



HRAC-BR

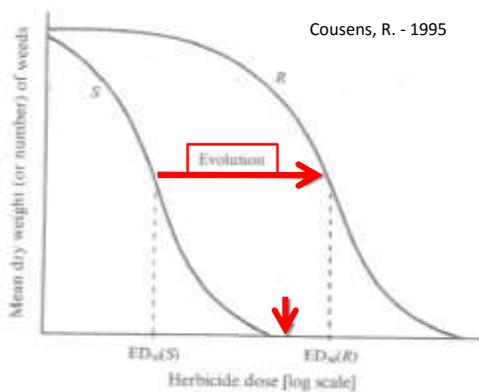


## Metodologias Científicas e Detecção de Plantas Daninhas Resistentes a Herbicidas

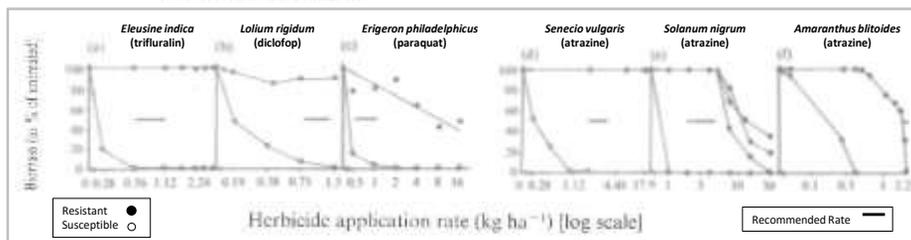
II Workshop HRAC-BR / XXVIII CBCPD  
Setembro, 03 / 2012  
Campo Grande, MS

Eng. Agr. Ramiro Lopez Ovejero  
Vice-Presidente HRAC-BR ([www.hrac-br.com.br](http://www.hrac-br.com.br))  
[ramiro.f.ovejero@monsanto.com](mailto:ramiro.f.ovejero@monsanto.com)

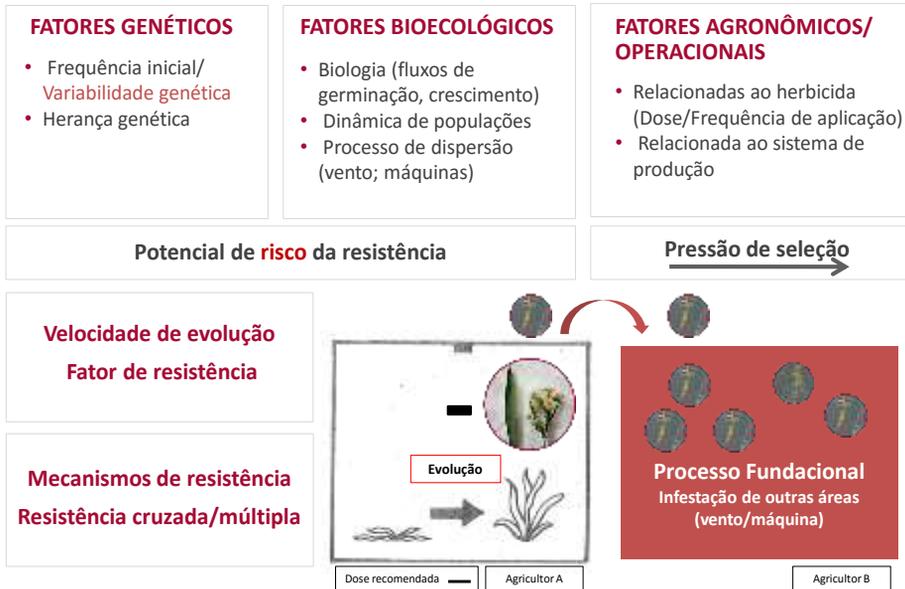
### A evolução da resistência de plantas daninhas a herbicidas



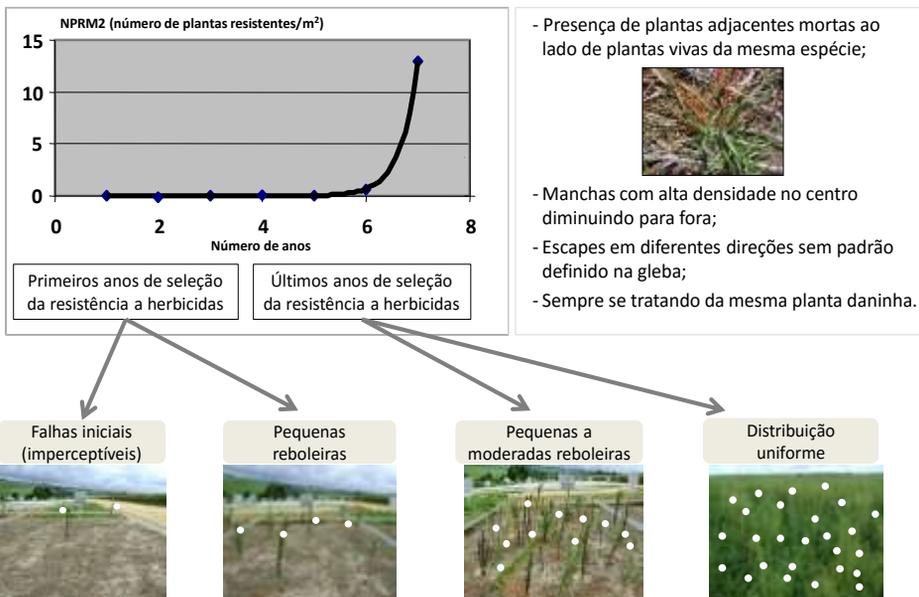
**Objetivo:** Existem diferenças na suscetibilidade entre as populações da mesma espécie?



