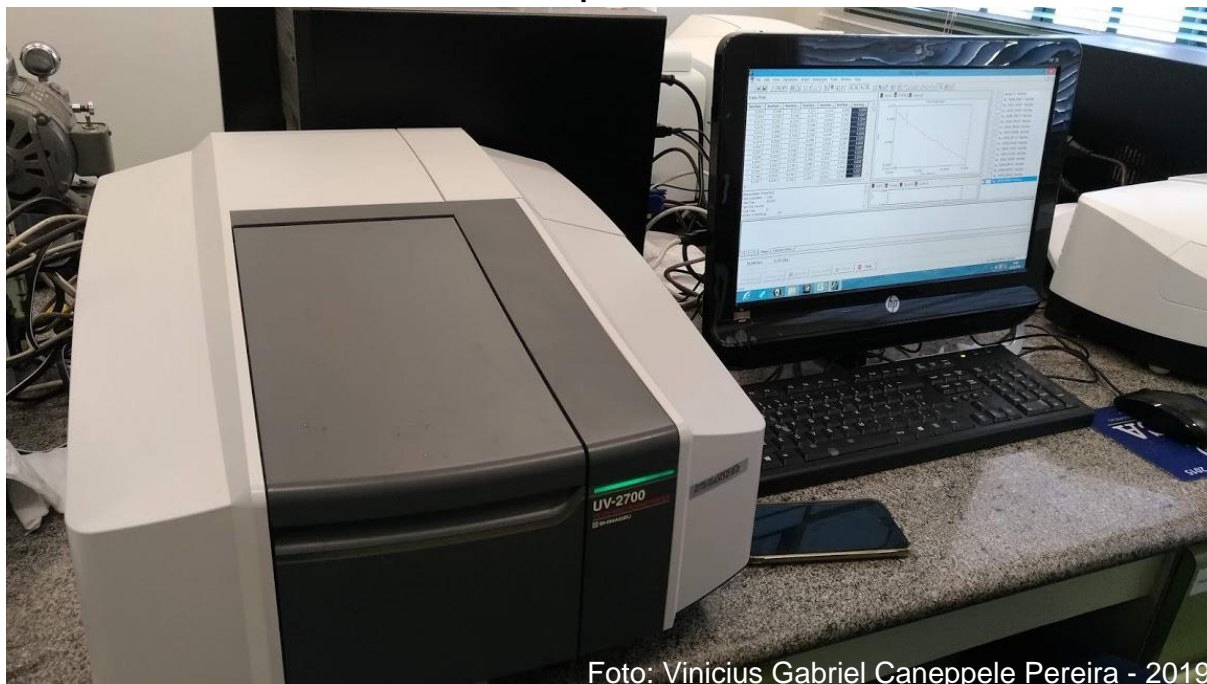


Foto: Vinicius Gabriel Caneppele Pereira - 2019

3.3.2 Atividade da CAT

A quantidade de 50 μ l do extrato vegetal foi adicionado a 950 μ L de meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 50mM (pH 7,0) e H₂O₂ 12,5mM (HAVIR; MCHALE, 1987). A absorbância foi obtida em espectrofotômetro (Figura 5) no comprimento de onda de 240nm após 1 minuto, sendo o branco composto por 950 μ L do meio de reação e 50 μ l de água destilada. Determinou-se a atividade enzimática pela absorbância e do coeficiente de absorvância de 36 M⁻¹ cm⁻¹ e o resultado expresso em μ mol de H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

3.3.3 Atividade da POX

Extrato bruto de 100 μ l foi adicionado a 4900 μ L do meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 25mM (pH 6,8), pirogalol 20mM e H₂O₂ 20mM (KAR; MISHRA, 1976). A produção de purpurogalina foi determinada pela medida da absorbância em espectrofotômetro (Figura 5) no comprimento de onda de 420nm, a 25°C, sendo toda a reação e leituras conduzidas na ausência de luz. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se a absorbância e o coeficiente de extinção molar de 2,47 mM⁻¹ cm⁻¹ (CHANCE; MAEHLEY, 1955) e expressa em μ mol de purpurogalina min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

3.3.4 Atividade da APX

Para a análise de ascorbato peroxidase, 50µl do extrato vegetal foram adicionados a 950µl do meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 0,05M (pH 7,0), ácido ascórbico 0,8Mm e H₂O₂ 1,0Mm (NAKANO; ASADA, 1981). A atividade enzimática foi determinada pela medida da absorbância através de espectrofotometria (Figura 5) no comprimento de onda de 290nm a 25° C considerando o coeficiente de extinção molar de 2,8Mm⁻¹ cm⁻¹. O resultado foi expresso em µmol de ácido ascórbico min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

3.3.5 Concentração de Proteína

Realizou-se a diluição de 125µl da amostra vegetal extraída em 375µl de água em tubos de ensaio, adicionando-se posteriormente 50µl da diluição em 950µl de reagente Bradford (BRADFORD,1976), aguardando-se 15 minutos para o início das leituras em cubetas de plástico em espectrofotômetro (Figura 5) no comprimento de onda de 595nm. A curva padrão foi previamente preparada através de quantidades conhecidas de albumina de soro bovina (BSA) entre 0 e 16µg l⁻¹.

3.3.6 Peroxidação de Lipídeos

Avaliou-se ainda a concentração do complexo aldeído malônico-TBA (peroxidação de lipídeos) nas plantas tratadas. Para isso, 250mg do material coletado foi macerado em nitrogênio líquido, homogeneizado em ácido tricloroacético (TCA) 1% e centrifugado a 12000g, a 4°C, por 15 minutos (GOMES-JUNIOR et al., 2006). Alíquotas de 500µl dos sobrenadantes foram adicionadas a 1500µl de solução de TBA 0,5% em TCA 20% e incubadas em banho seco a 90°C. Após 20 minutos, a reação foi paralisada em banho de gelo durante 10 minutos, posteriormente sendo centrifugadas a 4000g por 5 minutos a 4°C e as absorbâncias determinadas a 532 e 600nm em espectrofotômetro (Figura 5). A concentração do complexo malondialdeído (MDA) -TBA foi estimada utilizando-se a absorbância e coeficiente de absorvidade de 155mM⁻¹ cm⁻¹ (HEATH; PACKER, 1968).

3.4 Análises dos dados

Os dados de biomassa seca referentes ao experimento para a caracterização da resistência foram submetidos à análise de variância e análise de regressão e quando significativos, foram ajustados ao modelo de regressão logística não-linear proposto por Streibig (1988) (1):

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

Onde: y é a variável resposta, a é a amplitude entre o ponto máximo e mínimo da variável, x é a dose do herbicida (g ha^{-1}), b é a dose que promove 50% de resposta da variável e c é a declividade da curva ao redor de b .

Uma vez que o modelo logístico não linear propõe valores estimados de GR_{50} , optou-se por usar o modelo matemático da equação inversa de Streibig (1988), conforme proposto por Souza et al. (2000), seguindo a metodologia utilizada nos últimos relatos de resistência (ZOBIOLE et al., 2019; TAKANO et al., 2017).

$$x = b \left(\left| \frac{a}{y} - 1 \right| \right)^{\frac{1}{c}} \quad (2)$$

As demais variáveis foram submetidas à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de tukey a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$). Para todas as variáveis calculou-se o intervalo de confiança pelo teste t, através da equação 2:

$$\text{IC} = \frac{t \cdot \text{DP}}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

Onde, t refere-se ao valor de t tabelado ($p \leq 0,05$), DP o desvio padrão dos dados e n o número de amostragens.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento I: Caracterização da Resistência

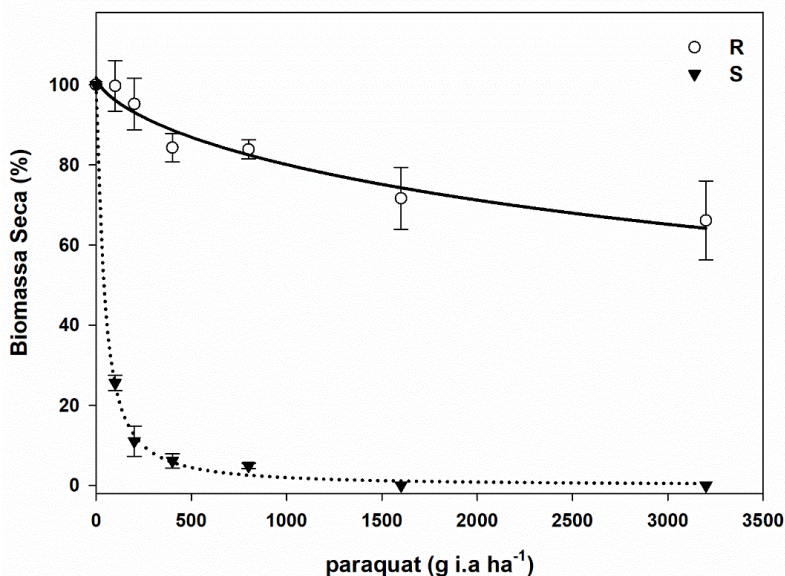
A caracterização da resistência dos biótipos estudados foi confirmada, uma vez que os dados de biomassa seca apresentaram bom ajuste ao modelo proposto por Streibig (1988), sendo os parâmetros da equação, bem como o fator de resistência (FR) apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros estimados (a, b e c) do modelo logístico não linear e o fator de resistência de biótipos de *Conyza sumatrensis* para biomassa seca.

Biótipo	a	b (GR ₅₀)	c	r ²	FR
B1	101,8256	7564,94	0,6619	0,9754	184,71
B2	101,6153	400,5742	0,6366	0,9455	9,78
B3	101,6466	3033,2786	0,6959	0,9754	74,06
B4	102,3506	837,1445	0,5908	0,9439	20,44
B5	100,1003	1497,5212	0,3679	0,9920	36,56
B6	101,5303	1521,2408	0,4780	0,9585	37,14
B7	101,3964	2700,063	0,4288	0,9402	65,93
S	100,0112	40,9553	1,227	0,9994	--

O biótipo selecionado para as análises de caracterização morfofisiológica e bioquímica foi o biótipo 1 (B1), o qual apresentou o maior fator de resistência (184,71), sendo a dose necessária para reduzir em 50% a biomassa seca em relação ao biótipo suscetível (7564,94 g i.a ha⁻¹) 18,9 vezes maior do que dose recomendada em bula (400 g i.a ha⁻¹). A curva de dose-resposta para a biomassa seca (%) para o biótipo selecionado está representada na Figura 6.

Figura 6 - Curva de dose-resposta para a biomassa seca (%) obtida aos 28 DAA de paraquat para biotipos de *Conyza sumatrensis*



- Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$)

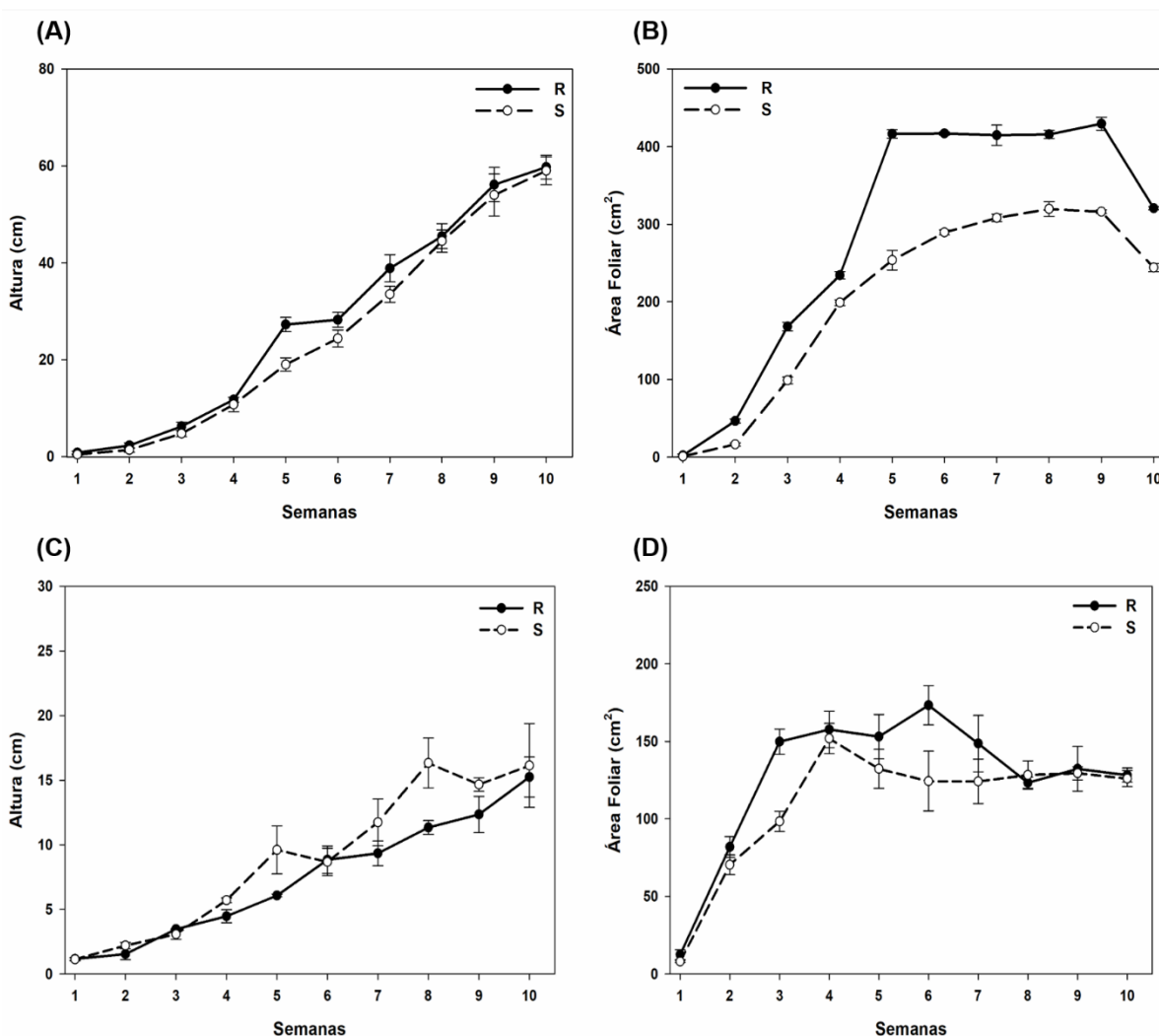
O primeiro relato de resistência de buva ao paraquat no Brasil foi realizado por Zobiolo et al. (2019), identificando biotipos com fator de resistência variando entre 3,57 e 34,29 e GR_{50} de até 2007 g i.a ha⁻¹. Os elevados valores de FR para estes estudos deve-se à extrema suscetibilidade do biotipo suscetível, o que por sua vez favorece a seleção de indivíduos resistentes em uma população. A suscetibilidade do biótipo “S” é comprovada através dos baixos valores encontrados de GR_{50} (40,95 g i.a ha⁻¹), possibilitando a distinção entre os biotipos R e S, a fim de caracterizar possíveis adaptações morfológicas, fisiológicas ou bioquímicas das plantas resistentes.

