

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Dissertação

**Mudanças morfofisiológicas e metabólicas em biótipos de
azevém, resistente ou suscetível a glyphosate em
competição com soja**

Claudia de Oliveira

Pelotas, 2013

CLAUDIA DE OLIVEIRA

**MUDANÇAS MORFOFISIOLÓGICAS E METABÓLICAS EM BIÓTIPOS DE
AZEVÉM, RESISTENTE OU SUSCETÍVEL A GLYPHOSATE EM COMPETIÇÃO
COM SOJA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (área do conhecimento: Herbologia).

Orientador: Dr. Dirceu Agostinetto

Coorientador: Dr. Leandro Vargas

Coorientador: Ph.D. Luis Antônio de Ávila

Coorientadora: Dra. Roberta Manica-Berto

Pelotas, 2013

Banca examinadora:

Nilson Gilberto Fleck, Dr.

Fabiane Pinto Lamego, Dra.

Roberta Manica-Berto, Dra.

Dirceu Agostinetto, Dr.
(Orientador)

Aos meus pais, José e Sonia;
Aos meus irmãos, Marcelo e Mateus;

OFEREÇO E DEDICO

“Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta.”

Chico Xavier

Agradecimentos

A Deus, pelo dom da vida, saúde, força e determinação para trilhar este caminho.

Aos meus pais e irmãos que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Aos meus amigos que estiveram presentes em todos os momentos.

Ao Professor Dirceu Agostinetti, exemplo de competência e profissionalismo, pela paciência na orientação, ensinamentos, incentivo, amizade e confiança.

Ao Prof. Leandro Vargas, pela disponibilidade, competência, incentivo e amizade.

Ao Prof. Luis Antonio Avila e Prof.^a Roberta Manica-Berto, pela co-orientação, apoio e confiança.

Ao Prof. Jesus Juares de Oliveira Pinto, exemplo de caráter e de amor à profissão, pela honra do convívio, amizade e ensinamentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade pela oportunidade de realização do curso e aos professores que contribuíram para minha formação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superiores – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos meus colegas e amigos Alfran Martini, Ananda Schener, Angela Bundt, Carla Zemolin, Carlos Schaedler, Diogo Balbé, Diogo Moura, Fábio Schiber, Guilherme Cassol, João Paulo Refatti, Karen Martins, Luis Fernando Martini, Mariah Marques em especial a Ana Claudia Langaro, André Ulguim, Camila Tarouco, Diekson da Silva, Diego Fraga, Francieli Mariani, Jader Job Franco, Leonard Piveta, Laís Perboni, Marcos André Nohatto, Nixon Westendorff, Queli Ruchel, Rafael Rubin

e Rafael Negretti, pela amizade, incentivo, auxílio na execução dos trabalhos e pelos momentos de convívio.

Aos estagiários e bolsistas: Bruno Moncks, Daniela Tessaro, Humberto Farias, Ítalo Moraes, Jéssica Garcia, Lucas Thürmer, Marcelo Timm, Renata Arns, Sandro Roberto Piesanti e Thiago Vieira Duarte, pela amizade e auxílio na execução dos experimentos.

A todos os que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Resumo

OLIVEIRA, Claudia de. **Mudanças morfofisiológicas e metabólicas em biótipos de azevém, suscetível ou resistente a glyphosate, em competição com soja**, 2013. 81f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A soja (*Glycine max*) é a oleaginosa mais cultivada no mundo; no entanto, seu cultivo depende do uso de herbicidas para o controle de plantas daninhas. Em resposta ao manejo adotado, tem ocorrido evolução de populações de plantas daninhas resistentes, sendo que há alguns anos, os produtores vêm observando dificuldades para controlar o azevém (*Lolium multiflorum*) com o herbicida glyphosate. Os objetivos da pesquisa foram: determinar C_{50} e MS_{50} do biótipo de azevém resistente, em relação ao biótipo suscetível; investigar a habilidade competitiva relativa entre biótipos resistente e suscetível de azevém e desses com a cultura da soja; e, verificar as alterações nos compostos secundários e os danos celulares em plantas de soja e dos biótipos de azevém resistente e suscetível ao glyphosate, quando em competição. Os resultados demonstraram que, para o controle do biótipo resistente, são necessárias doses superiores a 40 vezes àquela necessária para o biótipo suscetível. A cultura da soja possui competitividade equivalente ao biótipo suscetível e inferior ao biótipo resistente, enquanto os biótipos suscetível e resistente apresentaram habilidades competitivas equivalentes. Em geral, para a cultura da soja, a produção de compostos secundários, bem como os danos oxidativos aumentaram em decorrência da competição interespecífica. Os biótipos, tanto suscetível quanto resistente, não apresentaram alterações na produção de metabólitos secundários e danos oxidativos quando competindo entre si ou com a cultura da soja.

Palavras Chave: *Glycine max*. *Lolium multiflorum*. Resistência. Habilidade Competitiva.

Abstract

OLIVEIRA, Claudia. **Morphophysiological and metabolic changes in ryegrass biotypes, susceptible or resistant to glyphosate, in competition with soybean**, 2013.81f. Master of Plant Protection - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Soybean (*Glycine max*) is the most grown oilseed worldwide, its cultivation is depending on the usage of herbicides for the control of weeds, in a response to the handling methods applied, the evolution of resistant weed population has occurred. For the past few years the producers have observed difficulties in the control of ryegrass (*Lolium multiflorum*) with glyphosate herbicide. The goals of the research were to determine the C50 and GR50 of the subject resistant biotype, in relation to the susceptible biotype; to investigate the relative competitive ability between resistant and susceptible ryegrass biotypes and of these with soy cultures; and, to verify the changes in secondary compounds and cell damage in soy plants and of the ryegrass biotypes resistant and susceptible to glyphosate, when in competition. The results show that for control the resistant biotype demands doses superior to 40 times those demanded by the susceptible biotype. The soybean culture presents equivalent competitiveness to the susceptible ryegrass biotype and inferior to the resistant biotype, whilst the biotypes, both susceptible and resistant to glyphosate, present equivalent competitive ability. In general, for the soybean culture the production of secondary compounds, as well as the oxidative damages, were superior as a result of the interspecific competition. The biotypes, the susceptible as well as the resistant, did not display changes in the production of secondary metabolites and oxidative damage when competing between each other and with the soybean culture.

Key words: *Glycine max*. *Lolium multiflorum*. Resistance. Competitive ability.

Lista de Figuras

Figura 1	Controle visual (%) de biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>), resistente (RES) e suscetível (SUS), em função da aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliado aos 14 dias após o tratamento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2012.....	24
Figura 2	Controle visual (%) de biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>), resistente (RES) e suscetível (SUS), em função da aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliado aos 22 dias após o tratamento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2012.....	25
Figura 3	Controle visual (%) de biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>), resistente (RES) e suscetível (SUS), em função da aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliado aos 28 dias após o tratamento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2012.....	26
Figura 4	Matéria seca da parte aérea (%) de biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>), resistente (RES) e suscetível (SUS), em função da aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliada aos 28 dias após o tratamento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2012.....	29
Figura 5	Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para área foliar e matéria seca de plantas de soja e de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>) suscetível ao herbicida glyphosate. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011/12.	37
Figura 6	Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para área foliar e matéria seca de plantas de soja e azevém (<i>Lolium multiflorum</i>) resistente ao herbicida glyphosate. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011/12.	38
Figura 7	Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para área foliar e matéria seca de plantas de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>) suscetível e resistente ao herbicida glyphosate, FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS 2011/12 .	40

Lista de Tabelas

Tabela 1	Valores de C_{50} , com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência dos biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>), resistente (R) e suscetível (S), em resposta à aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, em avaliações aos 22 e 28 dias após o tratamento (DAT). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011.....	27
Tabela 2	Valores de MS_{50} com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência dos biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>), resistente (R) e suscetível (S), em resposta a aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliado aos 28 dias após o tratamento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2012.....	30
Tabela 3	Diferenças relativas de produtividade para as variáveis área foliar e matéria seca da parte aérea e produtividade relativa total, nas proporções de plantas de biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>), suscetível e resistente a glyphosate, com soja, cultivar CD226RR, e entre biótipos de azevém. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011/12.....	39
Tabela 4	Resposta para área foliar e matéria seca da parte aérea de biótipo de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>), suscetível e resistente ao herbicida glyphosate, competindo com soja, cultivar CD226RR, sob várias proporções de plantas. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011/12.	41
Tabela 5	Índice de competitividade entre biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>) suscetível e resistente ao herbicida glyphosate, competindo com soja, cultivar CD226RR, expressos por competitividade relativa (CR), coeficiente de agrupamento relativo (K) e de competitividade (C). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011/12.....	43
Tabela 6	Teores de fenóis totais (mg GAE g ⁻¹ MF) extraídos de folhas de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>) suscetível e resistente ao herbicida glyphosate competindo entre si e com soja cultivar CD 226 RR, em função de quatro proporções de plantas em séries substitutivas. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011/12.....	53

Tabela 7	Teores de clorofila <i>a</i> (Ca), <i>b</i> (Cb), total (<i>a+b</i>) e carotenoides totais (CRT) (mg g ⁻¹) extraídos de folhas de soja, cultivar CD 226 RR e azevém (<i>Lolium multiflorum</i>) suscetível ou resistente em função de quatro proporções em séries substitutivas. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011/12.....	56
Tabela 8	Teores de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) (mM/g), TBARS (nM MDA g ⁻¹ de MF) e extravasamento de eletrólitos celulares (%) extraídos de folhas de soja, cultivar CD 226 RR e de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>) suscetível ou resistente ao herbicida glyphosate em função de quatro proporções de plantas em séries substitutivas. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS,2011/12.....	59
Tabela 9	Atividade das enzimas catalases (CAT) (UA mg ⁻¹ prot. min ⁻¹), peroxidases de ascorbato (APX) e dismutases de superóxido (SOD) extraídas de folhas de azevém (<i>Lolium multiflorum</i>) suscetível e resistente ao herbicida glyphosate competindo entre si e com soja, cultivar CD 226 RR, em função de quatro proporções em séries substitutivas. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011/12.....	62