## Principais fatores que interferem na evolução da resistência de plantas daninhas a herbicidas

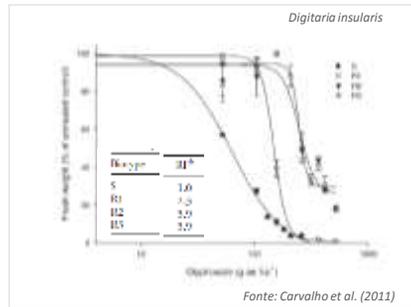
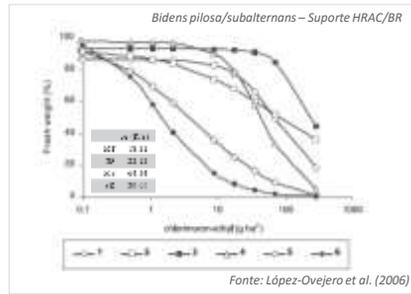


## Evolução da resistência de plantas daninhas a herbicidas



## Casos de resistência de plantas daninhas no Brasil

| Espécie                                        | MOAs           | FR R/S                                                                                            |
|------------------------------------------------|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Bidens pilosa</i> (picão-preto)             | ALS            | 40 a 174<br>Christoffoleti et al (2002)                                                           |
| <i>Bidens subalternans</i> (picão-preto)       | ALS            | 22 a 86<br>Gelmini et al (2002)                                                                   |
| <i>Euphorbia heterophylla</i> (amendoim-bravo) | ALS            | 7 a 12/50 a 91/19 a 27<br>Gazziero et al. (1998)<br>Vargas et al. (1999)<br>Gelmini et al. (2001) |
| <i>Euphorbia heterophylla</i> (amendoim-bravo) | ALS/<br>PROTOX | 15 a 24 /39 a 62<br>Trezzi et al. (2005)<br>1,4 a 2,1<br>Trezzi et al. (2009)                     |
| <i>Bracharia plantaginea</i> (capim-marmelada) | ACCCase        | 2,0 a 16/1,4 a 100<br>Gazziero et al. (2000)<br>Christoffoleti (2001)                             |
| <i>Digitaria ciliaris</i> (capim-colchão)      | ACCCase        | 5,5 a 33,0<br>López-Ovejero et al (2006)                                                          |
| <i>Eleusine indica</i> (capim-pé-de-galinha)   | ACCCase        | 18,4<br>Vidal et al (2006)                                                                        |
| <i>Cyniza spp</i> (Buva)                       | EPSPs          | 2,3/5,45/7 a 14<br>Lamego & Vidal (2008)<br>Adegas et al., (2009)<br>Moreira et al., (2007)       |
| <i>Digitaria insularis</i> (capim-amargoso)    | EPSPs          | 6,5/2 a 4/3,4 a 5,0<br>Nicolai et al., (2010); Carvalho, (2011)<br>Melo (2011)                    |
| <i>Lolium multiflorum</i> (azevém)             | EPSPs          | 3,0/16,8<br>Ribeiro (2008)<br>Vargas et al. (2005)                                                |



## Casos de resistência de plantas daninhas no Brasil

| Espécie                                        | MOAs           | Mecanismo                                                                          | Fitness                               |
|------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| <i>Bidens pilosa</i> (picão-preto)             | ALS            | Local de ação<br>Monquero et al (2003)                                             | Similar<br>Christoffoleti (2001)      |
| <i>Bidens subalternans</i> (picão-preto)       | ALS            | -                                                                                  | -                                     |
| <i>Euphorbia heterophylla</i> (amendoim-bravo) | ALS            | Local de ação<br>Vargas et al. (1999)                                              | Similar<br>Vargas et al. (1999)       |
| <i>Euphorbia heterophylla</i> (amendoim-bravo) | ALS/<br>PROTOX | Absorção do protox<br>Trezzi et al. (2009)                                         | Similar<br>Trezzi et al. (2009)       |
| <i>Bracharia plantaginea</i> (capim-marmelada) | ACCCase        | Local de ação<br>Cortez (2000)                                                     | -                                     |
| <i>Digitaria ciliaris</i> (capim-colchão)      | ACCCase        | -                                                                                  | Similar<br>López-Ovejero et al (2006) |
| <i>Eleusine indica</i> (capim-pé-de-galinha)   | ACCCase        | Local de ação<br>Gouliart et al. (2006)                                            | -                                     |
| <i>Cyniza spp</i> (Buva)                       | EPSPs          | Menor translocação<br>Ferreira et al. (2008)<br>Outros<br>Cardinalli et al. (2010) | Menor<br>Moreira (2007)               |
| <i>Digitaria insularis</i> (capim-amargoso)    | EPSPs          | Menor translocação<br>Carvalho (2011)<br>Outros<br>Carvalho (2011)                 | Menor (MS)<br>Melo (2011)             |
| <i>Lolium multiflorum</i> (azevém)             | EPSPs          | Menor translocação<br>Ferreira et al. (2006)<br>Outros<br>Ribeiro (2008)           | Menor<br>Vargas et al. (2005)         |



**Alto nível de resistência/No local de ação**  
Plantas com poucos sintomas ou sem sintomas, com poucas plantas com respostas intermediárias. Plantas sensíveis podem estar presentes na população.



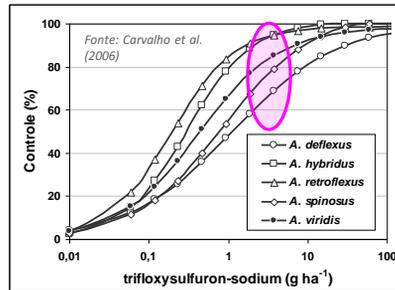
**Baixo nível de resistência/Fora do local de ação**  
Plantas com poucos sintomas a mortas, sendo que a maior parte delas exibem respostas intermediárias. Plantas suscetíveis estão presente na população (resistência detectada no início).

**CURVAS DOSE-RESPOSTA**

## Identificação da espécie de planta daninha



Planta herborizada: flores, folhas, frutos e sistema radicular.



