

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

RAFAELA CINELLI

**RESISTÊNCIA DE BUVA AOS HERBICIDAS AUXINICOS:
IDENTIFICAÇÃO DOS BIÓTIPOS, CARACTERIZAÇÃO DO
MECANISMO DE RESISTÊNCIA E CONTROLE ALTERNATIVO**

PATO BRANCO

2023

RAFAELA CINELLI

**RESISTÊNCIA DE BUVA AOS HERBICIDAS AUXINICOS:
IDENTIFICAÇÃO DOS BIÓTIPOS, CARACTERIZAÇÃO DO
MECANISMO DE RESISTÊNCIA E CONTROLE ALTERNATIVO**

**Cross-resistance of Conyza spp. to auxinic herbicides: Biotype Identification,
mechanism of resistance characterization and alternative control**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de
Concentração: Produção Vegetal da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador: Anderson Luis Nunes
Coorientador Michelangelo Muzell Trezzi

PATO BRANCO

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

Dedico este trabalho aos meus pais, Aldir Luiz Cinelli e Joceli Maria

Lanzarin Cinelli.

As minhas primas Isis Antônia, Isabelle e Joana.

Ao meu namorado Andrei Sauthier Barbieri.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Pato Branco



RAFAELA CINELLI

RESISTÊNCIA DE BUVA AOS HERBICIDAS AUXINIÇOS: IDENTIFICAÇÃO DOS BIÓTIPOS, CARACTERIZAÇÃO DO MECANISMO DE RESISTÊNCIA E CONTROLE ALTERNATIVO

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Produção Vegetal.

Data de aprovação: 31 de Março de 2023

Dr. Anderson Luis Nunes, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Aldo Merotto Junior, Doutorado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Ufrgs)

Dr. Mauro Antonio Rizzardi, Doutorado - Universidade de Passo Fundo (Upf)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 01/08/2023.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, Aldir e Joceli Cinelli por sempre me incentivarem a estudar e não medirem esforços para que atingisse mais esse objetivo.

As minhas primas Isis Antônia, Isabelle e Joana Lúcia por encherem meus dias de alegria e amor tornando cada obstáculo mais fácil de ser superado.

Ao meu namorado Andrei Barbieri por ser o maior incentivador de todos meus projetos, por toda paciência, amor, carinho e ajuda no decorrer dos anos.

Ao meu orientador, Anderson Luis Nunes, pela confiança, amizade, apoio e troca de conhecimentos durante toda a graduação e pós-graduação.

Aos membros do grupo GEMPLA, Leonardo Frosi, Júlia Loss Ribas, Felipe Bagnara e Ana Paula Hahn, pela amizade e toda ajuda na condução dos experimentos, sem vocês minha trajetória seria mais difícil.

Ao meu braço direito nessa trajetória Alisson Hans por não medir esforços para que esse trabalho fosse realizado.

Aos doutores Aldo Merotto e Mauro Rizzardi pelo aceite como membros examinadores da banca desta dissertação.

A todos professores e demais servidores da UTFPR Câmpus Pato Branco, pelo conhecimento repassado e por tornarem possível a realização desse sonho.

Ao IFRS pelo uso da estrutura de casa de vegetação, laboratórios e consumíveis.

A todos familiares e amigos que torceram por mim e que contribuíram de alguma maneira durante esse período.

A Capes, pela concessão de bolsa de mestrado.

Ao professor Dr. Michelangelo Trezzi pela coorientação e auxílio para que esse trabalho fosse realizado.

Ao Dr. Augusto Kalsing pela disponibilização de sementes dos biótipos utilizados nessa pesquisa.

“Nothing will work unless you do” - Maya Angelou

RESUMO

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas é um problema mundial e vem ganhando importância no Brasil nos últimos anos. Dentre as principais plantas daninhas com problema de resistência no Brasil pode-se citar a *Conyza* spp., que além de apresentar resistência a diferentes herbicidas, é competitiva e causa grandes danos econômicos. Os objetivos desse trabalho foram: identificar biótipos de buva resistente aos herbicidas auxínicos; verificar se a resistência dos mesmos ocorre através da metabolização mediada por enzimas do citocromo P450 monooxigenase; avaliar alternativas de controle químico para os biótipos resistentes. Para isso o estudo foi desenvolvido em três partes. A primeira consistiu em curvas dose resposta dos herbicidas 2,4-D, dicamba, triclopyr e flópirauxifen-benzil em seis biótipos. No experimento de dose resposta apenas o biótipo 206 foi suscetível aos quatro herbicidas testados, sendo utilizado como parâmetro de comparação com os demais. Os biótipos 17 e 194 atenderam a todos os critérios estabelecidos para caracterização de resistência para os quatro herbicidas testados, o que caracteriza resistência cruzada aos mesmos. Os biótipos 35 e 108 apenas ao 2,4-D, e o biótipo 28 ao 2,4-D e dicamba. A ocorrência de metabolização foi avaliada através de curvas dose resposta com a presença ou ausência do inseticida acephate, conhecido por inibir as enzimas do citocromo P450. Apenas o biótipo 28, na curva dose resposta de 2,4-D, demonstrou precisar de menores doses para controlar 50% da população na presença do acephate, indicando que a metabolização pode estar relacionada com a resistência nesse biótipo. Apesar de apresentar diferença, o biótipo continuou atendendo os critérios para ser considerado resistente mesmo na presença do acephate. A terceira parte consistiu em três experimentos para definir controles alternativos para os biótipos resistentes, sendo o primeiro composto por diferentes misturas de glufosinate com herbicidas inibidores da PROTOX; o segundo aplicação de 2,4-D seguida por diferentes sequenciais 10 dias após a primeira aplicação; e o terceiro um experimento bifatorial sendo o Fator A diferentes herbicidas auxínicos e o Fator B a presença ou não da aplicação sequencial com glufosinate. Nos experimentos de controle alternativo, todas as misturas de glufosinate com herbicidas inibidores da PROTOX foram eficientes no controle dos biótipos resistentes, assim como a aplicação sequencial de glufosinate 10 dias após a aplicação dos herbicidas auxínicos. A aplicação sequencial com diferentes herbicidas após 2,4-D também foi satisfatória, alcançando controles superiores a 90% na maioria dos tratamentos. Os biótipos apresentaram resistência a ao menos um dos herbicidas auxínicos estudados e o inibidor acephate não indicou a ocorrência de metabolização mediada pelas enzimas do citocromo P450. O controle desses biótipos pode ser feito com a mistura de glufosinate + herbicidas inibidores da PROTOX ou então, com a aplicação sequencial de produtos de contato 10 dias após a aplicação de auxínicos.

Palavras-chave: resistência; auxínicos; metabolização; *Conyza* spp.

ABSTRACT

Weed resistance is a worldwide problem, which are getting importance in Brazil in the last years. The plants belonging to the genus *Conyza* are one of the main weeds in Brazil, due to the resistance to various herbicides and its aggressivity. The objectives of this work were: to identify *Conyza* spp. biotypes resistant to auxinic herbicides; to verify if enhancement degradation is the mechanism of resistance responsible for the biotype resistance and find alternative herbicides to control the resistant plants. To achieve the aims, three different trials were conducted. The first one consisted of six biotypes submitted to a dose-response experiment with the herbicides 2,4-D, dicamba, triclopyr and Florpyrauxifen-benzil. The biotype 206 was susceptible to all herbicides, and it was used as parameter of comparison with the others. The biotypes 17 and 194 showed resistance to all four herbicides studied. The biotypes 35 and 108 only to 2,4-D, and the 28 to 2,4-D and dicamba. To identify if the resistance was by enhancement degradation, the biotypes were submitted to doses-response with and without acephate, a compound that inhibit the cytochrome P450 monooxygenases enzymes. Only biotype 28 for the 2,4-D herbicide showed lower doses to control 50% of its population with acephate, indicating that the enhancement degradation could be related to this biotype resistance. But, despised the difference, the biotype 28 continued to meet the criteria to be considered resistant, even with the used of acephate. The third part consisted in three trials to find alternative controls to the resistant biotypes. Different mixtures with glufosinate plus herbicides inhibitors of PROTOX enzymes were used in the first one. In the second, 2,4-D was applied in all treatments followed by different sequential ten days after. The third trial was a two factorial arrangement where the Factor A was composed of different auxinic herbicides and the Factor B was the presence or the absence of glufosinate applied 10 days after the Factor A. In the control alternative experiment, all mixtures with glufosinate plus PROTOX inhibitors were efficient controlling the plants, likewise the sequential application with glufosinate ten days after different auxinic herbicides. Satisfactory controls were observed with the application of different herbicides ten days after 2,4-D too, with controls greater than 90% in most of the treatments. The biotypes showed resistance to at least one of the four auxinic herbicides tested and the enhancement degradation by cytochrome P450 monooxygenases enzymes is not responsible for the resistance. The biotypes control can be done with glufosinate plus PROTOX inhibitors herbicides or with the sequential application of contact herbicides ten days after auxinic herbicides.

Keywords: resistance; auxinic; degradation; *Conyza* spp.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figure 1- Control (A) and dry mass (B) of <i>Conyza</i> biotypes to 2,4-D dose-response	31
Figure 2- Biotype 108 1 hour after 2,4-D application	32
Figure 3- Control (A) and dry mass (B) of <i>Conyza</i> biotypes to dicamba dose-response	33
Figure 5- Control (A) and dry mass (B) of <i>Conyza</i> biotypes to triclopyr dose-response	35
Figure 6- Control (A) and dry mass (B) of <i>Conyza</i> biotypes to florpirauxifen-benzil dose-response.....	36
Figure 7- Florpyrauxifen-benzil dose response for biotype 17 and 194.	37
Figure 8- Florpyrauxifen-benzil dose response with acephate for biotype 17 and without acephate for biotype 194.	38
Figure 9- Triclopyr dose response with acephate and without acephate for biotype 35.....	41
Figure 10- Triclopyr dose response with acephate and without acephate for biotype 194.....	42
Figure 11- 2,4-D dose response with acephate and without acephate for biotype 28.	44

LISTA DE TABELAS

Table 1- <i>Conyza</i> spp. Biotypes and Collection point	25
Table 2- Herbicides PROTOX inhibitors used in tank mixture with glufosinate	27
Table 3- Herbicides used as sequential application (Timing 2) 10 days after 2,4-D (Timing 1) application.....	28
Table 4- Herbicides used in the first application (Factor A) followed by 420 g a.i. ha ⁻¹ de glufosinate 10 days after (Factor B).	28
Table 5- Rate of 2,4-D require to control 50% and 90% (C ₅₀ and C ₉₀) of the biotype (42 DAA) or to reduce shoot dry mass by 50% and 90% (GR ₅₀ and GR ₉₀) and resistance factors (RF ₅₀) of six biotypes of <i>Conyza</i> spp. Sertão-RS, Brazil, 2020.	30
Table 6- Rate of dicamba require to control 50% and 90% (C ₅₀ and C ₉₀) of the biotype (42 DAA) or to reduce shoot dry mass by 50% and 90% (GR ₅₀ and GR ₉₀) and resistance factors (RF ₅₀) of six biotypes of <i>Conyza</i> spp. Sertão-RS, Brazil, 2020.	33
Table 7- Rate of Triclopyr require to control 50% and 90% (C ₅₀ and C ₉₀) of the biotype (42 DAA) or to reduce shoot dry mass by 50% and 90% (GR ₅₀ and GR ₉₀) and resistance factors (RF ₅₀) of six biotypes of <i>Conyza</i> spp. Sertão-RS, Brazil, 2020.	34
Table 8- Rate of florpiauxifen require to control 50% and 90% (C ₅₀ and C ₉₀) of the biotype (42 DAA) or to reduce shoot dry mass by 50% and 90% (GR ₅₀ and GR ₉₀) and resistance factors (RF ₅₀) of six biotypes of <i>Conyza</i> spp. Sertão-RS, Brazil, 2020.....	36
Table 9- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C ₅₀ and C ₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR ₅₀) of the biotype 17. Sertão-RS, Brazil, 2021.....	39
Table 10- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C ₅₀ and C ₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR ₅₀) of the biotype 28. Sertão-RS, Brazil, 2021.....	39
Table 11- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C ₅₀ and C ₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR ₅₀) of the biotype 206. Sertão-RS, Brazil, 2021.....	40
Table 12- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C ₅₀ and C ₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR ₅₀) of the biotype 35. Sertão-RS, Brazil, 2021.....	40
Table 13- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C ₅₀ and C ₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR ₅₀) of the biotype 194. Sertão-RS, Brazil, 2021.....	42
Table 14- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C ₅₀ and C ₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR ₅₀) of the biotype 28. Sertão-RS, Brazil, 2021.....	43
Table 15- Visual control (%) of <i>Conyza</i> spp. At 7, 28 and 49 DAA, and dry mass as a function of different herbicides combined. Sertão-RS 2022.....	47
Table 16- Visual control (%) of Biotype 17 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.	48
Table 17- Visual control (%) of Biotype 28 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.	49

Table 18- Visual control (%) of Biotype 35 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.	50
Table 19- Visual control (%) of Biotype 108 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.	51
Table 20- Visual control (%) of Biotype 194 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.	51
Table 21- Visual control (%) of Biotype 17 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate	54
Table 22- Visual control (%) of Biotype 28 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate	55
Table 23- Visual control (%) of Biotype 35 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate	56
Table 24- Visual control (%) of Biotype 108 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate	57
Table 25- Visual control (%) of Biotype 194 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

®	Marca registrada
>	Maior
°C	Graus Célcus
AUX/IAA	auxin/22ndole-3-acetic acid
CO ₂	Dióxido de carbono
C ₅₀	Dose que proporciona 50% de controle
C ₉₀	Dose que proporciona 90% de controle
cm	Centímetros
DAA	Dias após a aplicação
FAOSTAT	Banco de dados da Food and Agriculture Organization
g a.e. ha ⁻¹	Gramas de equivalente ácido por hectare
g a.i. ha ⁻¹	Gramas de ingrediente ativo por hectare
GR ₅₀	Dose que proporciona redução de 50% na massa seca
GR ₉₀	Dose que proporciona redução de 90% na massa seca
GS	Glutamina Sintetase
HRAC	Comitê de ação a resistência aos herbicidas
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
kg	Quilograma
Kg ha ⁻¹	Quilograma por hectare
L ha ⁻¹	Litros por hectare
m ⁻²	Por metro quadrado
mL	Mililitro
P450	Citocromo P450 monooxigenase
PROTOX ou PPO	Protoporfirina oxidase
ROS	Espécies reativas de Oxigênio
WSSA	Weed Science Society of America

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Hipóteses	14
1.2	Objetivos	14
1.2.1	Geral.....	14
1.2.2	Específicos	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	SOJA	16
2.2	<i>Conyza</i> spp.	18
2.3	RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS	19
2.3.1	Critérios para confirmação de planta daninha resistente aos herbicidas	20
2.3.2	Mecanismos de resistência de plantas daninhas à herbicidas	21
<u>2.3.2.1</u>	<u>Mutação</u>	<u>22</u>
<u>2.3.2.2</u>	<u>Aumento da expressão gênica</u>	<u>22</u>
<u>2.3.2.3</u>	<u>Redução na absorção</u>	<u>22</u>
<u>2.3.2.4</u>	<u>Redução na translocação e compartimentalização</u>	<u>22</u>
<u>2.3.2.5</u>	<u>Metabolização</u>	<u>23</u>
<u>2.3.2.6</u>	<u>Rápida necrose</u>	<u>23</u>
2.3.3	Resistência de plantas daninhas aos herbicidas auxínicos	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1	COLETA DE SEMENTES	24
3.2	CURVA DE DOSE RESPOSTA	25
3.2.1	Análise estatística.....	26
3.3	METABOLIZAÇÃO	27
3.4	CONTROLE ALTERNATIVO	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
4.1	RESPOSTA DOS BIÓTIPOS DE BUVA A DOSE RESPOSTA DOS HERBICIDAS AUXÍNICOS	29
4.1.1	Resposta dos biótipos de buva a dose resposta do herbicida 2,4-D	30
4.1.2	Resposta dos biótipos de buva a dose resposta do herbicida dicamba	32
4.1.3	Resposta dos biótipos de buva a dose resposta do herbicida triclopyr	33
4.1.4	Resposta dos biótipos de buva a dose resposta do herbicida Florpirauxifen.....	35
4.2	Metabolização dos herbicidas auxínicos mediadas por enzimas do citocromo P450	37

4.3	Controle alternativo.....	45
4.3.1	Mistura de tanque de glufosinate com herbicidas inibidores da PROTOX 45	
4.3.2	Diferentes sequenciais após a aplicação de 2,4-D.....	47
4.3.3	Aplicação sequencial de glufosinate após diferentes auxínicos	53
5	CONCLUSÃO	59
	REFERÊNCIAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

A produtividade e a sustentabilidade agrícola são indispensáveis para produzir alimentos suficientes para a crescente população mundial (Powles, 2014). A produção de grãos como o arroz, trigo, soja, feijão e outros, é essencial para o abastecimento mundial de alimentos (Rizzardi et al, 2019). Vários são os desafios encontrados na agricultura para alcançar boas produtividades de forma econômica e sustentável, dentre esses desafios, as plantas daninhas são a maior ameaça biótica, podendo reduzir significativamente a produtividade (Powles, 2014; Song, et al, 2017).

Atualmente o controle químico com herbicidas é o principal modo de controle de plantas daninhas, principalmente em áreas de plantio direto. O intenso uso de herbicidas nos últimos anos, sem a rotação de mecanismos de ação adequada, resultou na evolução de populações de plantas daninhas resistentes à herbicidas (Powles, 2014; Saini, 2017). A resistência de plantas daninhas é um processo evolutivo (Rizzardi et al, 2019), no qual o uso contínuo de um mesmo herbicida seleciona plantas preexistentes na área que possuem menor sensibilidade ao herbicida.

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas é um problema mundial que vem ganhando importância no Brasil nos últimos anos devido ao aparecimento de inúmeros casos de espécies resistentes a diferentes mecanismos de ação de herbicidas (Rizzardi, et al, 2019). Uma planta que vem se destacando no Brasil é a *Conyza sumatrensis*, que apresenta resistência múltipla a cinco mecanismos de ação (Heap, 2023). O aumento gradativo da infestação de buva (*Conyza* spp.) nas áreas agrícolas do Brasil, principalmente na soja, tornou a mesma uma das principais plantas daninhas da cultura (Lamego, 2014).

O aumento da infestação pode ser atribuído à alta adaptabilidade dessas plantas, elevado potencial competitivo, fácil dispersão e evolução de biótipos resistentes à herbicidas (Anagnostopoulos, et al., 2020). Além disso, a não adoção de rotação de culturas, uso continuado de manejo reduzido do solo, não utilização de medidas para controlar as infestações durante períodos de pousio e/ou inverno e ausência de controle em áreas não cultivadas também favoreceram o aumento das infestações em áreas agrícolas (Lazaroto et al., 2008).

A buva é responsável por perdas de produtividade agrícola à nível mundial, sendo capaz de reduzir a produtividade de culturas mesmo em baixas intensidades

de infestação (Constantin et al., 2013). Na cultura da soja, essa planta daninha causa redução média da produtividade de 25% quando em populações de 13,3 plantas m⁻², podendo variar de acordo com a cultivar utilizada e período de interferência (Trezzi, et al, 2013), tornando o controle de buva crucial para o desenvolvimento adequado da soja (Cesco, et al, 2019). Apesar do grande interesse por essa planta daninha e várias recomendações técnicas para seu controle nos sistemas de cultivo, seu controle tem sido limitado, sendo considerada uma das plantas daninhas mais difíceis de controlar em todo o mundo (Concenço et al., 2016).

Diante dos danos ocasionados pela buva, e a ocorrência de resistência de plantas daninhas aos herbicidas, medidas de manejo de resistência são fundamentais (Rizzardi, et al 2019). A presença de plantas daninhas resistentes em áreas agrícolas pode triplicar os custos de controle comparadas às áreas sem resistência, dessa forma recomenda-se que seja feito o manejo da resistência de forma proativa, antes do aparecimento da mesma na área, sendo o monitoramento da resistência uma importante ferramenta a ser utilizada (Rizzardi, et al, 2019).