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 Capítulo I - Caracterização da resistência de biótipos de <i>Lolium multiflorum</i> Lam. aos herbicida glyphosate.....	20
2.1 Introdução.....	20
2.2 Material e Métodos.....	21
2.3 Resultados e Discussão.....	23
2.4 Conclusões.....	31
3 Capítulo II - Habilidade competitiva de biótipos de azevém <i>Lolium multiflorum</i> Lam. resistente ou suscetível ao herbicida glyphosate, com soja.....	32
3.1 Introdução.....	32
3.2 Material e Métodos.....	33
3.3 Resultados e Discussão.....	36
3.4 Conclusões.....	45
4 Capítulo III - Alteração do metabolismo secundário em biótipos de azevém (<i>Lolium multiflorum</i> Lam.) resistentes e suscetíveis a glyphosate em competição com soja.....	46
4.1 Introdução.....	46
4.2 Material e Métodos.....	49
4.3 Resultados e Discussão.....	52
4.4 Conclusões.....	66
5 CONCLUSÕES.....	67
6 REFERÊNCIAS.....	68
VITA.....	81

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é a cultura oleaginosa mais importante cultivada no mundo (SILVA et al., 2009). O Brasil é o segundo maior produtor do grão e um dos principais exportadores. Estima-se que na safra 2011/12 foram semeadas mais de 25 milhões de hectares com produção superior a 66 milhões de toneladas (CONAB, 2012). O Rio Grande do Sul (RS) é um dos principais estados produtores de soja no Brasil, com área cultivada de 4,2 milhões de hectares (CONAB, 2012).

Com o desenvolvimento da biotecnologia voltada à agricultura, a produção agrícola vem crescendo, obtendo-se maior produtividade com menor área utilizada. Dentre os fatores que contribuíram com esse crescimento está o desenvolvimento de cultivares resistentes ao herbicida glyphosate. A introdução de cultivares resistentes ao glyphosate permitiu aos agricultores simplificarem o controle de plantas daninhas na soja, substituindo grande número de herbicidas por um único composto (SHANER, 2000). No Brasil, essa tecnologia teve rápida adoção pelos produtores, principalmente devido a flexibilidade no manejo de plantas daninhas e ao maior espectro de controle, com baixo risco de danos, independente do estágio de desenvolvimento da cultura (MULUGETA; BOERBOOM, 2000; REDDY; WHITING, 2000).

O cultivo da soja resistente ao herbicida glyphosate proporcionou aumento considerável no uso da molécula, a qual passou a ser utilizada de duas a três aplicações por ciclo da cultura (VARGAS; MORAES; BERTO, 2007). Contudo, o aumento do uso do glyphosate para controle de plantas daninhas favoreceu a seleção de biótipos resistentes, como por exemplo, o azevém (*Lolium multiflorum* Lam.). Isto dificulta a dessecação das áreas de cultivo, tornando o azevém, apesar de ser espécie de inverno, um problema, nas fases iniciais das culturas de verão, como a soja.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é definida como a capacidade natural e herdável de determinados biótipos, dentro de uma população, de sobreviverem e reproduzirem-se após sua exposição a doses de herbicidas que seriam letais aos indivíduos normais (suscetíveis) da mesma espécie (HRAC, 2013).

O primeiro caso de resistência aos herbicidas inibidores de EPSPs foi de *Lolium rigidum*, na Austrália em 1996. Após 17 anos, já foram relatados 24 biótipos resistentes em 17 países, sendo eles: *Amaranthus palmeri*, *A. spinosus*, *A. tuberculatus*, *Ambrosia artemisiifolia*, *A. trifida*, *Bromus diandrus*, *Chloris truncata*, *Conyza bonariensis*, *C. canadensis*, *C. sumatrensis*, *Cynodon hirsutus*, *Digitaria insularis*, *Echinochloa colona*, *Eleusine indica*, *Kochia scoparia*, *Leptochloa virgata*, *Lolium multiflorum*, *L. perenne*, *L. rigidum*, *Parthenium hysterophorus*, *Plantago lanceolata*, *Poa annua*, *Sorghum halepense* e *Urochloa panicoides* (HEAP, 2013).

Atualmente, existem casos de *L. multiflorum* com resistência a glyphosate na Argentina, Brasil, Chile, Espanha e Estados Unidos. Sendo que no Chile, Brasil e Estados Unidos, houve relatos de biótipos já com resistência múltipla aos herbicidas inibidores das enzimas EPSPs, ACCase e ALS. A resistência múltipla é caracterizada pela resistência a herbicidas com diferentes mecanismos de ação, o que dificulta o controle químico, restringindo as opções de controle alternativo. A maior parte dos casos de resistência múltipla foram reportadas para *L. rigidum* na Austrália, onde há relatos, de biótipos com resistência múltipla a nove grupos químicos (POWLES et al., 1998; PRESTON; POWLES, 2002). O primeiro relato de resistência de *L. multiflorum* no Brasil foi em 2003, para o herbicida glyphosate, no Rio Grande do Sul (HEAP, 2012).

O azevém é uma espécie liliopsida anual ou bianual, alógama, adaptada a diversos tipos de solo, sendo altamente produtiva em solos férteis, onde suporta pastoreio intenso e apresenta rebrote com grande número de filhotes. É uma das melhores forrageiras de inverno, devido aos seus excelentes atributos (CARÁMBULA, 2007). Ele é de fácil dispersão e, por isso, está presente e caracteriza-se como importante planta daninha em culturas como trigo, soja e pomares de macieira e pereira na região Sul do Brasil (ROMAN et al., 2004; VARGAS et al., 2005).

A comprovação científica da resistência de populações de plantas daninhas aos herbicidas pode ser feita através de ensaios de campo, casa-de-vegetação e/ou laboratório. Na literatura encontra-se casos de detecção de resistência confirmados

pelo método de curvas de dose-resposta. Estas, normalmente são representadas por modelos não lineares, como log-logísticos, que utilizam parâmetros que são biologicamente significativos quando aplicados à resposta de plantas a herbicidas (SEEFELDT; JENSEN; FUERST, 1995).

Os modelos log-logísticos permitem estimar a dose necessária para controlar 50% da população (C_{50}) e/ou reduzir 50% da produção de matéria seca da parte aérea (MS_{50}). Esses dados permitem, também, determinar o fator de resistência (FR), calculado pela divisão dos valores da C_{50} ou MS_{50} do biótipo resistente pelos correspondentes do biótipo suscetível, expressando os números de vezes em que os parâmetros, C_{50} ou MS_{50} , do biótipo resistente superam as do biótipo suscetível (HALL; STROME; HORSMAN, 1998).

É importante comparar a adaptabilidade ecológica, pela avaliação da habilidade competitiva do biótipo resistente, em relação ao suscetível, pois ela pode influenciar de forma significativa a taxa de evolução da resistência e/ou a frequência inicial, ou mesmo a manutenção da proporção de plantas resistentes dentro da população quando da ausência da pressão de seleção do herbicida (JASIENIUK; BRÛLÉ-BABEL; MORRISON, 1996). Normalmente, os biótipos mais adaptados são mais competitivos e capazes de aumentar sua proporção ao longo do tempo, eliminando, assim, os indivíduos menos aptos a ocupar determinado nicho ecológico (CHRISTOFFOLETI; WESTRA; MOORE, 1997).

Para determinar as interações competitivas entre plantas daninhas e culturas foram desenvolvidas várias metodologias. Os métodos de estudo consideram os fatores população de plantas, proporção de espécies e arranjo espacial (RADOSEVICH, 1987), abrangendo quatro tipos gerais de experimentos: aditivo, sistemático, superfície de resposta e série substitutiva.

Os experimentos em série de substituição possibilitam estudar competição inter e intraespecífica, determinando qual genótipo ou espécie é mais competitivo (COUSENS, 1991). Nesse tipo de experimento considera-se que as produtividades das associações são determinadas em comparação às dos monocultivos. Dessa forma, trabalha-se com a cultura sozinha e em associação com plantas daninhas, onde as proporções das espécies estudadas variam.

Estudos para avaliar habilidade competitiva entre biótipo resistente e suscetível de plantas daninhas, demonstraram, em geral, que não há diferença na habilidade competitiva de biótipos de *Bidens subalternans* resistentes e suscetíveis a

herbicidas inibidores de ALS (LAMEGO et al., 2011), biótipos de *Cyperus difformis* resistentes e suscetíveis aos herbicidas inibidores da ALS (DAL MAGRO et al., 2011), e biótipos de *Digitaria ciliaris* resistente e suscetível a herbicidas inibidores de ACCase (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2007). Por outro lado, para *Conyza canadensis*, o biótipo resistente a glyphosate foi mais competitivo que o suscetível (SHRESTHA et al., 2010), enquanto para *Lolium multiflorum* o biótipo suscetível a glyphosate apresentou maior capacidade competitiva que o resistente, causando maiores danos na cultura do trigo (FERREIRA et al., 2008).

Nos casos em que os biótipos resistentes sejam menos competitivos, usam-se técnicas culturais como aumento do número de plantas da cultura por área e/ou redução do espaçamento entre fileiras, para suprimir o crescimento daqueles (VARGAS; SILVA, 2009). Dessa forma, torna-se necessário conhecer tais características, bem como o comportamento bioecológico da espécie, para estabelecer estratégias de manejo adequadas, com atuação tanto na prevenção ao surgimento da resistência, como no manejo das populações de plantas daninhas tolerantes (VARGAS; BORÉM; SILVA, 2009).