Sensibilidade das diferentes espécies ao herbicida



Aquênios de  
(A) *Bidens pilosa*  
(B) *Bidens subalternans*

- Picão-preto? (Suporte HRAC-BR)
- *Conyza*?

- Resistência, Tolerância, plantas de difícil controle?
- Qual é a dose para cada espécie?
- Essas doses estão registradas no rótulo do produto?

## Procedimento de coleta de sementes para estudos

- **Coletar** de forma aleatória sementes em quantidade e qualidade adequadas das plantas oriundas de escapes/reboleiras (plantas que sobreviveram a aplicação do herbicida)
- **Qualidade:**
  - Sementes maduras (na sua maioria) – conforme espécie;
  - Após colheita beneficiar as semente e guardar em condições adequadas (longevidade, dormência etc.)
- **Quantidade:**
  - Coletar apenas sementes;
  - Espécies com elevada x baixa produção de sementes (pelo menos 1000 sementes);
  - Área: 100 x 50 m na reboleira.
- **Registrar** as informações e etiquetar devidamente as amostras coletadas;
- **Coleta do banco de sementes** – problemas devido a coleta dos biótipos suscetíveis e outras espécies.



Foto: Ovejero (2003)



*Digitaria insularis* (Glifosato)  
- Não coletar

*Digitaria insularis* (Glifosato)  
- Coletar



Fotos: Melo (2012)

## Populações de referência para realizar os estudos

### – Padrão Suscetível (S):

- Pelo menos duas populações reconhecidamente suscetíveis;
- Podem ser coletadas de áreas nunca tratadas com o herbicida ou comprar de empresas produtoras;
- A inclusão de populações S apropriadas é fundamental; as mesmas devem representar a variabilidade de todas as populações da mesma espécie;
- A variabilidade natural dentro das populações podem afetar os resultados.

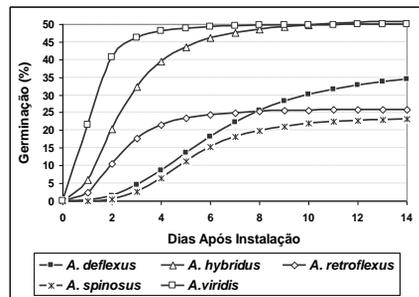
### – Padrão Resistente (R): Reconhecidamente resistente após varias gerações (consolidada).



## Entender a biologia da planta daninha



Sistema radicular de *D. insularis* aos 45 DAE.  
A – Visão Geral; B – Detalhe dos rizomas formados.



Germinação de cinco espécies de *Amaranthus* (8h – luz / 16h – escuro e 25°C). Piracicaba – SP, 2005. Carvalho (2006).

- Cada espécie tem suas necessidades específicas de crescimento e desenvolvimento (instalar os ensaios na melhor época);
- Assegurar que as parcelas contenham plantas vigorosas em quantidades mínimas e com o mesmo número por vaso;
- Irrigação adequada – subsuperfície ou automática por aspersão.

## Herbicidas e Doses

- **Doses:** é necessário alcançar 100% de controle para as suas populações R e S. Utilizar pelo menos 8 doses para cada população. Exemplo:

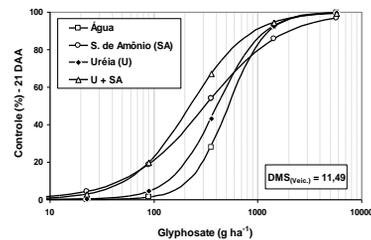
População S: 0; 1/16x; 1/4x; 1/2x; 1x; 2x; 4x; 16x

População R: 0; 1/2x; 1x; 2x; 4x; 16x; 32x; 64x

- **Dose (1x):** A dose recomendada de bula conforme momento de aplicação (80% ? > 99%).

- Intervalo utilizar a dose para atingir 99% de controle da população susceptível.

- **Repetibilidade:** repetir o ensaio pelo menos duas vezes;



Controle do capim-amargoso com glyphosate, utilizando como veículo água pura, solução de sulfato de amônio - SA (15 g L<sup>-1</sup>), uréia - U (5 g L<sup>-1</sup>) e solução de U + SA (2,5 + 7,5 g L<sup>-1</sup>). Piracicaba - SP, Carvalho, 2008

- **Outros:**

- Quando necessário adicionar o **adjuvante** (óleo, espalhante) específico para cada herbicida;
- **Volume de aplicação;**
- Observar todos os **fatores de funcionamento** do herbicida de acordo com a textura do solo (herbicidas PRE) e condição de crescimento vigoroso das plantas (herbicidas POS);
- Herbicidas sistêmicos ou contato.

## Momento de aplicação

- Momento de aplicação → Use o momento descrito na bula: altura (cm) ou estágio de crescimento (da folha ou perfilhos) – ALS e ACCase
- *Euphorbia* e *Bidens*: 2 a 4 folhas;
- *Brachiaria* e *Digitaria*: 2 folhas a 2 perfilhos.

