

ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DE BIÓTIPOS DE AZEVÉM (*Lolium multiflorum*) SENSÍVEIS E RESISTENTES AO GLYPHOSATE¹

*Morphophysiological Aspects of Ryegrass Biotypes (*Lolium multiflorum*) Sensitive and Resistant to Glyphosate*

GALVAN, J.², RIZZARDI, M.A.³ e SCHEFFER-BASSO, S.⁴

RESUMO - O azevém é uma gramínea com elevado potencial de infestação em lavouras e pomares, e seu controle com glyphosate tem sido limitado devido à existência de biótipos resistentes a esse herbicida. Objetivou-se comparar quatro biótipos de azevém coletados em diferentes regiões do Rio Grande do Sul, com o intuito de testar a hipótese de que aspectos morfofisiológicos e fenológicos estejam vinculados à resistência. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, onde um biótipo suscetível (B1S, Passo Fundo) e três resistentes ao glyphosate (B2R, Santa Maria; B3R, Júlio de Castilhos; e B4R, Vacaria) foram colhidos aos 126, 147, 168 e 189 dias de idade. O biótipo B1S mostrou 21 dias de antecipação no florescimento em relação aos demais biótipos. O biótipo B4R produziu significativamente mais folhas (43 por planta), afilhos (14 por planta), espigas (14 por planta), sementes (3.484 por planta) e matéria seca total (raízes + parte aérea = 13,8 g por planta). Conclui-se que biótipos sensíveis não podem ser diferenciados de biótipos resistentes apenas por aspectos morfológicos relacionados ao vigor.

Palavras-chave: desenvolvimento morfológico, manejo, resistência a herbicida.

ABSTRACT - Ryegrass has a high potential for infestation in crops and orchards and its control with glyphosate has been limited due to the existence of herbicide-resistant biotypes. The objective of this work was to compare four ryegrass biotypes collected from different regions in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, to test the hypothesis that morphophysiological aspects and phenology are linked to resistance. The experiment was conducted in a greenhouse, where four biotypes, one susceptible (B1S, Passo Fundo) and three resistant to glyphosate (B2R, Santa Maria; B3R, Julio de Castillos; B4R, Vacaria) were collected at 126, 147, 168 and 189 days of age. Biotype B1S showed 21 days in advance of flowering in relation to the other biotypes. Biotype B4R produced significantly more leaves (43 per plant), tillers (14 per plant), ears (14 per plant), seeds (3484 per plant) and total dry matter (roots + shoot = 13.8 g per plant). It is concluded that sensitive biotypes cannot be distinguished from the resistant ones only by morphological aspects related to vigor.

Keywords: morphological development, management, resistance to herbicide.

INTRODUÇÃO

O azevém (*Lolium multiflorum*) é uma importante forrageira hibernal, abundante produtora de forragem e possuidora de elevada tolerância ao pastejo (Boldrini et al., 2008), porém sua presença em pomares e lavouras remete ao controle por meio de herbicidas. Em

decorrência do uso repetitivo do glyphosate para controle dessa espécie, promoveu-se a seleção de biótipos resistentes a esse herbicida (Rizzardi et al., 2004), dificultando o manejo das áreas de lavoura.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é a capacidade inerente e herdável de

¹ Recebido para publicação em 13.3.2011 e aprovado em 8.7.2011.

² Biólogo, Aluno de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade de Passo Fundo – UPF; ³ Eng^a-Agr^a, Dr., Professor da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UPF, BR-285, km171, Campus I, Caixa postal 611, 99052-900 Passo Fundo-RS, Bolsista do CNPq, <rizzardi@upf.br>; ⁴ Eng^a-Agr^a, Dra., Professora do Instituto de Ciências Biológicas, UPF.



alguns biótipos, dentro de determinada população de plantas daninhas, de sobreviver e se reproduzir após a exposição à dose herbicida que normalmente seria letal para a população normal (suscetível) da mesma espécie (Christofoleti & Ovejero, 2008). Esse fato assume grande importância, uma vez que, segundo Ferreira et al. (2008), as plantas daninhas frequentemente levam vantagem competitiva sobre as cultivadas. Dessa forma, torna-se necessário o estudo do comportamento biológico/ecológico das espécies daninhas, a fim de traçar estratégias de manejo para elas (Vargas et al., 2005).