Os valores de GR_{50} encontrados podem variar de acordo com a época de aplicação das curvas dose-reposta. Moretti et al. (2013), verificaram diferentes valores de GR_{50} durante as estações do ano para plantas de *C. bonariensis* resistentes ao paraquat, variando de 940 g i.a ha⁻¹ durante o verão a 70 g i.a ha⁻¹ para o inverno. Já Turcsányi et al. (1998), verificaram valores distintos quando aplicados em plantas de *C. canadensis* resistentes ao paraquat em diferentes estádios de desenvolvimento, com FR de 450 e 1000 para plantas aplicadas durante o estágio vegetativo e estágio de florescimento, respectivamente.

4.2 Experimento II: Análises Morfológicas e Fluorescência da Clorofila

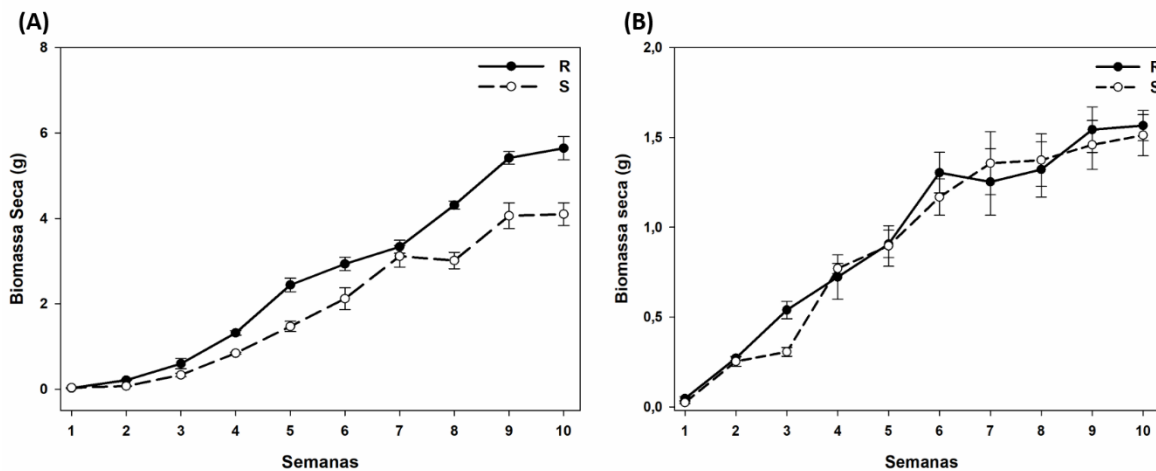
As figuras 7A, 7B, 7C e 7D demonstram o comportamento natural de crescimento entre os biotipos R e S para as variáveis altura de plantas (cm) e área foliar (cm^2) dos estudos 1 e 2 e as figuras 8A e 8B para biomassa seca (g), conduzidos entre os meses de outubro a dezembro/2018 (estudo 1) e março a maio/2019 (estudo 2).

Figura 7 - Comportamento da altura de plantas (cm) e área foliar (cm^2) para o estudo 1 (A e B) e estudo 2 (C e D) de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat



- Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$)

Figura 8 - Comportamento de acúmulo de biomassa seca (%) de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat no estudo 1 (A) e estudo 2 (B)



- Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$)

As plantas resistentes e suscetíveis pouco diferiram no crescimento natural em altura durante dez semanas no estudo 1, porém as plantas resistentes apresentaram crescimento levemente superior durante todo o período de avaliação. Apesar de discreto, o estabelecimento superior inicial em estatura é um fator determinante para a dominância do espaço entre os biótipos R e S, uma vez que as plantas mais altas irão sombrear outras plantas, reduzindo a incidência de luz e atuando de forma a suprimir o crescimento das demais (GARRITY; MOVILLON; MOODY, 1992). Outros autores identificaram diferença no crescimento inicial de plantas do gênero *Conyza* resistentes e suscetíveis a herbicidas como o glyphosate. Kaspary (2014) verificou que biótipos R de *Conyza bonariensis* apresentaram-se até 75% superiores em altura com relação a biótipos suscetíveis, bem como Shrestha et al. (2010), identificaram diferença de 60 cm entre biótipos R e S para *Conyza canadensis* nos Estados Unidos. No entanto, no estudo 2, verifica-se que o comportamento foi o inverso, uma vez que as plantas suscetíveis demonstram maior desempenho em altura. Porém, a maior estatura não refletiu em maior acúmulo de biomassa ou maior área foliar. O menor crescimento das plantas no estudo 2 está atrelado as quedas de temperatura noturna durante os meses de março a maio.

A competitividade das plantas de buva resistentes fica evidente para as variáveis de área foliar e biomassa seca, onde percebe-se vantagem destes biótipos com relação a estas avaliações. As plantas resistentes demonstraram rápido estabelecimento e desenvolvimento de área foliar, uma vez que na segunda semana após o transplante, apesar do tamanho das plantas, a proporção de área foliar dos

biotipos resistentes foi 2,8 vezes superior às plantas suscetíveis. A partir da terceira semana, a proporção foi menor, porém, de forma geral, R apresentou área foliar 64% superior a S durante o período de dez semanas após o transplante no estudo 1, e 20,2% para o estudo 2.

A superioridade em área foliar do biotipo R coloca estas plantas em condição de vantagem frente ao biotipo S, possibilitando maior capacidade de interceptação de luz e conseqüentemente maior acúmulo de fotoassimilados e biomassa seca (SILVA et al., 2009). Estudos conduzidos por Kaspary (2014) verificaram maior desenvolvimento para biotipos de *Conyza bonariensis* resistentes ao glyphosate com relação ao número de folhas, altura, área foliar e acúmulo de massa seca, revelando que apesar do mecanismo de resistência, as plantas demonstram elevada adaptabilidade ecológica.

Assim como a área foliar, o comportamento dos biotipos para o acúmulo de biomassa seca foi mantido. O biótipo R demonstrou maior incremento de massa seca, acumulando em média durante todo o período 52,94% mais massa seca do que as plantas suscetíveis no estudo 1 e 17,8% para o estudo 2. O maior incremento está diretamente relacionado a superioridade em área foliar das plantas resistentes, aumentando a habilidade em aproveitar recursos essenciais para seu desenvolvimento (SILVA et al., 2009)

Os primeiros estudos para caracterização da adaptabilidade ecológica de biotipos resistentes e suscetíveis ao paraquat, sugerem um menor desenvolvimento dos indivíduos resistentes, como por exemplo *Hordeum glaucum* na Austrália (PURBA; PRESTON; POWLES, 1993) e *Conyza canadensis* no Japão (ITO; MATSUNAKA 1990), nos quais as plantas suscetíveis demonstraram crescimento mais vigoroso com relação às resistentes. No entanto, segundo Powles e Holtum (1994) o comportamento de biotipos de buva resistentes ao paraquat não pode ser generalizado, uma vez que Vaughn e Duke (1984) já encontravam diferenças no desempenho do aparato fotossintético de plantas de *C. canadensis*.

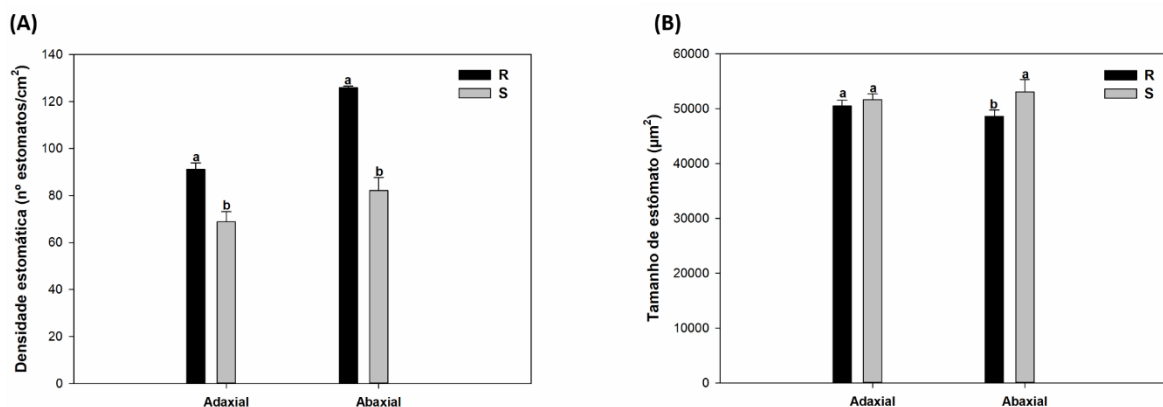
A repetição deste experimento (estudo 2) demonstrou menor desenvolvimento de ambos os biotipos. Porém, o comportamento superior em desenvolvimento de área foliar e acúmulo de biomassa seca foi novamente observado para as plantas resistentes. A diferença no incremento de biomassa seca durante o período avaliado, tendo em vista que ambos os biótipos receberam as mesmas condições

para seu desenvolvimento, indicam superioridade no crescimento das plantas resistentes.

Dessa maneira, mesmo que não ocorra a pressão de seleção exercida pelo herbicida, os indivíduos resistentes tendem a apresentar condições que poderiam lhes conferir vantagem competitiva, resultando em um aumento na frequência destas plantas em uma população. Esta característica deve reduzir o tempo necessário para que ocorra a seleção de biótipos resistentes, uma vez que quanto maior for a frequência inicial destes indivíduos, menor será o tempo necessário para que a seleção ocorra (VIDAL; FLECK, 1997; JASIENIUK; MAXWELL, 1994).

As avaliações referentes a densidade estomática e tamanho de estômatos das superfícies adaxial e abaxial das folhas das plantas resistentes e suscetíveis ao paraquat, estão representadas nas figuras 9A e 9B.

Figura 9 - Densidade estomática (A) e tamanho de estômatos (B) dos biótipos de *Conyza sumatrensis* resistente e suscetível ao paraquat



- Letras iguais entre os biótipos (R e S) correspondente a uma mesma face foliar, não diferem entre si pelo teste tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

Com relação as avaliações de densidade estomática Procópio et al. (2003), confirmaram que espécies do gênero *Conyza* spp. são anfiestomáticas, ou seja, possuem estômatos tanto na face adaxial quanto na face abaxial das folhas, justificando a necessidade de as avaliações serem realizadas em ambos os lados. De maneira geral, a face adaxial das folhas apresentou menor quantidade de estômatos para ambos os biótipos, o que era esperado, uma vez que a presença de maior quantidade de estômatos na face abaxial das folhas, permite a planta menor perda de água para o ambiente (GALVAN et al., 2012)

O biótipo R apresentou densidade estomática superior em ambas as faces da folha com relação ao biótipo S, diferindo estatisticamente das plantas sensíveis. A distinção entre os biótipos foi mais evidente na face abaxial das folhas (Figura 9A), uma vez que plantas R apresentaram 53,4% mais estômatos nesta região, enquanto que na face adaxial a diferença foi menor, porém ainda assim expressiva, sendo 32,4% superior com relação a S. No entanto, a área destes estômatos na face abaxial para plantas resistentes é cerca de 8,4% menor com relação ao biótipo S (Figura 9B).

A redução na área dos estômatos na superfície abaxial das folhas dos biótipos resistentes, pode demonstrar uma adaptação por parte da planta, uma vez que por apresentar maior densidade estomática, a redução no tamanho destes estômatos seria uma alternativa a fim de controlar trocas gasosas e perdas de água para o ambiente, uma vez que estas duas variáveis estão diretamente relacionadas com a intensidade de transpiração das plantas e são altamente adaptáveis as condições ambientais (PILLITTERI et al., 2007; IRVINE et al., 1998).