O mapeamento das áreas com plantas daninhas resistentes permite determinar o manejo da resistência a fim de retardar o processo de seleção de biótipos resistentes, auxiliando na tomada de decisão referente ao controle dessas populações (Owen et al, 2014). Levando em consideração a perda de produtividade e o acréscimo nos custos de produção, o conhecimento da população presente na área é importante para determinar o manejo adequado e manter a viabilidade econômica.

1.1 Hipóteses

Os biótipos de *Conyza* spp. apresentam resistência a um ou mais herbicidas auxínicos.

O mecanismo de resistência dos biótipos é a metabolização.

É possível realizar o controle dos biótipos resistentes através de misturas de herbicidas ou aplicações sequenciais.

1.2 Objetivos

1.2.1 Geral

Estudar biótipos de buva (*Conyza* spp.) suspeitos de resistência aos herbicidas auxínicos.

1.2.2 Específicos

Identificar os biótipos que possuem resistência aos herbicidas 2,4-D, dicamba, triclopyr e florpiauxifen;

Definir o nível de resistência aos herbicidas de cada biótipo;

Identificar o mecanismo que confere resistência aos herbicidas;

Propor manejos eficientes para o controle dos biótipos que apresentarem resistência.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SOJA

A soja (*Glycine max* L.) é amplamente cultivada mundialmente, e tem sua origem na costa leste da Ásia, principalmente ao longo do Rio Amarelo na China. Sua domesticação e primeiros melhoramentos genéticos ocorreu no país de origem (EMBRAPA, 2003). No Brasil a soja chegou em 1882, introduzida pelos Estados Unidos em Salvador, Bahia. Devido ao clima, não se desenvolveu adequadamente, ficando restrita a produção no Sul do país (Cattelan & Dall'Agnol, 2018).

A soja passou a ser cultivada em escala comercial no Rio Grande do Sul em 1935, com uma área de 702 hectares (Sediyama et al, 2015). A partir da década de 1980 expandiu-se para as regiões tropicais do país, primeiro no Centro Oeste, depois no Centro Norte, e por último, já na década de 2000 para o Norte. O desenvolvimento de cultivares adaptadas a regiões tropicais foi fundamental para essa expansão (Cattelan & Dall'Agnol, 2018).

O Brasil tornou-se um dos maiores exportadores agrícolas do mundo nos últimos 50 anos, desempenhando um papel importante no abastecimento global. A soja tem grande importância nesse cenário, devido ao aumento de produção mais significativo quando comparado com as demais culturas (Garrett & Rausch, 2016). Nos últimos anos, a cultura tornou-se uma das *commodities* mais negociadas no mundo, tendo uma infinidade de usos devido aos seus grãos possuírem em média 18% de óleo e 38% de proteínas (Hartman et al, 2011).

As proteínas encontradas nos grãos de soja são de boa qualidade e o custo de produção é relativamente baixo, devido a isso, a soja é amplamente utilizada na alimentação humana e na alimentação animal para produção de carne. Além disso, o uso desse grão possui eficiência satisfatória, em que uma produção de 3000 kg ha⁻¹ pode ser usada para produzir 343 kg de carne bovina, 600 kg de carne suína e 1200 kg de carne avícola em sistemas de confinamento (Garret & Rausch, 2016). Além do alto valor proteico, o grão também é empregado para extração de óleo, que é utilizado na alimentação humana, produção de biodiesel, desinfetante, lubrificante e outros produtos (Sediyama et al, 2015). Dessa forma, o setor da soja aumentou consideravelmente a quantidade de alimento produzido no Brasil (Garret & Rausch, 2016).

A produção mundial de soja dobrou nos últimos 20 anos, atingindo o total de 333.671 milhões de toneladas em 120.501 milhões de hectares na safra de 2019/2020 (FAOSTAT, 2021). O Brasil possui papel fundamental na produção mundial de soja, sendo um dos maiores produtores do grão. Na safra de 2019/2020 o Brasil ultrapassou, pela primeira vez, os Estados Unidos na produção total, sendo o maior produtor mundial de soja nesta safra, com 114.269 milhões de toneladas produzidas em 35.881 milhões de hectares (FAOSTAT, 2023). O Brasil seguiu sendo o maior produtor mundial, com 134.934 milhões de toneladas produzidas em 39.168 milhões de hectares na safra 2021/2022 (FAOSTAT, 2023).

A soja é muito vulnerável à interferência com plantas daninhas, podendo ocasionar perdas de produtividade severas, tornando o controle de plantas daninhas essencial para garantir um bom desempenho da cultura (Song, et al., 2017). A ausência de manejos para controlar plantas daninhas na cultura pode ocasionar uma perda de produtividade de aproximadamente 52% devido a interferência causada por essas plantas (Soltani, et al., 2017). A buva apresenta alta competitividade com culturas comerciais, causando uma redução média na produtividade da soja de 25% em populações de 13,3 plantas m^{-2} , variando de acordo com a cultivar utilizada e o período de interferência (Trezzi, et al, 2013).

Devido às elevadas perdas de produtividade causadas pela presença de plantas daninhas nas áreas de soja, o controle das mesmas torna-se indispensável para atingir uma produtividade satisfatória. Embora existam outros métodos de controle, o controle químico é atualmente o principal modo de controle de plantas daninhas, principalmente em área de plantio direto (Okada, et al., 2014; Saini et al., 2017).

Os herbicidas representaram 60% do mercado de agroquímicos no Brasil em 2019, sendo o glyphosate o ingrediente ativo mais vendido, seguido pelo 2,4-D (IBAMA, 2020). O glyphosate é comercializado a muitos anos, mas devido aos altos preços iniciais, ficava restrito à fruticultura; com a queda de preço resultante da disponibilidade de produtos genéricos passou a ser usado para dessecação no sistema de plantio direto (Heap, 2013). Após a introdução de culturas resistentes ao glyphosate, o uso desse herbicida cresceu rapidamente e o controle das plantas daninhas era feito, quase que exclusivamente, com duas ou três aplicações de glyphosate, ocasionando o aparecimento de plantas daninhas resistentes (Heap, 2013).

Atualmente já são conhecidos biótipos de *Conyza sumatrensis* com resistência ao 2,4-D no Brasil (Heap, 2021), apesar disso, os herbicidas auxínicos ainda são amplamente utilizados como controle alternativo de buva resistente ao glyphosate. Diante disso e do desenvolvimento de culturas resistentes aos herbicidas auxínicos, a preocupação com o surgimento de plantas daninhas resistentes aos herbicidas desse mecanismo de ação aumentou.

2.2 *Conyza* spp.

As plantas do gênero *Conyza* pertencem à família Asteraceae e são amplamente disseminadas no mundo (Cesco et al, 2017; Zobiole et al, 2018; Amaro-Blanco et al, 2019). No Brasil três espécies são predominantes nas áreas de cultivo: *C. bonariensis*, *C. canadenses* e *C. sumatrensis* (Cesco et al, 2017; Zolbiole et al, 2018) e encontram-se disseminada em praticamente todas as regiões produtoras, em especial em cultivos de grãos nas regiões Sul e Sudeste, com alguns focos na região Centro-Oeste (Constantin et al, 2013).

As espécies de *Conyza* possuem diferentes centros de origem. A *C. bonariensis* é nativa da América do Sul, e ocorre de forma abundante na Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil (Kissmann & Groth, 1999). A *C. canadensis* é nativa da América do Norte (Lis et al, 2003) e *C. sumatrensis* da América do Sul (Hao et al, 2009), ambas consideradas amplamente distribuídas no mundo (Thebaud & Abbott, 1995). São plantas anuais, herbácea, com caule ereto e reprodução exclusiva por sementes (Anastasiu & Memedemin, 2012; Lorenzi, 2014).

As três espécies citadas acima apresentam semelhanças morfológicas e possibilidade de hibridação, características que muitas vezes dificultam a correta identificação de cada espécie à campo, devido a isso as mesmas são comumente chamadas de buva (Constantin et al, 2013). Uma diferença importante entre as espécies se refere a ploidia das mesmas, em que a *C. sumatrensis* e *C. bonariensis* são aloploidos ($2n=54$) e a *C. canadensis* é diploide ($2n=18$); diante disso, espera-se que o cruzamento entre as duas primeiras espécies origine híbridos mais compatíveis e vigorosos em comparação com o cruzamento com *C. canadensis* (Zelaya et al, 2007).

As diferenças morfológicas entre essas espécies são de difícil percepção, baseando-se na altura das plantas, ramificação, pilosidade e forma das folhas. A *C. bonariensis* tem a altura variando de 60 a 120 cm; apresenta caule folhoso com

poucas ramificações e folhas pilosas de 10 a 15 cm de comprimento (Lorenzi, 2014). A altura da *C. canadensis* pode variar de 80 a 150 cm, essa espécie possui ramos muito enfolhados e difere da *C. bonariensis* principalmente por possuir panícula maior e a margem foliar denticulada (Lorenzi, 2014). A *C. sumatrensis* pode chegar a mais de 200 cm de altura, apresenta caule ramificado e piloso com folhas numerosas e alternadas (Anastasiu & Memedemin, 2012).

Essas espécies apresentam grande produção de sementes pequenas e leves, que são facilmente dispersas pelo vento devido a presença de estruturas para dispersão (Constantin et al, 2013; Bajwa et al, 2016), essa característica combinada com a alta capacidade competitiva e invasiva da buva, faz com que essas espécies estejam entre as mais difíceis de controlar no mundo (Mora et al, 2019).

2.3 RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS AOS HERBICIDAS

As plantas daninhas resistentes à herbicidas são consideradas problemáticas e um desafio significativo para a segurança alimentar (Powles, 2014). Essas plantas possuem a habilidade de sobreviver e reproduzir-se após a aplicação de uma dose de herbicida que normalmente é letal à espécie (Adegas, et al, 2017). Essa habilidade é de ocorrência natural e sua seleção se dá através do uso contínuo de um mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação (Adegas, et al, 2017).

Os casos de resistência de plantas daninhas vêm crescendo ano após ano em todo o mundo. Atualmente existem 521 casos de resistência de plantas daninhas a herbicidas no mundo, sendo distribuídos entre 263 espécies, das quais 152 são dicotiledôneas e 111 monocotiledôneas (Heap, 2023). Esses casos citados anteriormente englobam resistência a 164 herbicidas diferentes, distribuídos em 23 dos 26 locais de ação de herbicidas conhecidos e foram relatados em 94 culturas em 72 países (Heap, 2023). Somente no Brasil já foram registradas 54 espécies de plantas daninhas resistentes à herbicidas, envolvendo 29 espécies distintas, resistentes à oito mecanismos de ação diferentes (Heap, 2023).

Existem vários relatos de *Conyza* de diferentes espécies resistentes no Brasil, em sua grande maioria à herbicidas inibidores da enzima EPSPs (glyphosate). O caso mais preocupante de resistência no Brasil foi identificado no estado do Paraná, em lavoura de soja, onde a buva (*Conyza sumatrensis*) foi identificada com resistência múltipla à cinco locais de ação, sendo eles: 5-Enol piruvil shikimato fosfato sintase

(EPSPs), fotossistema I e II (PSI e PSII), proporfirinogênio oxidase (PROTOX) e auxinas sintéticas (Heap, 2023).

Uma das principais consequências da presença de plantas daninhas resistente em áreas de produção é o aumento dos custos de controle devido a necessidade de uso de herbicidas alternativos. Em áreas com a presença de *Conyza* spp. resistente à glyphosate o aumento dos custos variou de 42 a 125% quando comparadas às áreas sem resistência (Adegas et al, 2017). Estima-se que a área com presença de *Conyza* spp. resistente no Brasil é de 7,7 milhões de hectares, totalizando um aumento de custos entre R\$ 971.740.000,00 a R\$ 1.653.960.000,00 (Adegas et al, 2017).

2.3.1 Critérios para confirmação de planta daninha resistente aos herbicidas

Para que a planta daninha seja classificada e documentada como resistente no site do Weed Science é preciso atender a cinco critérios, sendo eles (Heap, 2005):

Critério 1- Se enquadrar na definição de resistência de plantas daninhas aos herbicidas da Sociedade Americana da Ciência das Plantas Daninha (WSSA-Weed Science Society of America) e do Registro Internacional de Plantas Daninhas Resistentes a Herbicidas, que é definida como “capacidade herdada de uma planta sobreviver a se reproduzir após a exposição a uma dose de herbicida normalmente letal para espécie”

Critério 2- Confirmação da resistência através de métodos científicos: Os testes devem ser realizados por um cientista imparcial, por meio de comparação de plantas resistentes e suscetíveis da mesma espécie. Existem diferentes testes de resistência a herbicidas, mas para a caracterização inicial de um biótipo resistente o teste mais indicado é o de dose resposta sob condições controladas, utilizando plantas inteiras, de forma que as condições sejam o mais parecidas possíveis das condições normais para determinar o GR₅₀ da população resistente e suscetível. As doses utilizadas devem abranger doses subletais e letais tanto para a população suscetível quanto para a resistente (Heap, 1994). Para comparação entre os biótipos são utilizadas regressões não lineares (Streibig, 1988). Para ser considerada resistente deve haver diferença estatística entre a população resistente e suscetível, nesse caso a resistência é medida através da proporção do GR₅₀ do biótipo resistente em comparação com o suscetível (Heap, 2005).

Quando a relação do GRR_{50}/GRS_{50} é superior a 10 vezes, a resistência fica clara, sendo mais difícil a confirmação nos casos de baixo nível de resistência. Nos casos de baixo nível de resistência é necessário levar em consideração a definição científica de resistência, que foi descrita acima, juntamente com a definição agrícola de campo, ou seja, além de ser diferente estatisticamente da população suscetível, a população resistente deve sobreviver as doses usuais à campo (Heap, 2005).

Critério 3- A resistência deve ser herdada nas próximas gerações: É necessário que a resistência persista nas próximas gerações para que o biótipo seja considerado resistente, dessa forma deve-se fazer testes em diferentes gerações do biótipo para a confirmação da resistência.

Critério 4- Demonstração do impacto prático da resistência a campo: A resistência deve ter um impacto prático à campo, ou seja, a planta daninha deve ser um problema ao agricultor quando utilizadas doses recomendadas para controle, evitando documentar variabilidade naturais na resposta de controle de plantas por herbicidas (Heap, 2005).

Critério 5- Ter a sua espécie identificada botanicamente: A planta daninha em questão deve ser identificada botanicamente até o nível de espécie, não sendo admitida relatos onde há dúvidas sobre a espécie (Grazziero et al, 2008).

2.3.2 Mecanismos de resistência de plantas daninhas à herbicidas

Os mecanismos de resistência à herbicidas podem ser divididos em duas categorias, sendo elas: Mecanismos de resistência relacionados ao local de ação (target-site resistance) e mecanismos de resistência não relacionados ao local de ação (non target-site resistance), sendo importante o conhecimento do mecanismo de ação do herbicida para o entendimento do mecanismo de resistência da planta (Yang et al, 2016). Os mecanismos que conferem resistência aos herbicidas podem ocorrer de forma isolada ou não, podendo a planta apresentar mais de um mecanismo de forma combinada (Gaines et al, 2020).

Os mecanismos de resistência relacionado ao local de ação ocorre quando há a alteração da sequência de aminoácidos (mutação) ou aumento da expressão da enzima alvo, dessa forma, a capacidade que o herbicida tem de inibir a enzima é reduzida. Quando a resistência não está relacionada ao local de ação, ocorre a redução da concentração do herbicida que chega até alvo, podendo ser através da redução na absorção e/ou translocação, aumento do metabolismo do herbicida,

sequestro ou compartimentalização do herbicida e rápida necrose (Markus et al., 2021). Esse mecanismo de resistência é uma grande ameaça ao manejo de plantas daninhas, pois pode comprometer a eficácia de herbicidas com diferentes mecanismos de ação (Beckie, 2020).

2.3.2.1 Mutação

Uma única mutação no DNA que altere um nucleotídeo no gene que codifica a proteína alvo do herbicida pode alterar sua conformação impedindo que o herbicida se ligue a mesma e consiga inibir um processo fundamental para a planta, consequentemente perdendo a eficácia (Yu & Powles, 2014). O nível de resistência conferido por essa mutação pode variar de um caso para o outro. Além das substituições de nucleotídeos, também podem ocorrer a deleção de códons inteiros (Markus et al, 2021).

2.3.2.2 Aumento da expressão gênica

A resistência também pode ocorrer devido ao aumento da expressão do gene alvo, produzindo mais proteínas do que o herbicida é capaz de inibir, sendo necessário uma dose maior do que as aplicadas normalmente para o controle das plantas (Yu & Powles, 2014). Nesse caso, o herbicida mantém a afinidade com a enzima, porém a quantidade de herbicida não é o suficiente para inibir todas as enzimas produzidas, possibilitando a sobrevivência da planta (Carvalho, 2013).

2.3.2.3 Redução na absorção

Ao entrar em contato com a planta, a absorção é o primeiro passo que o herbicida dá para chegar ao local de ação. As diferenças na absorção dos herbicidas pelas folhas, ocorre devido as características anatômicas das mesmas, e embora não seja um mecanismo de resistência muito comum, há vários relatos de espécies de plantas daninhas resistentes devido à redução na absorção foliar (Gaines et al, 2020) reduzindo a quantidade de herbicida que chega ao local de ação.

2.3.2.4 Alteração na translocação e compartimentalização

Os herbicidas necessitam da translocação para chegar até seu local de ação, dessa forma, a redução da translocação pode afetar a eficácia dos herbicidas,

tornando-se um importante mecanismo de resistência (Markus et al, 2021). O herbicida pode ficar retido nas folhas através do sequestro dentro do vacúolo ou nos tricomas foliares, ou ainda, ter seu movimento normal impedido pelas barreiras da membrana quando os transportadores de membrana ativos tiverem sua atividade alterada, dessa forma a quantidade total de herbicida translocado é menor e consequentemente uma menor concentração de herbicida chegará ao local alvo, resultando em resistência (Gaines et al, 2020). Além disso, a resistência pode se dar devido ao aumento da translocação, que esta associada à exsudação de compostos (Markus et al, 2021)

2.3.2.5 Metabolização

A metabolização dos herbicidas é responsável pela seletividade em muitas plantas cultivadas, permitindo que o herbicida seja aplicado sem causar danos nas culturas comerciais. A desintoxicação de herbicidas pode ocorrer em três fases: a fase I está relacionada com a adição de um grupo funcional ao herbicida por oxidação, redução ou hidrólise e é geralmente mediada por enzimas monooxigenases do citocromo P450; a fase II consiste na conjugação com moléculas endógenas como a glutadiona ou glicose, mediada por GSH S-transferases (GSTs) e glucosiltransferases (GTs), respectivamente, podendo ocorrer sem que ocorra a fase I; a fase III consiste na compartimentação dos metabólitos dos herbicidas no vacúolo ou a incorporação dos mesmo nas paredes celulares (Riechers et al, 2010).

Esses genes responsáveis pela desintoxicação dos herbicidas também estão presentes nas plantas daninhas, porém em uma quantidade insuficiente para degradar todo o herbicida. Dessa forma, a resistência ocorre quando há o aumento da expressão ou mutação das enzimas responsáveis pelo processo de metabolização dos herbicidas (Gaines et al, 2020).

2.3.2.6 Rápida necrose

O mecanismo de resistência por rápida necrose reduz a translocação do herbicida em plantas resistentes, no entanto ainda não foi totalmente elucidado (Markus, et al, 2021). Esse mecanismo é apresentado independentemente, pois apesar de estar relacionado com a redução na translocação, é ocasionado por mecanismos distintos e possui uma sintomatologia única (Markus et al, 2021).