### *Euphorbia heterophylla* (ALS – imazethapyr)

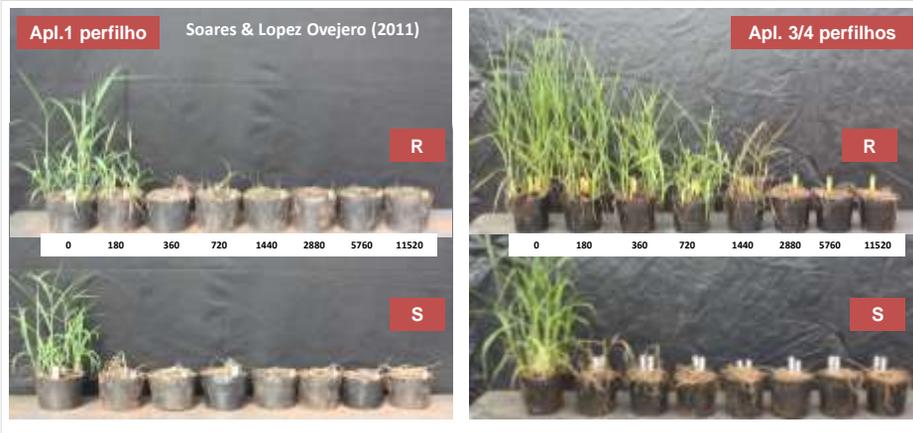
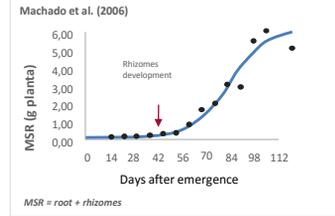
| Nome comercial     | Formulação    | C   | Dose                       |
|--------------------|---------------|-----|----------------------------|
| Pivot              | Conc. Solúvel | 100 | 1,0 (100)                  |
| Imazethapyr Nortox | Conc. Solúvel | 100 | 1,0 (100)                  |
| Vezir              | Conc. Solúvel | 100 | 1,0 (100)                  |
| Dinamaz            | WG            | 700 | 0,140 (100) + adj. (0,25%) |



- **Glifosato (pré ou pós plantio):** Depende do estágio de desenvolvimento da planta infestante – menores doses para a fase inicial de desenvolvimento; maiores doses para a fase adulta ou perenizada. A dose deveria estar correlacionada com o tamanho da planta daninha. As formulações de pós-plantio estão mais organizadas neste sentido.

| Nome comercial      | Sal            | C   | Dose rotulo (l/ha; eq. ac.) |            |
|---------------------|----------------|-----|-----------------------------|------------|
| Roundup Original    | Isopropilamina | 360 | 1,5 to 4,0                  | 540 a 1440 |
| Roundup WG          | Amônio         | 720 | 1,5                         | 1080       |
| Roundup Transorb    | Isopropilamina | 480 | 2,0 to 4,5                  | 960 a 2160 |
| Roundup Ultra       | Amônio         | 650 | 0,5 to 2,5                  | 325 a 1625 |
| Roundup Transorb R  | Potássio       | 480 | 1,0 to 3,0                  | 480 a 1440 |
| Roundup Ready       | Isopropilamina | 480 | -                           | -          |
| Roundup Ready Milho | Isopropilamina | 480 | -                           | -          |

**Digitaria insularis (Glifosato)**



**Avaliações e estatística**

- Controle visual (%): escala de 0 (sem sintomas) a 100% (planta morta) a 2, 3, 4 e 5 semanas após aplicação dos tratamentos (*rebrotas*);
- Peso fresco e seco: cortar as plantas acima do solo para fazer as avaliações;
- Métodos estatísticos apropriados devem ser utilizados para que as conclusões sejam seguras;
- Aplicação do Teste 'F' e Regressões (Log-logística).

Streibig, 1988

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

Versão que intercepta x - Dados de Controle e Massa

Seefeld et al., 1995

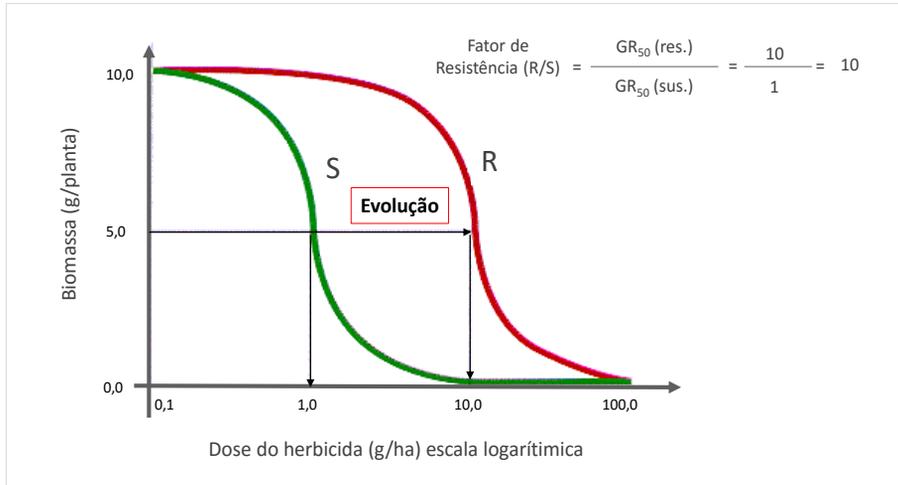
$$y = P_{\min} + \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c}$$

Versão que não intercepta x - Dados de Massa (Fresca ou Seca)

y = variável resposta;  
 x = dose do herbicida (g ia. ha<sup>-1</sup>)  
 P<sub>min</sub> = ponto mínimo da curva

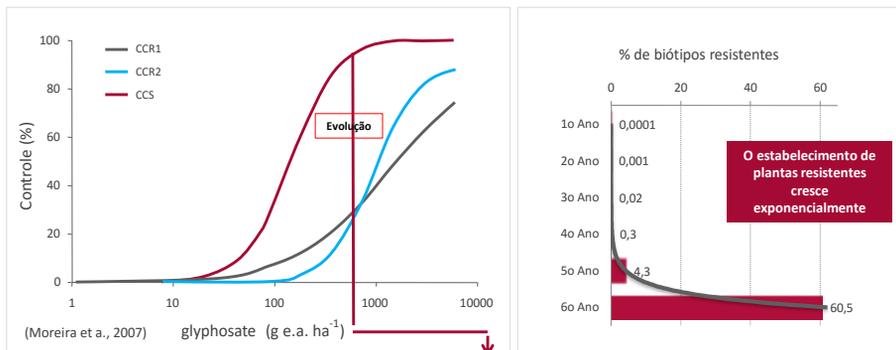
a = P<sub>max</sub> - P<sub>min</sub> (amplitude)  
 b = dose p/ 50% de resposta  
 c = declividade da curva