Os estômatos são basicamente responsáveis pelas trocas gasosas realizadas entre a planta e o ambiente e são altamente variáveis de acordo com o meio em que as plantas se encontram (APEZZATO; GUERREIRO, 2003). Uma vez que ambos biótipos foram conduzidos sob as mesmas condições em ambiente protegido, a maior densidade estomática expressa pelas plantas resistentes pode possibilitar o aumento da condutância de gases, reduzindo as chances de ocorrerem limitações da fotossíntese em função de estresses do ambiente (LIMA JR et al., 2006).

A principal via de absorção dos herbicidas na superfície foliar é através da cutícula, sendo menos comum a ocorrência de absorção através dos estômatos (SCHONHERR; BUKOVAC, 1972). Porém, a penetração via estômatos pode ocorrer desde que a tensão superficial da calda seja reduzida o suficiente para que isso ocorra (MONACO; WELLER; ASHTON, 2002). De acordo com Ferreira et al. (2002), o uso de alguns surfactantes siliconados poderia quebrar a tensão superficial da calda, melhorando o espalhamento do herbicida na superfície da folha e assim os estômatos desempenharem papel importante na absorção destes herbicidas. No entanto, acredita-se que apesar das plantas resistentes apresentarem maior densidade estomática na face adaxial, o papel da absorção do herbicida via estômatos pouco influenciaria para a caracterização da resistência ou suscetibilidade dos biótipos.

O comportamento diferencial da morfologia estomática entre plantas resistentes e suscetíveis a herbicidas já foi relatado na literatura. Galvan et al. (2012), avaliando a densidade estomática das folhas de *Lolium multiflorum* resistentes e suscetíveis ao glyphosate, verificaram que algumas populações resistentes apresentaram densidade estomática até 30% superior ao biotipo suscetível na superfície foliar abaxial. No entanto, Barroso et al. (2015), trabalhando com plantas de *Digitaria insularis* resistentes e suscetíveis ao glyphosate, verificaram a maior presença de estômatos na face abaxial das folhas em plantas suscetíveis em maior estágio de desenvolvimento (V6).

Os detalhes da distribuição dos estômatos na superfície adaxial e abaxial das folhas das plantas suscetíveis e resistentes são demonstrados nas figuras 10A, 10B, 10C e 10D, respectivamente.

Figura 10 – Indicação dos estômatos presentes na superfície adaxial (A e B) e abaxial (C e D) das folhas de *Conyza sumatrensis* suscetíveis e resistentes ao paraquat

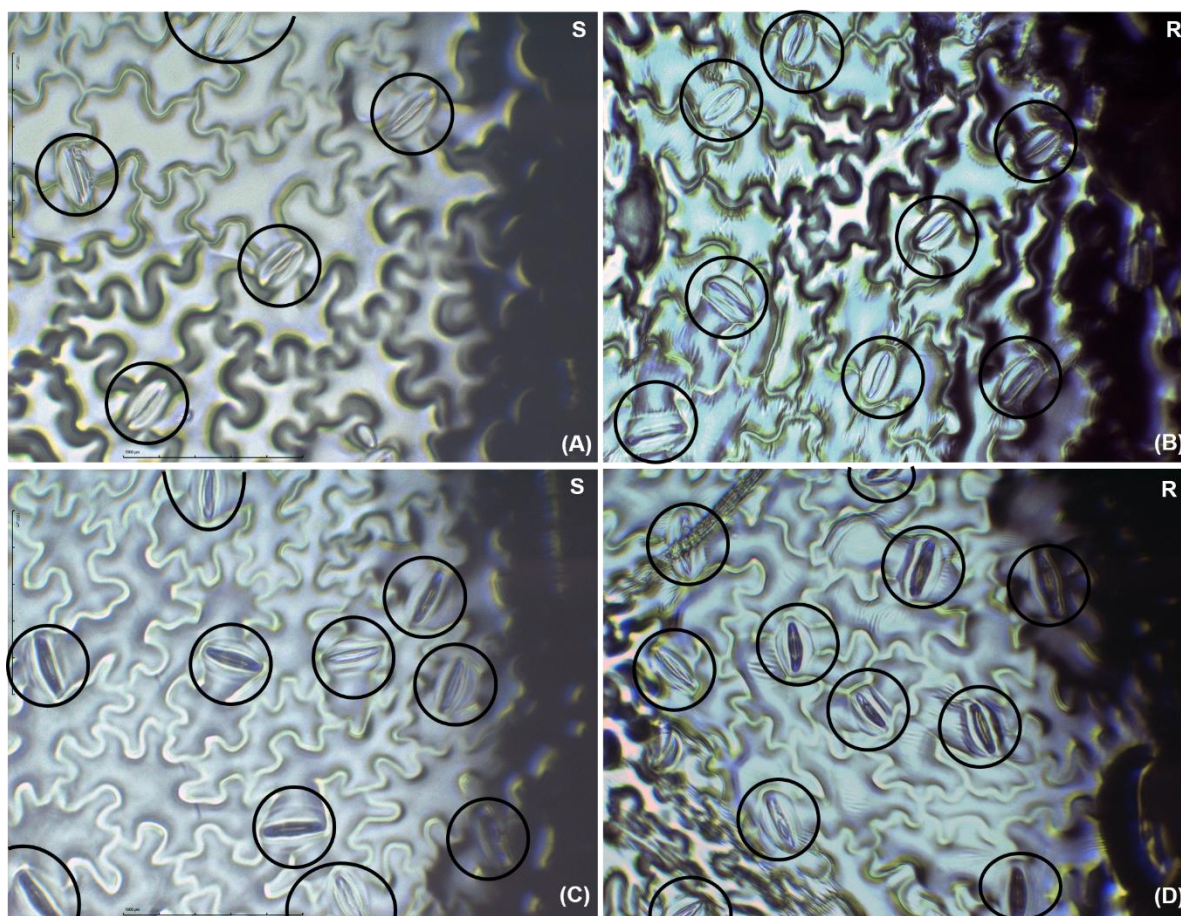


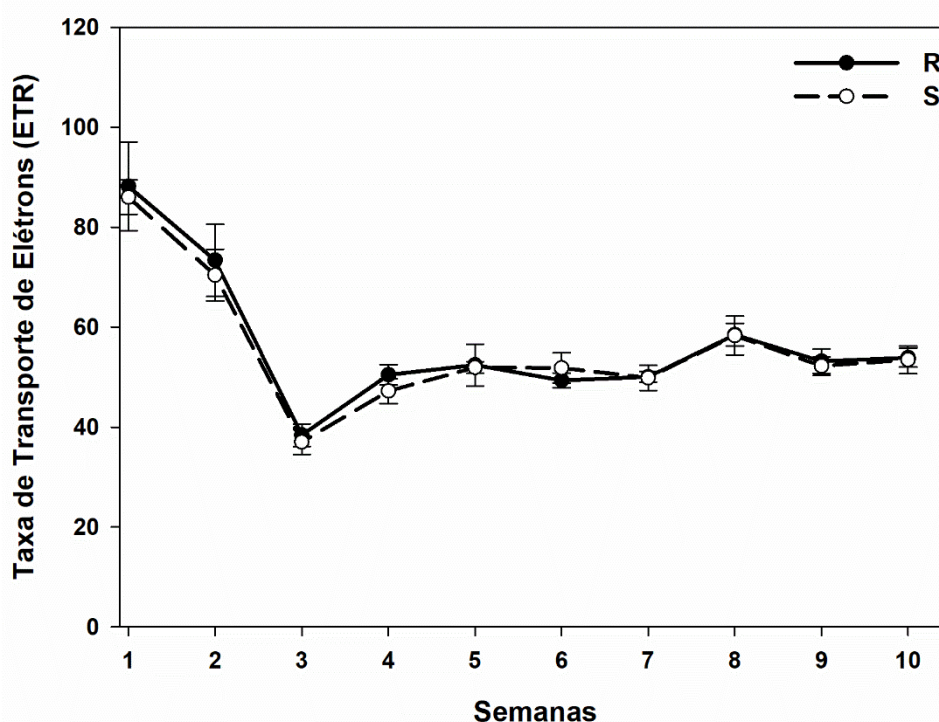
Foto: Vinicius Gabriel Caneppele Pereira - 2019

As superfícies analisadas da figura 10, referem-se a uma área de aproximadamente 8 mm², confirmando a constatação da maior quantidade de estômatos na face abaxial para ambos os biótipos (Figura 10C e 10D). Da mesma maneira, fica evidente a diferença da densidade estomática entre biótipos R e S em ambas as superfícies.

Alguns dos mecanismos comumente relacionados a resistência de plantas daninhas ao paraquat, referem-se à atividade de enzimas antioxidantes e ao sequestro da molécula no vacúolo. Porém, há um caso relatado por Chase, Bewick e Shilling (1998), no qual foi verificada resistência de *Solanum americanum* ao paraquat devido ao fluxo reduzido de elétrons no aparato fotossintético das plantas resistentes, levando a redução na formação de espécies reativas de oxigênio, consequentemente reduzindo a degradação das membranas.

Neste sentido, optou-se por avaliar o comportamento da taxa de transporte de elétrons dos biótipos R e S na ausência da aplicação de paraquat, a fim de verificar possíveis diferenças no fluxo de elétrons que poderiam estar relacionadas a resistência das plantas (Figura 11).

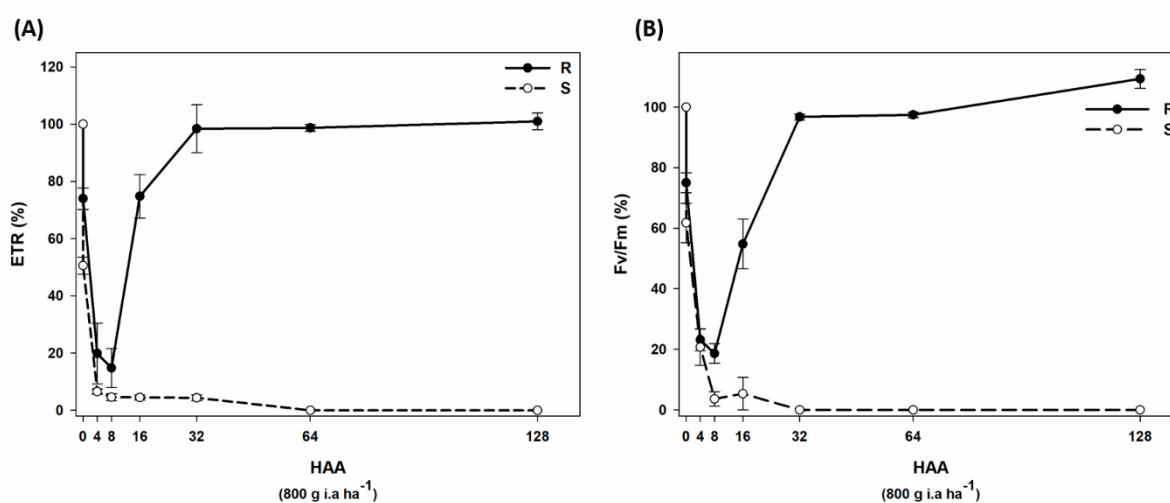
Figura 11 - Comportamento da taxa de transporte de elétrons (ETR) de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat



- Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

Verificou-se que independentemente da época de avaliação ao longo do tempo, o comportamento de ETR das plantas R e S foram semelhantes, variando de acordo com a resposta ao ambiente, porém sem variações entre os biótipos que poderiam ser atribuídas ao comportamento exclusivo de resistência ou suscetibilidade. No entanto, conforme esperado, o comportamento dos biótipos após a aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat foi diferente (Figura 12A).

Figura 12 – Comportamento de ETR (A) e Fv/Fm (B) das plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis após a aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat



- Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

A taxa de transporte de elétrons (ETR) e o rendimento quântico do fotossistema II (Fv/Fm) de ambos os biótipos decaíram poucas horas após a aplicação do herbicida, demonstrando a capacidade do paraquat em agir interrompendo o fluxo de elétrons (TAIZ; ZEIGER, 2017). Com 4 HAA a porcentagem de ETR com relação as respectivas testemunhas dos biótipos sem aplicação, caíram para 19,9% e 6,5% para R e S, respectivamente, permanecendo em queda até 8 HAA. O biótipo suscetível manteve-se com baixas porcentagens de ETR até a paralisação completa do fluxo de elétrons a partir de 64 HAA. Já em relação ao biótipo resistente, as plantas demonstraram recuperação da ETR a partir de 16 HAA, elevando-se de 14,7% as 8 HAA para 74,7% as 16 HAA, confirmando assim a total recuperação do fluxo de elétrons na avaliação realizada as 32 HAA. O mesmo comportamento foi verificado para Fv/Fm, porém as reduções com 4HAA foram menores para ambos os biótipos (Figura 12B).

Harris e Dodge (1972) observaram queda na absorção de CO₂ em plantas de *Linium usitatissimum* cinco horas após a aplicação de paraquat, indicando interação das moléculas de paraquat com os elétrons no fotossistema I, interrompendo o fluxo normal e impedindo a produção de NADPH. Estes dados, complementados com as respostas encontradas no presente estudo, indicam a rápida ação do herbicida quando as plantas se encontram na presença de luz, uma vez que nas plantas suscetíveis, foi necessário apenas 4 HAA para que mais de 90% do fluxo de elétrons fosse reduzido.

A interrupção do fluxo de elétrons é decorrente do mecanismo de ação do paraquat. Devido ao seu potencial redox (-446 Mv), a molécula herbicida é capaz de desviar elétrons provenientes do fotossistema I, possivelmente próximo a ferredoxina (-560 Mv), interrompendo o fluxo de toda cadeia transportadora, além da produção de espécies reativas de oxigênio que irão resultar na peroxidação de lipídeos das membranas (AKHAVEIN; LINSKOTT, 1968; FUERST; NORMAN, 1991).