2.3.3 Resistência de plantas daninhas aos herbicidas auxínicos

Entender o mecanismo de resistência da planta ao herbicida é de grande importância para o desenvolvimento de métodos de controle alternativos eficazes (LeClere et al, 2018). Porém, nem todos os casos de resistência tem seu mecanismo descoberto. Nos últimos anos houve um avanço na elucidação dos mecanismos de resistência para herbicidas auxínicos, algum deles descritos a seguir:

Em *Kochia scoparia* uma mutação no gene AUX/IAA16 resultou em resistência cruzada aos herbicidas Dicamba, 2,4-D e fluroxypyr (LeClere et al, 2018), enquanto a deleção de 27 nucleotídeos no co-receptor AUX/IAA2 levou a resistência ao 2,4-D em *Sisymbrium orientale* (Figueiredo et al, 2021). Outro caso de resistência ao herbicida 2,4-D é resultado da metabolização do herbicida mediada por proteínas do citocromo P450 em *Amaranthus tuberculatus* (Figueiredo et al, 2018). De maneira geral, quando estudado o mecanismo de ação de uma espécie de plantas daninhas aos herbicidas auxínicos, as conclusões obtidas para uma ou duas populações não podem ser estendidas a todas as demais (Goggin et al, 2018).

Também é possível que vários mecanismos de resistência coexistam dentro de uma espécie, população e até mesmo de um único indivíduo, incluindo combinações de mecanismos relacionados ao local de ação e não relacionados ao local de ação (Gaines et al, 2020). Dessa forma, além da possibilidade de diferentes mecanismos de resistência entre os biótipos, também pode haver o acúmulo de diferentes resistências.

Recentemente um novo mecanismo chamou a atenção dos pesquisadores, denominado rápida necrose, que foi descrita para o herbicida 2,4-D em plantas de *Conyza*. Nesse caso as plantas não apresentam o sintoma clássico de epinastia após a aplicação de 2,4-D, mas sim um sintoma semelhante à necrose, que aparece poucas horas após a aplicação do herbicida (Queiroz et al, 2020).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA DE SEMENTES

As sementes utilizadas foram coletadas de plantas de *Conyza* spp. oriundas de áreas agrícolas com falha de controle dos herbicidas auxínicos. Foram testados seis biótipos de diferentes localidades (Tabela 1), sendo o biótipo 206 suscetível e os demais com suspeita de resistência.

Table 1- Conyza spp. Biotypes and Collection point

Biotype	Specie	Collection point	Latitude	Longitude
17	<i>C. sumatrensis</i> var. <i>sumatrensis</i>	Cascavel-PR	24°50'8"	53°38'2"
28	<i>C. sumatrensis</i> var. <i>sumatrensis</i>	Ubiratã-PR	24°33'10"	53°0'25"
35	<i>C. sumatrensis</i> var. <i>sumatrensis</i>	Mamborê-PR	24°17'15"	52°37'7"
108	<i>Conyza</i> spp.	Assis Chateaubriand-PR	24°17'33"	53°35'20.8"
194	<i>Conyza</i> spp.	Muliterno-RS	28°19'6,8"	51°42'31,8"
206	<i>C. sumatrensis</i> var. <i>sumatrensis</i>	São Desidério-BA	12°46'53.36"	46°1'21.14"

3.2 CURVA DE DOSE RESPOSTA

O experimento foi conduzido em estufa climatizada (Temperatura constante à 25°C). As unidades experimentais foram vasos plásticos com 10 cm de diâmetro e 9 cm de altura, com capacidade volumétrica de 500 mL, preenchidos com solo e substrato tipo turfa (Carolina Soil®) na proporção 2:1. As sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido com 200 células e, posteriormente, transplantadas uma plântula por vaso com irrigação diária.

Quando a maioria das plantas atingiram 15 cm de altura, os vasos foram retirados da estufa climatizada para a aplicação dos herbicidas. A aplicação foi realizada com pulverizador pressurizado a CO₂ com barra de dois bicos distanciados entre si à 50 cm, com pontas Micron Air 11002 na altura de 50 cm acima do alvo, com volume de aplicação de 120 L ha⁻¹. Após a aplicação, os vasos foram levados para a estufa climatizada e permaneceram sem irrigação por 24 horas, para não interferir na absorção do herbicida.

Os herbicidas aplicados foram 2,4-D (Enlist Colex-D) (0, 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000, 8000 g de equivalente ácido (a.e.) ha⁻¹); dicamba (Atectra) (0, 60, 120, 240, 480, 960, 1920 e 3840 g de ingrediente ativo (a.i.) ha⁻¹); triclopyr (Triclon) (0, 72, 144, 288, 576, 1152, 2304, 4608 g a.e. ha⁻¹); florpiauxifen-benzil (Loyant) (0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 g a.i. ha⁻¹). Essas doses correspondem à 0D, 0,125D, 0,25D, 0,50D, 1D, 2D, 4D e 8D, em que D é a dose recomendada do herbicida. As unidades experimentais foram dispostas em delineamento inteiramente casualizados com quatro repetições.

As avaliações de controle foram realizadas semanalmente de forma visual, com base na escala percentual, em que 0% corresponde a nenhum efeito herbicida e 100% à morte da planta. A avaliação de massa seca da parte aérea foi realizada cortando as plantas rente ao solo, acondicionando as mesmas em sacos de papel e

secando em estufa de circulação de ar forçada a 65°C por 72 horas, posteriormente as amostras foram pesadas em balança de precisão.

3.2.1 Análise estatística

Os dados das avaliações de controle e massa seca da parte aérea foram submetidos à análise de variância e regressão pelo programa estatístico Sigmaplot 12.0 e ajustados pelo modelo de regressão logística não linear proposto por Streibig (1988):

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

Onde y é a porcentagem de controle ou massa seca da parte aérea; x é a dose do herbicida; a , b e c são os parâmetros estimados pela equação, a é a amplitude entre o ponto máximo e o mínimo da variável; b é a dose que possui 50% de controle; c é a inclinação da curva em torno de b .

Com o valor de C_{50} (50% de controle) foi possível calcular o Fator de resistência (FR), que corresponde à razão entre o C_{50} da população resistente em relação ao C_{50} da população suscetível. O FR expressa o número de vezes em que a dose necessária para controlar 50% da população resistente é superior à dose que controla 50% da população suscetível (Burgos, 2015). Os valores de C_{80} e C_{90} foram calculados usando a equação inversa de acordo com Carvalho et al (2005):

$$x = b(|a/y - 1|)^{1/c}$$

Os biótipos foram caracterizados como suscetível ou resistente levando em consideração três critérios: 1. $FR_{50} > 1$ e diferente do biótipo suscetível; 2. Plantas sobreviventes na dose recomendada; e 3. C_{90} ou GR_{90} maior que a maior dose de bula para a espécie. Quando se trata de uma nova resistência, o biótipo deve ser erradicado para prevenir que a resistência se espalhe para novas áreas (Nunes et al, 2021). Levando isso em consideração, optou-se por utilizar o C_{90} como um dos critérios utilizados para classificar um biótipo como resistente. Uma vez que 10% das plantas sobreviventes são o suficiente para produzir sementes e espalhar a resistência para novas áreas.

3.3 METABOLIZAÇÃO

Os biótipos foram semeados e transplantados conforme descrito no item 3.2. O experimento consistiu em um bifatorial, no qual o fator A consistiu na aplicação ou não do inseticida acephate, um organofosforado, conhecido por ser um inibidor de enzimas do citocromo P450, na dose de 750 g a.i. ha⁻¹. Após 24 horas da aplicação do acephate os tratamentos de herbicida (Fator B) foram aplicados com pulverizador pressurizado a CO₂ conforme descritos no item 3.2.

Os herbicidas aplicados foram 2,4-D (0, 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000, 8000 g de equivalente ácido (a.e.) ha⁻¹); dicamba (0, 60, 120, 240, 480, 960, 1920 e 3840 g de a.i. ha⁻¹); triclopyr (0, 72, 144, 288, 576, 1152, 2304, 4608 g a.e. ha⁻¹); florigrauxifen (0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 g a.i. ha⁻¹), da mesma forma descrita no item 3.2. Essas doses correspondem à 0D, 0,125D, 0,25D, 0,50D, 1D, 2D, 4D e 8D, em que D é a dose recomendada do herbicida. As unidades experimentais foram dispostas em delineamento inteiramente casualizados com quatro repetições. As avaliações e análises estatísticas foram realizadas de acordo com o item 3.2.

3.4 CONTROLE ALTERNATIVO

Para determinar possíveis controles alternativos para os biótipos resistentes foram desenvolvidos três experimentos por biótipo em estufa climatizada. Os biótipos foram semeados em bandejas de poliestireno expandido e posteriormente transplantados em vasos com capacidade volumétrica de 500 mL, preenchidos com solo e substrato tipo turfa (Carolina Soil®) na proporção 2:1, cada vaso representando uma unidade experimental. Quando as plantas possuíam em torno de 15 cm os tratamentos foram aplicados com o auxílio de um pulverizador pressurizado a CO₂, equipados com bicos AIXR 110015, numa vazão de 100 L ha⁻¹. O primeiro experimento consistiu na mistura em tanque do herbicida glufosinate com diferentes herbicidas inibidores da PROTOX, resultando em seis tratamentos conforme descritos na Tabela 2.

Table 2- Herbicides PROTOX inhibitors used in tank mixture with glufosinate

Herbicide	Rates (g i.a ha⁻¹)
Untreated	-
Glufosinate	420
Glufosinate + saflufenacil	420 + 49
Glufosinate + carfentrazone	420 + 30

Herbicide	Rates (g i.a ha ⁻¹)
Glufosinate + fomesafen	420 + 250
Glufosinate + flumioxazin	420 + 50

O segundo experimento consistiu na aplicação de 2,4-D em todos os tratamentos, com exceção à testemunha, seguido de uma aplicação sequencial com diferentes herbicidas 10 dias após a primeira aplicação, conforme descritos na Tabela 3. O terceiro experimento consistiu em um bifatorial, sendo o Fator A diferentes herbicidas auxínicos (Tabela 4), e o Fator B a presença ou ausência de aplicação sequencial com glufosinate na dose de 420 g a.i. ha⁻¹.

Table 3- Herbicides used as sequential application (Timing 2) 10 days after 2,4-D (Timing 1) application.

Herbicide	Rates (g a.e. ha ⁻¹)	Herbicide	Rates (g i.a ha ⁻¹)
Timing 1		Timing 2	
Untreated	-	Untreated	-
2,4-D	1003,2	Untreated	-
2,4-D	1003,2	Glufosinate	420
2,4-D	1003,2	Glufosinate + S-metolachlor	448 + 1050
2,4-D	1003,2	Bentazon	720
2,4-D	1003,2	Diquat	400
2,4-D	1003,2	Diquat + flumioxazin	400 + 50
2,4-D	1003,2	Fomesafen	250
2,4-D	1003,2	Saflufenacil	49
2,4-D	1003,2	Flumioxazin	50
2,4-D	1003,2	Glufosinate + flumioxazin	500 + 50
2,4-D	1003,2	Glufosinate + imazethapyr + carfentrazone	400 + 100 + 10

Table 4- Herbicides used in the first application (Factor A) followed by 420 g a.i. ha⁻¹ de glufosinate 10 days after (Factor B).

Herbicide	Rates (g a.e. ha ⁻¹)
Factor A	
Untreated	-
Clethodim + fluroxipyr	210 + 300
Dicamba	480
Picloran	66
2,4-D	1003,2
Florpirauxifen-benzil	37,5
Triclopyr	1020
Diclosulam + halauxifen	31,9 + 6,32

Foram realizadas avaliações de controle semanalmente de forma visual, com base na escala percentual, em que 0% corresponde a nenhum efeito herbicida e 100% à morte da planta. A avaliação de massa seca da parte aérea foi realizada aos 49 DAA cortando as plantas rente ao solo, acondicionando as mesmas em sacos de papel e secando em estufa de circulação de ar forçada a 65°C por 72 horas, posteriormente as amostras foram pesadas em balança de precisão. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), determinado a diferença entre médias pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade de erro experimental, realizado pelo software estatístico R.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 RESPOSTA DOS BIÓTIPOS DE BUVA A DOSE RESPOSTA DOS HERBICIDAS AUXÍNICOS

Os dados obtidos nas curvas dose-respostas se ajustaram ao modelo logístico de três parâmetros, com valores de R^2 próximos a 1 e a significância dos ajustes (p -value) menores que 0,05. Isso indica que a regressão utilizada é adequada e os parâmetros da análise são confiáveis.

A elevação das doses dos herbicidas testados resultou em aumento no nível de controle dos biótipos suscetíveis em comparação com os resistentes. Os biótipos demonstraram níveis de resistência diferentes. Assim, é necessário maiores doses para controlar biótipos com menor sensibilidade ao herbicida. O biótipo 206, oriundo de São Desidério-BA, foi o único biótipo que se mostrou suscetível para os quatro herbicidas testados. Sendo então, utilizado como base para os cálculos do Fator de Resistência.

Para todos os biótipos o FR_{50} diferiu entre as variáveis analisadas (Tabelas 2, 3, 4 e 5). O mesmo foi observado em um experimento em que as plantas de *Coryza* spp. foram submetidas à diferentes doses do herbicida glyphosate (Trezzi, et al, 2011), e aos herbicidas chlorimuron, glyphosate e paraquat (Albrecht et al, 2020). De maneira geral, os níveis de resistência dos biótipos aos herbicidas estudados variaram entre baixos à moderados de acordo com a classificação proposta por Beckie & Tardif (2012).

4.1.1 Resposta dos biótipos de buva a dose resposta do herbicida 2,4-D

Dos biótipos estudados, cinco foram caracterizados como resistente ao herbicida 2,4-D e um como suscetível. Em ambas as avaliações todos os biótipos resistentes tiveram o $FR_{50} > 1$, e o C_{90} maior que a maior dose recomendada na bula ($1368 \text{ g a.e. ha}^{-1}$) (Tabela 5). Também foi observado na última avaliação plantas sobreviventes na dose recomendada. O maior número de biótipos resistente ao 2,4-D em comparação com os demais herbicidas pode estar relacionado ao maior uso desse ingrediente ativo em comparação com os demais, aumentando a pressão de seleção de plantas daninhas resistentes.

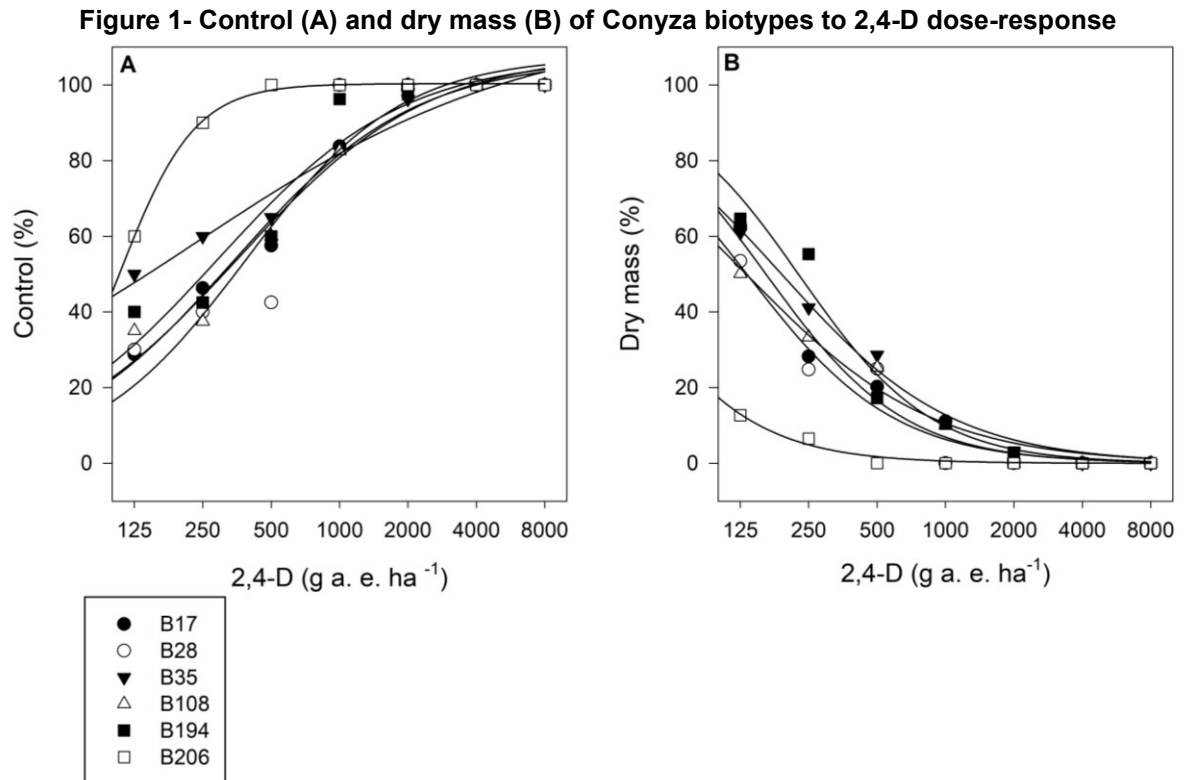
Table 5- Rate of 2,4-D require to control 50% and 90% (C_{50} and C_{90}) of the biotype (42 DAA) or to reduce shoot dry mass by 50% and 90% (GR_{50} and GR_{90}) and resistance factors (RF_{50}) of six biotypes of *Conyza* spp. Sertão-RS, Brazil, 2020.

% Control							
Biotype	A	C	C_{50} (confidence interval)	C_{90}	R^2	p	RF_{50}
17	100	-1,26	296 (255-336)	1690	0,93	<0,0001	2,82*
28	100	-1,46	341 (293-388)	1534	0,92	<0,0001	3,25*
35	100	-0,98	152 (136-169)	1434	0,97	<0,0001	1,46*
108	100	-1,24	301 (248-355)	1772	0,89	<0,0001	2,88*
194	100	-1,24	250 (224-276)	1470	0,95	<0,0001	2,39*
206	100	-2,18	105 (101-108)	287	0,99	<0,0001	---
Dry Mass							
Biotype	A	C	GR_{50} (confidence interval)	C_{90}	R^2	p	RF_{50}
17	100	1,43	162 (142-183)	754	0,93	<0,0001	4,47*
28	100	1,34	134 (118-149)	689	0,95	<0,0001	3,68*
35	99	1,36	189 (173-206)	953	0,96	<0,0001	5,22*
108	100	1,06	133 (112-155)	1060	0,94	<0,0001	3,67*
194	99	1,50	229 (199-260)	992	0,92	<0,0001	6,31*
206	100	1,79	36 (23-50)	124	0,99	<0,0001	---

* C_{50}/GR_{50} are different from susceptible

Diferentes níveis de resistência foram observados (Tabela 5), com FR_{50} variando de 1,46 a 3,25 na avaliação de controle visual e de 3,67 a 6,31 na avaliação de massa seca de parte aérea. Os biótipos que apresentaram maior nível de resistência na avaliação de fitotoxicidade foram 28, 108 e 17 (Figura 1), com fator de resistência igual à 3,25, 2,88 e 2,82 respectivamente. Já na avaliação da massa seca, os biótipos que apresentaram maior nível de resistência foram o 194 e 35, com FR_{50} de 6,31 e 5,22 respectivamente. O FR_{50} de uma população de *Plantago lanceolata* ao herbicida 2,4-D foi 6,2 para massa seca (Patton et al, 2018), semelhante ao

encontrado nesse estudo. Já em *Kochia scoparia*, o FR_{50} foi de 12, indicando maiores níveis de resistência (LeClere et al, 2017).



É importante salientar o aparecimento de rápida necrose nos biótipos 28 e 108 após a aplicação de 2,4-D (Figura 2). A rápida necrose é um novo mecanismo de resistência de plantas daninhas à herbicidas (Queiroz et al, 2020). Nesse caso as plantas não apresentam o sintoma clássico de epinastia após a aplicação de 2,4-D, mas sim um sintoma semelhante à necrose, que aparece poucas horas após a aplicação do herbicida (Queiroz et al, 2020). Nos demais herbicidas, apenas o sintoma de epinastia foi observado.