A competição que se estabelece, entre a cultura e a planta daninha é muito comum em ecossistemas agrícolas, o que acarreta reduções da produtividade e da qualidade do produto final, sendo os efeitos variáveis e dependentes da intensidade da competição. Para isso, estudos já desenvolvidos para avaliar essa capacidade competitiva, a partir de características de crescimento, incluíram estatura, área foliar, afilamento e produção de matéria seca da parte aérea. Porém, poucos trabalhos avaliaram as alterações fisiológicas e metabólicas nas plantas em resposta ao estresse causado pela competição.

Há, ainda, poucas informações sobre os distúrbios provocados pelo estresse competitivo no metabolismo da planta. Suspeita-se que, a exemplo de outros tipos de estresses, a competição possa causar toxicidade à planta, pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs), desencadeando reações a partir de radicais livres, tais como radical superóxido (O_2^-); peróxido de hidrogênio (H_2O_2); radical hidroxila (OH); e, oxigênio singleto (O_2^*). Estes radicais atingem de maneira indiscriminada qualquer tipo de macromolécula alterando sua funcionalidade (MARTINEZ-CAYUELA, 1998) e, conseqüentemente, desestruturando processos fisiológicos e metabólicos nas plantas (SILVEIRA et al., 2001).

Para combater os estresses provocados pelas EROs, as plantas desenvolveram, em sua evolução, dois mecanismos de proteção antioxidante, um enzimático e outro não enzimático (MITTLER, 2002). No sistema enzimático atuam enzimas como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) (JIANG; YANG, 2009). No sistema antioxidante não enzimático, incluem-se principalmente, o grupo dos compostos fenólicos, que são sintetizados pelas plantas em resposta à injúria física, infecções por bactérias, fungos, nematoides, vírus ou qualquer outra causa de estresse (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992).

Trabalhos anteriores demonstraram alterações na atividade das enzimas CAT, APX e SOD, em resposta ao estresse causado por salinidade, déficit hídrico, radiação ultravioleta, baixas temperaturas e aplicação de herbicidas, entre outros (MATSUMURA, et al., 2002; SONG et al., 2007; WANG et al., 2005; WANG et al., 2006; YAN et al., 2003). Assim, é provável que a competição entre plantas também possa modificar a atividade dessas enzimas em resposta ao aumento da produção de EROs, causado por esse estresse.

Os compostos fenólicos são produtos gerados no metabolismo secundário das plantas, sendo que, esses metabólitos nem sempre são necessários para que uma planta complete seu ciclo de vida. Um dos principais componentes do meio externo cuja interação é mediada por compostos do metabolismo secundário são os fatores bióticos. As principais funções desenvolvidas por esses produtos relacionam-se à defesa das plantas contra herbívoros, ataque de patógenos, atração de polinizadores e dispersores de semente e competição entre plantas, entre outros (CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000; LÓPEZ-GRESA et al., 2011; ORMEÑO; FERNANDEZ; MÉVY, 2007; PICHERSKY; GERSHENZON, 2002; SCHRAMMA et al., 2012). Muitos desses compostos também são de interesse comercial, sendo bastante utilizados na indústria química e farmacêutica.

Não existem, até o momento, relatos de caracterização de mecanismos bioquímicos ligados à proteção de plantas contra o estresse oxidativo, diferenciando biótipo de azevém resistente e suscetível a glyphosate, quando em competição com a soja. Assim, é importante conhecer sua relação à ecofisiologia, à dinâmica populacional e à bioquímica da planta daninha resistente, para que medidas de prevenção e manejo sejam adotadas de forma precisa, sustentável e economicamente viável.

Diante do exposto, o presente estudo teve como hipóteses gerais: o biótipo de azevém resistente necessita de maior dose do herbicida glyphosate que o biótipo suscetível, para controlar 50% da população e reduzir 50% a produção de matéria seca da parte aérea; o biótipo de azevém resistente ao herbicida glyphosate apresenta menor habilidade competitiva que o biótipo suscetível e ambos apresentam menor competitividade que a cultura da soja; e, a cultura da soja e os biótipos de azevém, resistente e suscetível a glyphosate, apresentam aumento no seu metabolismo secundário, quando em competição.

Os objetivos da pesquisa foram: determinar os parâmetros C_{50} e MS_{50} , do biótipo resistente em estudo, em relação ao biótipo suscetível; investigar a habilidade competitiva relativa entre biótipos resistente e suscetível de azevém e desses com a cultura da soja; e, verificar alterações em compostos do metabolismo secundário e danos celulares em plantas de soja e dos biótipos de azevém, resistente e suscetível ao herbicida glyphosate, quando em competição.

2 CAPÍTULO I - Caracterização da resistência de biótipos de *Lolium multiflorum* Lam. aos herbicida glyphosate

2.1 Introdução

Define-se resistência de plantas daninhas a herbicidas como a capacidade natural e herdável de determinados biótipos, dentro de uma população, a sobreviverem e reproduzirem-se após sua exposição a doses de herbicidas que seriam letais aos indivíduos normais (suscetíveis) da mesma espécie (HRAC, 2013).

A resistência a herbicidas representa um dos maiores desafios encontrados em áreas agrícolas nos últimos anos, com casos de resistência aumentando exponencialmente nas últimas três décadas (HEAP, 2012). O uso continuado de herbicidas resultou em ampla evolução da resistência em populações de plantas daninhas na agricultura. Atualmente, mais de 200 dessas espécies, em cerca de 60 países foram identificadas como resistentes a herbicidas. Para herbicidas inibidores de EPSPs, estão registradas 24 espécies resistentes no Brasil, as espécies *Lolium multiflorum*, *Conyza bonariensis*, *C. canadensis*, *C. sumatrensis* estão documentadas como resistentes a glyphosate (HEAP, 2013).

O azevém é uma planta daninha anual, de fecundação cruzada, pertencente à família Poaceae, que se adapta a baixas temperaturas e se desenvolve somente no inverno e na primavera (KISSMANN, 2007). A espécie se adapta bem aos solos de baixa e média fertilidade, e responde à adubação, de fácil dispersão e, por isso, está presente e caracteriza-se como planta daninha em praticamente todas as lavouras, além de pomares e vinhedos da região Sul do Brasil (VARGAS; MORAES; BERTO, 2007). O controle de azevém é realizado há muitos anos, com aplicação de herbicidas não seletivos, principalmente glyphosate. Esse herbicida é utilizado em larga escala devido à alta eficiência, combinada ao custo relativamente baixo do

produto. Entretanto, o uso indiscriminado do glyphosate proporcionou o surgimento de biótipos resistentes no estado do Rio Grande do Sul (ROMAN et al., 2004).

O desenvolvimento da resistência a herbicidas pode provocar alterações biológicas nos biótipos resistentes, comparativamente aos suscetíveis (VARGAS et al., 2005). Essas alterações modificam a dose do herbicida que proporciona 50% de controle da população (C_{50}) ou de redução de 50% da produção de matéria seca da parte aérea (MS_{50}) (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2008). O conhecimento destas variáveis permite o cálculo do fator de resistência (FR), o qual se refere ao número de vezes que a dose necessária para o controle da população resistente suplanta a dose que causa o mesmo efeito na população suscetível (HALL; STROME; HORSMAN, 1998).

A hipótese dessa pesquisa foi que o biótipo resistente necessita de maior dose do herbicida glyphosate que o biótipo suscetível para controlar 50% da população e/ou reduzir em 50% a produção de matéria da parte aérea seca. Deste modo, o objetivo da pesquisa foi determinar os parâmetros C_{50} e MS_{50} dos biótipos resistente e suscetível ao glyphosate.

2.2 Materiais e métodos

Realizou-se experimento no período de junho a outubro de 2012, em casa de vegetação do Centro de Herbologia (CEHERB), da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel), localizada no Município de Capão do Leão – RS. Para tanto, utilizou-se delineamento experimental em blocos completamente casualizados, com quatro repetições.

As sementes de azevém suscetível provieram de plantas de área onde não se utilizava o herbicida glyphosate (30° 58' 54" Sul, 54° 40' 39" Oeste); e, as do biótipo de azevém com suspeita de resistência ao glyphosate, obtiveram-se no Município de Tuparendi - RS (27°45'26" Sul e 54°34'27 Oeste) (FRAGA, 2012).

As unidades experimentais constituíram-se de vasos plásticos com capacidade volumétrica de 500 mL, os quais continham substrato comercial Germina Plant®. Na primeira etapa do experimento semearam-se quatro sementes por vaso e, posteriormente, quando as plantas apresentavam duas folhas, realizam-se desbaste, deixando-se uma planta por vaso. Quando as plantas apresentavam quatro afilhos, foram separados dois deles e replantados em substrato, sendo estes submetidos a aplicação de glyphosate, produto comercial Zapp QI 620® (1050 g e a ha⁻¹). Os

tratamentos foram aplicados com pulverizador costal de precisão, pressurizado com CO₂, equipado com pontas tipo leque 110.015, distribuindo-se volume de calda equivalente a 120 L ha⁻¹. As plantas que sobreviveram ou não ao herbicida, foram avaliadas aos 28 dias após a aplicação do tratamento (DAT).

As plantas mãe cujos afilhos sobreviveram foram novamente repicadas e os afilhos transplantados para vasos com capacidade volumétrica de 4 L, mesmo procedimento adotou-se para os afilhos das plantas, do biótipo suscetível. Nas plantas transplantadas foi induzida a produção de afilhos pela aplicação de adubação nitrogenada. Os afilhos foram separados novamente e, então, organizados os blocos do experimento conforme o estágio de desenvolvimento das plantas.