Este comportamento demonstra a rápida recuperação do fluxo de elétrons das plantas resistentes após a imposição de um estresse severo causado pela aplicação do dobro da dose de paraquat, permitindo que após a aplicação as plantas restabelecessem seu aparato fotossintético e retomassem seu crescimento e desenvolvimento. Chase, Bewick e Shilling, (1998) verificaram que biótipos de *S. americanum* suscetíveis produziram naturalmente NADPH de forma mais rápida com relação as plantas resistentes ao paraquat, bem como a produção de superóxido, uma espécie reativa de oxigênio, foi maior para as plantas sensíveis, decorrente de um fluxo de elétrons reduzido por parte das plantas resistentes.

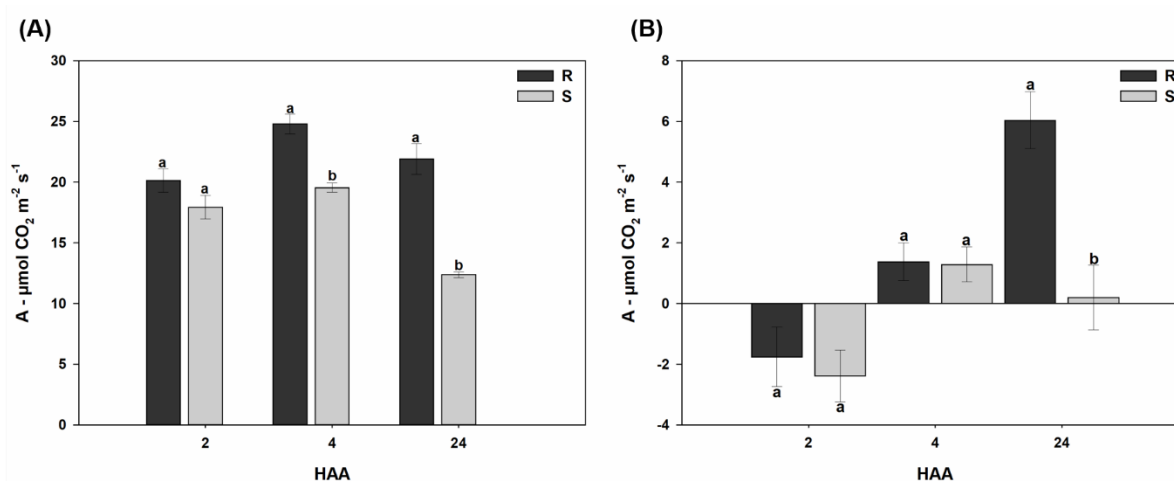
A redução inicial da taxa de transporte de elétrons em ambos os biótipos, demonstra a ação do herbicida no aparato fotossintético, indicando que o paraquat aplicado chegou ao seu local de ação na planta e em concentrações letais, descartando-se possíveis barreiras morfológicas das plantas que poderiam reduzir a absorção do herbicida.

4.3 Experimento III: Análises Bioquímicas e Fisiológicas

Os dados referentes as trocas gasosas das plantas resistentes e suscetíveis demonstram comportamento diferencial entre os biótipos mesmo na ausência da aplicação de paraquat e a recuperação das plantas resistentes após a aplicação de

800 g i.a ha⁻¹, conforme representado pelos valores de assimilação líquida de CO₂ (A) (Figuras 13A e 13B).

Figura 13 - Assimilação líquida de CO₂ de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat (B)



- Letras iguais entre os biótipos (R e S) dentro de um mesmo período de avaliação, não diferem entre si pelo teste tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

As plantas de *C. sumatrensis* resistentes ao paraquat, demonstraram maior taxa de assimilação líquida de CO₂ nos três períodos de avaliação (2, 4 e 24 HAA) mesmo sem os efeitos da aplicação do herbicida. Quando as plantas foram avaliadas as 11h00 da manhã (4 HAA), o biótipo R apresentou aproximadamente 27% maior assimilação líquida de CO₂ com relação ao biótipo S. Quando a amostragem foi realizada no início da manhã, próximo as 7h00 (24 HAA), a assimilação das plantas resistentes foi 77% superior ao biótipo suscetível, diferindo estatisticamente. Este comportamento demonstra a adaptabilidade das plantas resistentes, permitindo que estas disponham de vantagem no desenvolvimento em relação as demais plantas em uma população. A maior atividade fotossintética das plantas resistentes confirma outros resultados encontrados neste estudo, como o maior acúmulo de biomassa seca, maior desenvolvimento de área foliar e maior altura das plantas.

Quando os biótipos foram submetidos a aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat, percebe-se que rapidamente o herbicida é capaz de interferir na atividade fotossintética das plantas. Assim como a taxa de transporte de elétrons é rapidamente reduzida após a aplicação, a assimilação líquida de CO₂ seguiu a

mesma tendência para ambos os biótipos as 2 HAA. Para as avaliações realizadas as 4 HAA, plantas R e S demonstraram leve recuperação da taxa fotossintética, porém 24 HAA apenas as plantas resistentes demonstraram recuperação parcial do aparato fotossintético, voltando a uma taxa de assimilação de aproximadamente $6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, enquanto as plantas S apresentaram taxa de assimilação próxima a 0. Szigeti; Rác; Lásztity, (2001) verificaram a recuperação total da taxa fotossintética de plantas de *C. bonariensis* resistentes ao paraquat 72 HAA do herbicida, porém a recuperação foi mais lenta quando aplicado diquat, também inibidor do fotossistema I.

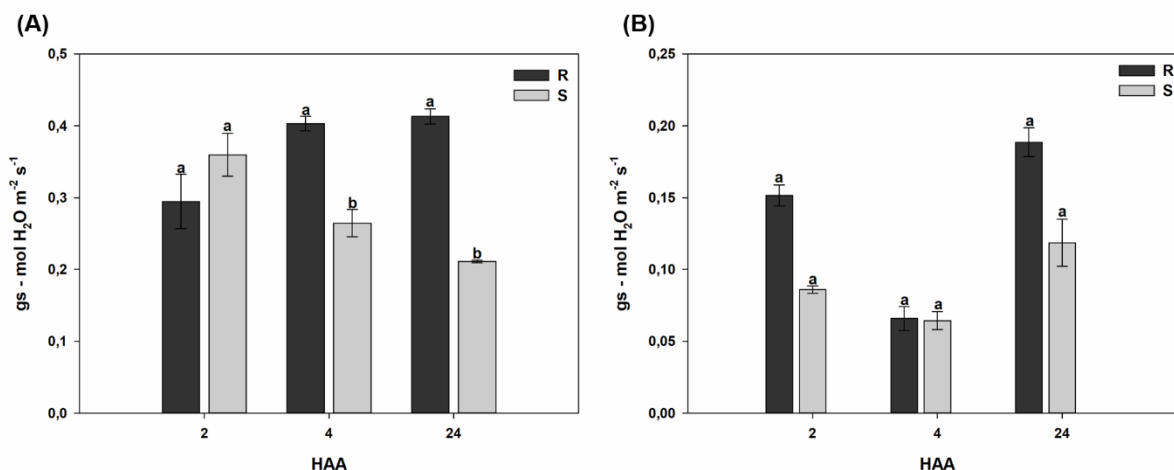
A maior parte dos estudos comparativos entre plantas resistentes e suscetíveis a herbicidas, trata-se de resistência ao glyphosate. Assim, há relatos de biótipos de buva resistente com maior taxa natural de assimilação líquida de CO_2 . Silva et al. (2017), estudando o comportamento de biótipos de *C. bonariensis* resistentes ao glyphosate sob diferentes densidades de fluxo de fótons fotossintéticos, verificaram que as plantas resistentes apresentaram maiores valores de *A* com relação as plantas sensíveis, chegando a apresentar 66,5% maior assimilação para as maiores densidades de fluxo de fótons. Vargas et al. (2014), verificaram que plantas resistentes de *C. bonariensis* demonstraram redução da taxa fotossintética até 10 dias após aplicação de glyphosate (DAA), recuperando-se a partir de 14 DAA, enquanto plantas suscetíveis reduziram sua atividade até 7 DAA, culminando em sua total paralisação. Este comportamento diferencial entre os biótipos também é verificado para outras espécies de plantas daninhas. Picoli Jr et al. (2017), verificaram que populações resistentes de *Lolium multiflorum* sofrem redução na taxa de assimilação de CO_2 até 3 DAA de glyphosate, recuperando-se a partir de 7 DAA.

De forma geral, os resultados encontrados neste estudo complementados com o material disponível na literatura, indicam uma diferença entre plantas resistentes e suscetíveis na capacidade do uso da luz absorvida. Neste caso, as plantas de buva selecionadas como resistentes, apresentam um melhor aproveitamento da energia luminosa, sendo potencialmente mais competitivas que as demais plantas da espécie, principalmente quando o fator limitante para o desenvolvimento for luminosidade (SILVA et al., 2017).

A condutância estomática para as plantas R e S sem a aplicação de paraquat (Figura 14A) foi variável entre os períodos de avaliação. Porém, para as avaliações

as 4 e 24 HAA, o biótipo R apresentou superioridade significativa com relação as plantas sensíveis, uma vez que para a avaliação de 24 HAA, as plantas R apresentaram gs 95,6% superior às plantas S. A resposta observada para ambos os biótipos após a aplicação de paraquat foi a redução da condutância estomática, ou seja, fechamento dos estômatos. As plantas resistentes no período de avaliação de 2 HAA, apresentaram redução de 94,5% da gs com a aplicação do herbicida, enquanto a redução para as plantas suscetíveis foi de 318%. Com 24 HAA, percebe-se que o biótipo resistente aumentou sua condutância estomática apesar do estresse causado pelo herbicida, bem como as plantas sensíveis, porém de forma menos expressiva uma vez que o biótipo R apresentou condutância estomática superior (58,9%) comparado ao biótipo suscetível.

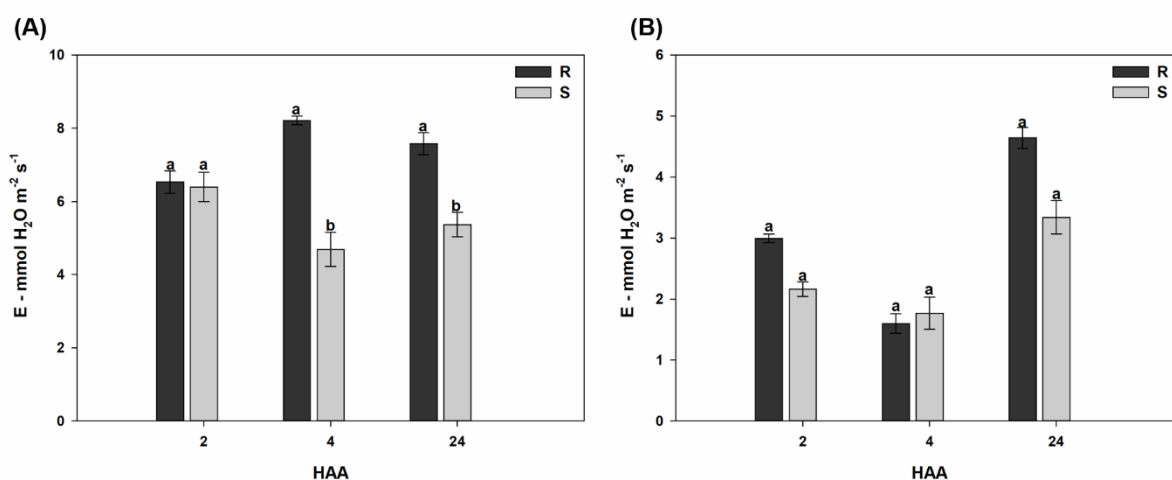
Figura 14 - Condutância estomática de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat (B)



- Letras iguais entre os biótipos (R e S) dentro de um mesmo período de avaliação, não diferem entre si pelo teste tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

Outra variável que responde de acordo com os resultados de condutância estomática encontrados neste estudo, são os dados de transpiração (E) e a eficiência no uso da água (EUA) (Figuras 15 e 16, respectivamente).