### CURVA DE DOSE-RESPOSTA PARA POPULAÇÃO SUSCEPTÍVEL (S) E RESISTENTE (R) – PESO FRESCO OU SECO



Discriminação entre populações R e S utilizando o GR50's (Curvas de dose-resposta)

### CURVA DE DOSE-RESPOSTA PARA POPULAÇÃO SUSCEPTÍVEL (S) E RESISTENTE (R) – CONTROLE VISUAL (%)



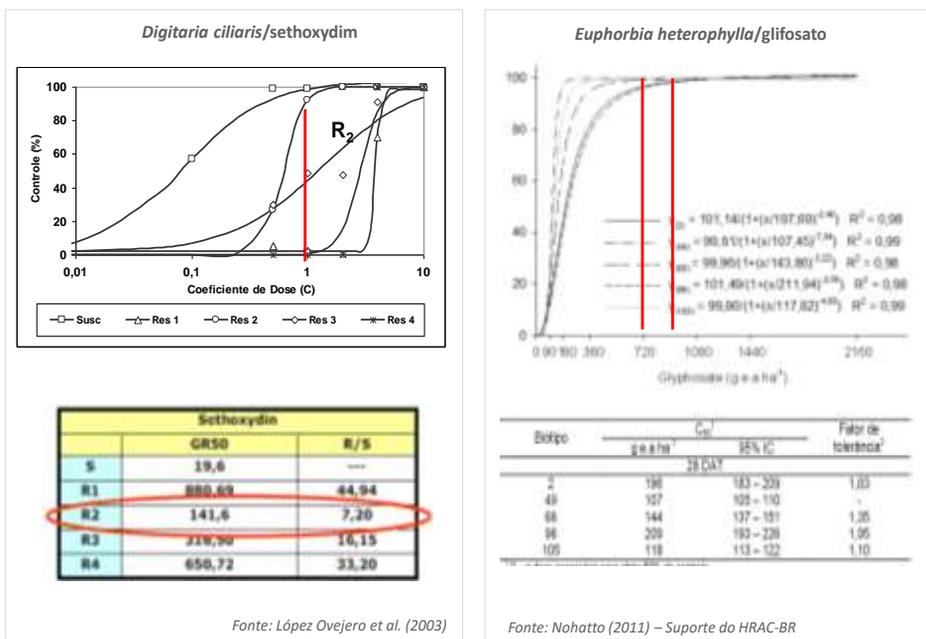
720 g eq ac. (dose com 99% de controle da população S)



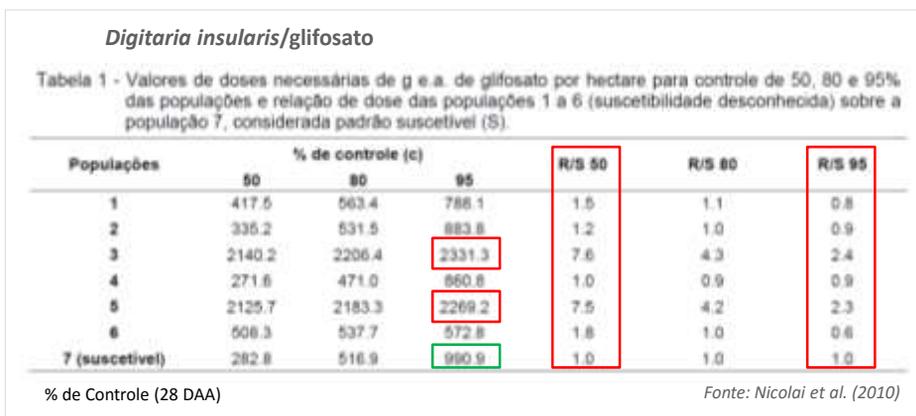
Discriminação entre populações R e S utilizando o C50's (Curvas de dose-resposta)



## Curvas de dose-resposta dos herbicidas



## Curvas de dose-resposta dos herbicidas - Resultados



Sempre devemos ter estudos de laboratório e campo para definir os resultados e impacto da resistência de plantas daninhas

## Principais métodos de caracterização da resistência de plantas daninhas a herbicidas (Modificado de Carvalho; Christoffoleti; Lopez Ovejero; 2009)

| Finalidade                                                                                                                | Descrição                                  | Observações/limitações                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Sementes coletadas no final da safra – Planejar a próxima safra com o conhecimento da real situação de resistência</b> |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Curvas de dose-resposta                                                                                                   | Casa-de-vegetação ou câmara de crescimento | -Utilizado para todos os grupos de herbicidas e plantas daninhas;<br>-Fácil de adotar (não precisa de equipamentos);<br>-Permite conhecer os diferentes graus de resistência;<br>-Para todos os mecanismos de resistência;<br>-Limitada a condições controladas;<br>-Tempo necessário para obter os resultados (meses). |

## Seedlings/Placas de Petri

- Sementes são germinadas na presença de uma solução diluída do herbicida e o desenvolvimento subsequente é avaliado.