Figure 2- Biotype 108 1 hour after 2,4-D application



4.1.2 Resposta dos biótipos de buva a dose resposta do herbicida dicamba

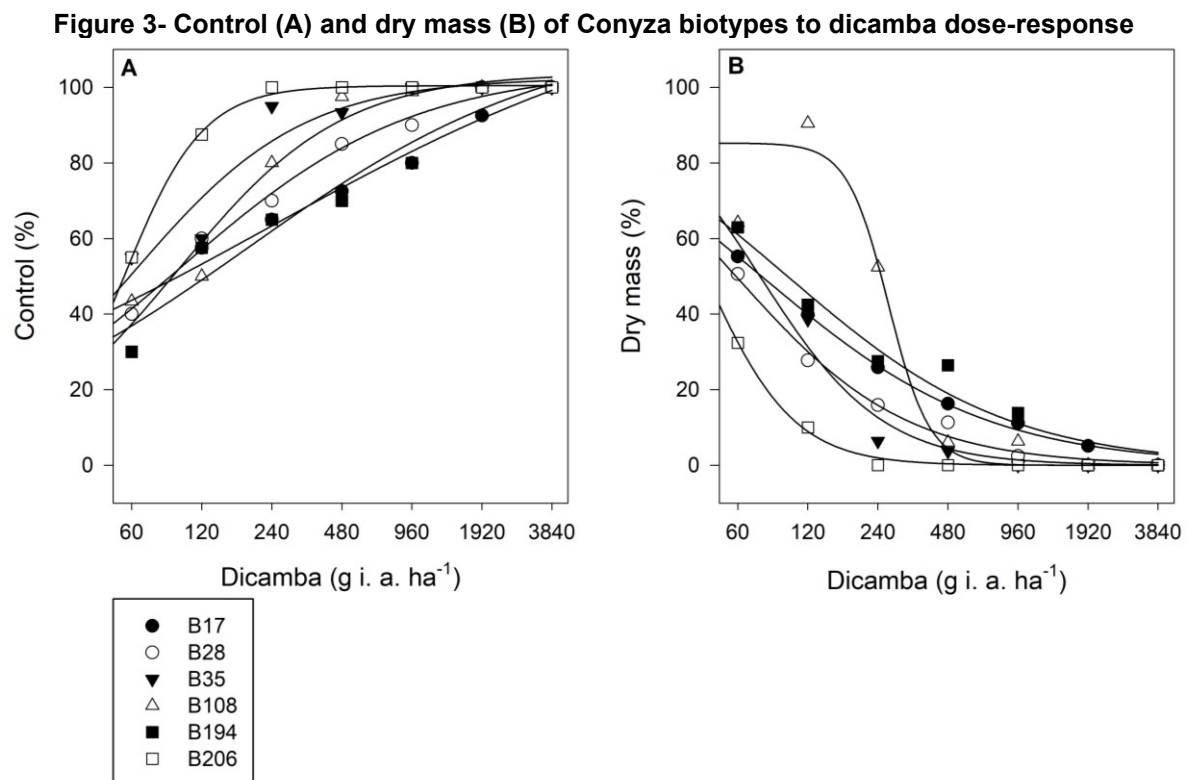
Os resultados foram diferentes para o herbicida dicamba. Além do biótipo suscetível (206), outros dois não atenderam aos critérios e não foram considerados resistentes (Tabela 6 e Figura 3). O biótipo 35 de Mamboré-PR não atendeu nenhum dos três critérios para a variável controle. Já o biótipo 108 de Assis Chateaubriand-PR apresentou $FR_{50} > 1$ mas não atendeu ao 2º e 3º critério, tendo C_{90} e GR_{90} menor que a maior dose recomendada para a espécie ($720 \text{ g a.i. ha}^{-1}$). Para esses biótipos não foram observadas ao final do experimento plantas sobreviventes a dose recomendada.

Os Biótipos 17, 28 e 194 atenderam a todos os critérios. Os FR_{50} mesmos variam de 1,61 a 2,42 e 1,35 a 3,01 para as variáveis controle aos 42 DAA e massa seca respectivamente. Maiores níveis de resistência foram observados em *Kochia scoparia*, que apresentou Fator de Resistência de 38 (LeClere et al, 2017). Já em diferentes populações de *Raphanus raphanistrum*, foram observados diferentes níveis de resistência ao dicamba, com Fatores de Resistência variando de 2 a 32 (Goggin et al, 2018).

Table 6- Rate of dicamba require to control 50% and 90% (C_{50} and C_{90}) of the biotype (42 DAA) or to reduce shoot dry mass by 50% and 90% (GR_{50} and GR_{90}) and resistance factors (RF_{50}) of six biotypes of *Conyza* spp. Sertão-RS, Brazil, 2020.

% Control							
Biotype	A	C	C_{50} (confidence interval)	C_{90}	R^2	p	RF_{50}
17	100	-0,66	116 (94-138)	2678	0,98	<0,0001	2,08*
28	100	-1,05	90 (84-97)	732	0,98	<0,0001	1,62*
35	100	-1,36	54 (50-58)	272	0,98	<0,0001	0,97 ^{ns}
108	100	-1,41	90 (83-96)	427	0,98	<0,0001	1,61*
194	100	-0,87	135 (119-151)	1553	0,98	<0,0001	2,42*
206	100	-2,64	56 (52-60)	128	0,95	<0,0001	---
Dry Mass							
Biotype	A	GR	GR_{50} (confidence interval)	C_{90}	R^2	p	RF_{50}
17	100	0,95	76 (64-88)	769	0,94	<0,0001	1,74*
28	100	1,19	59 (51-67)	373	0,95	<0,0001	1,35*
35	100	1,70	71 (63-78)	257	0,95	<0,0001	1,62*
108	92	2,17	169 (144-194)	465	0,90	<0,0001	3,87*
194	100	1,26	131 (112-150)	751	0,93	<0,0001	3,01*
206	100	2,29	44 (37-50)	114	0,95	<0,0001	---

* C_{50}/GR_{50} are different from susceptible; ^{ns} C_{50}/GR_{50} not significant



4.1.3 Resposta dos biótipos de buva a dose resposta do herbicida triclopyr

O herbicida triclopyr foi o que apresentou menos biótipos resistentes. Apenas o 17 e 194 atenderam a todos os critérios para se enquadrarem como resistentes

(Tabela 7, Figura 4). Isso pode ser atribuído ao fato desse herbicida ser pouco difundido para controle de buva, comparado com o 2,4-D por exemplo, devido a isso possui uma menor taxa de uso e conseqüentemente uma menor pressão de seleção. Os demais biótipos apresentaram C_{90} menor que a maior dose de bula (960 g a.e. ha⁻¹), o biótipo 108 não apresentou FR significativo para nenhuma das avaliações e o 28 para a avaliação de massa seca.

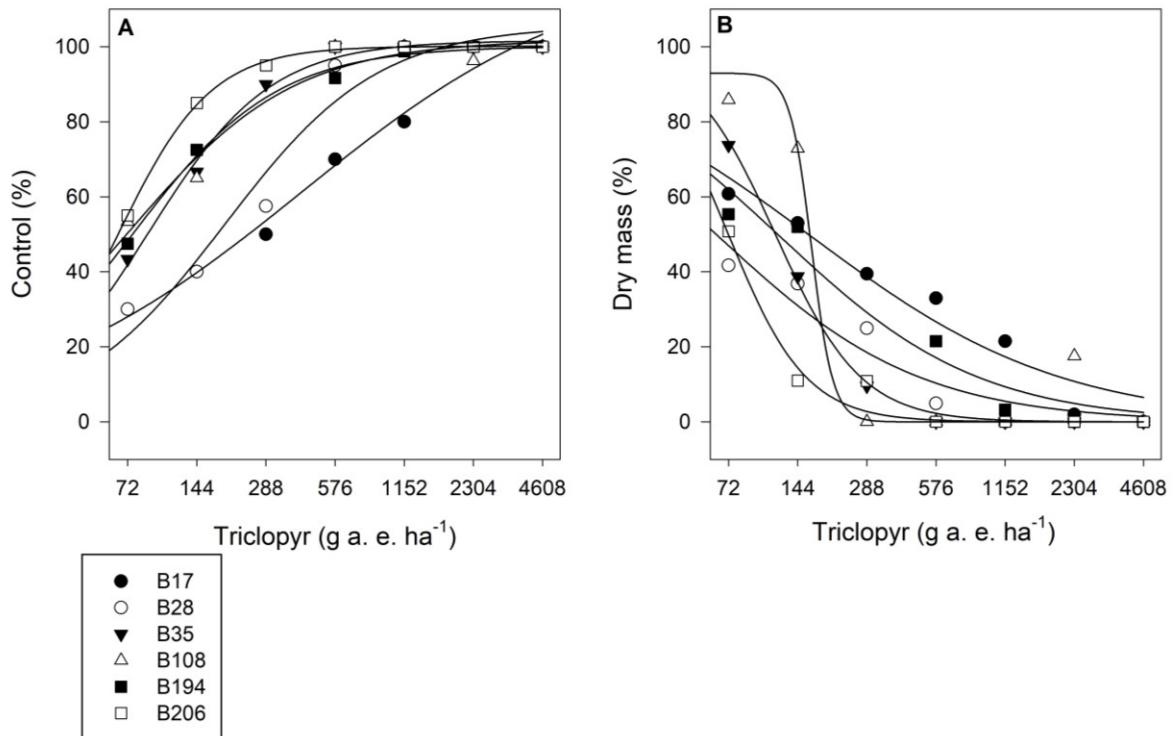
Table 7- Rate of Triclopyr require to control 50% and 90% (C_{50} and C_{90}) of the biotype (42 DAA) or to reduce shoot dry mass by 50% and 90% (GR_{50} and GR_{90}) and resistance factors (RF_{50}) of six biotypes of *Conyza* spp. Sertão-RS, Brazil, 2020.

% Control							
Biotype	A	C	C_{50} (confidence interval)	C_{90}	R^2	P	RF_{50}
17	100	-0,83	276 (188-364)	3897	0,92	<0,0001	4,23*
28	100	-1,46	174 (158-189)	782	0,96	<0,0001	2,66*
35	100	-2,26	106 (95-116)	279	0,93	<0,0001	1,62*
108	100	-1,66	77 (69-86)	290	0,94	<0,0001	1,18 ^{ns}
194	100	-1,38	88 (81-94)	430	0,98	<0,0001	1,34*
206	100	-1,66	65 (61-70)	245	0,98	<0,0001	---
Dry mass							
Biotype	A	C	GR_{50} (confidence interval)	GR_{90}	R^2	P	RF_{50}
17	99	0,80	165 (137-193)	2568	0,93	<0,0001	2,30*
28	100	0,98	64 (52-77)	605	0,93	<0,0001	0,90 ^{ns}
35	100	2,36	115 (102-129)	293	0,91	<0,0001	1,61*
108	100	1,53	70 (56-85)	296	0,88	<0,0001	0,98 ^{ns}
194	99	1,05	123 (96-149)	997	0,91	<0,0001	1,72*
206	100	2,54	72 (65-78)	170	0,93	<0,0001	---

* C_{50}/GR_{50} are different from susceptible; ^{ns} C_{50}/GR_{50} not significant

O biótipo 17 apresentou FR igual a 4,23 e 2,30 para controle aos 42 DAA e massa seca respectivamente, enquanto os FRs do biótipo 194 foram 1,34 e 1,72 (Tabela 7). Dessa forma pode-se afirmar que o biótipo 17 possui um nível de resistência maior e conseqüentemente requer maiores doses para controlar as plantas do que o biótipo 194.

Figure 5- Control (A) and dry mass (B) of *Conyza* biotypes to triclopyr dose-response



4.1.4 Resposta dos biótipos de buva a dose resposta do herbicida florpirauxifen-benzil

Quando analisada a resposta dos biótipos à aplicação de florpirauxifen-benzil apenas o biótipo suscetível não atendeu aos critérios. Porém, cabe ressaltar que esse herbicida não tem recomendação e não é utilizado para controle de buva, Dessa forma, os biótipos não podem ser considerados resistentes. Optou-se pelo uso desse herbicida pois o mesmo pertence a um grupo químico diferente dos demais, assim a pesquisa pode abranger quatro grupos químicos das auxinas disponíveis para comercialização no Brasil.

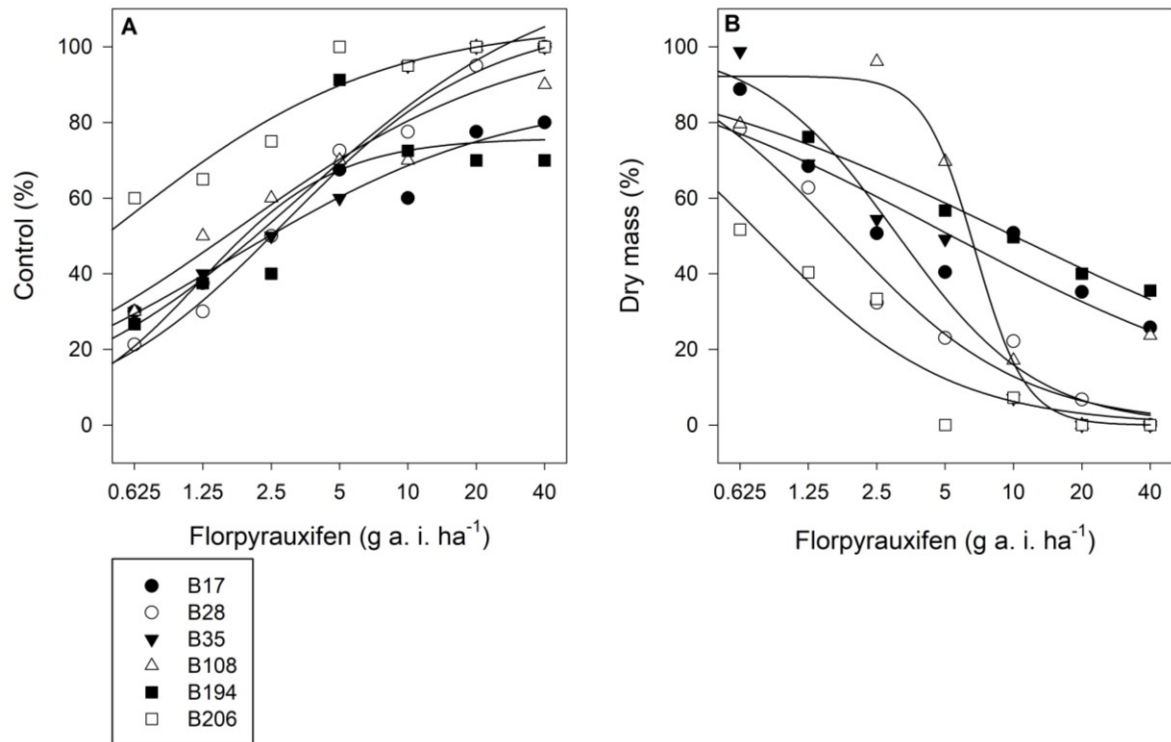
A dose de 5 g a.i. ha⁻¹ foi considerada como dose recomendada. Nessas condições, mesmo o biótipo suscetível apresentou C₉₀ maior que a dose recomendada e os demais biótipos apresentaram plantas sobreviventes das maiores doses utilizadas. Diante disso, esse herbicida não é uma opção de controle químico para buva quando aplicado nas dosagens testadas, nem mesmo quando não ha a presença de resistência.

Table 8- Rate of florpirauxifen-benzil require to control 50% and 90% (C_{50} and C_{90}) of the biotype (42 DAA) or to reduce shoot dry mass by 50% and 90% (GR_{50} and GR_{90}) and resistance factors (RF_{50}) of six biotypes of *Conyza* spp. Sertão-RS, Brazil, 2020.

% Control							
Biotype	A	C	C_{50} (confidence interval)	C_{90}	R^2	P	RF_{50}
17	100	-0,50	3,1 (1,6-4,4)	269	0,99	<0,0001	6,10*
28	100	-1,02	2,7 (2,2-3,2)	23	0,95	<0,0001	5,36*
35	100	-1,10	2,0 (1,7-2,4)	15	0,95	<0,0001	4,08*
108	91	-0,77	1,2 (1,1-1,4)	264	0,97	<0,0001	2,46*
194	77	-0,89	1,4 (1,2-1,6)	13	0,96	<0,0001	2,80*
206	100	-0,96	0,5 (0,4-0,6)	5	0,96	<0,0001	---
Dry Mass							
Biotype	A	C	GR_{50} (confidence interval)	GR_{90}	R^2	P	RF_{50}
17	100	0,58	7,0 (4,9-9,0)	307	0,83	<0,0001	9,65*
28	100	1,04	2,2 (1,8-2,6)	18	0,90	<0,0001	3,06*
35	100	1,55	2,8 (2,3-3,4)	12	0,84	<0,0001	3,93*
108	99	0,99	9,2 (6,5-11,9)	84	0,81	<0,0001	12,74*
194	100	0,49	4,6 (3,5-5,8)	423	0,92	<0,0001	6,44*
206	99	0,72	0,7 (0,6-0,9)	15	0,91	<0,0001	----

* C_{50}/GR_{50} are different from susceptible

Figure 6- Control (A) and dry mass (B) of *Conyza* biotypes to florpirauxifen-benzil dose-response



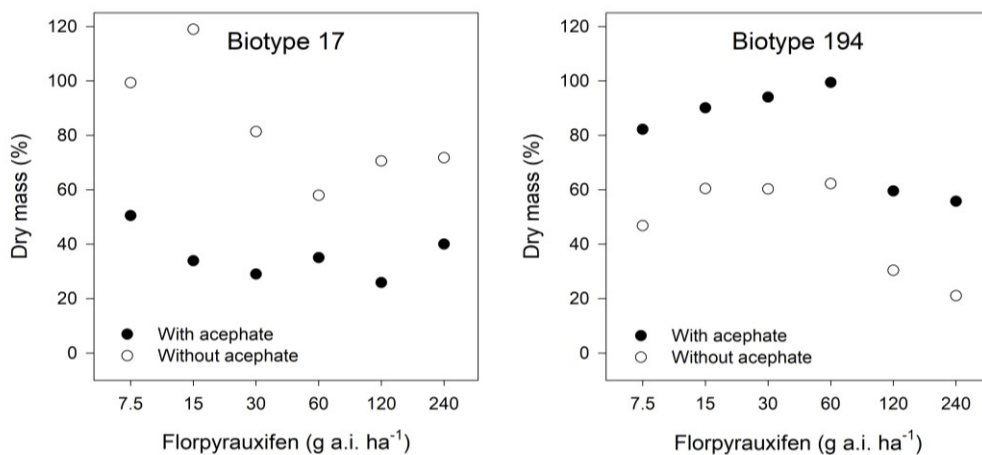
Na variável controle aos 42 DAA o FR_{50} variou de 2,46 a 6,10 (Tabela 8). Para massa seca apresentaram a maior amplitude observada no experimento, variando de

3,06 a 12,74, sendo o último o maior os FR_{50} observado no experimento, pertencendo ao biótipo 108, que juntamente com o 17 e 194, teve plantas sobreviventes nas maiores doses estudadas (Figura 6). O herbicida florpirauxifen é amplamente utilizado para controle de *Echinonchloa crus-galli* em arroz. Populações de *E. crus-galli* da região sul dos Estados Unidos apresentaram fatores de resistência que variaram de 1,6 a 59,9 para esse herbicida (Hwang et al, 2021).

4.2 Metabolização dos herbicidas auxínicos mediadas por enzimas do citocromo P450

Os dados obtidos nas curvas doses resposta com e sem acephate se ajustaram ao modelo logístico de três parâmetros, com valores de R^2 próximos a 1 e a significância dos do ajuste (p-value) menor que 0,05, com exceção aos dados de massa seca para o herbicida florpirauxifen dos biótipos 17 e 194. A massa seca dos biótipos B17 e 194 não se ajustou ao modelo pois houve um acréscimo na massa seca nas doses menores (Figura 7), podendo estar relacionada com o efeito hormético. Hormese é efeito estimulatório de uma substância tóxica quando utilizada em subdoses (Belz & Duke, 2014). Herbicidas auxínicos podem estimular o crescimento em concentrações baixas, devido aos seus locais de ação (Belz & Luke, 2014).