Figura 15 - Taxa transpiratória de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat (B)

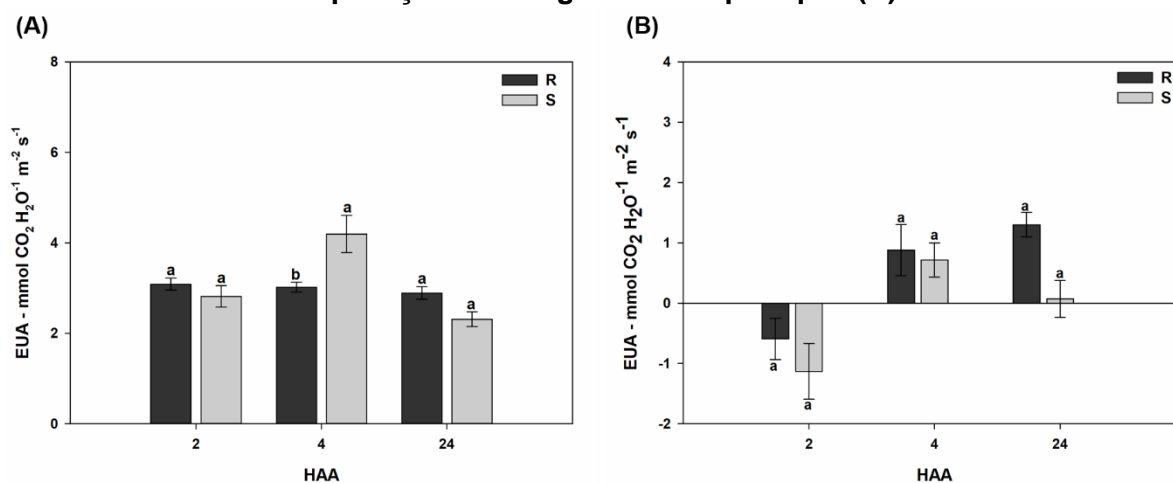


- Letras iguais entre os biótipos (R e S) dentro de um mesmo período de avaliação, não diferem entre si pelo teste tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

Naturalmente, devido a maior abertura estomática, as plantas resistentes tendem a perder mais água para o meio, apresentando taxa transpiratória superior ao biotipo S, diferindo estatisticamente, sendo possível observar este comportamento para as avaliações de 4 e 24 HAA (Figura 15A). Após a aplicação do herbicida (Figura 15B), os biótipos reduziram a taxa de transpiração, uma vez que em resposta ao estresse imposto, as plantas fecharam os estômatos (Figura 14B), reduzindo a perda de água para o ambiente.

Para a eficiência no uso da água (EUA), os biótipos resistente e suscetível apresentaram comportamento semelhante sem a aplicação de paraquat (Figura 16A), com exceção do período de 4 HAA, onde as plantas suscetíveis demonstraram maior EUA. O comportamento das plantas após a aplicação do herbicida (Figura 16B), revela drástica redução desta variável para ambos os biótipos com 2 HAA, demonstrando recuperação de R e S com 4 HAA, porém com 24 HAA o biótipo suscetível já apresentava valores próximos a 0, enquanto as plantas resistentes ainda demonstravam recuperação desta variável.

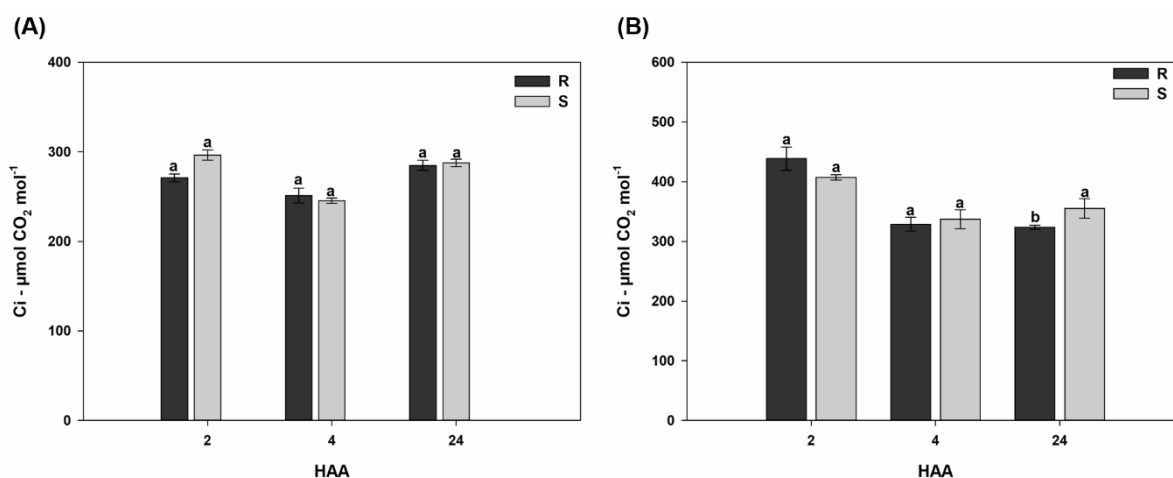
Figura 16 - Eficiência do uso da água de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat (B)



- Letras iguais entre os biótipos (R e S) dentro de um mesmo período de avaliação, não diferem entre si pelo teste tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

A concentração interna de carbono (C_i) de ambos biótipos não diferiram significativamente em condições naturais, sem a aplicação de paraquat (Figura 17A). No entanto, após a aplicação (Figura 17B), ambos biótipos demonstraram aumento nas concentrações internas de carbono, devido ao fechamento estomático. O biotipo R elevou as concentrações internas de carbono em 62%, enquanto o biotipo S incrementou em 37,3%, quando comparados para o período de 2 HAA. Após 24h da aplicação, as plantas sensíveis apresentavam 9,7% mais carbono interno, devido a menor condutância estomática no período.

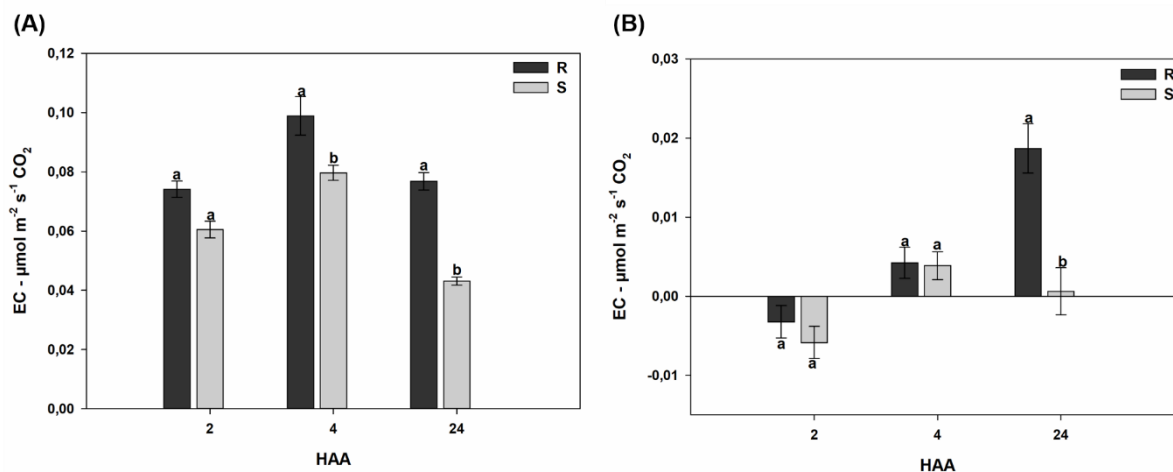
Figura 17 - Concentração interna de CO₂ de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat (B)



- Letras iguais entre os biótipos (R e S) dentro de um mesmo período de avaliação, não diferem entre si pelo teste tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

A eficiência de carboxilação (EC) dos biótipos R e S diferiram sob condições naturais das plantas daninhas (Figura 18A). As plantas resistentes demonstram maior eficiência de carboxilação para os períodos avaliados, principalmente para 4 e 24 HAA, uma vez que nestes períodos apresentaram EC 24% e 78% superiores aos valores encontrados nas plantas suscetíveis, respectivamente. Após a aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat (Figura 18B), ambos biótipos reduziram a eficiência de carboxilação, apresentando leve recuperação com 4 HAA, porém com 24 HAA a EC das plantas resistentes mostrou-se muito mais elevada, enquanto as plantas suscetíveis apresentaram EC próxima a 0.

Figura 18 - Eficiência de carboxilação de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat. Ausência da aplicação do herbicida (A) e aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat (B)



- Letras iguais entre os biótipos (R e S) dentro de um mesmo período de avaliação, não diferem entre si pelo teste tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

A turgidez das células-guarda é o fator responsável por controlar a abertura e fechamento dos estômatos (RODRIGUES et al., 2011). A condição de fechamento estomático pelas plantas quando estão sob condições de estresse, está relacionada a um efeito protetor da planta, visando evitar perda de água para a atmosfera e aumentar a eficiência no uso da água (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009). As plantas resistentes apresentaram maior densidade estomática, o que segundo Lima Jr et al. (2006), pode possibilitar maior condutância estomática e evitar que a planta sofra déficit na taxa fotossintética em períodos de estresse, fato estes observados para as plantas de *C. sumatrensis* resistentes ao paraquat. A maior g_s é proporcional ao número e tamanho dos estômatos, dependendo também de outros fatores relacionados a planta e ao ambiente (BRODRIBB; HOLBROOK, 2003)

O fato de as plantas resistentes apresentarem maior condutância estomática e maior transpiração para as condições de avaliação sem a aplicação do herbicida, leva a uma menor eficiência no uso da água durante o período observado, podendo ser uma desvantagem para a planta resistente em condições de estresse hídrico, por exemplo. No entanto, estas mesmas características estomáticas, favorecem o maior influxo de CO₂ pela planta, explicando as elevadas taxas de assimilação líquida de CO₂ apresentadas pelo biótipo R, bem como a eficiência de carboxilação destas plantas (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009; MANAVALAN et al., 2009).

As maiores concentrações internas de CO₂ (*C_i*) após a aplicação de paraquat, indicam danos ao aparato fotossintético. Estes danos podem ser provenientes de um aumento nas concentrações de espécies reativas de oxigênio (EROs), resultantes do potencial redox da molécula de paraquat no fotossistema I, ou ainda devido a uma redução na regeneração da rubisco (SILVA et al., 2012; ZHANG et al., 2016).

Outro ponto importante a ser destacado é que os biotipos R e S apresentaram queda na taxa fotossintética as 2 HAA de paraquat, indicando que houve efeitos deletérios no aparato fotossintético, conforme observado também em plantas de *C. bonariensis* por Szigeti; Rác; Lásztity (2001). Este fato pode indicar que o possível mecanismo de resistência desta espécie não está relacionado ao sequestro do herbicida para órgãos como o vacúolo, pois os efeitos mostram que a molécula atuou desviando elétrons do fotossistema da planta.

Galon et al. (2013), verificaram aumento na concentração interna de carbono (*C_i*) em plantas de *C. bonariensis* resistentes ao glyphosate quando cultivadas em altas densidades populacionais, o que segundo Concenço et al. (2008), pode representar menor capacidade da espécie em competir por recursos como luz e CO₂. Porém, para este estudo, verificou-se que os níveis internos de carbono para as condições sem o herbicida são pouco variáveis entre os biotipos, enquanto a capacidade de assimilação de CO₂ chegou a alcançar uma superioridade em favor da planta resistente de 77%. A redução da eficiência de carboxilação após a aplicação de paraquat, indica danos ao aparato fotossintético das plantas, resultando em um aumento expressivo nos teores internos de carbono, devido à redução na regeneração da rubisco, diminuindo o processo de carboxilação e aumentando os níveis de carbono interno (MATHOBO; MARAIS; STEYN, 2017).

Após 24h da aplicação do herbicida, as plantas R apresentaram boa recuperação da EC com relação as plantas S, indicando que as plantas suscetíveis não possuem um mecanismo eficiente para recuperação do aparato fotossintético. Esta recuperação, bem como a superioridade inicial do biotipo R, irá favorecer o crescimento e desenvolvimento das plantas, mantendo o maior acúmulo de biomassa devido a maior produção de fotoassimilados (CHAVES; FLEXAS; PINHEIRO, 2009).

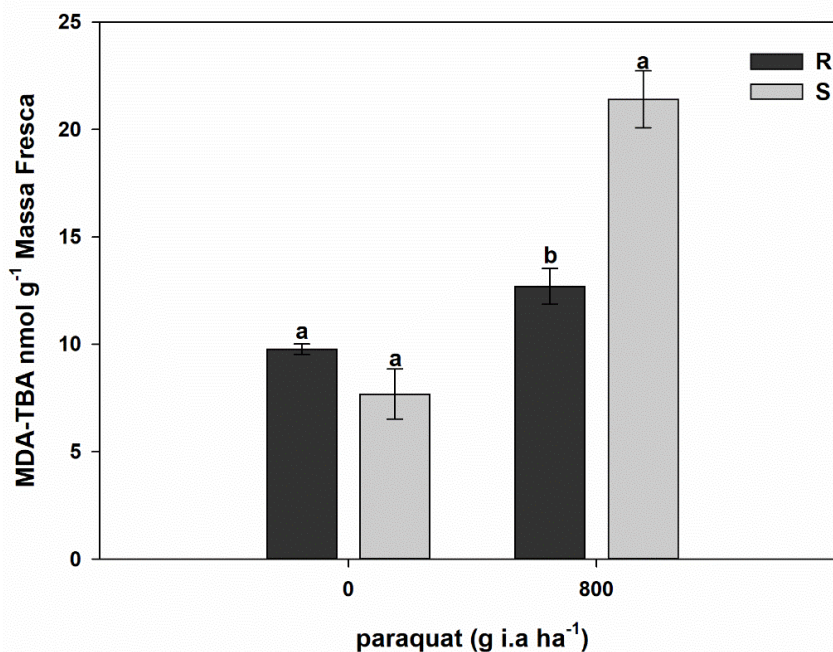
Grande parte dos estudos de comportamento de biotipos resistentes e suscetíveis a herbicidas tem identificado prejuízos às plantas resistentes, sendo estes prejuízos atribuídos a um custo de resistência (LEBARON; GRESSEL, 1982;

FERREIRA et al., 2008; CONCENÇO et al., 2009). Há relatos de resistência de *Amaranthus retroflexus* e *Chenopodium album* as triazinas, os quais apresentaram menor desenvolvimento de área foliar, altura, produção de sementes e capacidade fotossintética (RADOSEVICH, 1977; PARKS et al., 1996; STOWE; HOLT, 1988). Porém, estes fatos são altamente variáveis com relação ao mecanismo desenvolvido pela planta que lhe confere resistência, bem como a elevada adaptabilidade sofrida pelas plantas em todo o processo evolutivo.