Para determinar os valores de C₅₀ ou MS₅₀, em relação às plantas não tratadas, aplicaram-se doses crescentes do herbicida glyphosate (131,25; 262,5; 525; 1050; 2100; 4200; 8400; 16800 g e a ha⁻¹), sendo considerada dose recomendada 1050 g e a ha⁻¹ (AGROFIT, 2012). Os tratamentos foram aplicados de modo idêntico ao descrito anteriormente. As variáveis avaliadas foram controle (C) e matéria seca da parte aérea (MSPA). O C foi avaliado visualmente, por dois avaliadores, aos 14, 22 e 28 DAT, utilizando-se escala percentual, onde zero (0) representou ausência de sintomas e cem (100) a morte das plantas (FRANS et al., 1986). Aos 28 DAT, realizou-se a colheita das plantas para determinação da MSPA. Para isso, submeteu-se o material vegetal à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, até se obter massa constante. Corrigiu-se a matéria seca para valores percentuais, comparando-se os valores obtidos nos tratamentos que receberam herbicida com aqueles obtidos na testemunha, esta considerada 100%.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade, pelo teste de Shapiro-Wilk e à homocedasticidade, pelo teste de Hartley, e, posteriormente, submeteu-se-os à análise de variância ($p \leq 0,05$). No caso de ser constatada significância estatística, realizou-se análise de regressão para o fator doses; para o fator biótipos, procedeu-se procedido comparações de C₅₀ ou MS₅₀.

Realizou-se análise de regressão com auxílio do programa SigmaPlot 10.0 (SIGMAPLOT, 2007), ajustando-se os dados à equação de regressão sigmoidal do tipo logístico, conforme segue:

$$y = a / [1 + (x / x_0)^b]$$

onde: y = porcentagem de controle; x = dose do herbicida; e a , x_0 e b = parâmetros da equação, sendo que a é a diferença entre os pontos máximo e mínimo da curva, x_0 é a dose que proporciona 50% de resposta da variável e b é a declividade da curva.

A partir dos valores de C_{50} e MS_{50} obtiveram-se os FR para o biótipo resistente e suscetível da espécie. Para utilização do FR, foi necessário verificar o intervalo de confiança ($p \geq 0,95$) do biótipo suscetível em relação ao resistente. A sobreposição do intervalo de confiança do biótipo suscetível, em relação ao resistente, indicou que não ocorreu diferença significativa entre C_{50} e MS_{50} dos biótipos.

2.3 Resultados e Discussão

O teste de Shapiro Wilk demonstrou não ser necessário transformar os dados. Verificou-se interação para os fatores biótipos e doses para as variáveis avaliadas. O controle do azevém, pelo herbicida glyphosate, ajustou-se à equação de regressão sigmoidal do tipo logístico em todas as épocas de avaliação. Os valores do coeficiente de determinação (R^2) variaram de 0,92 a 0,99, demonstrando ajuste satisfatório do modelo aos dados (Fig. 1, 2 e 3). A partir das equações, calcularam-se os valores de C_{50} para os biótipos de azevém resistente e suscetível.

Para o biótipo suscetível, aos 14 DAT, obtiveram-se valores de 50% de controle com o uso de 400 g e a ha^{-1} de glyphosate. O uso de 1050 g e a ha^{-1} de glyphosate, correspondente à dose recomendada, apresentou controle de 70% aproximadamente. Para o biótipo resistente, na mesma época de avaliação, o controle foi inferior a 30%, em todas as doses utilizadas no experimento (Fig. 1).

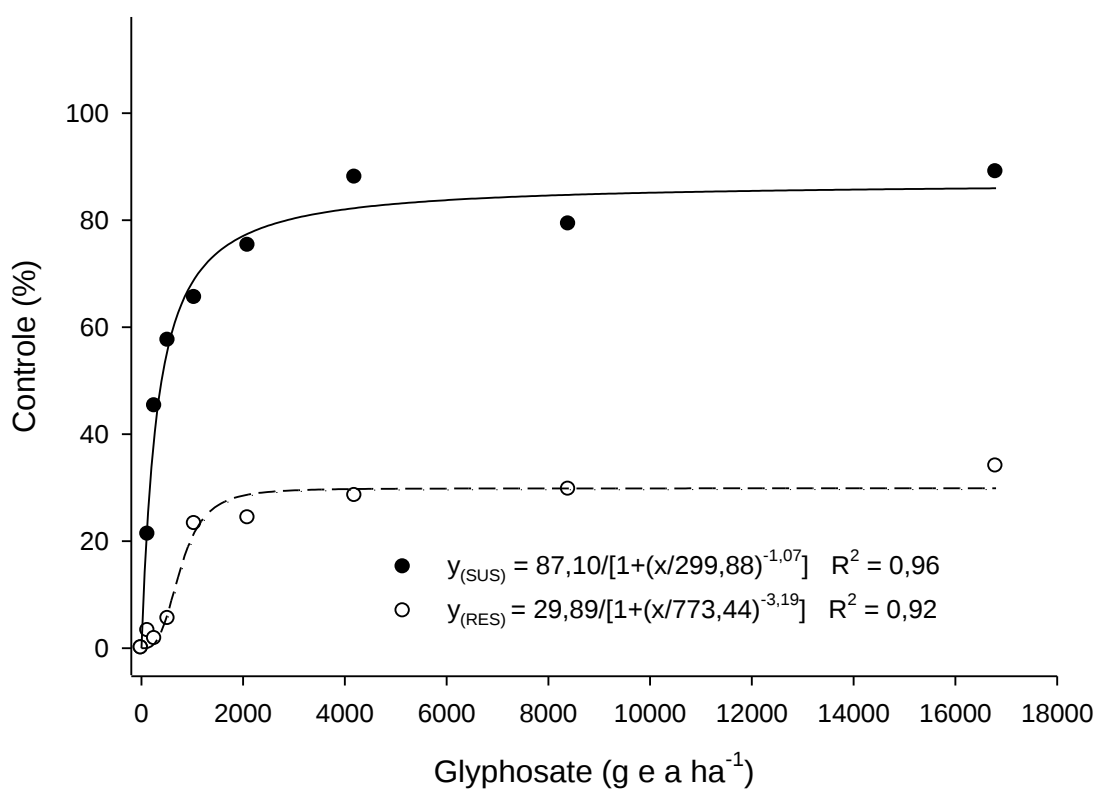


Figura 1 – Controle visual (%) de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*), resistente (RES) e suscetível (SUS), em função da aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliado aos 14 dias após o tratamento. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2012. Os pontos representam os valores médios das repetições.

Na avaliação realizada aos 22 DAT, o biótipo suscetível sofreu controle de 99%, quando submetido à aplicação da dose recomendada de glyphosate; enquanto, para o biótipo resistente, essa dose proporcionou controle de apenas 18% (Fig. 2). A dose máxima utilizada no experimento, 16x a dose comercial, ocasionou controle de 85%, não alcançado nível satisfatório (90%) de controle do azevém resistente, nesta época de avaliação.

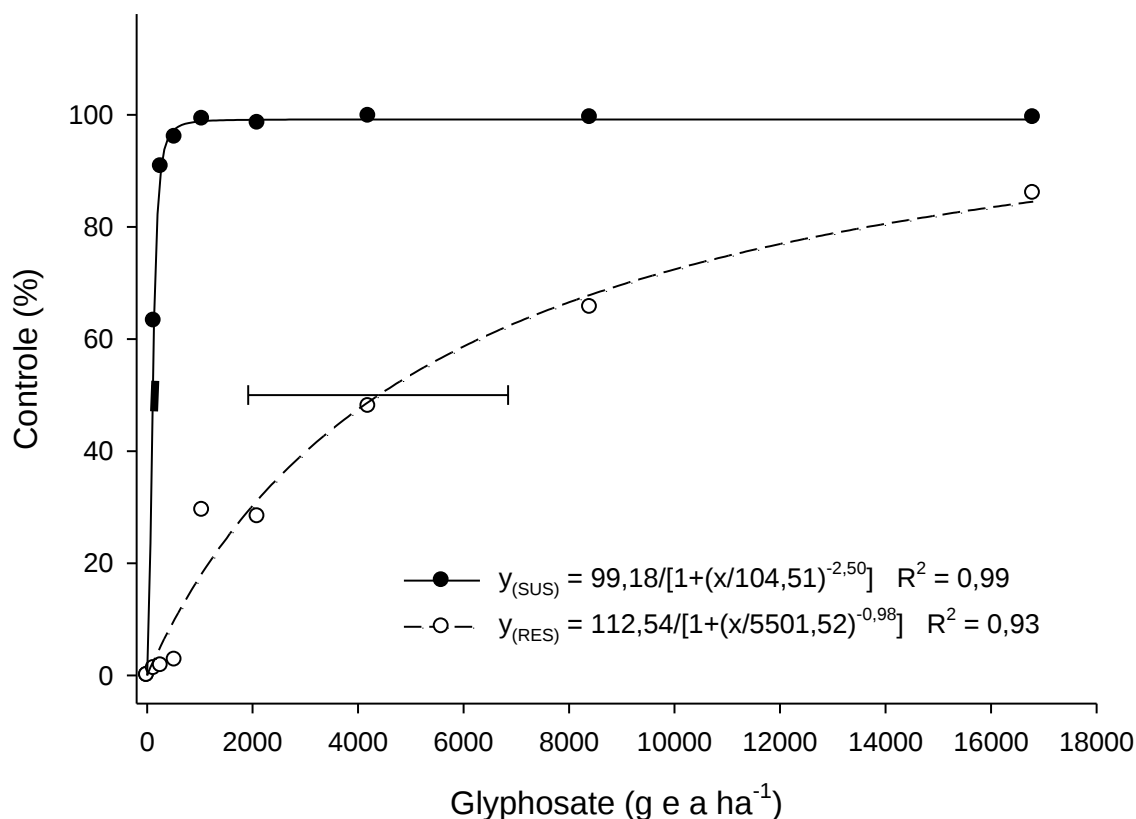


Figura 2 – Controle visual (%) de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*), resistente (RES) e suscetível (SUS), em função da aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliado aos 22 dias após o tratamento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2012. Os pontos representam os valores médios das repetições e as barras horizontais os intervalos de confiança para a dose que causa 50% de controle na planta, com 95% de significância.