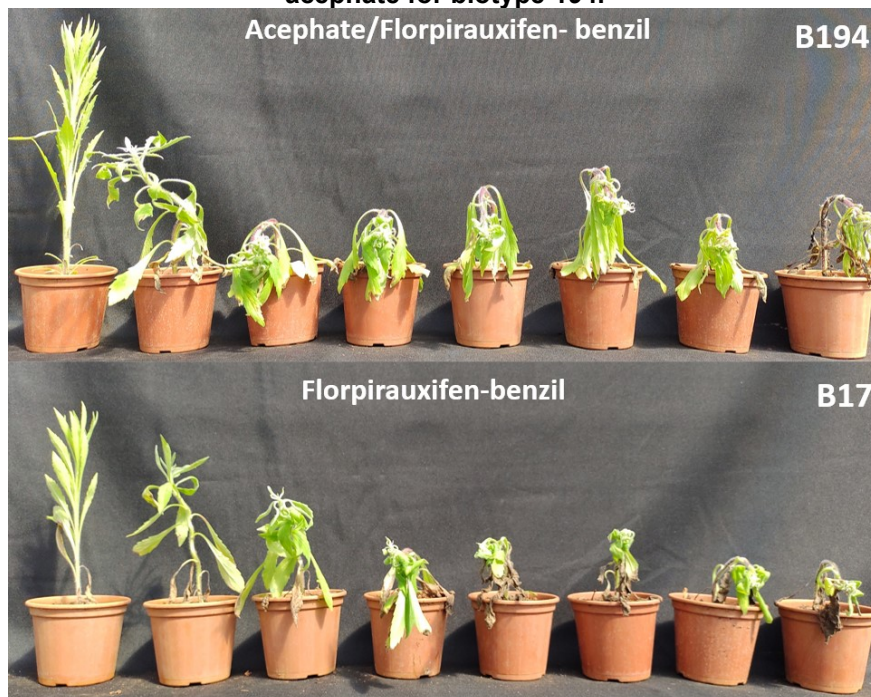
Figure 7- Florpyrauxifen-benzil dose response for biotype 17 and 194.



Para o biótipo 17 o efeito hormético foi observado na dose resposta com acephate, sendo a dose de 15 g a.i. ha⁻¹ que apresentou maior produção de massa seca. Enquanto, para o biótipo 194, o efeito hormético foi observado na curva dose resposta sem acephate, com maior produção de massa seca na dose de 60 g a.i. ha⁻¹ (Figura 8). Biótipos de *Conyza sumatrensis* resistente a glyphosate também

apresentaram efeito hormético em doses baixas do produto, tendo sua altura aumentada nas doses de 45, 90 e 180 g a.i. ha⁻¹, e aumento do número total de flores nas doses de 90 a 360 g a.i. ha⁻¹ (Gomes, 2014). Plantas resistentes à herbicidas podem ter seu crescimento estimulado nas doses recomendadas do herbicida que apresenta resistência, já que a dose recomendada se torna baixa para esses biótipos (Belz & Luke, 2014).

Figure 8- Florpyrauxifen-benzil dose response with acephate for biotype 17 and without acephate for biotype 194.



As enzimas do citocromo P450 atuam na primeira fase da metabolização dos herbicidas (Gaines et al, 2020). Os inseticidas organofosforados como o acephate e o malathion são conhecidos por inibir essas enzimas nas plantas e consequentemente interromper a metabolização. Nesse estudo não foram observadas diferenças significativas para o biótipo 17, 108 e 206 em nenhum dos herbicidas testados entre a curva dose-resposta com ou sem acephate (Tabela 9, 10 e 11), dessa forma, o inibidor não indicou a ocorrência metabolização mediada pelas enzimas do citocromo P450. O pré-tratamento com malathion não teve efeito na capacidade de metabolização de 2,4-D por *Raphanus raphanistrum* L., tanto na população resistente como na suscetível (Goggin, 2016). Já para *Amarantus tuberculatus*, o malathion reduziu a metabolização do herbicida 2,4-D tanto na população suscetível como na população resistente (Figueiredo et al, 2017).

Table 9- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C₅₀ and C₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR₅₀) of the biotype 17. Sertão-RS, Brazil, 2021.

Biotype 17									
Herbicide	Variable	Acephate	A	C	C ₅₀ or GR ₅₀	C ₉₀	R ²	p	
2,4-D	Control (%)	no	100	-1,4	702 (610-793)	3261	0,95	<0,0001	ns
		yes	100	-1,2	648 (521-775)	4379	0,93	<00001	ns
	Dry mass (%)	no	98	0,8	394 (310-479)	5940	0,89	<0,0001	ns
		yes	100	1,3	324 (280-367)	1777	0,93	<0,0001	ns
Dicamba	Control (%)	no	100	-1,1	158 (147-170)	1189	0,98	<0,0001	ns
		yes	100	-1,0	160 (144-176)	1377	0,98	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	1,0	131 (117-145)	1086	0,96	<0,0001	ns
		yes	99	0,9	129 (111-148)	1339	0,94	<0,0001	ns
Triclopyr	Control (%)	no	100	-0,9	852 (654-1051)	9050	0,94	<0,0001	ns
		yes	100	-0,9	716 (414-1018)	9213	0,92	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	0,6	203 (154-253)	7449	0,89	<0,0001	ns
		yes	100	0,6	236 (181-290)	8639	0,89	<0,0001	ns
Florpirauxife n-benzil	Control (%)	no	65	-0,8	6 (4-7)	30	0,87	<0,0001	ns
		yes	79	-0,4	8 (0-16)	1060	0,93	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	0,3	7 (2-14)	1084 2	0,74	<0,0001	ns
		yes	78	0,4	149 (-4-301)	6650 3	0,3	0,0060	ns

^{ns} C₅₀/GR₅₀ between with and without acephate not significant

Table 10- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C₅₀ and C₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR₅₀) of the biotype 108. Sertão-RS, Brazil, 2021.

Biotype 108									
Herbicide	Variable	Acephate	A	C	C ₅₀ or GR ₅₀	C ₉₀	R ²	p	
2,4-D	Control (%)	no	94	-2,4	816 (700-933)	3118	0,87	<0,0001	ns
		yes	97	-2,6	983 (899-1067)	2681	0,94	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	1,4	776 (639-913)	3952	0,87	<0,0001	ns
		yes	95	1,5	793 (694-892)	3500	0,93	<0,0001	ns
Dicamba	Control (%)	no	100	1,1	172 (156-187)	1312	0,98	<0,0001	ns
		yes	100	1,1	170 (155-185)	1353	0,98	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	99	1,0	385 (326-444)	3888	0,93	<0,0001	ns
		yes	94	1,0	372 (295-449)	3203	0,87	0,0004	ns
Triclopyr	Control (%)	no	100	-1,0	466 (336-597)	4388	0,93	<0,0001	ns
		yes	94	-1,1	382 (320-444)	6544	0,96	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	0,8	248 (207-289)	4645	0,93	<0,0001	ns
		yes	100	0,7	245 (188-292)	6850	0,92	<0,0001	ns
Florpirauxife n-benzil	Control (%)	no	100	-0,7	34 (14-54)	869	0,94	<0,0001	ns
		yes	145	-0,7	29 (20-38)	674	0,97	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	0,6	18 (134-22)	834	0,89	<0,0001	ns
		yes	100	0,5	30 (23-37)	2222	0,87	<0,0001	ns

^{ns} C₅₀/GR₅₀ between with and without acephate not significant

Table 11- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C₅₀ and C₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR₅₀) of the biotype 206. Sertão-RS, Brazil, 2021.

Biotype 206									
Herbicide	Variable	Acephate	A	C	C ₅₀ or GR ₅₀	C ₉₀	R ²	p	
2,4-D	Control (%)	no	100	-1,0	125 (90-159)	1201	0,83	<0,0001	ns
		yes	100	-2,1	134 (123-146)	375	0,94	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	1,0	65 (43-86)	396	0,92	<0,0001	ns
		yes	100	1,7	86 (75-97)	403	0,97	<0,0001	ns
Dicamba	Control (%)	no	100	-1,1	56 (49-64)	423	0,95	<0,0001	ns
		yes	100	-1,2	65 (56-74)	408	0,94	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	1,0	37 (28-46)	375	0,94	<0,0001	ns
		yes	100	1,4	44 (38-51)	223	0,96	<0,0001	ns
Triclopyr	Control (%)	no	100	-1,2	85 (76-94)	557	0,95	<0,0001	ns
		yes	100	-1,5	71 (65-78)	320	0,96	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	1,1	50 (44-57)	399	0,98	<0,0001	ns
		yes	100	1,4	51 (42-61)	242	0,94	<0,0001	ns
Florpirauxifen-benzil	Control (%)	no	100	-1,5	4 (3-4)	16	0,94	<0,0001	ns
		yes	100	-3,4	4 (4-40)	7	0,98	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	1,5	2 (2-3)	10	0,98	<0,0001	ns
		yes	100	1,2	1 (1-2)	8	0,97	<0,0001	ns

^{ns} C₅₀/GR₅₀ between with and without acephate not significant

Para o biótipo 35 em ambas as variáveis, o herbicida triclopyr apresentou diferença significativa entre as curvas com ou sem o acephate (Tabela 12), demonstrando precisar de doses maiores para controlar 50% da população na presença do inibidor das enzimas do citocromo P450, comportamento oposto do esperado, já que com a inibição dessas enzimas espera-se que o C₅₀ diminua. O biótipo 35 não apresentam diferença significativa para nenhum outro herbicida.

Table 12- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C₅₀ and C₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR₅₀) of the biotype 35. Sertão-RS, Brazil, 2021.

Biotype 35									
Herbicide	Variable	Acephate	A	C	C ₅₀ or GR ₅₀	C ₉₀	R ²	p	
2,4-D	Control (%)	no	100	-1,8	1539 (1320-1759)	3261	0,95	<0,0001	ns
		yes	100	-1,8	1509 (1321-1697)	4379	0,93	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	1,3	825 (671-979)	4654	0,87	<0,0001	ns
		yes	100	1,4	704 (600-807)	3627	0,91	<0,0001	ns
Dicamba	Control (%)	no	100	-1,6	191 (169-213)	773	0,93	<0,0001	ns
		yes	100	-1,5	190 (172-209)	801	0,95	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	85	4,7	314 (290-338)	500	0,93	<0,0001	ns
		yes	95	1,1	259 (204-315)	2102	0,87	<0,0001	ns
Triclopyr	Control (%)	no	99	-1,5	264 (248-280)	1200	0,99	<0,0001	*
		yes	105	-1,6	416 (363-469)	1259	0,99	<0,0001	*
	Dry mass (%)	no	100	0,9	214 (182-246)	2528	0,93	<0,0001	*
		yes	98	1,4	333 (293-373)	1530	0,94	<0,0001	*
		no	100	-1,3	10 (9-11)	51	0,97	<0,0001	ns

Herbicide	Variable	Acephate	Biotype 35				R ²	p	
			A	C	C ₅₀ or GR ₅₀	C ₉₀			
Florpirauxifen- benzil	Control (%)	yes	99	-1,7	8 (7-9)	33	0,95	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	100	1,4	18 (16-19)	83	0,96	<0,0001	ns
		yes	100	0,9	14 (12-16)	163	0,94	<0,0001	ns

*C₅₀/GR₅₀ between with and without acephate are significant; ^{ns} C₅₀/GR₅₀ between with and without acephate not significant

Figure 9- Triclopyr dose response with acephate and without acephate for biotype 35.



O biótipo 194 apresentou diferença significativa entre as curvas com e sem acephate para a variável massa seca no herbicida triclopyr, com redução de 3 vezes no GR₅₀ na presença do acephate (Tabela 13). A maior produção de massa seca na ausência do inibidor se deu devido a maior ocorrência de rebrote nas plantas. O biótipo continuou sendo caracterizado como resistente mesmo na presença de acephate. Para os demais herbicidas não foram observadas diferenças significativas entre as curvas.

Figure 10- Triclopyr dose response with acephate and without acephate for biotype 194.

Table 13- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C_{50} and C_{90}) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR_{50}) of the biotype 194. Sertão-RS, Brazil, 2021.

Biotype 194									
Herbicide	Variable	Acephate	A	C	C_{50} or GR_{50}	C_{90}	R^2	p	
2,4-D	Control (%)	no	100	-1,1	723 (612-834)	5234	0,96	<0,0001	ns
		yes	100	-1,0	543 (452-633)	5108	0,96	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	96	0,9	869 (670-1068)	10552	0,87	<0,0001	ns
		yes	100	0,9	701 (561-842)	7445	0,88	<0,0001	ns
Dicamba	Control (%)	no	100	-0,8	195 (152-338)	3267	0,96	<0,0001	ns
		yes	100	-0,8	172 (122-223)	2689	0,92	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	99	0,7	184 (151-218)	3888	0,93	<0,0001	ns
		yes	100	0,8	149 (118-179)	3203	0,87	<0,0001	ns
Triclopyr	Control (%)	no	100	-0,7	573 (285-860)	11622	0,93	<0,0001	ns
		yes	100	-0,8	562 (350-774)	7929	0,93	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	99	0,6	470 (365-576)	14567	0,90	<0,0001	*
		yes	100	0,5	155 (116-193)	18371	0,92	<0,0001	*
Florpirauxifen-benzil	Control (%)	no	100	-0,4	46 (-35-128)	8693	0,94	<0,0001	ns
		yes	100	-0,5	31 (-27-89)	4114	0,98	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	no	90	1,8	280 (195-365)	949	0,30	0,0071	Ns
		yes	92	2,7	183 (157-208)	415	0,58	<0,0001	ns

* C_{50}/GR_{50} between with and without acephate are significant; ^{ns} C_{50}/GR_{50} between with and without acephate not significant

O biótipo 28 apresentou diferença significativa para a variável massa seca no herbicida 2,4-D, com redução de 2 vezes no GR₅₀ na presença de tratamento com acephate anteriormente à aplicação do herbicida, passando de 315 g a.e. ha⁻¹ para 159 g de a.e. ha⁻¹ de 2,4-D (Tabela 14). Espécies sensíveis metabolizam o 2,4-D através de conjugação direta, resultando em metabolitos fitotóxicos à planta, enquanto espécies tolerantes metabolizam esse herbicida através de hidroxilação, resultando em metabolitos não fitotóxicos (Peterson et al, 2016). O processo de hidroxilação em espécies tolerantes ao 2,4-D são mediados pelas enzimas do citocromo P450 (Hatzios et al. 2005). *Amarantus tuberculatus* resistente ao herbicida 2,4-D teve uma redução de 7 vezes no GR₅₀ quando houve o pré-tratamento com malathion seguido pela aplicação de 2,4-D, redução que tornou o GR₅₀ da população resistente semelhante a suscetível (Figueiredo et al, 2017).

Table 14- Rate of herbicide require to control 50% and 90 % at 42 DAA (C₅₀ and C₉₀) or to reduce shoot dry mass by 50% (GR₅₀) of the biotype 28. Sertão-RS, Brazil, 2021.

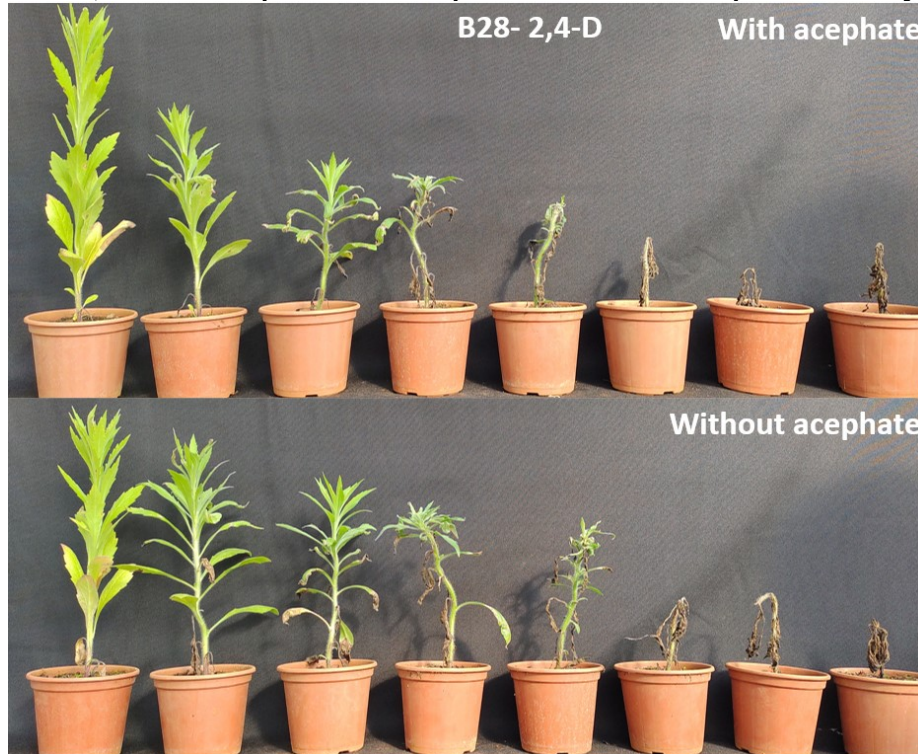
Biotype 28									
Herbicide	Variable	Acephate	A	C	C ₅₀ or GR ₅₀	C ₉₀	R ²	p	
2,4-D	Control (%)	No	100	-1,9	406 (381-431)	1324	0,98	<0,0001	ns
		Yes	100	-1,8	376 (356-396)	1319	0,98	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	No	100	1,4	315 (274-357)	1466	0,93	<0,0001	*
		Yes	100	1,0	159 (143-175)	1399	0,97	<0,0001	*
Dicamba	Control (%)	No	100	-1,6	126 (120-131)	480	0,98	<0,0001	ns
		Yes	100	-1,7	115 (110-120)	410	0,98	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	No	100	1,0	82 (71-92)	703	0,95	<0,0001	ns
		Yes	100	1,1	64 (57-71)	438	0,97	<0,0001	ns
Triclopyr	Control (%)	No	100	-2,1	533 (487-579)	1541	0,96	<0,0001	ns
		Yes	100	-1,9	527 (489-565)	1686	0,97	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	No	98	0,9	251 (208-295)	3053	0,93	<0,0001	ns
		Yes	100	0,9	214 (182-246)	2528	0,92	<0,0001	ns
Florpirauxifen-benzil	Control (%)	No	100	-1,2	12 (9-14)	70	0,89	<0,0001	ns
		Yes	100	-0,7	16 (7-25)	366	0,88	<0,0001	ns
	Dry mass (%)	No	99	1,0	7 (5-9)	70	0,88	<0,0001	ns
		Yes	100	0,7	7 (5-9)	185	0,84	<0,0001	ns

*C₅₀/GR₅₀ between with and without acephate are significant; ns C₅₀/GR₅₀ between with and without acephate not significant

Apesar de apresentar diferença significativa, o biótipo 28 continuou atingindo os três critérios utilizados para ser caracterizado como resistente mesmo na presença do acephate, indicando que a metabolização pode estar relacionada com a resistência, mas de forma isolada não é responsável pela mesma. A principal causa

de resistência nesse biótipo é a rápida necrose, descrita pela primeira vez em plantas de *Ambrosia trifida* resistente a glyphosate (Horn et al, 2016). Em *Ambrosia trifida* não foi testado se a metabolização do herbicida influenciou na resposta da planta às doses do glyphosate. O biótipo 108 que também apresenta rápida necrose não apresentou redução no GR₅₀ na presença de acephate.

Figure 11- 2,4-D dose response with acephate and without acephate for biotype 28.



O herbicida 2,4-D é amplamente utilizado no sul do Brasil para controlar buva e outras plantas daninhas de folha larga na cultura do trigo, para esse fim são utilizadas doses menores do produto, a fim de evitar fitotoxicidade na cultura. Quando doses baixas de herbicidas são utilizadas, há uma menor mortalidade das plantas, podendo ser atribuída à características genéticas que conferem resistência à baixas doses, geralmente devido a capacidade de metabolização suficiente quando em baixas concentrações (Yu and Powles, 2014). Os genes que codificam as enzimas responsáveis pela metabolização de herbicidas são selecionados em baixas doses, podendo aumentar consideravelmente na população em poucas gerações, resultando em altos níveis de resistência (Yu and Powles, 2014).