Entre os fatores citados por Silva et al. (2007) que determinam a maior competitividade das plantas daninhas sobre as culturas estão o porte, a arquitetura, a maior velocidade de germinação e estabelecimento da plântula, a maior velocidade de crescimento e a extensão do sistema radical. Assim, quanto mais atributos a planta apresentar, que permitam maior habilidade competitiva, maior será a dificuldade para o controle da espécie.

Se os biótipos resistentes ao glyphosate mostram aspectos morfofisiológicos distintos daqueles biótipos sensíveis, pode-se subsidiar, para identificar com mais facilidade plantas tolerantes, e incrementar as práticas de controle químico.

Assim, este estudo objetivou comparar quatro biótipos de azevém oriundos de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, com o

intuito de identificar aspectos morfofisiológicos que possam diferir plantas sensíveis e resistentes ao glyphosate, diante da hipótese de que a resistência está vinculada ao vigor e à precocidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em casa de vegetação, entre maio e dezembro de 2008. A Figura 1 mostra as temperaturas mínimas e máximas diárias ocorridas no interior da casa de vegetação durante o cultivo das plantas.

Os biótipos utilizados no experimento foram identificados a partir da análise prévia de amostras oriundas de 700 locais distintos do Estado do Rio Grande do Sul. Essas amostras foram semeadas em vasos e, no estádio de afilamento, expostas à aplicação de 1.920 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate (Roundup Transorb®), dose superior à indicada pela empresa fabricante, que sugere para essa espécie a aplicação de 720 a 1.440 g e.a. ha⁻¹. As sementes das plantas que sobreviveram foram replantadas e, quando as plantas se encontravam no início do afilamento, fez-se novamente a aplicação de 3.360 g e.a. ha⁻¹ de glyphosate. As plantas que sobreviveram foram consideradas resistentes, sendo mantidas até a colheita, a fim de que suas sementes fossem utilizadas na condução do experimento. Assim, utilizaram-se os biótipos B1S = suscetível, coletado em área sem histórico de aplicação de glyphosate, Passo Fundo; B2R = resistente,

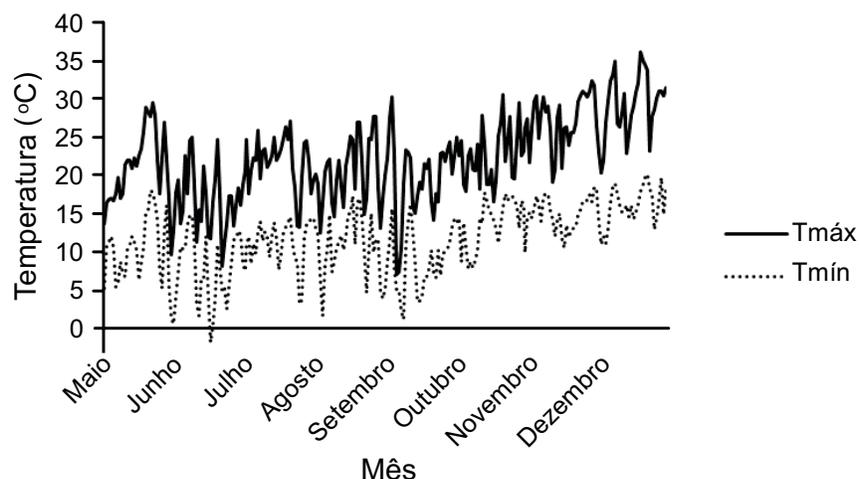


Figura 1 - Temperaturas médias observadas durante o período de cultivo das plantas no interior da casa de vegetação. Passo Fundo-RS, 2008.

Santa Maria, RS; B3R = resistente, Júlio de Castilhos; e B4R, resistente, Vacaria.

O experimento caracterizou-se como um fatorial 4 x 4, em que plantas individuais dos biótipos foram colhidas integralmente em intervalo de 21 dias, aos 126, 147, 168 e 189 dias após a emergência. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições.

As unidades experimentais constaram de vasos plásticos de 5,5 L. Os recipientes foram preenchidos com substrato fértil (argila = 32%; pH SMP = 6,9; MO = 4,5%; P = 51 mg dm⁻³; K = 986 mg dm⁻³) elaborado a partir de um solo do tipo Latossolo Vermelho distrófico típico, adubado química e organicamente.

A semeadura ocorreu em 20 de maio de 2008 e, 15 dias após a emergência, foi feito o desbaste, deixando duas plantas por vaso. As plantas foram mantidas mediante irrigação automática por aspersão, a qual era realizada duas vezes ao dia, num volume total de 4 mm. Em cada colheita, foi feita a avaliação dos seguintes atributos: altura (da base da planta até a inflexão da folha-bandeira), número de afilhos, número de folhas verdes, massa seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSPA), número e massa seca de espigas (MSE) por planta, número de espiguetas por espiga e número de sementes por espiguetas (média de três espiguetas no terço médio da espiga).