Aos 28 DAT, o biótipo suscetível apresentou controle próximo a 100%, já a partir da dose correspondente a 25% da comercial (262,5 g e a ha⁻¹) (Fig. 3). Para o biótipo resistente, a dose recomendada do herbicida (1050 g e a ha⁻¹), praticamente não apresentou efeito sobre as plantas. Não foi alcançado controle de 90% com o uso de 16x a dose de registro (16800 g e a ha⁻¹). Teste feito com biótipo de azevém proveniente de outra região do RS demonstrou que, para o controle do biótipo suscetível, foram necessárias 360 g e a ha⁻¹ do herbicida glyphosate; enquanto, para o resistente, aplicação de 5750 g e a ha⁻¹ resultou em fitotoxidade inferior a 45% (ROMAN et al., 2004).

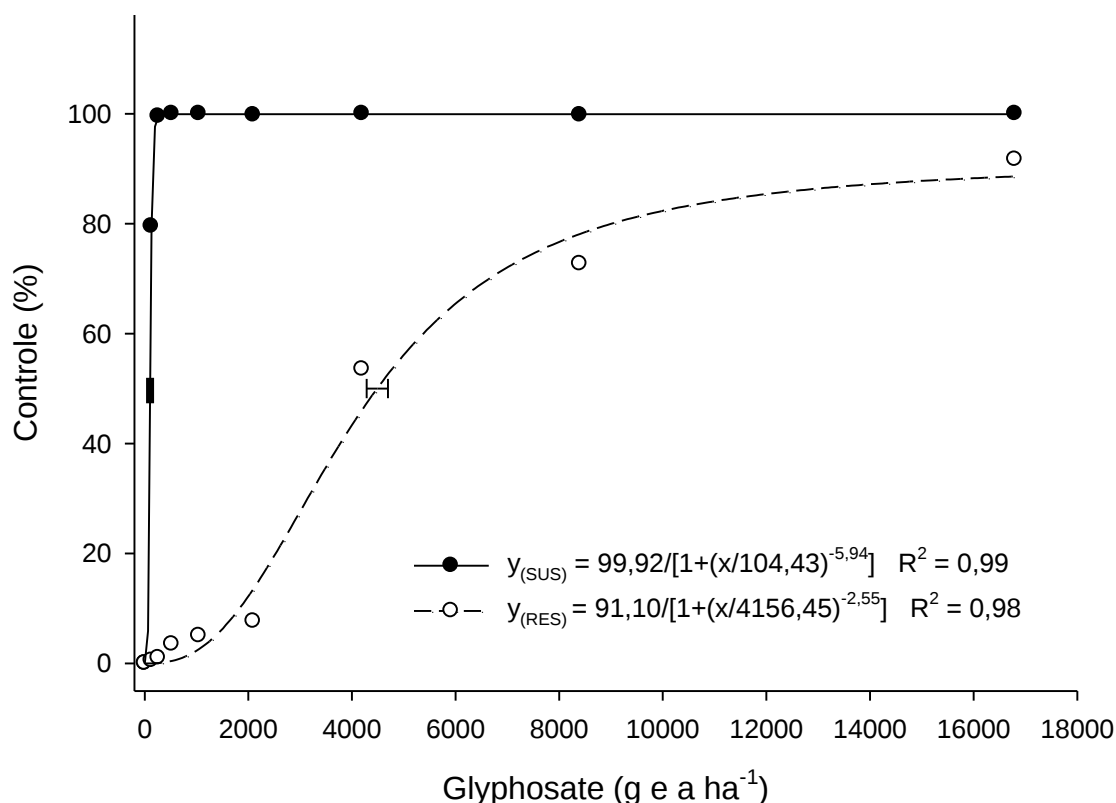


Figura 3 – Controle visual (%) de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*), resistente (RES) e suscetível (SUS), em função da aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliado aos 28 dias após o tratamento. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2012. Os pontos representam os valores médios das repetições e as barras horizontais os intervalos de confiança para a dose que causa 50% de controle na planta, com 95% de significância.

Para o biótipo suscetível, aos 14 DAT, a dose necessária para 50% de controle foi próxima de 400 g e a ha⁻¹; enquanto, aos 22 e 28 DAT, a dose para tal grau de controle foi próxima de 105 g e a ha⁻¹, ou seja, 10x menor que a dose recomendada (Fig. 2 e 3, tab. 1). Para o biótipo resistente, aos 14 DAT, não foi possível estabelecer o valor para 50% de controle, pois em nenhuma dose de glyphosate testada obteve-se tal índice. Nas épocas de avaliação de 22 e 28 DAT, para que fosse obtido 50% de controle foi necessário usar aproximadamente, 4380 g e a ha⁻¹, o que representa mais de 4x a dose comercial recomendada para o controle de azevém (Fig. 2 e 3, tab. 1).

O cálculo do FR, aos 14 DAT, não foi realizado, em função do biótipo resistente não alcançar 50% de controle com as doses testadas (Fig. 1). Com base na ausência de sobreposição do IC do biótipo suscetível, em relação ao IC do

biótipo resistente (Fig. 2, 3), foi possível estabelecer valores de FR de 41,7 e 43,2, para as avaliações realizadas aos 22 DAT e 28 DAT, respectivamente.

O FR representa a dose do herbicida glyphosate necessária para promover 50% de controle do biótipo resistente, em comparação ao suscetível. Assim, para se obter controle equivalente dos biótipos é necessário, para o biótipo resistente, dose superior a 40 vezes àquela necessária para o biótipo suscetível. Assim, pode-se afirmar que o biótipo suspeito testado apresenta resistência ao glyphosate, considerando-se o elevado valor do FR e a dose para se obter de 50 % de controle, aos 28 DAT, ser maior a 4x a máxima registrada para controle da espécie.

Tabela 1 – Valores de C_{50} , com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência dos biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*), resistente (R) e suscetível (S), em resposta à aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, em avaliações aos 22 e 28 dias após o tratamento (DAT). FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2011.

Biótipo	C ₅₀ ¹		Fator de resistência ²
	g e a ha ⁻¹	95% IC	
22 DAT			
R	4380	1918 – 6842	41,7
S	105	101 – 109	-
28 DAT			
R	4490	4286 – 4694	43,2
S	104	94 – 114	-

¹ C_{50} = dose necessária para obter 50% de controle;

² Fator de resistência ao herbicida glyphosate dos biótipos de *Lolium multiflorum*, obtido da divisão do C_{50} do biótipo resistente em relação ao biótipo suscetível.

O FR observado foi elevado quando comparado a trabalhos realizados com biótipos de *Lolium multiflorum* e *Lolium rigidum* resistentes a glyphosate, como por exemplo: biótipos estudados na Austrália que apresentaram FR igual a 11 e 10, dependendo do local de origem das sementes (POWLES et al., 1998; PRATLEY et al., 1999) e do Chile e Estados Unidos onde foram documentados biótipos com FR aproximados de quatro (NANDULA et al., 2008; PEREZ; KOGAN, 2002). Por outro lado, biótipo oriundo da Califórnia-EUA apresentou FR de 91 (SIMARMATA; PENNER, 2008).

Existe, portanto, grande variação nos níveis de resistência ao glyphosate em biótipos de azevém, sendo que essa variação pode decorrer de diferenças nas metodologias adotadas em cada estudo ou devido à variabilidade encontrada nas populações de azevém, tais como: condições de aplicação e formulação do

herbicida utilizado; estágio de desenvolvimento das plantas; local de coleta dos biótipos ou mecanismo de resistência envolvido.

Em liliopsidas, como o azevém, identificaram-se diferentes mecanismos de resistência, como: translocação reduzida (MICHITTE et al., 2007; YU et al., 2009), provavelmente devido ao sequestro vacuolar (GE et al., 2012); mutação na enzima EPSPs (KAUNDUN et al., 2011; PEREZ-JONES et al., 2007; PRESTON et al., 2009); super expressão da enzima EPSPs (BAERSON et al., 2002); e, metabolização do glyphosate (DE CARVALHO et al., 2012). Estes mecanismos de resistência podem coexistir em um mesmo biótipo (YU; CAIRNS; POWLES, 2007), o que torna as plantas mais resistentes ao herbicida (PRESTON et al., 2009). Até o momento não foram realizados estudos aprofundados para elucidar o mecanismo de resistência em biótipos de azevém oriundos de lavouras do sul do Brasil.

Com relação à MSPA, observou-se decréscimo nos valores à medida que aumentou a dose do herbicida glyphosate, para ambos os biótipos (Fig. 4). A variável ajustou-se à equação de regressão sigmoidal do tipo logístico.

A dose de glyphosate que causou 50% de redução da MSPA (MS_{50}) do biótipo suscetível foi de 3 g e a ha^{-1} e do biótipo resistente de 1350 g e a ha^{-1} . A dose recomendada do herbicida reduziu a MSPA das plantas do biótipo suscetível em cerca de 88%, enquanto o biótipo resistente perdeu em torno de 45% (Fig. 4). Isto demonstra que, apesar de visualmente as plantas resistentes apresentarem poucos danos causados pelo herbicida (Fig. 3), houve redução na produção de MSPA.

Considerando os valores de MS_{50} , verificou-se FR de 450, valor considerado bem elevado, confirmando-se a evidência de que o biótipo testado é realmente resistente ao herbicida glyphosate (tab. 2). O valor alto do FR ocorre devido à elevada eficiência do herbicida sobre o biótipo suscetível, pois 25% da dose recomendada de glyphosate foi suficiente para inibir o acúmulo de matéria desse biótipo; porém, cabe resaltar que, mesmo o uso de 16x a dose comercial, não inibiu completamente o desenvolvimento do biótipo resistente.