Apesar da metabolização de herbicidas auxínicos pelas enzimas do citocromo P450 ter sido observada em outras espécies e não apresentar grande influência nos biótipos estudados nesse experimento, a metabolização como forma de

mecanismo de resistência não pode ser descartada. Isso por que a principal forma de inativação da auxina endógena (IAA) da planta é através da conjugação (Anagnostopulos, et al, 2020). As enzimas responsáveis pela conjugação de IAA não foram avaliadas nesse estudo e podem estar relacionadas com a inativação dos herbicidas auxínicos e conseqüentemente contribuírem para a resistência (Busi et al, 2018).

Outro ponto a ser observado é que, de maneira geral, a dose necessária para controlar 50% da população (C_{50}) aumentou nesse experimento comparado com as doses respostas. Dessa forma podemos caracterizar a resistência observada nos biótipos como hereditária, uma vez que as plantas utilizadas nesse experimento são oriundas de sementes das plantas sobreviventes às doses respostas.

4.3 Controle alternativo

4.3.1 Mistura em tanque de glufosinate com herbicidas inibidores da PROTOX

A prática de misturas em tanque para controle de plantas daninhas resistentes é amplamente aderida pelos agricultores no Brasil e no Mundo. Nos últimos anos a mistura de glufosinate com herbicidas inibidores da Protoporphyrinogen Oxidase (PPO ou PROTOX) vem ganhando destaque para o controle de buva. Nesse estudo foram utilizados diferentes herbicidas inibidores da PROTOX em mistura com glufosinate comparando seu desempenho com glufosinate isolado. Os cinco biótipos estudados tiveram 100% de controle aos 49 DAA em todos os tratamentos, inclusive quando aplicado glufosinate de forma isolada, diferindo apenas da testemunha (Tabela 15). Importante salientar que no momento da aplicação as plantas possuíam de 15 a 20 cm e os biótipos não apresentam histórico de falha de controle com uso de glufosinate.

O glufosinate é classificado como um inibidor da Glutamina Sintetase (GS), enzima responsável pela incorporação de amônia ao glutamato para produzir glutamina (HRAC, 2022). Diferente dos outros herbicidas que inibem a biossíntese de aminoácidos, o glufosinate é um herbicida de contato, não seletivo e com grande espectro de controle, causando danos nas plantas poucas horas após a aplicação (Takano et al, 2019). De maneira geral, essas características se dão devido a rápida geração e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) após a aplicação do herbicida, uma vez que a inibição da GS e conseqüente acúmulo de amônia não são

suficientes para causar injurias nas plantas (Takano, et al, 2019). Os herbicidas inibidores da PPO também são classificados como herbicidas de contato e atuam inibindo a enzima PPO levando ao acúmulo de protogênio que posteriormente é oxidado a proto, que por sua vez se concentra na membrana plasmática causando rápido dano à célula (Dayan et al, 2019).

Por tratar-se de plantas pequenas, o principal benefício dessa mistura foi o controle mais rápido das plantas, principalmente na associação de glufosinate com saflufenacil ou carfentrazone, apresentando controles superiores a 90% aos 7 DAA, diferindo dos demais tratamentos em todos os biótipos, com exceção ao glufosinate + carfentrazone para o biótipo 194 que diferiu apenas da testemunha e do glufosinate isolado (Tabela 15). A combinação de glufosinate e inibidores de PROTOX proporcionou maior atividade herbicida em comparação com os produtos aplicados individualmente (Takano et al, 2020). O controle de buva à campo geralmente não é feito no estágio recomendado, e sim quando as plantas estão mais desenvolvidas, dessa forma o glufosinate sozinho não tem um controle satisfatório e a mistura com herbicidas inibidores da PROTOX além de entregar um controle mais rápido pode proporcionar um controle superior do que os herbicidas de forma isolada.

A inibição da GS pelo glufosinate causa um acúmulo transitório de glutamato, que é precursor da biossíntese da clorofila (Takano et al, 2020). Já a aplicação de herbicidas inibidores da PROTOX leva a inibição da biossíntese de clorofila e consequente acúmulo de proto, que é intensificado na presença de glufosinate (Takano et al, 2020). Dessa forma, o sinergismo dessa mistura resulta do acúmulo de proto a níveis mais elevados quando comparado com a aplicação dos herbicidas de forma isolada (Takano et al, 2020). O acúmulo de proto em níveis elevados resulta em geração de ROS e consequentemente peroxidação lipídica (Dayan et al, 2019). Além da sinergia no controle, a adição de herbicidas inibidores da PROTOX ao glufosinate pode ajudar a superar os efeitos negativos que as condições ambientais exercem sob o glufosinate, uma vez que o mesmo é dependente de luz solar para ter um bom funcionamento e é fortemente influenciado pela temperatura ambiental (Takano et al, 2019).

Table 15- Visual control (%) of *Conyza* spp. at 7, 28 and 49 DAA, and dry mass as a function of different herbicides combined. Sertão-RS 2022

Biotype 17				
Treatment	7 DAA	28 DAA	49 DAA	Dry mass
Untreated	0 c	0 c	0 b	2,93 a
Glufosinate	86 b	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + saflufenacil	100 a	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + carfentrazone	95 a	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + fomesafen	86 b	99 a	100 a	0 b
Glufosinate + flumioxazin	85 b	97 b	100 a	0 b
Biotype 28				
Treatment	7 DAA	28 DAA	49 DAA	Dry mass
Untreated	0 d	0 b	0 b	2,96 a
Glufosinate	90 c	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + saflufenacil	100 a	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + carfentrazone	99 a	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + fomesafen	95 b	99 a	100 a	0 b
Glufosinate + flumioxazin	95 b	100 a	100 a	0 b
Biotype 35				
Treatment	7 DAA	28 DAA	49 DAA	Dry mass
Untreated	0 d	0 b	0 b	2,7 a
Glufosinate	85 c	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + saflufenacil	100 a	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + carfentrazone	100 a	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + fomesafen	89 b	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + flumioxazin	89 b	99 a	100 a	0 b
Biotype 108				
Treatment	7 DAA	28 DAA	49 DAA	Dry mass
Untreated	0 d	0 b	0 b	3,1 a
Glufosinate	85 c	99 a	100 a	0 b
Glufosinate + saflufenacil	99 a	97 a	100 a	0 b
Glufosinate + carfentrazone	96 a	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + fomesafen	90 b	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + flumioxazin	90 b	100 a	100 a	0 b
Biotype 194				
Treatment	7 DAA	28 DAA	49 DAA	Dry mass
Untreated	0 d	0 b	0 b	2,7 a
Glufosinate	79 c	97 a	100 a	0 b
Glufosinate + saflufenacil	95 a	100 a	100 a	0 b
Glufosinate + carfentrazone	90 ab	99 a	100 a	0 b
Glufosinate + fomesafen	85 b	99 a	100 a	0 b
Glufosinate + flumioxazin	86 b	97 a	100 a	0 b

Means followed by the same letters in the column do not differ statistically by Tukey's test (5%).

4.3.2 Diferentes sequenciais após a aplicação de 2,4-D

Outra prática comumente utilizada, que demonstra eficiência satisfatória para controle de plantas daninhas resistentes ou de difícil controle é a aplicação sequencial.

A aplicação sequencial consiste na utilização de herbicidas geralmente sistêmicos, seguido de uma segunda aplicação utilizando herbicidas de contato num intervalo de tempo que varia de 7 a 21 dias. Nesse experimento foram testados diferentes herbicidas de contato aplicados 10 dias após a aplicação de 2,4-D. De maneira geral quando a aplicação sequencial foi realizada o controle dos biótipos foi superior em comparação a aplicação de 2,4-D isolada, independente do herbicida utilizado na segunda aplicação.

Table 16- Visual control (%) of Biotype 17 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.

Treatment	Sequential	Biotype 17				Dry mass
		10 DAA T1*	14 DAA T1	28 DAA T1	49 DAA T1	
		0 DAA T2**	3 DAA T2	17 DAA T2	38 DAA T2	
Untreated	-	0 b	0 g	0 e	0 c	2,9 a
2,4 D	-	50 a	50 f	60 d	63 b	0,3 b
2,4 D	Glufosinate	50 a	80 c	95 ab	100 a	0 b
2,4 D	Glufosinate + S-metolachlor	50 a	80 c	95 ab	100 a	0 b
2,4 D	Bentazon	50 a	50 f	70 c	95 a	0,2 b
2,4 D	Diquat	50 a	93 a	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Diquat + Flumioxazin	50 a	93 a	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Fomesafen	50 a	56 e	70 c	90 a	0,2 b
2,4 D	Saflufenacil	50 a	85 bc	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Flumioxazin	50 a	65 d	70 c	73 b	0,5 b
2,4 D	Glufosinate + Flumioxazin	50 a	91 a	95 ab	100 a	0 b
2,4 D	Glufosinate + imazethapyr + carfentrazone	50 a	87 ab	90 b	100 a	0 b

Means followed by the same letters in the column do not differ statistically by Tukey's test (5%).

*DAA T1- Days after application Timing 1

**DAA T2- Days after application Timing 2

O biótipo 17 apresentou controle de 50% aos 10 dias, antes da aplicação sequencial. Aos 14 DAA T1 alguns tratamentos já apresentam controle satisfatório, se destacando dos demais, sendo eles diquat, diquat + flumioxazin que apresentaram 93% de controle. Glufosinate + flumioxazin e a mistura tripla de glufosinate + imazethapyr + carfentrazone, que controlaram 91 e 87, respectivamente. Na última avaliação os tratamentos que receberam a aplicação sequencial com glufosinate, glufosinate + S-metolachlor, diquat, diquat + flumioxazin, saflufenacil, glufosinate + flumioxazin e glufosinate + imazethapyr + carfentrazone apresentaram 100% de

controle, não diferindo da aplicação com bentazon e fomesafen, que apresentaram 95 e 90% respectivamente. A aplicação de 2,4-D isolada não teve um controle satisfatório, juntamente com a aplicação sequencial de flumioxazin, que apresentaram um controle de 63 e 73% respectivamente (Tabela 16).

O biótipo 28 apresentou controle superior a aplicação isolada de 2,4-D aos 10 DAA T1, variando de 60 a 71%. Esse biótipo apresenta rápida necrose após a aplicação de 2,4-D e estava rebrotando nessa avaliação. Aos 14 DAA T1 os herbicidas diquat, diquat + flumioxazin, e glufosinate+ flumioxazin e glufosinate + imazethapyr + carfentrazone e saflufenacil apresentaram controles superiores a 84%, se destacando dos demais. Na última avaliação apenas a aplicação sequencial com flumioxazin e a aplicação isolada de 2,4-D não apresentaram controle satisfatório, com 65 e 67% de controle respectivamente, diferindo dos demais tratamentos (Tabela 17).

Table 17- Visual control (%) of Biotype 28 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.

Biotype 28						
Treatment	Sequential	10 DAA T1*	14 DAA T1	28 DAA T1	49 DAA T1	Dry mass
		0 DAA T2**	3 DAA T2	17 DAA T2	38 DAA T2	
Untreated	-	0 b	0 e	0 d	0 c	2,96 a
2,4 D	-	60 a	60 d	60 c	67 b	0,21 b
2,4 D	Glufosinate	66 a	80 b	99 a	100 a	0 b
2,4 D	Glufosinate + S-metolachlor	71 a	80 b	98 a	100 a	0 b
2,4 D	Bentazon	67 a	67 c	96 a	100 a	0 b
2,4 D	Diquat	67 a	85 ab	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Diquat + Flumioxazin	64 a	90 a	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Fomesafen	65 a	67 c	93 a	99 a	0,02 b
2,4 D	Saflufenacil	62 a	89 a	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Flumioxazin	64 a	60 d	70 b	65 b	0,33 b
2,4 D	Glufosinate + Flumioxazin	67 a	84 ab	99 a	100 a	0 b
2,4 D	Glufosinate + imazethapyr + carfentrazone	65 a	85 ab	96 a	100 a	0 b

Means followed by the same letters in the column do not differ statistically by Tukey's test (5%).

*DAA T1- Days after application Timing 1

**DAA T2- Days after application Timing 2

Aos 10 DAA T1 o biótipo 35 apresentou 50% de controle. Três dias após a aplicação sequencial (DAA T2), a mistura formulada de diquat + flumioxazin apresentou controle superior aos demais, com 95%. Seguido de diquat isolado e saflufenacil, com 90 e 87%, os demais herbicidas apresentaram controles iguais ou

inferiores a 80% (Tabela 18). Aos 28 DAA T1 apenas 2,4-D sem sequencial, bentazon, fomesafen e flumioxazin não apresentaram controles satisfatórios. Na última avaliação e avaliação de massa seca, apenas a testemunha sem aplicação diferiu dos demais tratamentos. A aplicação de 2,4-D apresentou o controle mais baixo aos 49 DAA T1, com 82%, não diferindo dos demais tratamentos.

Table 18- Visual control (%) of Biotype 35 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.

		Biotype 35				Dry mass
Treatment	Sequential	10 DAA T1*	14 DAA T1	28 DAA T1	49 DAA T1	
		0 DAA T2**	3 DAA T2	17 DAA T2	38 DAA T2	
Untreated	-	0 b	0 g	0 d	0 b	2,70 a
2,4 D	-	50 a	50 f	56 c	82 a	0,27 b
2,4 D	Glufosinate	50 a	80 c	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Glufosinate + S-metolachlor	50 a	80 c	99 a	100 a	0 b
2,4 D	Bentazon	50 a	50 f	80 b	100 a	0 b
2,4 D	Diquat	50 a	90 b	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Diquat + Flumioxazin	50 a	95 a	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Fomesafen	50 a	54 e	60 c	96 a	0,08 b
2,4 D	Saflufenacil	50 a	87 b	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Flumioxazin	50 a	60 d	65 bc	90 a	0,30 b
2,4 D	Glufosinate + Flumioxazin	50 a	80 c	97 a	100 a	0 b
2,4 D	Glufosinate + imazethapyr + carfentrazone	50 a	80 c	98 a	100 a	0 b

Means followed by the same letters in the column do not differ statistically by Tukey's test (5%).

*DAA T1- Days after application Timing 1

**DAA T2- Days after application Timing 2

O biótipo 108 apresentou controle de 70% aos 10 DAA T1 após a aplicação de 2,4-D, superior aos demais por apresentar rápida necrose e não ter exibido rebrotos nos primeiros dias. Aos 14 DAA T1 os herbicidas que demonstraram maior controle foram os mesmos do biótipo 28, sendo eles diquat, diquat + flumioxazin, e glufosinate + flumioxazin e glufosinate + imazethapyr + carfentrazone e saflufenacil com controles superiores a 84%, diferindo dos demais tratamentos (Tabela 19). Na última avaliação todos os tratamentos com aplicação sequencial tiveram controles superiores a 95%, diferindo da testemunha sem aplicação e do 2,4-D sem sequencial.

Table 19- Visual control (%) of Biotype 108 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.

		Biotype 108				Dry mass
Treatment	Sequential	10 DAA T1* 0 DAA T2**	14 DAA T1 3 DAA T2	28 DAA T1 17 DAA T2	49 DAA T1 38 DAA T2	
Untreated	-	0 b	0 d	0 f	0 c	3,10 a
2,4 D	-	70 a	64 bc	64 e	75 b	0,27 b
2,4 D	Glufosinate	70 a	70 b	90 b	100 a	0 b
2,4 D	Glufosinate + S-metolachlor	70 a	70 b	90 b	100 a	0 b
2,4 D	Bentazon	70 a	60 c	92 b	100 a	0 b
2,4 D	Diquat	70 a	84 a	99 a	100 a	0 b
2,4 D	Diquat + Flumioxazin	70 a	90 a	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Fomesafen	70 a	65 bc	70 d	96 a	0,13 b
2,4 D	Saflufenacil	70 a	92 a	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Flumioxazin	70 a	70 b	75 c	95 a	0,05 b
2,4 D	Glufosinate + Flumioxazin	70 a	86 a	90 b	100 a	0 b
2,4 D	Glufosinate +imazethapyr +carfentrazone	70 a	85 a	90 b	100 a	0 b

Means followed by the same letters in the column do not differ statistically by Tukey's test (5%).

*DAA T1- Days after application Timing 1

**DAA T2- Days after application Timing 2

O herbicida 2,4-D teve 50% de controle sobre o biótipo 194 aos 10 DAA, T1 controle igual aos demais biótipos que não apresentaram rápida necrose. Aos 14 DAA T1 o tratamento que apresentou maior controle foi o glufosinate + flumioxazin, com 81,25%, diferindo dos demais (Tabela 20). O biótipo 194 apresentou uma resposta diferente dos demais, a aplicação de diquat na sequencial não conseguiu controlar 100% das plantas e teve uma resposta mais lenta, isso se deve ao fato desse biótipo ser oriundo de uma área com histórico de uso de paraquat, herbicida com o mesmo mecanismo de ação, e que estava apresentando dificuldade de controle de buva por esse herbicida. Na última avaliação todos os tratamentos diferiram da testemunha.

Table 20- Visual control (%) of Biotype 194 at 10, 14, 28 and 49 DAA as a function of the different herbicides used as sequential application.

		Biotype 194				Dry mass
Treatment	Sequential	10 DAA T1* 0 DAA T2**	14 DAA T1 3 DAA T2	28 DAA T1 17 DAA T2	49 DAA T1 38 DAA T2	
Untreated	-	0 b	0 f	0 d	0 b	2,72 a
2,4 D	-	50 a	50 e	50 c	80 a	0,18 b
2,4 D	Glufosinate	50 a	65 c	92 a	100 a	0 b

		Biotype 194				Dry mass
Treatment	Sequential	10 DAA T1*	14 DAA T1	28 DAA T1	49 DAA T1	
		0 DAA T2**	3 DAA T2	17 DAA T2	38 DAA T2	
2,4 D	Glufosinate + S-metolachlor	50 a	70 bc	98 a	100 a	0 b
2,4 D	Bentazon	50 a	50 e	65 b	100 a	0 b
2,4 D	Diquat	50 a	50 e	57 bc	90 a	0,19 b
2,4 D	Diquat + Flumioxazin	50 a	57 d	62 bc	100 a	0 b
2,4 D	Fomesafen	50 a	52 de	64 bc	100 a	0 b
2,4 D	Saflufenacil	50 a	70 bc	100 a	100 a	0 b
2,4 D	Flumioxazin	50 a	55 de	69 b	100 a	0 b
2,4 D	Glufosinate + Flumioxazin	50 a	81 a	97 a	100 a	0 b
2,4 D	+imazethapyr +carfentrazone	50 a	72 b	92 a	100 a	0 b

Means followed by the same letters in the column do not differ statistically by Tukey's test (5%).

*DAA T1- Days after application Timing 1

**DAA T2- Days after application Timing 2

De maneira geral os tratamentos com a presença de glufosinate apresentaram 100% de controle, mesmo quando aplicado de forma isolada na sequencial. A presença de outro herbicida em mistura com o glufosinate acelerou o controle dos biótipos, com exceção ao tratamento de glufosinate + S-metolachlor. O S-metolachlor pertence aos herbicidas inibidores da síntese de ácidos graxos de cadeia muito longa (HRAC, 2022), herbicidas desse grupo possuem efeito pré-emergente das plantas daninhas, sendo efetivos no controle de gramíneas (Busi, 2014), não tendo efeito sobre plantas emergidas. Já as misturas de glufosinate + flumioxazin e glufosinate + imazethapyr + carfentrazone apresentaram controle superior ao glufosinate isolado aos 14 DAA T1. Tanto a carfentrazone quanto a flumioxazin são inibidores da PROTOX, herbicidas que apresentam sinergia quando aplicados juntos (Takano et al, 2020), fato já discutido no experimento anterior.

Outro herbicida que foi aplicado de maneira isolada e em mistura foi o diquat, atingindo 100% de controle em quase todos os biótipos. Da mesma forma observada nas misturas com glufosinate, a mistura de diquat + flumioxazin, apresentou controle mais rápido do que quando aplicados de forma isolada. Além disso, com a mistura de diquat + flumioxazin foi possível obter total controle do biótipo 194, que não teve 100% de controle com o diquat isolado, mostrando ser uma boa ferramenta no manejo de resistência, uma vez que possui outro mecanismo de ação. O herbicida diquat possui grande potencial para substituir o paraquat na aplicação sequencial para controle de

buva, uma vez que ambos os herbicidas possuem o mesmo mecanismo de ação, inibindo o fotossistema I. Esses herbicidas são de rápida absorção e apresentam respostas rápidas de controle após a aplicação (Hawkes, et al, 2014).