*Lolium multiflorum*

Fonte: Ribeiro (2008)

Tabela 2.1 - Parâmetros do modelo de regressão não-linear log-logístico<sup>2</sup> com seus respectivos desvios padrões, coeficiente de determinação ( $R^2$ ), redução de 50% de desenvolvimento ( $GR_{50}$ ) e fator de resistência ( $FR$ ) obtidos no teste de dose-resposta em placa de Petri

| Biótipos | Parâmetros                |                            |                          |       |                                      |       |
|----------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|-------|--------------------------------------|-------|
|          | a                         | b                          | c                        | $R^2$ | $GR_{50}$ (mg e.a. L <sup>-1</sup> ) | FR    |
| VA       | 0,00 (48,48)              | 89,23 <sup>*</sup> (3,17)  | 1,69 (0,87)              | 0,71  | 183,41 (133,00)                      | 27,46 |
| SM       | 4,83 <sup>*</sup> (1,22)  | 90,46 <sup>*</sup> (1,41)  | 1,12 <sup>*</sup> (0,09) | 0,98  | 6,68 <sup>*</sup> (0,37)             |       |
| BR       | 13,19 (12,94)             | 98,36 <sup>*</sup> (5,12)  | 1,31 <sup>*</sup> (0,45) | 0,94  | 55,12 <sup>*</sup> (17,77)           | 6,09  |
| SBR      | 0,17 (2,90)               | 100,06 <sup>*</sup> (3,93) | 1,37 <sup>*</sup> (0,21) | 0,98  | 9,05 <sup>*</sup> (0,99)             |       |
| C        | 42,77 <sup>*</sup> (2,78) | 93,22 <sup>*</sup> (1,21)  | 9,59 (20,51)             | 0,89  | 115,90 <sup>*</sup> (37,65)          | 31,41 |
| SR       | 0,00 (3,97)               | 99,90 <sup>*</sup> (2,14)  | 0,67 <sup>*</sup> (0,13) | 0,96  | 3,69 <sup>*</sup> (0,51)             |       |



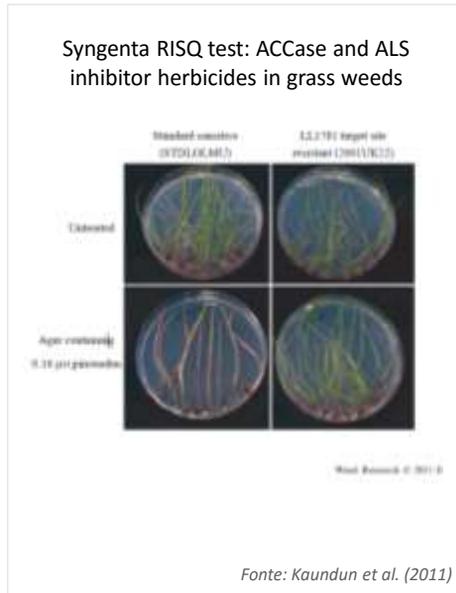
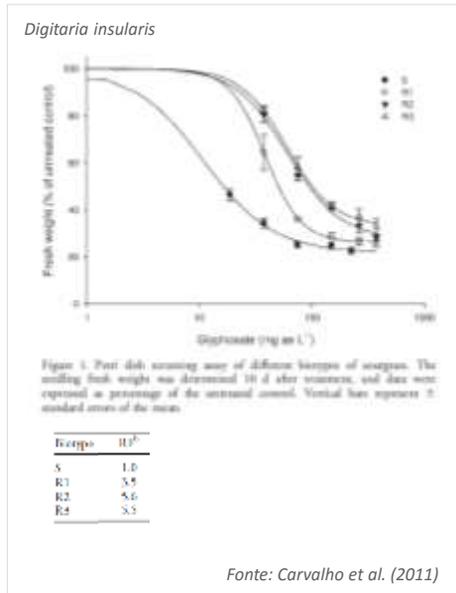
*Bidens spp.*

Fonte: Carvalho et al. (2004)

Tabela 2. Comprimento médio radicular (cm) de quatro biótipos de picão-preto, um suscetível e três resistentes aos herbicidas inibidores da ALS, após germinação em água, solução de imazaquin e solução de metribuzin.

| Biótipos     | Soluções  |            |            |
|--------------|-----------|------------|------------|
|              | água      | imazaquin  | metribuzin |
| Suscetível   | 2,355 A a | 0,820 B b  | 1,370 B a  |
| Resistente 1 | 1,960 A a | 1,923 A a  | 1,097 B a  |
| Resistente 2 | 2,700 A a | 1,835 B a  | 1,575 B a  |
| Resistente 3 | 2,450 A a | 1,750 AB a | 1,730 B a  |

## Seedlings/Placas de Petri



### Principais métodos de caracterização da resistência de plantas daninhas a herbicidas (Modificado de Carvalho; Christoffoleti; Lopez Ovejero; 2009)

| Finalidade                                                                                                                | Descrição                                  | Observações/limitações                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Sementes coletadas no final da safra – Planejar a próxima safra com o conhecimento da real situação de resistência</b> |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Curvas de dose-resposta                                                                                                   | Casa-de-vegetação ou câmara de crescimento | -Utilizado para todos os grupos de herbicidas e plantas daninhas;<br>-Fácil de adotar (não precisa de equipamentos);<br>-Permite conhecer os diferentes graus de resistência;<br>-Para todos os mecanismos de resistência;<br>-Limitada a condições controladas;<br>-Tempo necessário para obter os resultados (meses). |
| Seedling/Placas de petri                                                                                                  | Câmara de germinação                       | - Herbicidas que tem potencial de inibir a germinação;<br>- Baratos e resultados mais rápidos que testes em potes (10 a 14 dias);<br>- Não são adequados para todas as espécies de plantas daninhas e herbicidas.                                                                                                       |

## SYNGENTA QUICK-TEST (QT)



Coleta das plantas (50 plantas)



Cortes (2 cm de parte aérea e 0,5 cm de raiz)



Aplicação (5 a 7 cm)

Fonte: Boutsalis (2001)

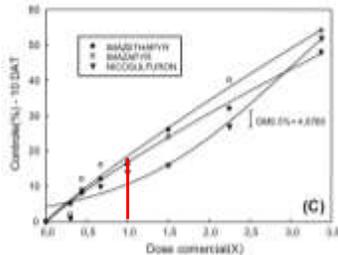
- Plantas daninhas:
  - Gramíneas (2 ou 3 perfilhos);
  - Flexível quanto ao estágio da planta daninha (perfilhada a florescimento);
  - Dicotiledôneas: capacidade de recuperação varia de espécie para espécie e o tamanho das raízes e caule (*Bidens*, *Amaranthus*, *Raphanus*, *Polygonum*)
  - 25 a 40 dias para obter os resultados;
  - Não apresenta biótipos suscetíveis.