Por ocasião das colheitas, as plantas foram retiradas dos vasos após a medição da altura e lavadas, para retirada do substrato aderido às raízes. Posteriormente, após realizadas as avaliações morfológicas, raízes, espigas, folhas + afilhos foram secos em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C, durante 72 horas. A partir das variáveis-resposta primitivas, foram calculados a relação raiz/parte aérea (MSR/MSPA) e o potencial de produção de sementes (PPS), de acordo com a seguinte fórmula: PPS = (nº de espigas por planta) x (nº de espiguetas por espiga) x (nº de sementes por espiguetas).

As informações fenológicas foram obtidas a partir da determinação do momento em que ocorreu o início da antese, da maturação das espigas e senescência das plantas e dos estádios destacados no período reprodutivo da espécie, baseando-se na escala de desenvolvimento de Zadoks et al. (1974). Os dados foram

submetidos à análise de variância em esquema fatorial, com comparação de médias por teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estádios fenológicos dos biótipos, como o início da antese, da maturação das espigas e da senescência das plantas, foram avaliados no dia proposto para a coleta das plantas; se uma destas já se apresentava em estágio morfológico diferente do das demais, para um mesmo biótipo, esse momento era considerado como início da fase para a população como um todo (Tabela 1). O biótipo B1S, embora sem análise estatística, mostrou-se mais precoce em relação aos demais, evidenciando antecipação de 21 dias no início da antese, maturação das espigas e senescência – fato que também foi verificado por Vargas et al. (2005) quando analisaram as alterações das características biológicas ocasionadas pela resistência ao glyphosate.

A antecipação no florescimento das plantas sensíveis é de fundamental importância para a manutenção da sensibilidade delas ao glyphosate, uma vez que, quando os estigmas dessas plantas estiverem receptivos, somente o pólen de anteras de plantas sensíveis estará disponível. Esse fenômeno nada tem de relação com protandria ou protoginia, que se caracterizam por maturar os órgãos reprodutivos numa mesma planta em épocas distintas. A assincronia de floração ocorrente no azevém, embora pudesse ser muito importante, não pode ser considerada como totalmente eficaz, uma vez que o período de floração da espécie é bastante longo e, em campo, a germinação das sementes e o estabelecimento de plantas não são sincronizados.

Tabela 1 - Fenofases de biótipos de azevém com distinta sensibilidade ao herbicida glyphosate, considerando o número de dias após a emergência (DAE)

| Biótipo | Início da antese | Início da maturação da espiga | Início da senescência |
|---------|------------------|-------------------------------|-----------------------|
| B1S | 105 | 126 | 168 |
| B2R | 126 | 147 | 189 |
| B3R | 126 | 147 | 189 |
| B4R | 126 | 147 | 189 |



Vargas et al. (2007) testaram o cruzamento de biótipos de azevém resistente e suscetível ao glyphosate no intuito de verificar a herança da resistência, bem como o grau de resistência resultante do cruzamento entre eles. Verificaram, no entanto, que a resistência é transmitida pelos dois genitores, sendo, então, considerada como herança nuclear, o que também foi observado por Lorraine-Colwill et al. (2001), investigando a herança da resistência ao glyphosate por *Lolium rigidum*. Ainda, segundo esses autores, a F1 resultante do cruzamento entre os biótipos sensíveis e resistentes apresenta 100% das plantas resistentes. Eles classificaram essa planta resultante do cruzamento como um híbrido com sensibilidade intermediária – biótipo heterozigoto com dominância incompleta –, sendo resistente a doses que controlam o biótipo suscetível, porém manejado com doses menores que as necessárias para o controle do biótipo resistente.

A senescência mais tardia nos biótipos resistentes é uma característica a ser investigada em nível de fisiologia vegetal, pois indica alterações no metabolismo das plantas. Segundo Roy (2004), as plantas podem apresentar respostas a herbicidas similares às que ocorrem sob herbivoria ou patógenos, atrasando a senescência ou aumentando a concentração de clorofila.

Esses biótipos seriam plantas forrageiras, provavelmente, mais produtivas, o que reforça

a importância da análise de resistência ao glyphosate no protocolo de avaliação de populações de azevém nos programas de melhoramento da espécie. Do contrário, corre-se o risco de comercializar cultivares com resistência ao herbicida e aumentar a evolução de biótipos com essa característica. Para as regiões produtoras de grãos, onde também ocorre integração do sistema lavoura-pecuária, isso seria um sério problema.