Além do glufosinate e diquat, os tratamentos com bentazon, fomesafen e saflufenacil também mostraram excelentes controles, sendo o fomesafen mais lento que os demais, atingindo um controle inferior nas avaliações de 28 DAA T1. O bentazon é um herbicida inibidor do fotossistema II, atua inibindo a transferência de elétrons no fotossistema II nas membranas do tilacoides, é facilmente absorvido e transloca pouco na planta (Radovanov & Vrbnicanin, 2016). O fomesafen é um herbicida inibidor da PROTOX comumente utilizado para controlar plantas daninhas de folha larga como caruru (Li et al, 2022), porém possui maior eficiência quando utilizado como pré-emergente ou nos estágios iniciais de desenvolvimento da planta. De maneira geral não possui um efeito satisfatório sobre buva quando utilizado isolado. O herbicida saflufenacil também é um inibidor da PROTOX, e apresentou excelente desempenho, atingindo 100% de controle para todos os biótipos na avaliação de 28 DAA T1. Saflufenacil possui grande potencial para controle de *Conyza* spp., principalmente quando usado na aplicação sequencial, diminuindo assim o potencial de rebrote das plantas daninhas (Cesco et al, 2019).

A aplicação sequencial com flumioxazin de forma isolada apresentou os menores controles entre os herbicidas estudados, atingindo 100% de controle somente para o biótipo 194, e diferindo dos demais tratamentos para os biótipos 28 e 17. Apesar de também ser um herbicida inibidor da PROTOX, o flumioxazin mostrou-se menos eficiente quando comparado com o fomesafen e saflufenacil. Esse herbicida é comumente utilizado em misturas com outro herbicida de contato, como por exemplo glufosinate e dicamba, misturas utilizadas nesse estudo, pois embora não tenha uma boa eficiência no controle pós-emergente de buva, o flumioxazin possui um bom residual como pré-emergente dessa planta (Steckel et al, 2006).

4.3.3 Aplicação sequencial de glufosinate após diferentes auxínicos

Para as variáveis Controle aos 14, 28, 49 DAA T1 e Massa Seca, houve interação significativa entre os herbicidas e a presença da aplicação sequencial com 5% de probabilidade de erro, indicando que a combinação dos herbicidas com a aplicação sequencial gerou um efeito adicional para as variáveis estudadas, em relação aos fatores de forma individual.

Na avaliação de 14 DAA T1 para o biótipo 17 o herbicida diclosulam + halauxifen apresentou um controle superior que os demais, mostrando ter uma resposta mais rápida após a aplicação, pois além de ser uma mistura formulada, trata-se de um herbicida auxínico lançado recentemente no Brasil. Os demais auxínicos utilizados não diferiram entre si, sendo superiores à testemunha. Na presença da aplicação sequencial com glufosinate, os herbicidas não diferiram entre si, apenas da testemunha, e foram superiores em relação a ausência da sequencial. Aos 28 DAA T1, a mistura formulada de diclosulam + halauxifen manteve-se superior, seguida dos tratamentos de clethodim + fluroxipyr, dicamba, picloran, 2,4-D, florpiauxifen-benzil, que não diferiram entre si, e triclopyr que apresentou um controle inferior, diferindo dos demais. Na presença da aplicação sequencial, todos os herbicidas foram superiores do que quando comparado com a aplicação de forma isolada, com controles próximos a 100% não apresentando diferença significativa entre os herbicidas utilizados na primeira aplicação (Tabela 21).

Table 21- Visual control (%) of Biotype 17 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate

Treatment	Biotype 17							
	14 DAA T1*		28 DAA T1		49 DAA T1		Dry mass	
	3 DAA T2**		17 DAA T2		38 DAA T2		without	With
	without	with	without	with	without	with	without	With
Untreated	0 c B	70 b A	0 d B	90 b A	0 d B	100 ^{ns} A	2,93 a A	0 ^{ns} B
Clethodim+ Fluroxipyr	50 b B	80 a A	60 b B	95 a A	65 bc B	100 ^{ns} A	0,36 b A	0 ^{ns} B
Dicamba	50 b B	80 a A	61 b B	95 a A	68 bc B	100 ^{ns} A	0,55 b A	0 ^{ns} B
Picloran	50 b B	80 a A	63 b B	95 a A	79 ab B	100 ^{ns} A	0,35 b B	0 ^{ns} B
2,4-D	50 b B	80 a A	60 b B	95 a A	63 bc B	100 ^{ns} A	0,32 b B	0 ^{ns} B
Florpiauxifen- benzil	50 b B	80 a A	63 b B	95 a A	79 ab B	100 ^{ns} A	0,25 b B	0 ^{ns} B
Triclopyr	50 b B	80 a A	50 c B	95 a A	55 c B	100 ^{ns} A	0,34 b B	0 ^{ns} B
Diclosulam+ Halauxifen	65 a B	76 a A	71 a B	93 ab A	97 a A	98 ^{ns} A	0,06 b B	0,07 ^{ns} B

Means followed by the same lowercase and uppercase letters in the row and column, respectively, do not differ statistically by Tukey's test (5%).

*DAA T1- Days after application Timing 1

**DAA T2- Days after application Timing 2

Na última avaliação (49 DAA T1) o tratamento com diclosulam + halauxifen atingiu 97% de controle, não diferindo da aplicação com florpiauxifen-benzil e picloran. Os demais herbicidas foram inferiores e não apresentaram controles satisfatórios. Já na presença da sequencial todos os tratamentos tiveram controles

acima de 98% não diferindo entre sim, sendo superiores aos herbicidas sem sequencial, com exceção ao diclosulam + halauxifen, que não diferiu com ou sem sequencial. Para a massa seca, os tratamentos diferiram apenas da testemunha na ausência da sequencial e não houve diferença significativa com a sequencial. Apenas a testemunha, clethodim + fluroxipyr e dicamba tiveram interação significativa entre aplicação sequencial e sem aplicação sequencial.

O herbicida 2,4-D apresentou um controle superior aos demais para o biótipo 28 aos 14 DAA T1, isso devido a rápida necrose como resposta a aplicação desse herbicida. Os demais não diferiram entre si, sendo superiores à testemunha. A interação entre com e sem aplicação sequencial foi significativa para todos os herbicidas tanto na avaliação de 14 como na de 28 DAA T1. Aos 28 DAA T1, sem a aplicação do sequencial, o herbicida triclopyr apresentou um controle superior, enquanto o 2,4-D já havia desenvolvido rebrotes e se igualado aos demais. Na presença da aplicação sequencial todos os herbicidas tiveram um controle acima de 90% aos 28 DAA T1, chegando a 100% aos 49 DAA T1, não diferindo entre si. Já na ausência da sequencial aos 49 DAA T1, além da testemunha o herbicida 2,4-D também diferiu dos demais, mostrando um controle inferior, e interação significativa com a sequencial, uma vez que os demais apresentaram controle superior a 98% mesmo na ausência da sequencial. Em relação a massa seca, apenas a testemunha sem aplicação diferiu dos demais tratamentos, e nenhuma diferença foi observada quando na presença da sequencial, houve interação somente para a testemunha e o herbicida 2,4-D.

Table 22- Visual control (%) of Biotype 28 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate

Treatment	Biotype 28							
	14 DAA T1*		28 DAA T1		49 DAA T1		Dry mass	
	3 DAA T2**		17 DAA T2		38 DAA T2			
	without	with	without	with	without	with	without	with
Untreated	0 c B	75 b A	0c B	90 ^{ns} A	0 c B	100 ^{ns} A	2,97 a A	0 ^{ns} B
Clethodim+ Fluroxipyr	50 b B	80 a A	60b B	95 ^{ns} A	100 a A	100 ^{ns} A	0 b B	0 ^{ns} B
Dicamba	50 b B	80 a A	63b B	98 ^{ns} A	100 a A	100 ^{ns} A	0 b B	0 ^{ns} B
Picloran	50 b B	80 a A	55b B	97 ^{ns} A	98 a A	100 ^{ns} A	0,09 b B	0 ^{ns} B
2,4-D	60 a B	80 a A	60b B	99 ^{ns} A	68 b B	100 ^{ns} A	0,21 b A	0 ^{ns} B
Florpirauxifen -benzil	50 b B	80 a A	60b B	90 ^{ns} A	100 a A	100 ^{ns} A	0 b B	0 ^{ns} B
Triclopyr	50 b B	80 a A	80a B	90 ^{ns} A	100 a A	100 ^{ns} A	0 b B	0 ^{ns} B
Diclosulam+ Halauxifen	54 b B	78 ab A	64b B	95 ^{ns} A	100 a A	100 ^{ns} A	0 b B	0 ^{ns} B

Means followed by the same lowercase and uppercase letters in the row and column, respectively, do not differ statistically by Tukey's test (5%).

*DAA T1- Days after application Timing 1

**DAA T2- Days after application Timing 2

Na avaliação de 14 DAA T1 o biótipo 35 se comportou da mesma forma que o 17, com controles superiores para o herbicida diclosulam + halauxifen, e os demais apresentando controle inferior, não diferindo entre si, com interação entre os fatores, demonstrando controles superiores quando realizada a aplicação sequencial, tanto na avaliação de 14 quanto na de 28 DAA T1. Aos 28 DAA T1 além do tratamento diclosulam + halauxifen, o triclopyr e florpírauxifen-benzil também apresentaram controles maiores, porém somente diclosulam + halauxifen diferiu dos demais.

Quando analisamos os tratamentos com aplicação sequencial tanto para a avaliação de 28 DAA T1 quanto para 49 DAA T1 e massa seca, os mesmos não apresentaram diferença entre si, uma vez que com a aplicação sequencial todos obtiveram controle superior a 90%. Aos 49 DAA T1 os herbicidas 2,4-D e picloran apresentaram controle inferior, com 82,5 e 86%, que juntamente com a testemunha sem aplicação apresentou interação com a aplicação sequencial. Na avaliação de massa seca, apenas a testemunha diferiu dos demais e apresentou interação, os demais tratamentos foram estatisticamente iguais, e na interação com a aplicação sequencial, além da testemunha, o herbicida picloran também teve um maior controle na presença da sequencial.

Table 23- Visual control (%) of Biotype 35 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate

Treatment	Biotype 35							
	14 DAA T1*		28 DAA T1		49 DAA T1		Dry mass	
	3 DAA T2**		17 DAA T2		38 DAA T2		without	with
	withot	with	without	with	without	with	without	with
Untreated	0 c B	73 b A	0 c B	90 ^{ns} A	0 c B	100 ^{ns} A	2,7 a A	0 ^{ns} B
Clethodim+ Fluroxipyr	50 b B	80 a A	60 b B	96 ^{ns} A	95 ab A	100 ^{ns} A	0,07 b B	0 ^{ns} B
Dicamba	50 b B	80 a A	59 b B	100 ^{ns} A	94 ab A	100 ^{ns} A	0,02 b B	0 ^{ns} B
Picloran	50 b B	80 a A	62 b B	98 ^{ns} A	86 ab B	100 ^{ns} A	0,31 b A	0 ^{ns} B
2,4-D	50 b B	80 a A	56 b B	98 ^{ns} A	83 b B	100 ^{ns} A	0,28 b A	0 ^{ns} B
Florpírauxifen -benzil	50 b B	80 a A	69 ab B	95 ^{ns} A	100 a A	100 ^{ns} A	0 b B	0 ^{ns} B
Triclopyr	50 b B	80 a A	66 ab B	98 ^{ns} A	100 a A	100 ^{ns} A	0 b B	0 ^{ns} B
Diclosulam+ Halauxifen	66 a B	78 a A	79 a B	97 ^{ns} A	100 a A	100 ^{ns} A	0 b B	0 ^{ns} B

Means followed by the same lowercase and uppercase letters in the row and column, respectively, do not differ statistically by Tukey's test (5%).

*DAA T1- Days after application Timing 1

**DAA T2- Days after application Timing 2

Aos 14 DAA T1 além do diclosulam + halauxifen o herbicida 2,4-D também apresentou controle superior para o biótipo 108 na ausência da sequencial, isso ocorreu pois o biótipo 108 apresenta rápida necrose como resposta à aplicação de 2,4-D. Os demais herbicidas não diferiram entre si. Quando a aplicação sequencial foi realizada não houve diferença entre os herbicidas utilizados na primeira aplicação, apenas o diclosulam + halauxifen foi superior à testemunha. Houve interação para todos os herbicidas para a aplicação sequencial, tanto aos 14 quanto aos 28 DAA T1. Aos 28 dias, além do diclosulam + halauxifen e 2,4-D, o picloran também apresentou controles superiores, porém somente o primeiro diferiu dos demais e quando a aplicação sequencial foi realizada apenas a testemunha apresentou controle inferior à 90%. Aos 49 DAA T1 quando não foi realizada a aplicação sequencial apenas o herbicida florpiauxifen-benzil teve 100% de controle, diferindo apenas da testemunha e do 2,4-D. Quando realizada a aplicação sequencial todos os tratamentos tiveram 100% de controle, mostrando a importância de uma segunda aplicação no controle de plantas daninhas com problema de resistência. Em relação a massa seca apenas a testemunha diferiu dos demais e apresentou interação com a sequencial.

Table 24- Visual control (%) of Biotype 108 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate

Treatment	Biotype 108						Dry mass	
	14 DAA T1*		28 DAA T1		49 DAA T1			
	3 DAA T2**		17 DAA T2		38 DAA T2		without	with
	without	with	without	with	without	with		
Untreated	0 c B	65 b A	0 c B	85 b A	0 c B	100 ^{ns} A	3,1 a A	0 ^{ns} B
Clethodim+ Fluroxipyr	50 b B	70 ab A	59 b B	90 ab A	91 ab A	100 ^{ns} A	0,25 b B	0 ^{ns} B
Dicamba	50 b B	70 ab A	60 b B	94 ab A	84 ab B	100 ^{ns} A	0,3 b B	0 ^{ns} B
Picloran	50 b B	70 ab A	63 ab B	90 ab A	83 ab B	100 ^{ns} A	0,28 b B	0 ^{ns} B
2,4-D	64 a B	70 ab A	64 ab B	90 ab A	75 b B	100 ^{ns} A	0,27 b B	0 ^{ns} B
Florpiauxifen -benzil	50 b B	70 ab A	58 b B	95 a A	100 a A	100 ^{ns} A	0 b B	0 ^{ns} B
Triclopyr	50 b B	70 ab A	58 b B	95 a A	88 ab A	100 ^{ns} A	0,12 b B	0 ^{ns} B
Diclosulam+ Halauxifen	60 a B	71 a A	70 a B	95 a A	96 ab A	100 ^{ns} A	0,17 b B	0 ^{ns} B

Means followed by the same lowercase and uppercase letters in the row and column, respectively, do not differ statistically by Tukey's test (5%).

***DAA T1- Days after application Timing 1**

****DAA T2- Days after application Timing 2**

Nenhum dos herbicidas se destacou na avaliação de 14 DAA T1 para o biótipo 194, sendo que a mistura formulada de clethodim + fluroxipyr apresentou um desempenho menor que os demais herbicidas. Quando olhamos para a aplicação com

sequencial, todos os herbicidas tiveram o mesmo controle, diferindo apenas da testemunha. A interação entre os fatores com e sem aplicação sequencial foi significativa para as avaliações de 14, 28 e 49 DAA T1, com exceção ao triclopyr aos 49 DAA T1, que obteve 90% de controle mesmo sem a sequencial e não diferiu da aplicação com sequencial. Para a massa seca houve interação para testemunha, clethodim + fluroxipyr, florpiauxifen-benzil e diclosulam + halauxifen. Tanto na avaliação de 28, 49 DAA e massa seca, nenhum dos herbicidas de forma isolada apresentou 100% de controle para esse biótipo, sendo o triclopyr o único a ter um controle superior a 90%. Já quando os tratamentos tiveram a aplicação sequencial com glufosinate foi possível obter 100% de controle em todos os tratamentos.

Por ser um herbicida de contato, com rápido efeito (Takano et al, 2019), a aplicação sequencial com glufosinate apresentou um excelente desempenho para o controle dos biótipos, apresentando controles de 100% para todos, independente do herbicida utilizado na primeira aplicação. Essa aplicação pode ser empregada visando contornar o problema de resistência, visto que mesmo os herbicidas que apresentam resistência tiveram 100% de controle após a aplicação sequencial do glufosinate. A aplicação sequencial de glufosinate após a aplicação de 2,4-D ou dicamba proporcionou melhor controle de plantas de *Amaranthus palmeri* que a aplicação isolada dos herbicidas (Browne et al, 2020).

Table 25- Visual control (%) of Biotype 194 at 14, 28 and 49 DAA T1 and dry mass as a function of the interaction between the herbicides and the presence or absence of a sequential application with glufosinate

Treatment	Biotype 194								Dry mass	
	14 DAA T1*		28 DAA T1		49 DAA T1					
	3 DAA T2**		17 DAA T2		38 DAA T2					
	without	with	without	with	without	with	without	with		
Untreated	0 c B	59 b A	0 b B	85 c A	0 d B	100 ns A	2,72 a A	0 ns B		
Clethodim+ Fluroxipyr	40 b B	65 a A	50 a B	88 bc A	50 c B	100 ns A	0,79 b A	0 ns B		
Dicamba	50 a B	65 a A	50 a B	95 a A	85 ab B	100 ns A	0,12 c B	0 ns B		
Picloran	50 a B	65 a A	50 a B	97 a A	80 ab B	100 ns A	0,3 bc B	0 ns B		
2,4-D	50 a B	65 a A	50 a B	93 ab A	80 ab B	100 ns A	0,18 c B	0 ns B		
Florpiauxifen -benzil	50 a B	65 a A	50 a B	97 a A	61 bc B	100 ns A	0,47 bc A	0 ns B		
Triclopyr	50 a B	65 a A	50 a B	99 a A	90 a A	100 ns A	0,04 c B	0 ns B		
Diclosulam+ Halauxifen	50 a B	65 a A	50 a B	93 ab A	71 abc B	100 ns A	0,47 bc A	0 ns B		

Means followed by the same lowercase and uppercase letters in the row and column, respectively, do not differ statistically by Tukey's test (5%).

*DAA T1- Days after application Timing 1

**DAA T2- Days after application Timing 2

5 CONCLUSÃO

Os biótipos demonstraram comportamento distintos em relação a aplicação dos herbicidas auxínicos. O florpiauxifen-benzil não teve controle satisfatório em nenhum dos biótipos estudados, apresentando FR entre 2,26 a 6,31 e 2,16 a 12,4 para as variáveis controle e massa seca respectivamente. Todos os biótipos com suspeita, apresentaram resistência ao 2,4-D, com FR entre 1,62 a 3,59 para controle visual e 3,67 a 6,23 para massa seca. Os biótipos classificados como resistentes ao Dicamba foram, 17, 28 e 194, com FR de 1,74 a 4,23 para controle e 1,35 a 2,24 para massa seca. Apenas os biótipos 17 e 194 apresentaram resistência ao herbicida triclopyr, com FR de 6,27 e 1,19 para controle e 2,29 e 1,13 para massa seca. Os biótipos 17 e 194 atenderam a todos os critérios estabelecidos para caracterização de resistência cruzada aos herbicidas 2,4-D, dicamba e triclopyr.

O inibidor acephato não indicou ocorrência de metabolização mediada pelas enzimas do citocromo P450 nos biótipos. Apenas o biótipo 28 apresentou diferença entre as curvas com e sem acephate para o herbicida 2,4-D. Apesar dessa diferença ser significativa, o biótipo continuou atendendo os critérios para ser caracterizado como resistente mesmo na presença do acephate, indicando que a metabolização pode estar contribuindo para o nível de resistência. Os biótipos 35 e 194 apresentaram diferença entre as curvas para o herbicida triclopyr, porém apresentando maiores doses necessárias na presença do acephate.