## TESTE RÁPIDO DE IMERSÃO FOLIAR (UFRGS Super-Quick Test)

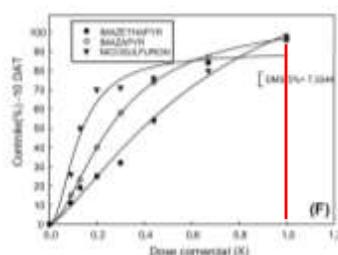
- Coleta cuidadosa de plântulas de EPHHL no campo e a aplicação do método em laboratório, com a utilização de concentrações discriminatórias de biótipos R e S.

*Euphorbia heterophylla*

Fonte: Trezzi et al (2011)



Controle dos biótipo resistente aos 10 dias após imersão



Controle dos biótipo suscetível aos 10 dias após imersão

- Plântulas retiradas do substrato (raízes lavadas e armazenadas em frasco com água destilada por no máximo duas horas);
- Imersão por 2 segundos da parte aérea de plântulas no estágio de duas folhas verdadeiras na solução herbicida; transferidas para frascos e mantidos em câmara de crescimento (Laboratório);
- Dose comercial altamente discriminadora (ALS: imazapyr, imazethapyr, nicosulfuron; PROTOX: fomesafen, lactofen e carfentrazone);
- Sintomas: 4 a 10 dias para ALS e 1 dia para PROTOX em plantas suscetíveis (até 10 dias).
- Portes (2005)/Vidal et al. (2005): ALS e ACCase.

## Coletas de plântulas no campo (F abc/Esalq)

- Coleta de plântulas (picão preto) no campo e fazer o transplante em vasos, após recuperação aplicar as doses dos herbicidas suspeitos (1x e 2x).

Picão Preto – Pirai do Sul (02/03)

Fonte: Penckowski; Podolan; Ovejero (2003)



Chlorimuron (100 g/ha)

Testemunha



Fomesafen/Bentazon (0,6/0,8 l/ha)

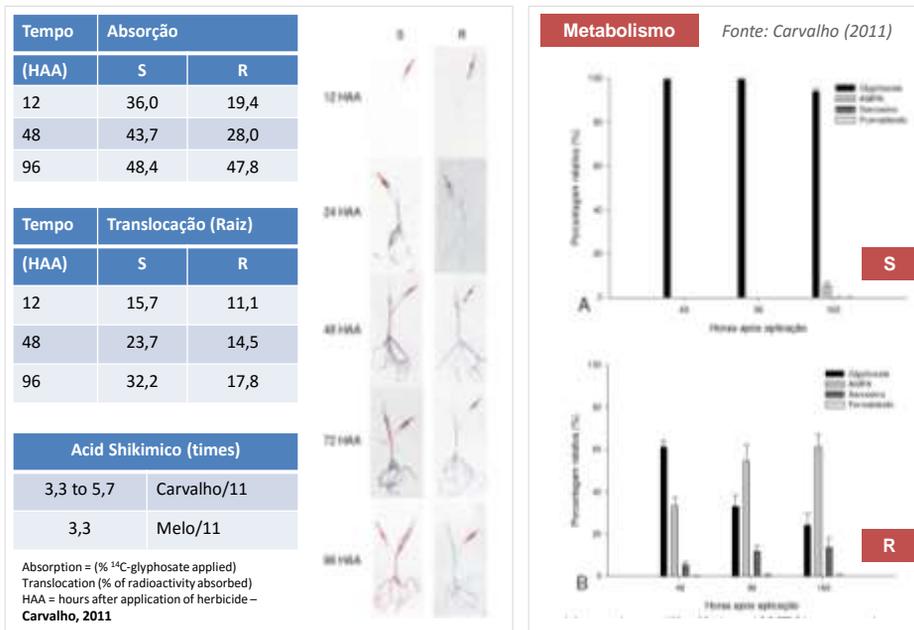
Testemunha

- Após coleta realizar o manejo alternativo conforme histórico da área e da região;
- Teste para confirmação da resistência;
- Sintomas: 25 a 30 dias.

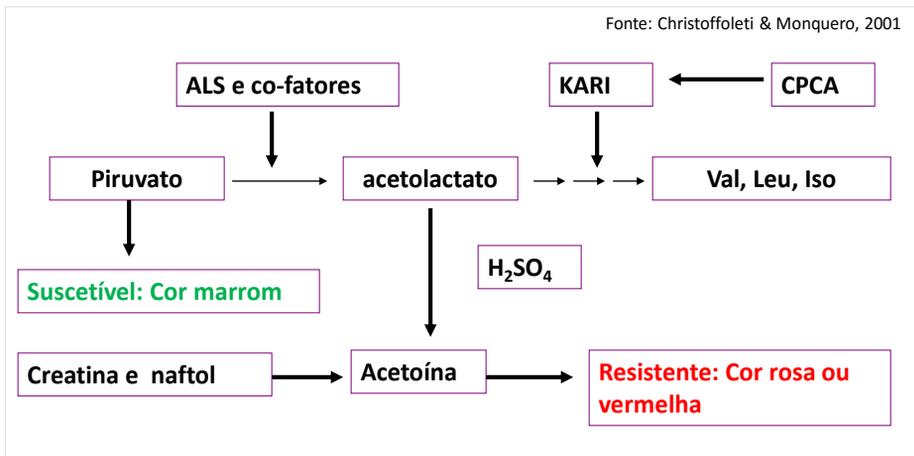
## Principais métodos de caracterização da resistência de plantas daninhas a herbicidas (Modificado de Carvalho; Christoffoleti; Lopez Ovejero, 2009)