De maneira geral, as plantas resistentes de *C. sumatrensis* revelaram melhorias fisiológicas no processo evolutivo, principalmente com relação a taxa fotossintética e a eficiência de carboxilação. Estas plantas estão estruturadas de tal maneira que possibilite não só sua resistência à aplicação do paraquat, mas também maior eficiência fotossintética e conseqüentemente maior adaptabilidade. A recuperação destes parâmetros fisiológicos após a aplicação do herbicida, estão relacionados a um mecanismo desenvolvido pela planta que confere a resistência ao paraquat, possivelmente atrelados ao mecanismo antioxidante.

A peroxidação lipídica, representada pelas concentrações do complexo aldeído malônico-TBA (MDA-TBA), foram mensuradas 4 HAA (Figura 19). O comportamento foi distinto entre os biotipos submetidos a aplicação de paraquat. As plantas não diferiram nas concentrações de MDA-TBA sem o estresse do herbicida, porém após a aplicação de 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat, a peroxidação lipídica nas plantas resistentes aumentou em aproximadamente 30%, enquanto esse aumento para as plantas suscetíveis foi de 179%. Em condições estressantes após 4h da aplicação do inibidor do fotossistema I, as plantas S apresentaram 40,6% maior peroxidação dos lipídeos, comparado com o biotipo R.

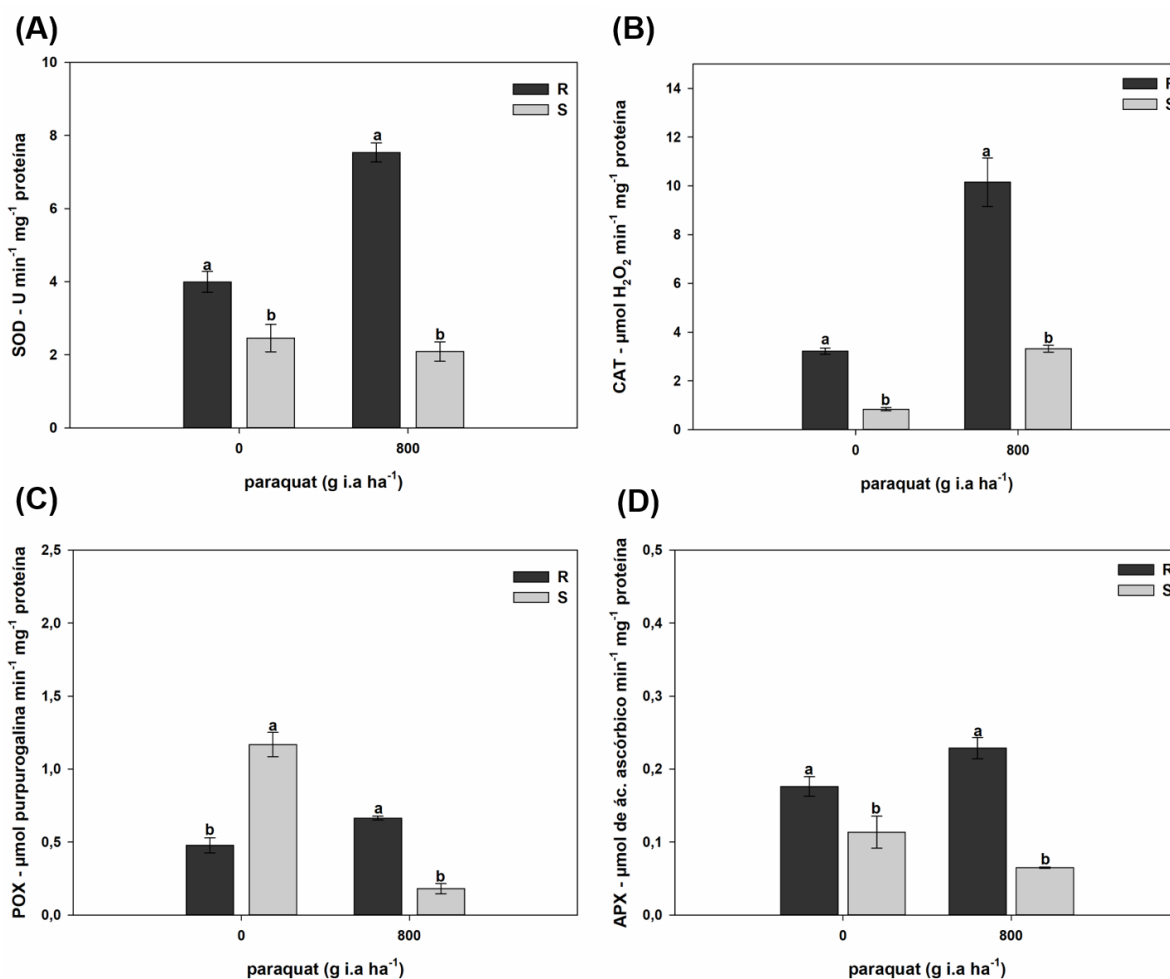
Figura 19 - Concentração do complexo aldeído malônico-TBA de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat



- Letras iguais entre os biótipos (R e S) dentro de uma mesma dose, não diferem entre si pelo teste tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

Para o biótipo R a atividade de todas as enzimas antioxidantes analisadas, aumentou após a aplicação de paraquat. O biótipo S apresentou aumento apenas na atividade de CAT após a aplicação, enquanto para as demais enzimas a atividade foi reduzida. A enzima SOD (Figura 20A) na ausência da aplicação de paraquat, apresentou atividade superior para as plantas resistentes. Estas plantas apresentaram aproximadamente 63% maior atividade natural de SOD comparado as plantas sensíveis. Após a aplicação, o biótipo R foi mais responsivo as condições de estresse, aumentando a atividade de SOD em 88,7%, enquanto o biótipo S apresentou queda de 15% no comportamento da enzima. Na avaliação realizada as 4 HAA, a atividade da enzima superóxido dismutase nas plantas resistentes era 260% superior a atividade nas plantas S.

Figura 20 - Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), peroxidases (POX) (C) e ascorbato peroxidase (APX) (D) de plantas de *Conyza sumatrensis* resistentes e suscetíveis ao paraquat



- Letras iguais entre os biótipos (R e S) dentro de uma mesma dose, não diferem entre si pelo teste tukey ($p \leq 0,05$). Barras correspondentes ao intervalo de confiança das médias ($p \leq 0,05$).

A atividade da enzima catalase apresentou grande distinção entre os biótipos (Figura 20B). Naturalmente, esta enzima demonstra atividade 285% superior nas plantas resistentes com relação a suscetível. Após a aplicação, a diferença entre os biótipos foi mantida, uma vez que a superioridade da atividade de CAT no biótipo R ainda foi de 206%. Porém, percebe-se que ambos os biótipos responderam com aumento expressivo da atividade da enzima. As plantas resistentes apresentaram um aumento de 215%, já as plantas sensíveis o aumento foi de 297%. O biótipo suscetível naturalmente demonstrou ter atividade de POX 59% superior as plantas R (Figura 20C). Porém, quando aplicadas com 800 g i.a ha⁻¹ de paraquat, as plantas sensíveis reduziram 84,5% da atividade da enzima, enquanto as resistentes

elevaram a atividade em 39,2%. Dessa maneira, após a aplicação do herbicida, a atividade de POX no biotipo R foi 267% superior ao biotipo S.

O comportamento da atividade de ascorbato peroxidase (Figura 20D) seguiu a tendência de SOD e CAT, onde o biotipo resistente apresentou maior atividade da enzima tanto em condições naturais quanto em condições aplicadas. As plantas R apresentaram 55% maior atividade de APX sem a aplicação de paraquat. Após a aplicação, estas mesmas plantas elevaram sua atividade em 30%, enquanto o biotipo S reduziu a atividade de APX em 43%. Dessa maneira, 4h após a aplicação, a atividade desta enzima foi 253% maior em plantas resistentes comparado a plantas sensíveis.

O paraquat quando aplicado, irá atuar no aparato fotossintético das plantas, especificamente no fotossistema I, próximo a ferredoxina. Este herbicida tem a capacidade de desviar elétrons da cadeia transportadora, levando a oxidação da molécula paraquat. Esta molécula irá reagir com H_2O e O_2 presentes no meio, formando a primeira espécie reativa do processo, o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$). Esta molécula, por intermédio da enzima SOD, será catalisada através da reação entre $2H^+ + O_2^{\cdot-}$ para produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (MONACO; WELLER; ASHTON, 2002; HALLIWELL, 2006). Durante todo o processo, são produzidas diferentes formas de espécies reativas de oxigênio (EROs) como oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radicais hidroxila (OH^{\cdot}) e ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (MITTLER, 2002).

O MDA é um produto secundário da peroxidação de lipídeos, o qual é liberado quando ocorre a peroxidação da membrana lipídica, logo é utilizado como um indicador de injúrias a membrana, provocados por estresse oxidativo (ESTERBAUER; SCHAUR; ZOLLNER, 1991). Segundo Urso e Clarkson (2003), as células vegetais continuamente produzem EROs em baixas concentrações como parte de seu processo metabólico, explicando os valores de MDA encontrados neste estudo para os dois biótipos sem a aplicação do herbicida.

Ambos os biótipos apresentaram aumentos nos teores de MDA-TBA após a aplicação de paraquat, indicando que todas as plantas tiveram danos à membrana, oriundos de estresse oxidativos (GROTTO et al., 2009). Porém, os danos causados ao biótipo R foram ligeiramente menores, seja pela menor produção de EROs na célula ou possivelmente pela maior efetividade do mecanismo antioxidante das plantas resistentes (SHARMA et al., 2012).

Chiang et al. (2008), trabalhando com discos foliares de biótipos *C. sumatrensis* R e S ao paraquat, verificaram que 4h após a exposição dos discos ao herbicida, as plantas resistentes mantiveram-se inalteradas com relação ao níveis de MDA, enquanto que as plantas suscetíveis apresentaram aumento de 50% até 2 HAA, mantendo altos teores de MDA até 4 HAA. Este mesmo comportamento entre biótipos R e S após a aplicação de paraquat foram observados para *C. canadensis* (POLOS et al., 1988) e *C. bonariensis* (VAUGHN; FUERST, 1985).

Em condições em que as plantas são submetidas a um estresse oxidativo, como a aplicação de paraquat, ocorre a ativação do mecanismo antioxidante das plantas, composto por enzimas como SOD, CAT, APX e POX que irão atuar degradando as EROs formadas nas células (TIAN et al., 2016). As plantas resistentes demonstraram maiores valores de atividade das quatro enzimas citadas após a aplicação de paraquat. Este comportamento demonstra que o biótipo resistente apresenta uma maquinaria mais eficiente no processo de eliminação de espécies reativas de oxigênio, possibilitando a manutenção do estado redox das células (MISHRA; BHOOMIKA; DUBEY, 2013).

A superóxido dismutase é a enzima que fornece a primeira linha de defesa do mecanismo das plantas contra as espécies tóxicas (GILL; TUTEJA, 2010). A rápida resposta de SOD em condições de estresse é muito importante para evitar a formação de OH^{\bullet} , oriundos das reações de moléculas de ânion superóxido, uma vez que a SOD irá transformar $\text{O}_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 (NASCIMENTO; BARRIGOSI, 2014).

Os níveis de SOD nas plantas resistentes já mostravam-se maiores mesmo sem a aplicação do herbicida, logo, quando o paraquat foi aplicado, a resposta para ativação de SOD nas plantas resistentes foi muito superior ao biótipo S. Uma vez que a atividade desta enzima foi maior sob aplicação do herbicida, subentende-se que a taxa de transformação de $\text{O}_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 também foi maior. No entanto, há casos em que a atividade de SOD antes da aplicação de paraquat, não diferiu entre biótipos R e S de *C. sumatrensis* (CHIANG et al., 2008) e *Hordeum glaucum* (POWLES; CORNIC, 1987).

A atividade de SOD para as plantas resistentes aumentou 88% após a aplicação de paraquat, enquanto as plantas suscetíveis reduziram a atividade em 15%. Este comportamento de incremento na atividade da enzima após a aplicação, corrobora com os dados encontrados para *C. canadensis* (POLOS et al., 1988) e *C. bonariensis* (YE; GRESSEL, 2000) também resistentes ao paraquat. Porém Chiang

et al. (2008), não identificaram a mesma tendência para biotipos resistentes de *C. sumatrensis*, mas verificaram que as plantas sensíveis também reduziram a atividade de SOD após a aplicação. A reação catalisada pela SOD impede o aumento das concentrações de $O_2^{\cdot-}$, consequentemente impede que rapidamente outras espécies reativas se formem. Porém, o produto resultante deste processo é o peróxido de hidrogênio. O H_2O_2 também é um problema nas plantas, uma vez que altos teores desta EROs resultam no estresse oxidativo. Desta maneira, a enzima catalase é diretamente responsável pela dismutação da molécula de H_2O_2 para as formas de H_2O e O_2 , reduzindo os níveis tóxicos na planta (GILL; TUTEJA, 2010).