Para controle alternativo foi possível identificar opções com controle satisfatório. O uso de glufosinate isolado ou em mistura com herbicidas inibidores da PROTOX obteve controle total de todos os biótipos resistentes. A aplicação sequencial também se mostrou excelente alternativa, uma vez que os herbicidas glufosinate, bentazon, diquat, fomezafen, saflufenacil e demais misturas com esses herbicidas, aplicados 10 dias após a aplicação de 2,4-D foram efetivos no controle de todos os biótipos. A utilização de glufosinate na aplicação sequencial elevou o controle de todos os biótipos para 100%, indiferente de qual herbicida auxínico foi utilizado na primeira aplicação.

REFERÊNCIAS

- ADEGAS, F. S., VARGAS, L., GAZZIERO, D. L. P., KARAM, D. Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil. **EMBRAPA**, Circular Técnica, v. 132, p. 1-11, 2017.
- ALBRECHT, A. J. P.; PEREIRA, V. G. C.; SOUZA, C. N. Z.; ZOBIOLE, L. H. S.; ALBRECHT, L. P.; ADEGAS, F.S. Multiple resistance of *Conyza sumatrensis* to three mechanisms of action of herbicides. **Acta Scientiarum**, v.42, p. 1-9, 2020.
- ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R., OLIVEIRA, G. M., CARVALHO, L. B., DA SILVA, M. F. G. F. Herbicide Resistance in Brazil: Status, Impacts, and Future Challenges. In: KONTOGIANNATOS, D., KOURTI, A., MENDES, K., F. **Agricultural Crop and Animal Husbandry Production**. IntechOpen, 2020. Available from: <https://www.intechopen.com/books/pests-weeds-and-diseases-in-agricultural-crop-and-animal-husbandry-production/herbicide-resistance-in-brazil-status-impacts-and-future-challenges>.
- AMARO-BLANCO, I.; OSUNA, M. D.; ROMANO, Y.; ROLDÁN-GÓMEZ, R.; PALMA-BATISTA, C.; PORTUGAL, J.; DE PRADO, R. Selection for glyphosate resistance in *Conyza* spp. Occurring in the railway network of southern Spain. **Can. J. Plant Science**, v. 99, p. 413–419, 2019.
- ANAGNOSTOPOULOS, C.; STASINOPOULOS, P.; KANATAS, P.; TRAVLOS, I. Differences in metabolism of three *Conyza* species to herbicides glyphosate and triclopyr revealed by LC-MS/MS. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 80, n. 1, p.100-105, 2020.
- ANASTASIU, P.; MENEDEMIN, D. *Conyza sumatrensis*: a new alien plant in Romania. **Botanica Serbica**, v. 36, n. 1, p. 37-40, 2012.
- BAJWA, A.A.; SADIA, S.; ALI, H.H.; JABRAN, K.; PEERZADA, A.M.; CHAUHAN, B.S. Biology and management of two important *Conyza* weeds: a global review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 24694–24710, 2016.
- BECKIE, H. Herbicide Resistance in Plants. **Plants**, v. 9, n. 435, p. 1-4, 2020.
- BELZ, R., DUKE, S. O. Herbicides and plant hormesis. **Pest Manag Sci**, v.70, p.698-707, fev, 2014.
- BROWNE, F. B.; LI, X.; PRICE, K. J.; LANGEMEIER, R.; JAUREGUI, A. S. S.; MCELROY J. S.; FENG, Y.; PRICE, A. Sequential Applications of Synthetic Auxins and Glufosinate for Escaped Palmer Amaranth Control. **Agronomy**, v.10, p.1-14, 2020.
- BURGOS, N. R. Whole-Plant and Seed Bioassays for Resistance Confirmation. **Weed Science**, v. 63, p. 152-165, 2015.
- BUSI, R. Resistance to herbicides inhibiting the biosynthesis of very-long-chain fatty acids. **Pest Manag Sci**, v. 70, n. 9, p.1378–1384, jan, 2014.

BUSI, R., GOGGIN, D. E., HEAP, I. M., HORAK, M. J., JUGULAN, M., MASTERS, R. A., NAPIER, R. M., RIAR, D. S., SATCHIVI, N. M., TORRA, J., WESTRA, P., WRIGHT, T. R. Weed resistance to synthetic auxin herbicides. **Pest Management Science**, v.74, p.2265-2276, fev, 2018.

CARVALHO S. J. P. et al. Curvas de dose-resposta para avaliação do controle de fluxos de emergência de plantas daninhas pelo herbicida imazapic. **Planta Daninha**, v. 23 535-542, 2005.

CARVALHO, L. B. Herbicidas. 1ª ed. Editado pelo autor. Lages, SC, 2013.

CATTELAN, A. J.; DALL' AGNOL, A. The rapid soybean growth in Brazil. **OCL**, v. 25, n. 1, p. 1-12, 2018.

CESCO, V.J.S.; NARDI, R.; KRENCHINSKI, F.H.; ALBRECHT, A.J.P.; RODRIGUES, D.M.; ALBRECHT, L.P. Management of resistant *Conyza* spp. during soybean pre-sowing. **Planta Daninha**, v 37, p 1-9, 2019.

CONCENÇO, G.; CONCENÇO, S.E. *Conyza* SPP.: FROM UGLY DUCKLING TO AGRICULTURE'S FITTEST SWAN – BRIEF REVIEW. **Planta Daninha**, v. 34, n. 1, p. 183-189, 2016.

CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA Jr., R. S.; OLIVEIRA NETO, A. M. Buva: fundamentos e recomendações para manejo. **Omnipax**, Curitiba, 2013.

DAN, H. A.; BRAZ, G. B. P.; BIFFE, D. F.; ALONSO, D. G.; RAIMONDI, M. A. Histórico da Infestação de Buva Resistente a Herbicidas no Mundo e no Brasil In: CONSTANTIN J.; OLIVEIRA JR, R.S.; OLIVEIRA NETO, A. M. editores. Buva: fundamentos e recomendações para manejo. **OmniPax**, Curitiba 2013. (5-9p.).

DAYAN, F.E., BARKER, A.L., BOUGH, R., ORTIZ, M., TAKANO, H.K., DUKE, S.O. Herbicide mechanisms of action and resistance. In: Moo- Young M (ed) *Comprehensive biotechnology*, vol 4. Elsevier, Amsterdam, p 4826, 2019.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil**, 2004. [Londrina]. 200. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/54358/1/Sistemas-de-Producao-4.pdf>>. Acesso em: 23 fev. 2021.

FAOSTAT. Disponível em: < <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 08 fev. 2023.

FIGUEIREDO, M. R. A.; LEIBHART, L. J.; REICHER, Z. J.; TRANEL, P. J.; NISSEN, S. J.; WESTRA, P.; BERNARDS, M. L.; KRUGER, G.R.; GAINES, T. A.; JUGULAM, M. Metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid contributes to resistance in a common waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) population **Pest Management**, v.74, p. 2356–2362, 2018.

FIGUEIREDO, M. R. A.; KUPPER, A.; MALONE, J. M.; PETROVIC, T.; FIGUEIREDO, A. B. T. B.; CAMPAGNOLA, G.; PEERSEN, O. B.; PRASAD, K. V. S. K.; PATTERSON, E. L.; REDDY, A. S. N.; KUBES, M. F.; NAPIER, R.; DAYAN, F. E.; PRESTON, C.; GAINES, T. A. An in-frame deletion mutation in the degron tail of auxin coreceptor IAA2 confers resistance to the herbicide 2,4-D in *Sisymbrium orientale*. **PNAS**, v.119, n.9, p.1-9, 2022.

GAINES, T. A.; DUKE, S. O.; MORRAN, S.; RIGON, C. A. G.; TRANEL, P. J.; KUPPER, A.; DAYAN, F. E. Mechanisms of evolved herbicide resistance. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, n. 30, p.10307–10330, 2020.

GARRETT, R.D.; RAUSCH, L.L. Green for gold: social and ecological trade-offs influencing the sustainability of the Brazilian soy industry. **The Journal of Peasant Studies**, v. 43, n. 2, p. 461-493, 2016.

GOGGIN, D. E., CAWTHRAY, G. R., POWLES, S. B. 2,4-D resistance in wild radish: reduced herbicide translocation via inhibition of cellular transport. **Journal of Experimental Botany**, V.67, N.11, p.3223–3235, fev, 2016.

GOGGIN, D. E.; KAUR, P.; OWEN, M. J.; POWLES, S. B. 2,4-D and dicamba resistance mechanisms in wild radish: subtle, complex and population specific? **Annals of Botany**, v.122, p.627-640, 2018.

GOMES, G.L.G.C. Biochemical and morphophysiological characterization of populations of horseweed (*Conyza* spp.) glyphosate resistant. Doctoral thesis, **College of Agriculture, São Paulo State University**, Botucatu (2014).

HAO, J. H.; QIANG, S.; LIU, Q. Q.; CAO, F. Reproductive traits associated with invasiveness in *Conyza sumatrensis*. **Journal of Systematics and Evolution**, v. 47, n. 3. p. 245–254, 2009.

HARTMAN, G. L.; WEST, E. D.; HERMAN, T. K. Crops that feed the World 2. Soybean—worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. **Food Security**, v. 3, p. 5-17, 2011.

HATZIOS K, HOCK B, ELSTNER E (2005) Metabolism and elimination of toxicants. Pages 469–518 in **Plant Toxicology**. 4th edn. Boca Raton, FL: CRC Press

HAWKES, T. R. Mechanisms of resistance to paraquat in plants. *Pest Manag Sci*, v.70, p.1316-1323, jan, 2014.

HEAP, I. M. 1994. Identification and documentation of herbicide resistance. **Phytoprotection** 75 (Suppl.):85-90.

HEAP, I. Criteria for confirmation of herbicide-resistant weed-with emphasis on confirming low level resistance. **HRAC**. 2005

HEAP, I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Disponível em: www.weedscience.org. Acesso em: 30/03/2023.

HORN, C. R. V.; MORETTI, M. L.; ROBERTSON, R. R. SEGOBYE, K.; WELLER, S. C.; YOUNG, B. G.; JOHNSON, W. G.; SCHULZ, B.; GREEN, A. C.; JEFFERY, T.; LESPÉRANCE, M. A.; TARDIF, F. J.; SIKKEMA, P. H.; HALL, J. C.; MCLEAN, M. D.; LAWTON, M. B.; SAMMONS, R. D.; WANH, D.; WESTRA, P.; GAINES, T. A. Glyphosate resistance in *Ambrosia trifida*: Part 1. Novel rapid cell death response to glyphosate. *Pest Manag Sci*, v. 74, n. 5, p.1071-1078, 2018.

HRAC. Mecanismo De ação dos herbicidas. Disponível em: <https://www.hrac-br.org/mecanismosdeacao>. Aceso em: 11/12/2022.

IBAMA - Relatórios de comercialização de agrotóxicos. [Internet]. 2021. Disponível em: <<https://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatoriosde-comercializacao-de-agrotoxicos#historicodecomercializacao>>. Acesso em: 18/03/2021

LAMEGO, F.P.; KASPARY, T.E.; RUCHEL, Q.; GALLON, M.; BASSO, C.J.; e SANTI, A.L. Management of Glyphosate Resistant *Conyza bonariensis*: Winter Cover Crops and Herbicides in Soybean Pre-Seeding. **Planta daninha**, v.31, n.2, p. 433-442, 2013.

LAZAROTO, C. A.; FLECK, N.G.; VIDAL, R. A. Biologia e ecofisiologia de buva (*Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*). **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 852-860, 2008.

LECLERE S.;WU C.; WESTRA, P.; SAMMONS, D. Cross-resistance to dicamba, 2,4-D, and fluroxypyr in *Kochia scoparia* is endowed by a mutation in an AUX/IAA gene. **PNAS**, v.115, n.13, p.2911-2920, 2018.

LI, X., DU, J., SONG, B., ZHANG, X., & RIAZ, M. Fomesafen drift affects morphophysiology of sugar beet. *Chemosphere*, v.287, p.1-10, ago, 2022.

LIS, A.; PIGGOTT, J. R.; GÓRA, J. Chemical composition variability of the essential oil of *Conyza canadensis* Cronq. **Flavour and Fragrance Journal**, v.18, p. 364–367, 2003.

MARKUS, C.; BARROSO, A., A., M.; DALAZEN, G.; RONCATTO, E.; MEROTTO JR, A. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: BARROSO, A. A. M., MURATA, A. T., Matologia: estudo sobre plantas daninhas. Jaboticabal: **Fábrica de Palavras**, 2021. 547p. (324-364p).

MORA, D. A.; CHEIMONA, N.; PALMA-BAUTISTA, C.; ROJANO-DELGADO, A. M.; OSUNA-RUIZ, M. D.; DE LA CRUZ, A.; DE PRADO, R. Physiological, biochemical and molecular bases of resistance to tribenuronmethyl and glyphosate in *Conyza canadensis* from olive groves in Southern Spain. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 144, p. 14–21, 2019.

NUNES, A. L.; CAZAROTO, B.; RIZZARDI, M. A.; BIANCHI, M. A.; COSTA, L. O.; MEROTTO JR. A. Importance of sequential herbicide application in the control of *Elephantopus mollis*. **Ciência Rural**, v. 51, n. 9, p. 1-9, 2021.

OKADA, M.; HANSON, B. D.; HEMBREE, K. J.; PENG, Y.; SHRESTHA, A.; STEWART JR, C. N.; WRIGHT, S. D.; JASIENIUK, M. Evolution and spread of glyphosate resistance in *Conyza bonariensis* in California and a comparison with closely related *Conyza canadensis*. **European Weed Research Society**, v. 55, p. 173–184, 2014.

OSIPE, R.; ADEGAS, F.; OSIPE, J. B. Plantas Daninhas na Agricultura: o Caso da Buva. In: CONSTANTIN J.; OLIVEIRA JR, R.S.; OLIVEIRA NETO, A. M. editores. Buva: fundamentos e recomendações para manejo. Curitiba: **OmniPax**; 2013. 104p. (1-4p).

OWEN, M. J.; MARTINEZ, N. J.; POWLES, S. B. Multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum* (annual ryegrass) now dominates across the Western Australian grain belt. **Weed Research**, v. 54, n.3, p.314-324, 2014.

POWLES, S. Global Herbicide Resistance Challenge. **Pest Management Science**, v. 70, p. 1305, 2014.

QUEIROZ, A. R. S.; DELATORRE, C. A.; LUCIO, F. R.; ROSSI, C. V. S.; ZOBIOLE, L. H. S.; MEROTTO Jr, A. Rapid necrosis: a novel plant resistance mechanism to 2,4-D. **Weed Science**, v.68, n.1, p.6-18, 2020.

PETERSON, M. A., MCMASTER, S. A., RIECHERS, D.E., SKELTON, J., STAHLMAN, P. W. 2,4-D Past, Present, and Future: A Review. **Weed Technology**, v.30, p.303–345, abr, 2016.

PRESTON, C.; DOLMAN, F. C.; BOUTSALIS, P. Multiple Resistance to Acetohydroxyacid Synthase–Inhibiting and Auxinic Herbicides in a Population of Oriental Mustard (*Sisymbrium orientale*). **Weed Science**, v.61, n.2, p.185-192, 2013.

RADOVANOV, K. J., VRBNICANIN, S. UTICAJ SMANJENJA KOLI INE PRIMENE BENTAZONA NA EFIKASNOST U SUZBIJANJU KOROVA U USEVU KROMPIRA. *Plant Doctor*, v.44, n.1, abr, 2016.

RIECHERS, D. E.; KREUZ, K.; ZHANG, Q. Detoxification without Intoxication: Herbicide Safeners Activate Plant Defense Gene Expression. *Plant Physiology*, v. 153, p. 3-13, 2010.

RIZZARDI, M. A.; SCHNEIDER, T.; BIANCHI, M. A.; ROCKENBACH, A. P. Occurrence of horseweed biotypes with low susceptibility to glyphosate in the states of Rio Grande do Sul, Paraná and Mato Grosso do Sul, Brazil. **Planta Daninha**, v.37, p.1-10, 2019.

SAINI, R.K.; MALONE, J.; GILL, G.; PRESTON, C. Inheritance of evolved clethodim resistance in *Lolium rigidum* populations from Australia, **Pest Management Science**, v. 73, p. 1604–1610, 2017.

SANTOS, G.; FRANCISCHINI, A. C.; BLAINSKI, E., GEMELLI, A.; MACHADO, M. F. P. Aspéctos da Biologia e da Germinação da Buva. In: Constantin J.; Oliveira Jr, R.S.; Oliveira Neto, A. M. editores. Buva: fundamentos e recomendações para manejo. Curitiba: **OmniPax**; 2013. 104p.(11-24p).

SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; Borém, A. Soja do plantio à colheita. Viçosa, MG: **Ed. UFV**, 2015, 333p.

SOLANI, N.; DILLE, J. A.; BURKE, I. C.; EVERMAN, W.J.; VANGESSEL, M.J.; DAVIS, V. M.; SIKKEMA, P. H. Perspectives on Potential Soybean Yield Losses from Weeds in North America. **Weed Technology**, v.31, n.1, p.1-7, 2017.

SONG, J. S.; KIM, J.W.; IM, J.H.; LEE, K.J.; LEE, B.W.; KIM, D.S. The Effects of Single- and Multiple-Weed Interference on Soybean Yield in the Far-Eastern Region of Russia. **Weed Science**, v. 65, p. 371-380, 2017.

STECKEL, L.E., CRAIG, C.C., BRAWLEY, P.A., HAYES, R.M., Glyphosate-resistant Horseweed (*Conyza Canadensis*) Control with Glufosinate Prior to Planting No-till Cotton (*Gossypium Hirsutum*). *Weed technology*, v.20, p.1047-1051, 2006.

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

TAKANO, H. K., BEFFA, R., PRESTON, C., WESTRA, P., DAYAN, F.E. A novel insight into the mode of action of glufosinate: how reactive oxygen species are formed. *Planta*, v. 249, n.6, p.1837–1849, fev, 2019.

TAKANO, H.K., BEFFA, R., PRESTON, C., WESTRA, P., DAYAN, F.E. Glufosinate enhances the activity of protoporphyrinogen oxidase inhibitors. *Weed Sci*, v.68, p.324–332. Mai, 2020.

THEBAUD C, ABBOTT RJ. Characterization of invasive *Conyza* species (Asteraceae) in Europe: quantitative trait and isozyme analysis. **American Journal of Botany**, v. 82, p. 360–368, 1995.

TREZZI, M.M.; BALBINOT JR. A.A., BENIN, G.; DEBASTIANI, F.; PATEL, F.; MIOTTO JR., E. COMPETITIVE ABILITY OF SOYBEAN CULTIVARS WITH HORSEWEED (*Conyza bonariensis*). **Planta Daninha**, v. 31, n. 3, p. 543-550, 2013.

TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A.; XAVIER, E.; ROSIN, D.; BALBINOT JR, A. A.; PRATES, M. A. Resistência ao glyphosate em biótipos de buva (*Conyza* spp.) das regiões oeste e sudoeste do Paraná. **Planta Daninha**, v.29, p.1113-1120, 2011.

YANG, Q.; DENG, W.; LI, X.; YU, Q.; BAIL, L.; ZHENG, M. Target-site and non-target-site based resistance to the herbicide tribenuronmethyl in flaxweed (*Descurainia sophia* L.). **BioMed Central Genomics**, v. 551, n. 17, p. 1-13, 2016.

YU, Q.; POWELES, S. Metabolism-Based Herbicide Resistance and Cross-Resistance in Crop Weeds: A Threat to Herbicide Sustainability and Global Crop Production. **Plant Physiology**, v. 166, p. 1106-1118, 2014.

ZELAYA, I. A; OWEN, M. D. K; VANGESSEL, M. J. Transfer of glyphosate resistance: evidence of hybridization in *Conyza* (asteraceae). **American Journal of Botany**, v.94, n.4, p.660–673, 2007.

ZOBIOLE, L.H.S.; KRENCHINSKI, F.H.; PEREIRA, G.R.; RAMPAZZO, P.E.; RUBIN, R.S.; LUCIO, F.R. Management programs to control *Conyza* spp. in pre-soybean sowing applications. **Planta Daninha**, v 36, p. 1-8, 2018.