| Finalidade                                                                                                                | Descrição                                  | Observações/limitações                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Sementes coletadas no final da safra – Planejar a próxima safra com o conhecimento da real situação de resistência</b> |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Curvas de dose-resposta                                                                                                   | Casa-de-vegetação ou câmara de crescimento | -Utilizado para todos os grupos de herbicidas e plantas daninhas;<br>-Fácil de adotar (não precisa de equipamentos);<br>-Permite conhecer os diferentes graus de resistência;<br>-Para todos os mecanismos de resistência;<br>-Limitada a condições controladas;<br>-Tempo necessário para obter os resultados (meses). |
| Seedling/Placas de petri                                                                                                  | Câmara de germinação                       | - Herbicidas que tem potencial de inibir a germinação;<br>- Baratos e resultados mais rápidos que testes em potes (10 a 14 dias);<br>- Não são adequados para todas as espécies de plantas daninhas e herbicidas.                                                                                                       |
| <b>Plântulas – Evitar que as infestantes formem sementes e a mato-competição com a cultura</b>                            |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Parte aérea das plantas                                                                                                   | Transplante em condições controladas       | - Testes rápidos - “quick test” – 10 dias a 4 semanas<br>- Custo baixo;<br>- Podem ser realizados durante a safra;<br>- Para herbicidas pós-emergentes;<br>- Fácil de adotar (não precisa de equipamentos);<br>- Para todos os mecanismos de resistência.                                                               |
| <b>Populações no campo – Confirmação, impacto e sugestão de manejo alternativo</b>                                        |                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Testes de eficácia de herbicidas                                                                                          | Campo                                      | - Comparação de tratamentos do herbicida com suspeita de resistência em diferentes doses e herbicidas alternativos;<br>- População suscetível;<br>- Testes necessários para confirmar a importância agrônômica da resistência.                                                                                          |

## Absorção, translocação, shikimato e metabolismo (DIGIN)



## Bioensaio de determinação da sensibilidade da ALS a herbicidas inibidores desta enzima



O ácido ciclopropanodicarboxílico (CPCA) é usado para inibir a cetoácido reductoisomerase (KARI).

# Atividade da ALS

Fonte: Oliveira et al, 2002

- **Objetivo:**

- Avaliar o efeito do herbicida imazaquin na atividade da ALS extraída das plantas de *Euphorbia heterophylla* resistentes e suscetíveis ao produto;
- Atividade da ALS extraída das folhas das plantas (21 dias) foi determinada na presença de doses de imazaquin (Protocolo Wright & Penner, 1998).
- $I_{50}$  = Concentração de imazaquin necessária para inibir 50% da atividade da ALS (uM)

- **Resultados:**

- Biótipos (RS):  $I_{50}$  = 1961,3 (R); e  $I_{50}$  = 13, 8 (S);
- Biótipos (PR e MG-Viçosa):  $I_{50}$  = >5000 (R);  $I_{50}$  = > 1000 (S);
- Biótipos (MG-Sete Lagoas):  $I_{50}$  = 12,2
- A medida in vitro da atividade da ALS é um método sensível para determinação da presença de biótipos resistentes à ação do herbicida imazaquin

## Principais métodos de caracterização da resistência de plantas daninhas a herbicidas (Modificado de Carvalho; Christoffoleti; Lopez Ovejero; 2009)

| Finalidade                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Descrição                                                                                                                                                    | Observações/limitações                                                                                           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Absorção e translocação (sementes ou plântulas)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                              |                                                                                                                  |
| Absorção diferencial                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Lavagem das folhas após aplicação e medida da quantidade de herbicida retido pela planta x quantidade lavada.                                                | - Utilização de produtos radiativos, avaliado através da lavagem do produto da superfície foliar após aplicação. |
| Translocação diferencial                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Segmentação das principais partes da planta e medida da concentração do herbicida na parte aplicada da planta x demais partes                                | - Análise da radioatividade do herbicida translocado nos diferentes segmentos da planta.                         |
| <b>Metabolismo e Metodos através da extração de DNA (sementes ou plântulas)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                              |                                                                                                                  |
| Metabolismo diferencial                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Análise dos metabólitos e produto original, normalmente analisado por HPLC (estudos radioativos ou outros)                                                   | - O método deve estar baseado em conhecimentos dos processos metabólicos envolvidos na degradação do herbicida.  |
| Atividade enzimática                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Teste 'in vitro' envolvendo a enzima das plantas resistentes e suscetíveis. Afinidade do herbicida ao sítio de ação/eficiência na inibição do sítio de ação. | - Acúmulo de substratos que antecede a reação enzimática inibida, exigindo protocolos bioquímicos.               |
| Outros                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Transpiração e fotossíntese; Acumulação de Shikimato; Metodos para medir o shikimato; Extração de anaize de o DNA                                            |                                                                                                                  |
| <b>Vantagens e desvantagens</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                              |                                                                                                                  |
| Tempo necessário: alguns horas, dias a várias semanas; Podem ser realizados durante a safra; Difícil de adotar: Metodologias laboratoriais sofisticadas e equipamentos de leitura espectométrica e pessoas especializadas; Reagentes caros; Conforme plantas daninha e mecanismos de resistência; Resultados simples (afirmativo ou negativo). |                                                                                                                                                              |                                                                                                                  |

## Metodologias científicas para detecção da resistência de plantas daninhas

- Testes confiáveis para confirmar a resistência de plantas daninhas são um pré-requisito essencial para a implementação de estratégias efetivas de manejo integrado;
  - Teste ideal: rápido, acurado, barato e prontamente disponível;
  - Locais dos testes:
    - Campo
    - Casa-de-vegetação
    - Laboratório
- 
- Medidas na área com falhas
    - Coleta de sementes e plantas para confirmar a resistência;
    - Parcela com a finalidade de coleta de sementes;
    - Posteriormente controlar o restante da população de plantas daninhas (Catação).