Para biótipos provenientes de Vacaria-RS, obtiveram-se MS_{50} de 287,5 e 4833,5 g e a ha^{-1} de glyphosate para os biótipos suscetível e resistente, respectivamente, constatando-se, assim, FR de 16,8 (VARGAS et al., 2005). Já, biótipos de *Lolium rigidum*, provenientes da Espanha, tiveram MS_{50} variando de 78 a 268 g e a ha^{-1} , para o suscetível e de 380 a 1317 g e a ha^{-1} , para o resistente

dependendo da fase de desenvolvimento das plantas, sendo de 4,8 o FR médio dos estádios (GONZÁLEZ-TORRALVA et al., 2012). Existe variação entre a dose necessária para reduzir a matéria seca dos biótipos nos diferentes trabalhos, o que leva também à variação dos FR encontrados. Como citado anteriormente, a grande variabilidade encontrada nas populações de azevém, assim como diferenças de metodologia nos estudos que visam confirmar a resistência desses, torna difícil comparar os FR entres os biótipos.

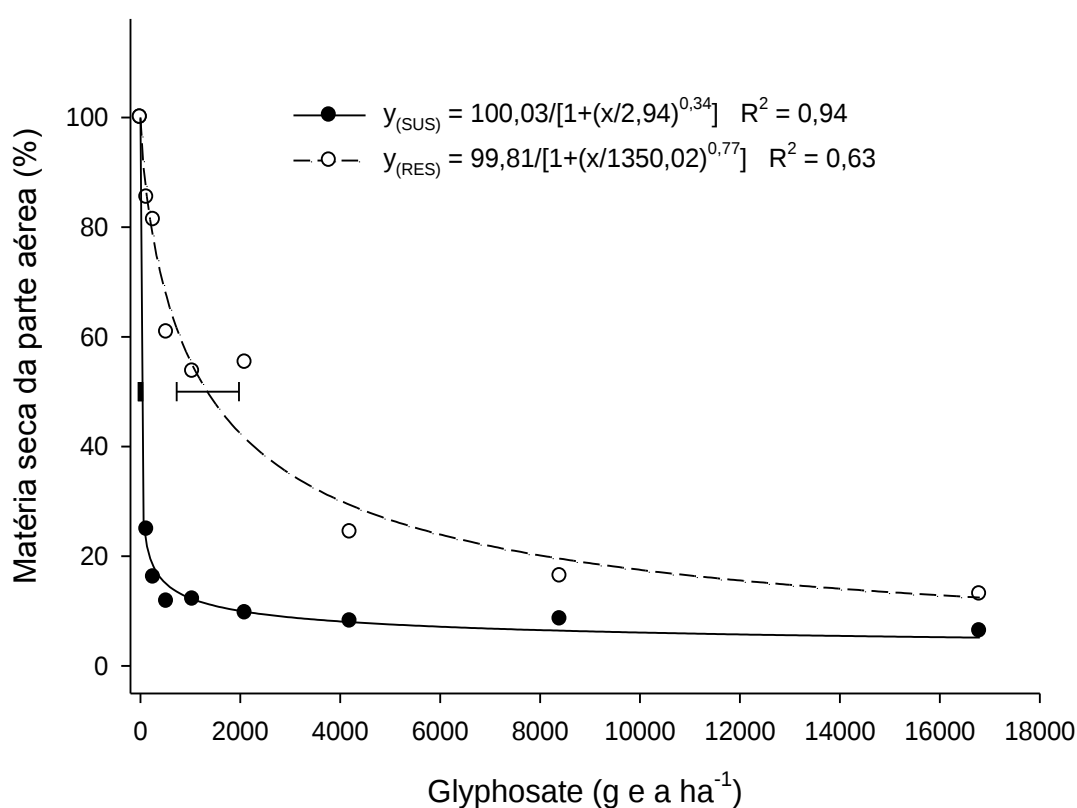


Figura 4 – Matéria seca da parte aérea (%) de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*), resistente (RES) e suscetível (SUS), em função da aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliada aos 28 dias após o tratamento. FAEM/UFPeI, Capão do Leão/RS, 2012. Os pontos representam os valores médios das repetições e as barras horizontais os intervalos de confiança para a dose que causa 50% de controle da planta, com 95% de significância.

Tabela 2 – Valores de MS₅₀ com intervalos de confiança (IC) e fator de resistência dos biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*), resistente (R) e suscetível (S), em resposta a aplicação de diferentes doses do herbicida glyphosate, avaliado aos 28 dias após o tratamento. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2012.

Biótipo	MS ₅₀ ¹		Fator de resistência ²
	g e a ha ⁻¹	95% IC	
R	1350	728 – 1972	450
S	3	0 – 6	-

¹ MS₅₀ = dose necessária para obter 50% de redução de matéria seca;

² Fator de resistência ao herbicida glyphosate dos biótipos de *Lolium multiflorum*, obtido da divisão do MS₅₀ do biótipo resistente em relação ao biótipo suscetível ao glyphosate.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é um processo em evolução, onde sua dinâmica e seu impacto são dependentes de alguns fatores, por exemplo: genético (número e frequência de genes de resistência); biologia das espécies de plantas (capacidade de produção de sementes); herbicidas (sítio de ação e atividade residual); e, operacionais (dose do herbicida e habilidade do operador) (POWLES; YU, 2010).

A variabilidade genética natural existente em qualquer população de plantas daninhas é responsável pela fonte inicial de resistência (CRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO, 2003). Assim, todas as populações de plantas daninhas, independente da aplicação de qualquer produto, provavelmente contêm plantas (biótipos) que são resistentes a herbicidas (KISSMANN, 1996). Geralmente, as mutações gênicas que ocorrem em população suscetível que ainda não foi submetida à pressão de seleção pelo herbicida, resultam de outros fatores de recombinação genética, não sendo, portanto, induzidas pelo agente de seleção, ou seja, o herbicida.

A diversidade genética é comum, principalmente entre as plantas daninhas anuais, como o azevém, e favorece a seleção da resistência ao herbicida. Isso explica, ao menos em parte, o porquê, em nível mundial, a maioria dos biótipos resistentes aos herbicidas são de espécies anuais. Ainda, elevadas infestações de plantas daninhas favorecem o aumento dos riscos de seleção para resistência (WINKLER; VIDAL; BARBOSA-NETO, 2002).

Quando a população de plantas do biótipo resistente, em determinada área, é suficiente para limitar a produção das culturas agrícolas, há necessidade de mudanças nas práticas de manejo utilizadas (MOREIRA et al., 2010). O aspecto mais importante na prevenção e manejo da resistência é a recomendação de

práticas e sistemas de produção em que seja reduzida a pressão de seleção de biótipos resistentes a determinado herbicida (BOERBOOM, 1999).

No RS existem, atualmente, biótipos de *L. multiflorum* resistentes aos herbicidas inibidores das enzimas EPSPs, ACCase e ALS e, adicionalmente com resistência múltipla a inibidores de EPSPs e ALS (HEAP, 2013). Este fato torna o manejo dessa espécie complicado e gera necessidade de mais conhecimento técnico e científico para conter a seleção de biótipos resistentes de azevém.

Assim, cada vez mais, torna-se importante entender os fatores que ajudam a atrasar a seleção de biótipos resistentes, bem como aqueles que levam ao desenvolvimento da resistência (PRESTON et al., 2009). Com isso poderá se elaborar estratégias eficientes de manejo integrado de plantas daninhas, reduzindo os danos que a resistência do azevém está causando nas lavouras do sul do Brasil.

2.3 Conclusões

O biótipo de azevém investigado é resistente ao herbicida glyphosate.

Para controle equivalente de biótipo resistente é necessário, dose de glyphosate superior a 40 vezes àquela necessária para o biótipo suscetível.

Para a redução de 50% da matéria seca da parte aérea do biótipo resistente, são necessárias doses 450 vezes maiores do que as necessárias para o biótipo suscetível.

3 CAPÍTULO II - Habilidade competitiva de biótipos de azevém *Lolium multiflorum* Lam. resistente ou suscetível ao herbicida glyphosate, com soja

3.1 Introdução

A soja (*Glycine max* L.) se destaca entre as principais oleaginosas produzidas no mundo (SILVA et al., 2009). A área cultivada com soja no Brasil, na safra 2011/12, foi de, aproximadamente 25 milhões hectares, com produção em torno de 66 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2012). Seu cultivo no país depende, sobretudo, do uso de herbicidas para o controle de plantas daninhas que infestam a cultura e, em resposta ao manejo adotado, tem ocorrido evolução de populações de plantas daninhas resistentes aos compostos (HEAP, 2012).

Há alguns anos, os produtores vêm constatando dificuldades para controlar o azevém (*Lolium multiflorum*) com o herbicida glyphosate (ROMAN et al., 2004), prática comumente realizada. Essas falhas no controle dificultam a dessecação das áreas de cultivo, tornando o azevém, apesar de espécie de inverno, um problema nas fases iniciais de estabelecimento da soja.

Apesar de sua aparente semelhança fisiológica, biótipos de azevém suscetíveis e resistentes podem apresentar características diferenciais quanto sua habilidade competitiva com as culturas. Os biótipos mais adaptados normalmente são mais competitivos e, assim são capazes de aumentar sua proporção relativa ao longo do tempo e eliminar os indivíduos menos aptos a ocupar determinado nicho ecológico (CHRISTOFFOLETI; WESTRA; MOORE, 1997).

A competição entre plantas ocorre quando ao menos um dos recursos essenciais ao seu desenvolvimento e crescimento encontra-se em quantidade limitada para atender às necessidades de todos os indivíduos presentes no meio. No

ambiente, pode ocorrer competição intraespecífica e/ou interespecífica, podendo a última ser mais representativa, dependendo do nicho ecológico (RIGOLI et al., 2008).

Para determinar as interações competitivas entre plantas daninhas e culturas, têm sido desenvolvidos vários métodos, os quais consideram os fatores população de plantas, proporção de espécies e arranjo espacial (RADOSEVICH, 1987), abrangendo quatro tipos gerais de experimento: aditivo, sistemático, superfície de resposta e série substitutiva. Em cada método experimental, a resposta de uma espécie é utilizada para descrever a influência da outra na associação, por meio de variáveis como produtividade, taxa de germinação, mortalidade de plantas, entre outras.