Os biótipos mostraram variação em diversos aspectos (Tabela 2), mas nenhum deles mostrou ser um descritor efetivo para evidenciar diferenças quanto à sensibilidade ao glyphosate. Por outro lado, muitos dos aspectos avaliados não apresentaram diferenças entre os biótipos utilizados, não estando, portanto, discriminados no presente trabalho.

Ao avaliar a variável altura de planta, foi possível observar que o biótipo sensível mostrou-se inferior aos biótipos B3R e B4R, porém superou em 9,4% o biótipo resistente B2R, embora não seja estatisticamente diferente deste. Dessa forma, essa característica não pode ser usada como um descritor diferencial entre os biótipos estudados.

Evidenciou-se que, entre os biótipos resistentes, houve variação quanto a vigor e alocação de massa seca, destacando-se o B4R quanto à densidade de filhotes e, por conseguinte, ao número de folhas e à produção de matéria seca. Esse biótipo mostrou, em conjunto com o B3R, menor relação de alocação

Tabela 2 - Aspectos morfofisiológicos de biótipos de azevém com distinta sensibilidade ao herbicida glyphosate, na média das coletas realizadas aos 121, 142, 163 e 184 dias após emergência

| Aspecto ^{1/} | Biótipo | | | |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | B1S | B2R | B3R | B4R |
| Altura da planta (cm) | 94,8 AB | 85,9 B | 107,1 A | 103,8 A |
| Folhas verdes (nº por planta) | 26,0 B | 28,7 AB | 22,3 B | 43,1 A |
| Afilhos (nº por planta) | 8,7 B | 8,6 B | 7,1 C | 14,0 A |
| MS parte aérea (g por planta) | 8,7 B | 7,9 B | 9,3 B | 12,0 A |
| MS total (g por planta) | 10,5 B | 9,7 B | 10,9 B | 13,8 A |
| MS raiz/MS total (%) | 16,4 AB | 18,5 A | 14,5 BC | 13,1 C |
| Relação raiz/parte aérea | 0,19 B | 0,24 A | 0,17 BC | 0,14 C |
| MS espiga/MS parte aérea (%) | 22,7 B | 28,3 A | 24,6 AB | 20,0 B |
| Espigas (nº por planta) | 8,8 AB | 7,6 B | 7,2 B | 14,3 A |
| Produção de sementes (nº por planta) | 1.888,2 B | 1.504,3 B | 1.602,8 B | 3.484,7 A |

^{1/}Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

de MS em raízes em relação à MS de parte aérea, ao contrário do que mostrou o biótipo suscetível.

Além dos aspectos vegetativos, o B4R mostrou superioridade na produção de espigas, bem como na capacidade de produção de propágulos (Tabela 2), e, conseqüentemente, maior potencial de disseminação da resistência pela lavoura, requerendo dessa forma especial atenção para seu manejo, uma vez que, se essas plantas forem mantidas na área, tenderão a dominar o ambiente.

O azevém tem como característica marcante a sua capacidade de ressemeadura natural, a qual permite a manutenção permanente do banco de sementes no solo. Carmona (1992) caracteriza o banco de sementes como o montante de sementes viáveis e outras estruturas de propagação presentes no solo, que representam um papel ecológico importante no suprimento de novos indivíduos para a comunidade vegetal ao longo do tempo. De acordo com Monquero & Christoffoletti (2005), o tamanho e a composição do banco de sementes refletem todo o manejo adotado no controle de plantas daninhas na área. Ainda, uma redução desse banco pode significar menor problema com plantas daninhas nas áreas agrícolas e, portanto, economia para os agricultores, especialmente com herbicidas, além de ambiente mais saudável, com menor utilização de produtos químicos.