Ambos os biotipos apresentaram elevado estímulo da atividade enzimática de CAT após a aplicação do herbicida, uma vez que tanto as plantas R quanto S demonstraram incremento de mais de 200% na atividade da enzima em condições de estresse. Este aumento indica que a enzima catalase está diretamente ligada ao processo de desintoxicação da planta. Porém, os níveis de atividade enzimática das plantas resistentes foram muito superiores as plantas sensíveis, revelando maior eficiência do complexo antioxidante destas plantas e o incremento da atividade de CAT em plantas suscetíveis não foi o suficiente para garantir a desintoxicação da planta, bem como sua sobrevivência. A maior atividade de catalase já foi observada para biotipos resistentes ao paraquat para *Lolium perene* (HARPER; HARVEY, 1978) e também para *C. canadensis* (PYON et al., 2004). No entanto, Tsuji et al. (2012), não observaram o mesmo comportamento para plantas de *Mazus pumilus*, assim como Turcsányi et al. (1998), para *C. canadensis*, indicando que esta enzima aparentemente possui um papel menos relevante para a resistência destas plantas, especificamente.

A enzima peroxidase (POX) é responsável pela oxirredução entre peróxido de hidrogênio e outros redutores, sendo importante para o processo de desintoxicação das plantas (NASCIMENTO; BARRIGOSI, 2014). Apesar de as plantas suscetíveis apresentarem maior atividade desta enzima antes da aplicação do herbicida, percebe-se a ineficiência do biotipo S em manter ou aumentar a atividade enzimática após a aplicação de paraquat. O biótipo resistente, apesar da menor atividade inicial, demonstrou superioridade de 267% quando as plantas apresentaram estresse oxidativo.

O comportamento de ascorbato peroxidase (APX), revelou que essa enzima pode desempenhar um importante papel no processo de desintoxicação de EROs.

APX, juntamente com SOD e glutathione redutase (GR) são enzimas chaves para regular os níveis de peróxido de hidrogênio e ânions de oxigênio na planta, evitando a formação de mais espécies tóxicas (HUNG; CHANG; KAO, 2002; POLLE, 2001). A maior atividade natural desta enzima representa uma resposta imediata aos primeiros indícios de formação de EROs, bem como seu desempenho após a aplicação, chegando a uma atividade 253% superior em plantas resistentes.

Chiang et al. (2008), verificaram que em biotipos R e S de *C. sumatrensis* ao paraquat, a atividade de APX aumentou nas primeiras horas após a aplicação do herbicida, permanecendo estável nas horas seguintes. Já as plantas suscetíveis, assim como neste estudo, demonstraram redução da atividade da enzima com 1 HAA. A maior atividade de APX, assim como de SOD foram verificadas também em biotipos de *C. canadensis* resistentes ao paraquat (POLOS et al., 1988) e para *C. bonariensis* (YE; GRESSEL, 2000). Shaaltiel e Gressel (1986), afirmam que a elevada atividade desta enzima está relacionada com a resistência de plantas ao paraquat. A atividade de APX é variável entre as espécies e possuem efeito de proteção contra os estresses ambientais (MURGIA et al., 2004). Tsuji et al. (2012), não verificaram diferenças entre as atividades desta enzima para plantas resistentes e suscetíveis de *M. pumilus* ao paraquat, demonstrando a variabilidade do comportamento entre as espécies.

De forma geral, o mecanismo antioxidante das plantas resistentes de *C. sumatrensis* demonstrou ser muito mais eficiente no processo de desintoxicação de espécies reativas de oxigênio comparado às plantas suscetíveis. Vale salientar que o mecanismo enzimático antioxidante das plantas é composto por um conjunto de enzimas além das avaliadas neste estudo, como glutathione redutase (GR) e glutathione peroxidase (FOYER et al., 1997). Diferenças expressivas na atividade de GR foram encontradas por Chiang et al. (2008), entre biotipos R e S de *C. sumatrensis*. Esta enzima apresentou atividade até 4 vezes maior para as plantas resistentes. Shaaltiel e Gressel (1986) verificaram para *C. canadensis* atividades superiores de SOD, APX e GR na ordem de 60, 150 e 192% respectivamente. Para o presente estudo, as atividades de SOD e APX foram maiores que 200% para as plantas resistentes. Logo, estes dados confirmam o papel fundamental que o sistema antioxidante desempenha na resistência das plantas ao paraquat.

5 CONCLUSÕES

As plantas de *C. sumatrensis* resistentes ao paraquat apresentam maior crescimento sobre biótipos suscetíveis, o que foi evidenciado pelo maior desenvolvimento de área foliar e maior acúmulo de biomassa seca, bem como o desempenho fotossintético das mesmas.

A recuperação do aparato fotossintético pelo biótipo resistente após a aplicação de paraquat é rápida, uma vez que a taxa de transporte de elétrons está totalmente recuperada 32 HAA.

O sistema antioxidante das plantas resistentes desempenha importante papel no mecanismo de resistência, tendo em vista a elevada atividade de importantes enzimas, tanto antes quanto após a aplicação de paraquat.

REFERÊNCIAS

- ADEGAS, F. S. et al. Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil. In: Embrapa Soja-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 31., 2018, Rio de Janeiro. **Desafios e sustentabilidade no manejo de plantas daninhas: resumos**. Londrina: SBCPD, 2018.
- AKHAVEIN, A. A.; LINSKOTT, D. L. The dipyrldylum herbicides, paraquat and diquat. In: **Residue Reviews/Rückstands-Berichte**. New York: Springer, 1968. p. 97-145.
- ANDERSEN, M. C. Diaspore morphology and seed dispersal in several wind-dispersed Asteraceae. **American Journal of Botany**, v. 80, n. 5, p. 487-492, 1993.
- APEZZATO, B. G.; GUERREIRO, S. M. C. **Anatomia vegetal**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 438 p.
- BARROSO, A. A. M. et al. Does Sourgrass leaf anatomy influence glyphosate resistance? **Comunicata Scientiae**, v. 6, n. 4, p. 445-453, 2015.
- BHOWMIK, P. C.; BEKECH, M. M. Horseweed (*Conyza canadensis*) seed production, emergence, and distribution in no-tillage and conventional-tillage corn (*Zea mays*). **Agronomy Trends Agriculture Science**, v. 1, p. 67-71, 1993.
- BORGATO, E. A.; GONÇALVES NETTO, A. Resistência múltipla e cruzada: casos no Brasil e mecanismos de resistência de plantas daninhas a herbicidas. In: CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M. **Aspectos da resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 4. ed. Piracicaba: HRAC, 2016. Cap. 3, p. 43-58.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BRODRIBB, T. J.; HOLBROOK, N. M. Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. **Plant Physiology**, v. 132, n. 4, p. 2166-2173, 2003
- BRUNHARO, C.A.C.G. et al. Confirmation and mechanism of glyphosate resistance in tall windmill grass (*Chloris elata*) from Brazil. **Pest management science**, v. 72, n. 9, p. 1758-1764, 2016.
- CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods Enzymology**. v. 2: p. 764-775, 1955.
- CHARLESWORTH, B. Evolutionary rates in partially self-fertilizing species. **The American Naturalist**, v. 140, n. 1, p. 126-148, 1992.

CHASE, C. A.; BEWICK, T. A.; SHILLING, D. G. Differential Photosynthetic Electron Transport and Oxidative Stress in Paraquat-Resistant and Sensitive Biotypes of *Solanum americanum*. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 60, n. 2, p. 83-90, 1998.

CHATHAM, L. A. et al. EPSPS gene amplification is present in the majority of glyphosate-resistant Illinois waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) populations. **Weed technology**, v. 29, n. 1, p. 48-55, 2015.

CHAVES, M.M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**. v. 103; p. 551-56; 2009.

CHIANG, Y.J. et al. Role of antioxidative system in paraquat resistance of tall fleabane (*Conyza sumatrensis*). **Weed science**, v. 56, n. 3, p. 350-355, 2008.

CHRISTOFFOLETI, P. J. et al. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: termos e definições importantes. In: CHRISTOFFOLETI, P. J.; NICOLAI, M. **Aspectos da resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 4. ed. Piracicaba: HRAC, 2016. Cap. 1, p. 11-32.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; VICTORIA FILHO, R.; SILVA, C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v. 12, n.1, p. 13-20, 1994.

CONAB. Análise das culturas. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: safra 2018/19: oitavo levantamento**, Brasília, DF, v. 6, n. 8, p. 27-64, mai. 2019.

CONCENÇO, G. et al. Eficiência fotossintética de biótipos de azevém em condição de competição. **Planta Daninha**, v. 19, n. 2, p. 247-253, 2008.

CONCENÇO, G. Uso da água por plantas de arroz em competição com biótipos de *Echinochloa crusgalli* resistente e suscetível ao herbicida quinclorac. **Planta Daninha**, v. 27, n. 2, p. 249-256, 2009.

DAUER, J. T.; MORTENSEN, D. A.; VANGESSEL, M. J. Temporal and spatial dynamics of long-distance *Conyza canadensis* seed dispersal. **Journal of Applied Ecology**, v. 44, n. 1, p. 105-114, 2007.

DUMONT, M.; LETARTE, J.; TARDIF, F. J. Identification of a psbA mutation (valine 219 to isoleucine) in Powell amaranth (*Amaranthus powellii*) conferring resistance to linuron. **Weed Science**, v. 64, n. 1, p. 6-11, 2016.

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free radical Biology and medicine**, v. 11, n. 1, p. 81-128, 1991.

FERREIRA, E. A. et al. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas. II-*Bidens pilosa*, *Emilia sonchifolia*, *Ageratum conyzoides* e *Sonchus asper*. **Planta Daninha**, v. 20, n. 3, p. 327-335, 2002.

- FERREIRA, E. A. et al. Glyphosate translocation in hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) biotypes. **Planta Daninha**, v. 26, n. 3, p. 637-643, 2008.
- FOYER, C. H. et al. Hydrogen peroxide-and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. **Physiologia plantarum**, v. 100, n. 2, p. 241-254, 1997.
- FUERST, E. P. et al. Paraquat resistance in *Conyza*. **Plant Physiology**, v. 77, n. 4, p. 984-989, 1985.
- FUERST, E. P.; NORMAN, M. A. Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. **Weed Science**, v. 39, n. 3, p. 458-464, 1991.
- GAINES, T. A. et al. Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. **Proceedings of National Academy of Sciences**, v. 107, p. 1029-1034, 2010.
- GALON, L. et al. Características fisiológicas de biótipos de *Conyza bonariensis* resistentes ao glyphosate cultivados sob competição. **Planta Daninha**. v. 31, n. 4, p. 859-866, 2013.
- GALVAN, J. et al. Anatomia foliar de *Lolium multiflorum* sensível e resistente ao glyphosate. **Planta Daninha**, v. 30, n. 2, p. 407-413, 2012.
- GARRITY, D. P.; MOVILLON, M.; MOODY, K. Differential weed suppression ability in upland rice cultivars. **Agronomy Journal**, v. 84, n. 4, p. 586-591, 1992.
- GAZZIERO, D. L. P. et al. Interferência da buva em áreas cultivadas com soja. In: Embrapa Soja-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 27., 2010, Ribeirão Preto. **Responsabilidade social e ambiental no manejo de plantas daninhas**. Ribeirão Preto: SBCPD, 2010. p. 1555-1558.
- GE, X. et al. Glyphosate-resistant horseweed made sensitive to glyphosate: low-temperature suppression of glyphosate vacuolar sequestration revealed by ³¹P NMR. **Pest management science**, v. 67, n. 10, p. 1215-1221, 2011.
- GE, X. et al. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. **Pest Management Science**: formerly Pesticide Science, v. 66, n. 4, p. 345-348, 2010.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.
- GOMES, G.L.G.C. **Caracterização bioquímica e morfofisiológica de populações de Buva (*Conyza* spp.) resistentes ao glyphosate**. 2014, 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP Campus de Botucatu, Botucatu dezembro de 2014.

GOMES-JUNIOR, R. A. et al. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, v. 65, n. 8, p. 1330-1337, 2006.

GONÇALVES NETTO, A. et al. Multiple resistance of *Amaranthus palmeri* to ALS and EPSPS inhibiting herbicides in the State of Mato Grosso, Brazil. **Planta daninha**, v. 34, n. 3, p. 581-587, 2016.

GROTTO, D. et al. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. **Quimica Nova**, v. 32, n. 1, p. 169-174, 2009.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant physiology**, v. 141, n. 2, p. 312-322, 2006.

HARMS, C. T.; DIMAIO, J. J. Primisulfuron herbicide-resistant tobacco cell lines. Application of fluctuation test design to in vitro mutant selection with plant cells. **Journal of Plant Physiology**, v. 137, n. 5, p. 513-519, 1991.

HARPER, D. B.; HARVEY, B. M. R. Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass: II. Role of superoxide dismutase, catalase and peroxidase. **Plant, Cell & Environment**, v. 1, n. 3, p. 211-215, 1978.

HARRIS, N.; DODGE, A. D. The effect of paraquat on flax cotyledon leaves: physiological and biochemical changes. **Planta**, v. 104, n. 3, p. 210-219, 1972.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HEAP, I. Criteria for confirmation of herbicide-resistant weeds. **International survey of herbicide-resistant weeds**. Online. Disponível em: <http://weedscience.com/Documents/ResistanceCriterion.pdf>. Acesso em: 08 mai. 2019.

HEAP, I. **The international survey of herbicide resistant weeds**. Online. Disponível em: <http://www.weedscience.com>, 2019. Acesso em: 08 mai. 2019.

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

HUNG, K. T.; CHANG, C. J.; KAO, C. H. Paraquat toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves. **Journal of plant physiology**, v. 159, n. 2, p. 159-166, 2002.