Os experimentos em série de substituição possibilitam o estudo da competição inter e intraespecífica. A premissa desse tipo de experimento é de que as produtividades das associações possam ser determinadas em comparação às do monocultivo, mantendo-se constante a população total de plantas. Esses experimentos visam indicar qual genótipo ou espécie é mais competitivo (COUSENS, 1991).

A hipótese desta pesquisa foi de que biótipo de azevém resistente ao herbicida glyphosate apresenta menor habilidade competitiva que biótipo suscetível e que ambos apresentam menor competitividade que a cultura da soja. Assim, o objetivo do estudo foi investigar a habilidade competitiva relativa entre biótipos resistentes e suscetíveis de azevém e desses com a cultura da soja.

2.2 Materiais e métodos

Para determinar a habilidade competitiva entre os biótipos de azevém suscetível e resistente ao glyphosate, em convivência, e destes com a cultura da soja, foram conduzidos quatro experimentos em casa de vegetação. Para todos os experimentos utilizaram-se sementes da cultivar de soja CD226RR. As sementes de azevém suscetível provieram de plantas de área onde nunca se utilizava o herbicida glyphosate (30° 58' 54" Sul, 54° 40' 39" Oeste); e, as de biótipo de azevém resistente ao herbicida glyphosate, obtiveram-se do Município de Tuparendi – RS (27°45'26" Sul e 54°34'27 Oeste) (FRAGA, 2012).

Conduziram-se experimentos em delineamento completamente casualizado, com quatro repetições. As espécies foram semeadas em vasos com capacidade de

8 litros e diâmetro de 23 cm, preenchidos com Argissolo Vermelho-Amarelo, de textura franco-arenosa, pertencente à unidade de mapeamento Pelotas (EMBRAPA, 1999).

O primeiro experimento, com monocultivos de soja e de azevém, objetivou determinar a população de plantas m^{-2} a partir da qual a matéria seca da parte aérea (MSPA) por unidade de área (g m^{-2}) torna-se independente da população, de acordo com a “lei de produção final constante” (RADOSEVICH et al., 1997). As populações testadas foram 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 e 128 plantas por vaso (equivalentes a 24, 48, 96, 192, 385, 770, 1540 e 3080 plantas m^{-2}).

A variável matéria seca da parte aérea (MSPA) foi quantificada aos 40 e 60 dias após a emergência (DAE) pela pesagem da parte aérea das plantas após serem secas em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C por 72 horas. Para análise dos dados, utilizou-se a produção recíproca para determinar a população de plantas onde a MSPA se tornava constante. Esta foi obtida na população de 24 plantas por vaso (578 plantas m^{-2}) para os experimentos entre soja e azevém e de 36 plantas por vaso (866 plantas m^{-2}), para o experimento entre os biótipos de azevém suscetível e resistente a glyphosate, valores quantificados aos 40 dias para a soja e 60 dias para o azevém (dados não apresentados).

O segundo e terceiro experimentos foram conduzidos em série de substituição, associando-se soja com os biótipos de azevém suscetível ou resistente, durante os meses de outubro a dezembro de 2011, sendo instalados com população de 24 plantas por vaso (578 plantas m^{-2}). Nos experimentos 2 e 3 a semeadura da soja foi realizada 20 DAE das plantas de azevém, para simular o escape ou rebrote das plantas que ocorre nas lavouras após a dessecação pré-semeadura da cultura.

O quarto experimento foi conduzido em série de substituição, entre os biótipos de azevém, nos meses de maio a julho de 2012, com população de 36 plantas por vaso (866 plantas m^{-2}).

As proporções entre plantas de soja e azevém suscetível (experimento 2) ou resistente (experimento 3); e, entre azevém suscetível e resistente (experimento 4) foram de 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 e 0:100, respectivamente. Avaliaram-se as variáveis área foliar (AF) ($\text{cm}^2 \text{ planta}^{-1}$) e MSPA (g planta^{-1}) aos 40 DAE da cultura da soja e aos 60 DAE das plantas de azevém. Determinou-se AF com auxílio de

medidor de área foliar (modelo LI 3100C), enquanto a MSPA foi quantificada de modo idêntico ao descrito anteriormente.

Para análise das variáveis AF e MSPA da cultura e dos competidores, utilizou-se o método da análise gráfica da produtividade relativa (COUSENS, 1991; RADOSEVICH, 1987; ROUSH et al., 1989). O referido procedimento, também conhecido como método convencional para experimentos substitutivos, consiste na construção de diagrama, tendo por base as produtividades ou variações relativas (PR) e totais (PRT). Quando o resultado da PR tender a uma linha reta, significa que as habilidades das espécies são equivalentes. Caso a PR resultar em linha côncava, indica que existe prejuízo no crescimento de uma ou de ambas as espécies. Ao contrário, se a PR mostrar linha convexa, há benefício no crescimento de uma ou de ambas as espécies. Quando a PRT for igual à unidade (1) (linha reta), ocorre competição pelos mesmos recursos e se ela for superior a 1 (linha convexa), a competição é evitada. Caso a PRT seja menor que 1 (linha côncava), ocorre prejuízo mútuo ao crescimento (COUSENS, 1991; RADOSEVICH; HOLT; GHERSA, 2007).

Além da PR e da PRT, os resultados obtidos para AF e MSPA das plantas de soja e azevém suscetível e/ou resistente, expressos em valores médios por planta, foram submetidos à análise de variância. Quando o teste F indicou significância ($p < 0,05$), as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), considerando-se as respectivas monoculturas como testemunhas.

Calcularam-se os índices de competitividade relativa (CR), coeficientes de agrupamento relativo (K) e de competitividade (C). A CR representa o crescimento comparativo da espécie X em relação à Y; K indica a dominância relativa de uma espécie sobre a outra; e C aponta qual das espécies é mais competitiva. Assim, os índices CR, K e C indicam qual espécie se manifesta mais competitiva, e sua interpretação conjunta indica com maior segurança a competitividade das espécies (COUSENS, 1991). A espécie X é mais competitiva que Y quando $CR > 1$, $K_x > K_y$ e $C > 0$; por outro lado, a espécie Y é mais competitiva que X quando $CR < 1$, $K_x < K_y$ e $C < 0$ (HOFFMAN; BUHLER, 2002). Para calcular esses índices foram usadas as proporções 50:50 das espécies, utilizando-se as seguintes equações: $CR = PR_x/PR_y$; $K_x = PR_x/(1-PR_x)$; $K_y = PR_y/(1-PR_y)$; $C = PR_x - PR_y$. (COUSENS; O'NEILL, 1993).

O procedimento de análise estatística da produtividade ou variação relativa incluiu o cálculo das diferenças para os valores de PR (DPR), obtidos nas

proporções 25, 50 e 75%, em relação aos valores pertencentes à reta hipotética nas respectivas proporções (BIANCHI; FLECK; LAMEGO, 2006; PASSINI, 2001). Utilizou-se o teste "t" para avaliar as diferenças relativas aos índices DPR, PRT, CR, K e C (HOFFMAN; BUHLER, 2002; ROUSH et al., 1989). O critério para considerar as curvas de PR e PRT diferentes das retas hipotéticas, e a existência de diferenças em competitividade, para os índices CR, K e C, foi de que, no mínimo em duas proporções, ocorressem diferenças pelo teste "t" (BIANCHI; FLECK; LAMEGO, 2006).

2.3 Resultados e Discussão

A análise gráfica das combinações de plantas da cultivar de soja CD226RR e dos biótipos de azevém suscetível ou resistente, para as variáveis de AF e MSPA, mostrou que os desvios observados das retas da PR, em relação às retas esperadas, são representados por linhas côncavas, tanto para a cultura quanto para as competidoras (Fig. 5 e 6). Isto demonstra que a competição é desfavorável a ambas as espécies, resultado que corrobora o que foi observado para competição entre soja e papuã (AGOSTINETTO et al., 2009).

Considerando-se que, para haver significância, pelo menos duas proporções devem apresentar diferenças, ocorreram diferenças para o azevém suscetível, em ambas as variáveis (Fig. 5; tab. 3). Já a combinação da cultivar de soja com o biótipo de azevém resistente não mostrou diferenças para PR da planta daninha, em ambas as variáveis (Fig. 6; tab. 3). Resultado similar ao encontrado para o biótipo suscetível, foi relatado para competição entre trigo e azevém, onde a planta daninha sofreu diminuição de AF e MSPA (FRAGA, 2012; RIGOLI et al., 2008).

Para a soja, os valores de PR observados situaram-se abaixo do esperado, sendo significativas as diferenças para as variáveis AF e MSPA, quando em competição com o biótipo resistente (tab.3). Resultados semelhantes foram relatados para competição de soja com nabo ou buva (BIANCHI; FLECK; LAMEGO, 2006; SILVA, 2012). Já, a competição da cultura com arroz vermelho ocasionou aumento da matéria seca da parte aérea das plantas de soja (MORAES et al., 2009).