Apenas para a alocação de MS em espiga houve interação biótipo x idade (Tabela 3), com diferença entre os biótipos apenas aos 189 dias de idade. Os biótipos B1S e B4R foram similares quanto a esse aspecto, havendo maior alocação em MS de espiga nos dois outros biótipos. O biótipo B2R, em especial, apresentou a MS de espiga respondendo por mais da metade da MS na parte aérea da planta, aos 189 DAE. Esses resultados mostram novamente que os biótipos não podem ser diferenciados.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os observados por Vargas et al. (2005) no que se refere à duração da planta, porém diferem quanto a produção de matéria seca, número de filhinhos, número de sementes por inflorescência e número de sementes produzidas. Esses autores observaram que em tais características o biótipo resistente de azevém

Tabela 3 - Alocação de matéria seca em espiga de biótipos de azevém com distinta sensibilidade ao herbicida glyphosate, em diferentes idades

| Idade (dias após a emergência) | Biótipo | | | |
|--------------------------------------|---------|---------|----------|----------|
| | B1S | B2R | B3R | B4R |
| | (%) | | | |
| 126 | 4,7 bA | 9,3 cA | 6,3 bA | 9,6 bA |
| 147 | 26,2 aA | 21,1 bA | 18,6 bA | 21,4 aA |
| 168 | 28,2 aA | 31,9 bA | 33,8 aA | 23,3 aA |
| 189 | 31,6 aC | 50,8 aA | 39,6 aAB | 31,6 aBC |

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

mostrou-se inferior ao suscetível. No presente trabalho isso não ocorreu: o biótipo suscetível não apresentou nenhum aspecto que o diferenciasse dos biótipos resistentes, sendo ora superior, ora inferior. As divergências podem se dever ao fato de que esses autores trabalharam com apenas um biótipo suscetível e um biótipo resistente ao herbicida glyphosate. Neste trabalho, caso fosse excluído o biótipo B4R, os dados dos dois estudos seriam similares, reforçando a importância de comparar vários biótipos, a fim de evitar conclusões equivocadas a respeito do assunto.

O elevado desempenho do biótipo resistente B4R, que respondeu pela maior produção de filhinhos, folhas verdes e espigas, bem como de MS e de propágulos, confere a esse biótipo alto poder competitivo, representando maior risco de infestação e permanência nas regiões produtoras de grãos. Assim, os biótipos de azevém que apresentam resistência ao glyphosate não podem ser diferidos dos biótipos sensíveis por meio de aspectos morfofisiológicos, com exceção da fenologia, em que o biótipo suscetível apresentou-se mais precoce que os resistentes. Esse biótipo exige, portanto, especial atenção quanto ao seu controle nas fases iniciais de desenvolvimento, evitando que atinja a fase reprodutiva.

Com este trabalho, verificou-se que não se podem diferir biótipos sensíveis e resistentes em função de características morfológicas relativas ao vigor da planta; no entanto, confirma-se a hipótese de que o biótipo sensível é mais precoce quanto ao início da antese, maturação de espigas e senescência.



LITERATURA CITADA

- BOLDRINI, I. I.; LONGHI-WAGNER, H. M.; BOECHAT, S. C. **Morfologia e taxonomia de gramíneas sul-riograndenses**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
- CARMONA, R. Problemática e manejo de bancos de sementes de invasoras em solos agrícolas. **Planta Daninha**, v. 10, n. 1/2, p. 5-16, 1992.
- CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.) **Aspectos da resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3.ed. Piracicaba: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas - HRAC-BR, 2008. p. 9-34.
- FERREIRA, E. A. et al. Potencial competitivo de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 261-269, 2008.
- LORRAINE-COLWILL, D. F. et al. Inheritance of evolved glyphosate resistance in *Lolium rigidum* (Gaud.). **Theoric Appl. Genetics**, v. 102, n. 4, p. 545-550, 2001.
- MONQUERO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Banco de sementes de plantas daninhas a herbicidas como fator de seleção. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 203-209, 2005.
- RIZZARDI, M. A. et al. Glyphosate herbicide resistance in ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam). In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 7.; INTERNATIONAL SOYBEAN PROCESSING AND UTILIZATION CONFERENCE, 4.; BRAZILIAN SOYBEAN CONGRESS, 3., 2004, Foz do Iguaçu. **Abstracts of contributed papers and posters**. Foz do Iguaçu: Embrapa, 2004. v. 228. p. 94.
- ROY, B. A. Rounding up the costs and benefits of herbicide use. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, v. 101, n. 39, p. 13974-13975, 2004.
- SILVA, A. A. et al. Biologia de plantas daninhas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Ed.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 367 p.
- VARGAS, L. et al. Alteração das características biológicas de azevém (*Lolium multiflorum*) ocasionada pela resistência ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 153-160, 2005.
- VARGAS, L.; MORAES, R. M. A.; BERTO, C. M. Herança da resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao glyphosate. **Planta Daninha**, v. 25, n. 3, p. 567-571, 2007.
- ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for growth stages of cereals. **Weed Res.**, v. 14, n. 6, p. 415-421, 1974.