IRVINE, J. et al. The response of *Pinus Sylvestris* to drought: stomatal control of transpiration and hydraulic conductance. **Tree physiology**, v. 18, n. 6, p. 393-402, 1998.

ITOH, K; MATSUNAKA, S. Parapatric differentiation of paraquat resistant biotypes in some Compositae species. In: ITOH, K; MATSUNAKA, S. **Biological Approaches and Evolutionary Trends in Plants**, 1990. Cap. 3, p. 33-49.

JAMES, J. W. Simultaneous selection for dominant and recessive mutants. **Heredity**, v. 20, n. 1, p. 142, 1965.

JASIENIUK, M.; BRÛLÉ-BABEL, A. L.; MORRISON, I. N. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. **Weed science**, p. 176-193, 1996.

JASIENIUK, M.; MAXWELL, B. D. Populations genetics and the evolution of herbicide resistance in weeds. **Phytoprotection**, v. 75, n. 4, p. 25-35, 1994.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant physiology**, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976.

KASPARY, T. E. **Caracterização Biológica e Fisiológica de Buva (*Conyza bonariensis* L.) Resistente ao Herbicida Glyphosate**. 2014. Dissertação (mestrado em agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen, RS, 2014.

KISSMANN, K.G. e GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2ª ed., v. II. São Paulo, SP: BASF, 1999.

LASCANO, H. R., et al. Effect of photooxidative stress induced by paraquat in two wheat cultivars with differential tolerance to water stress. **Plant Science**, v. 164, n. 5, p. 841-848, 2003.

LEBARON, H. M.; GRESSEL, J. Summary of accomplishments, conclusions, and future needs. *In*: **Herbicide Resistance in Plants**. New York: John Wiley and Sons, 1982. p. 349-362.

LIMA JR, E. C. et al. Aspectos fisionômicos de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 30, n. 1, p. 33—41, 2006.

LORENZI, H.; et al. **Manual de identificação e controle de plantas daninhas**. 6ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2006.

MANAVALAN, L.P. et al. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. **Plant e Cell Physiology**. 50: 1260-1276; 2009.

MANGOLIN, C. A.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; FÁTIMA, P. S. Genetic diversity in weeds. *In*: **Herbicides-Environmental Impact Studies and Management Approaches**. IntechOpen, 2012.

MATHOBO, R.; MARAIS, D.; STEYN, J.M. The effect of drought stress on yield; leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Agricultural Water Management**. 80: 118-125; 2017.

MISHRA, P.; BHOMIKA, K.; DUBEY, R. S. Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. **Protoplasma**, v. 250, n. 1, p. 3-19, 2013.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MONACO, T. J.; WELLER, S. C.; ASHTON, F. M. **Weed science: principles and practices**. Nova York: John Wiley & Sons, 2002.

MOREIRA, M. S. et al. Resistência de *Conyza canadensis* e *C. bonariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 157-164, 2007.

MORETTI, M. L. et al. Glyphosate resistance is more variable than paraquat resistance in a multiple-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) population. **Weed science**, v. 61, n. 3, p. 396-402, 2013.

MURGIA, I. et al. *Arabidopsis thaliana* plants overexpressing thylakoidal ascorbate peroxidase show increased resistance to Paraquat-induced photooxidative stress and to nitric oxide-induced cell death. **The Plant Journal**, v. 38, n. 6, p. 940-953, 2004.

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

NANDULA, V. K. et al. Factors affecting germination of horseweed (*Conyza canadensis*). **Weed Science**, v. 54, n. 5, p. 898-902, 2006.

NASCIMENTO, J. B.; BARRIGOSI, J. A. F. O papel das enzimas antioxidantes na defesa das plantas contra insetos herbívoros e fitopatógenos. **Agrarian Acedemy**. v. 1, n. 1, p. 234, 2014.

NORMAN, M. A.; FUERST, E. P. Interactions of Cations with Paraquat in Leaf Sections of Resistant and Sensitive Biotypes of *Conyza bonariensis*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 57, n. 3, p. 181-191, 1997.

OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba, Brasil: Omnipax, 2011.

PARKS, R. J. et al. Herbicide susceptibility and biological fitness of triazine-resistant and susceptible common lambsquarters (*Chenopodium album*). **Weed Science**., v. 44, n. 3, p. 517-522, 1996.

PICOLI JR, G. J. et al. Influence of glyphosate on susceptible and resistant ryegrass populations to herbicide. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

PILLITTERI, L. J. et al. Termination of asymmetric cell division and differentiation of stomata. **Nature**, v. 445, n. 7127, p. 501, 2007.

PITELLI, R. A. Interferência de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Informação Agropecuária**, v. 11, n. 129, p. 16-27, 1985.

POLLE, A. Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate-glutathione-pathway in chloroplasts by metabolic modeling. Computer simulations as a step towards flux analysis. **Plant physiology**, v. 126, n. 1, p. 445-462, 2001.

PÖLÖS, E. et al. Paraquat and atrazine co-resistance in *Conyza canadensis* (L.) Cronq. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 30, n. 2, p. 142-154, 1988.

PÖLÖS, E. et al. Photosynthetic properties and cross-resistance to some urea herbicides of triazine-resistant *Conyza canadensis* Cronq (L.). **Zeitschrift für Naturforschung C**. v. 42, n. 7-8, p. 783-793, 1987.

POWLES, S. B. HOLTUM, J. A. M. **Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry**. Nova York: CRC Press, 1994.

POWLES, S. B.; CORNIC, G. Mechanism of paraquat resistance in *Hordeum glaucum*. I. Studies with isolated organelles and enzymes. **Functional Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 81-89, 1987.

PROCÓPIO, S. O. et al. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. III-*Galinsoga parviflora*, *Crotalaria incana*, *Conyza bonariensis* e *Ipomoea cairica*. **Planta daninha**, v. 21, n. 1, p. 1-9, 2003.

PURBA, E.; PRESTON, C.; POWLES, S. B. Inheritance of bipyridyl herbicide resistance in *Arctotheca calendula* and *Hordeum leporinum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 87, n. 5, p. 598-602, 1993.

PYON, J. Y. et al. Differential levels of antioxidants in paraquat-resistant and-susceptible *Erigeron canadensis* biotypes in Korea. **Weed biology and management**, v. 4, n. 2, p. 75-80, 2004.

RADOSEVICH, S. R. Mechanism of atrazine resistance in lambsquarters and pigweed. **Weed Science**., v. 25, n. 4, p. 316-318, 1977.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 6ª ed. Londrina: Iapar, 2011.

RODRIGUES, H. J. B. et al. Variabilidade sazonal da condutância estomática em um ecossistema de manguezal amazônico e suas relações com variáveis meteorológicas. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v.26, n.2, 189 - 196, 2011.

ROLLIN, M. J.; TAN, D. First report of glyphosate resistant flax-leaf fleabane from the western Darling Downs. *In: Fleabane. Proceedings of a workshop held at DPI&F Toowoomba*, Australia: CRC for Australian Weed Management, 2004. p. 7-15.

SAARI, L. L.; COTTERMAN, J. C.; THILL, D. C. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. *In: Herbicide resistance in plants*. CRC Press, 2018. p. 83-140.

SCHÖNHERR, J.; BUKOVAC, M. J. Penetration of stomata by liquids: dependence on surface tension, wettability, and stomatal morphology. **Plant Physiology**, v. 49, n. 5, p. 813-819, 1972.

SHAALTIEL, Y.; GRESSEL, J. Multienzyme oxygen radical detoxifying system correlated with paraquat resistance in *Conyza bonariensis*. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 26, n. 1, p. 22-28, 1986.

SHARMA, P., et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, v. 2012, 2012.

SHRESTHA, A. et al. Growth, phenology, and intraspecific competition between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible horseweeds (*Conyza canadensis*) in the San Joaquin Valley of California. **Weed Science**, v. 58, n. 2, p. 147-153, 2010.

SILVA, A. A.; VARGAS, L.; FERREIRA, E. A. Herbicidas: resistência de plantas. *In*: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2007. cap. 7, p. 279-320.

SILVA, A. C. et al. Accumulation of macro and micronutrients by soybean and *Brachiaria brizantha* emerged in different periods. **Planta Daninha**, v. 27, n. 1, p. 49-56, 2009.

SILVA, D. R. O. et al. Photosynthetic Performance of Glyphosate Resistant and Glyphosate Susceptible Hairy Fleabane under Light Intensity. **Planta Daninha**, v. 35, 2017.

SILVA, E. N. et al. Coordinate changes in photosynthesis, sugar accumulation and antioxidative enzymes improve the performance of *Jatropha curcas* plants under drought stress. **Biomass and bioenergy**, v. 45, p. 270-279, 2012.

SOUZA, A.P. et al. Uso da equação logística no estudo de dose-resposta de glyphosate e imazapyr por meio de bioensaios. **Planta Daninha**. v. 18, p. 17-28, 2000.

STEINMAUS, S. J.; PRATHER, T. S.; HOLT, J. S. Estimation of base temperatures for nine weed species. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 343, p. 275-286, 2000.

STOWE, A. E.; HOLT, J. S. Comparison of triazine-resistant and -susceptible biotypes of *Senecio vulgaris* and their F1 hybrids. **Plant Physiology**, v. 87, n. 1, p. 183-189, 1988.

STREIBIG, J. C. Herbicide bioassay. **Weed research**, v. 28, n. 6, p. 479-484, 1988.

SZIGETI, Z.; RÁCZ, I.; LÁSZTITY, D. Paraquat resistance of weeds-the case of *Conyza canadensis* (L.) Cronq. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 56, n. 5-6, p. 319-328, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017.

- TAKANO, H.K. et al. Goosegrass resistant to glyphosate in Brazil. **Planta Daninha**, v. 35, p. 2-9, 2017.
- TIAN, S.; et al. Plant aquaporin AtPIP1; 4 links apoplastic H₂O₂ induction to disease immunity pathways. **Plant physiology**, v. 171, n. 3, p. 1635-1650, 2016.
- TREMMELE, D. C.; PETERSON, K. M. Competitive subordination of a Piedmont old field successional dominant by an introduced species. **American Journal of Botany**, v. 70, n. 8, p. 1125-1132, 1983.
- TSUJI, K. et al. Resistance to paraquat in *Mazus pumilus*. **Weed Research**, v. 53, n. 3, p. 176-182, 2013.
- TURCSÁNYI, E. et al. Superoxide dismutase activity in response to paraquat resistance in *Conyza canadensis* (L.) Cronq. **Journal of plant physiology**, v. 144, n. 4-5, p. 599-606, 1994.
- TURCSÁNYI, E.; et al. The Activity of Oxyradical-Detoxifying Enzymes Is Not Correlated with Paraquat Resistance in *Conyza canadensis* (L.) Cronq. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 60, n. 1, p. 1-11, 1998.
- URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**, v. 189, n. 1-2, p. 41-54, 2003.
- USDA. World Soybean Supply & Use. **World Agricultural Supply and Demand Estimates**. Online. Disponível em: <https://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/wasde0519.pdf>. Acesso em: 08 mai. 2019.
- 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. In: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Passo Fundo: Berthier, 2009. cap. 1, p. 9-36.
- VARGAS, L. et al., Buva (*Conyza bonariensis*) resistente ao glyphosate na região sul do Brasil. **Planta Daninha**, v. 25, n. 3, p. 573-578, 2007.
- VARTAK, V.; BHARGAVA, S. Photosynthetic performance and antioxidant metabolism in a paraquat-resistant mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* L. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 64, n. 1, p. 9-15, 1999.
- VAUGHN, K. C.; DUKE, S. O. Ultrastructural alterations to chloroplasts in triazine-resistant weed biotypes. **Physiologia Plantarum**, v. 62, n. 4, p. 510-520, 1984.
- VAUGHN, K. C.; FUERST, E. P. Structural and physiological studies of paraquat-resistant *Conyza*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 24, n. 1, p. 86-94, 1985.

VIDAL, R. A.; FLECK, N. G. Análise do risco da ocorrência de biótipos de plantas daninhas resistentes aos herbicidas. **Planta Daninha**, v. 15, n. 2, p. 152-161, 1997.

WU, H. WALKER, S. Fleabane biology and control. *In*: Fleabane. **Proceedings of a workshop held at DPI&F**. Toowoomba, Australia: CRC for Australian Weed Management, 2004.

YAMASHITA, O. M.; GUIMARÃES, S. C. Biologia e resistência a herbicidas de espécies do gênero *Conyza*. **Ambiência**, v. 7, n. 2, p. 383-398, 2011.

YE, B.; GRESSEL, J. Transient, oxidant-induced antioxidant transcript and enzyme levels correlate with greater oxidant-resistance in paraquat-resistant *Conyza bonariensis*. **Planta**, v. 211, n. 1, p. 50-61, 2000.

YU, Q. et al. Distinct non-target site mechanisms endow resistance to glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides in multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum*. **Planta**, v. 230, n. 4, p. 713-723, 2009.

ZHANG, J. et al. Photosynthetic performance of soybean plants to water deficit under high and low light intensity. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 279-287, 2016.

ZINZOLKER, A. et al. Effects of environmental factors on the germination and flowering of *Conyza albida*, *C. bonariensis* and *C. canadensis*. **Phytoparasitica**, v. 13, n. 3/4, p. 229-230, 1985.

ZOBIOLE, L. H. S. et al. Paraquat Resistance of Sumatran Fleabane (*Conyza sumatrensis*). **Planta Daninha**, v. 37, 2019.