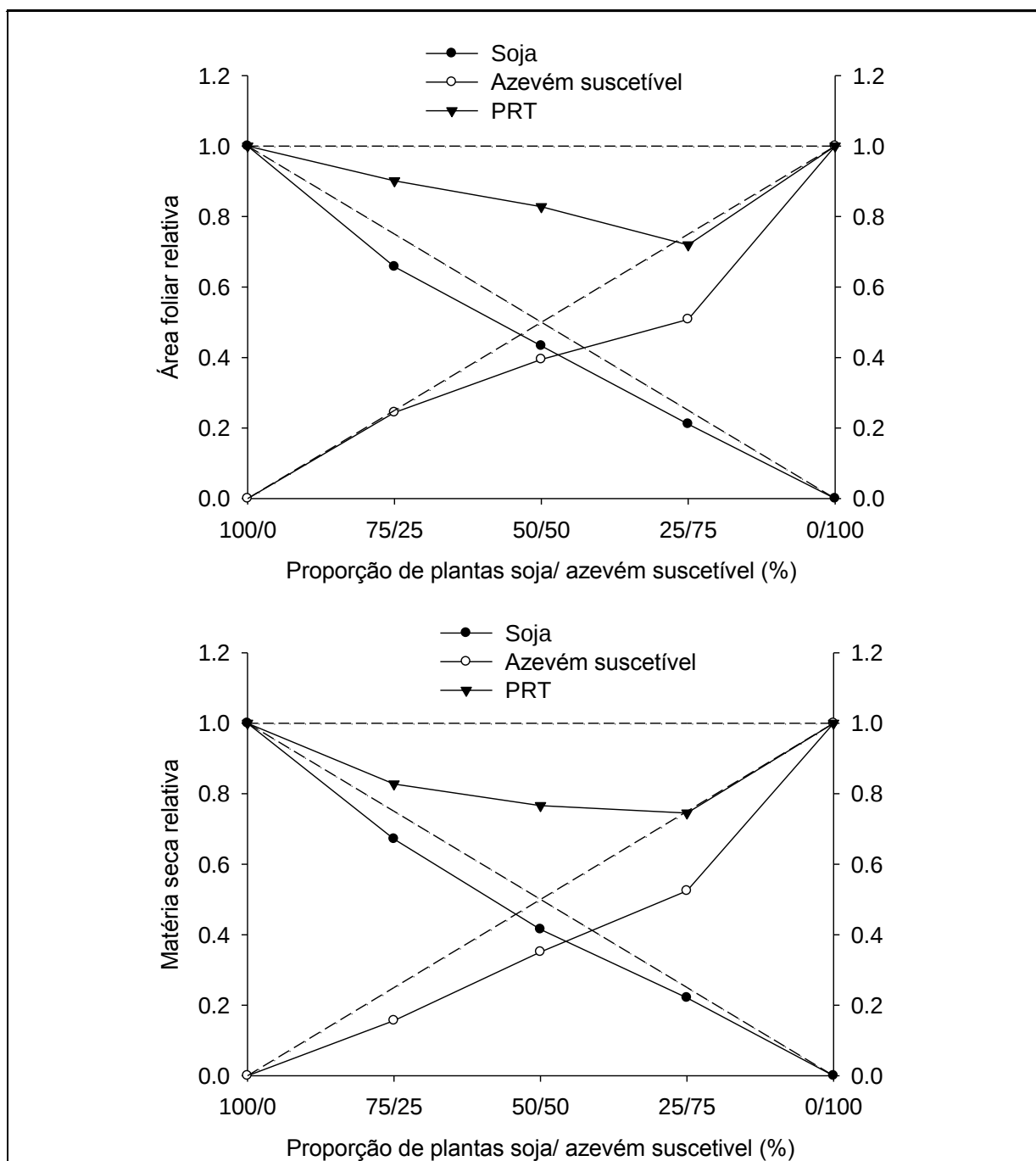


Figura 5 - Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para área foliar e matéria seca de plantas de soja e de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível ao herbicida glyphosate. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2011/12. Círculos vazios (○) representam a PR do biótipo de azevém suscetível, círculos cheios (●) a PR da soja e triângulos (▼) indicam a PRT. Linhas tracejadas referem-se às produtividades relativas hipotéticas, quando não ocorre interferência de uma espécie sobre a outra.

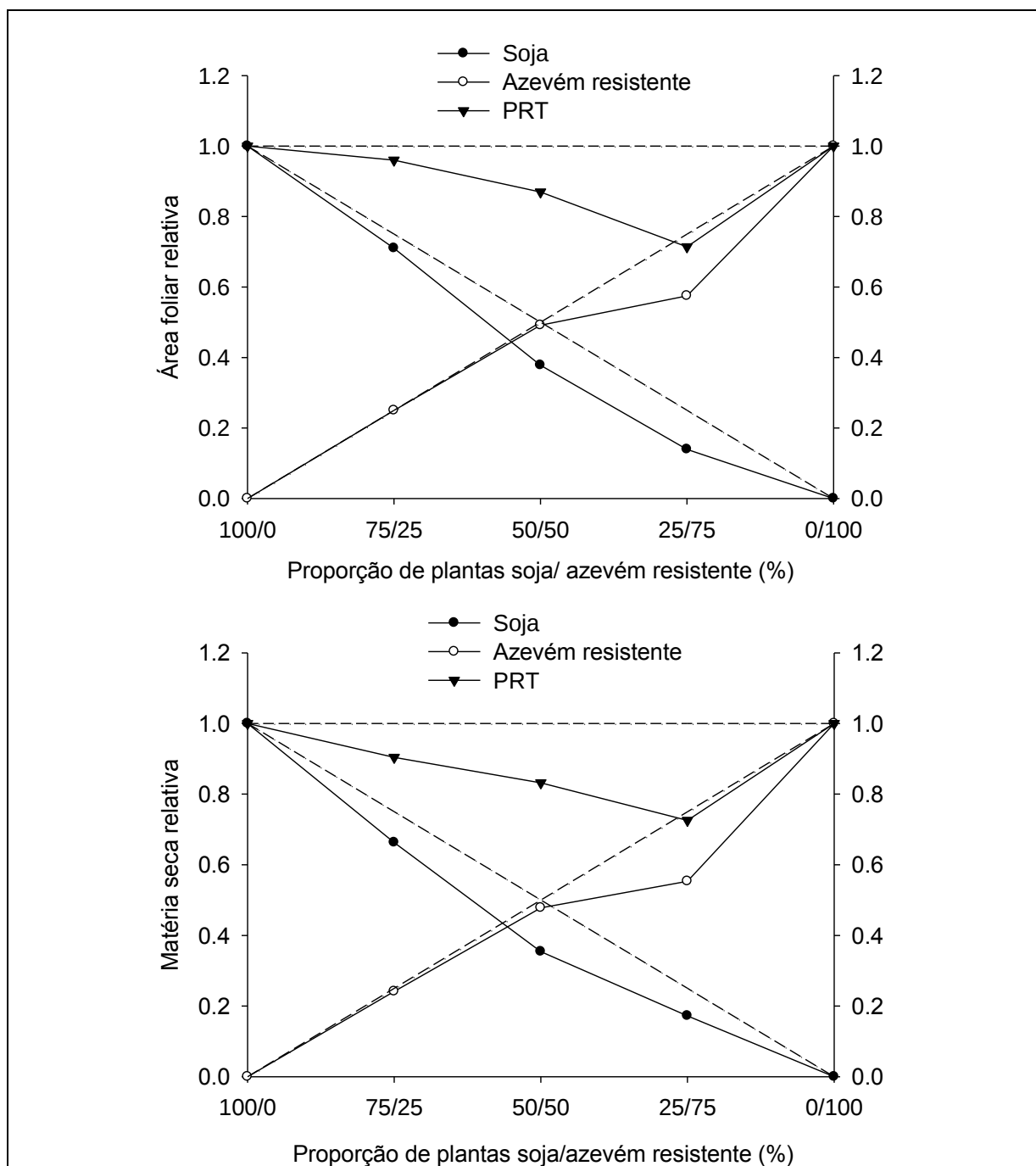


Figura 6 - Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para área foliar e matéria seca de plantas de soja e azevém (*Lolium multiflorum*) resistente ao herbicida glyphosate. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2011/12. Círculos vazios (○) representam a PR do biótipo azevém resistente, círculos cheios (●) a PR da soja e triângulos (▼) indicam a PRT. Linhas tracejadas referem-se às produtividades relativas hipotéticas, quando não ocorre interferência de uma espécie sobre a outra.

Tabela 3 - Diferenças relativas de produtividade para as variáveis área foliar e matéria seca da parte aérea e produtividade relativa total, nas proporções de plantas de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível e resistente a glyphosate, com soja, cultivar CD226RR, e entre biótipos de azevém. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2011/12.

Biótipo	Proporção de plantas associadas (%)		
	75:25	50:50	25:75
Área foliar			
Soja	-0,09 ($\pm 0,05$) ^{ns}	-0,07 ($\pm 0,02$)*	-0,04 ($\pm 0,02$) ^{ns}
Suscetível	-0,01 ($\pm 0,02$) ^{ns}	-0,11 ($\pm 0,01$)*	-0,24 ($\pm 0,02$)*
Total	0,90 ($\pm 0,06$) ^{ns}	0,83 ($\pm 0,02$)*	0,72 ($\pm 0,04$)*
Soja	-0,04 ($\pm 0,01$)*	-0,12 ($\pm 0,01$)*	-0,11 ($\pm 0,02$)*
Resistente	-0,01 ($\pm 0,01$) ^{ns}	-0,01 ($\pm 0,02$) ^{ns}	-0,11 ($\pm 0,02$)*
Total	0,96 ($\pm 0,01$) ^{ns}	0,87 ($\pm 0,03$)*	0,71 ($\pm 0,02$)*
Suscetível	0,13 ($\pm 0,06$) ^{ns}	-0,01 ($\pm 0,03$) ^{ns}	0,03 ($\pm 0,01$) ^{ns}
Resistente	0,01 ($\pm 0,02$) ^{ns}	-0,01 ($\pm 0,01$) ^{ns}	-0,07 ($\pm 0,03$) ^{ns}
Total	1,08 ($\pm 0,05$) ^{ns}	0,96 ($\pm 0,05$) ^{ns}	0,96 ($\pm 0,02$) ^{ns}
Matéria seca da parte aérea			
Soja	-0,09 ($\pm 0,05$) ^{ns}	-0,07 ($\pm 0,02$)*	-0,04 ($\pm 0,02$) ^{ns}
Suscetível	-0,01 ($\pm 0,02$) ^{ns}	-0,11 ($\pm 0,01$)*	-0,24 ($\pm 0,02$)*
Total	0,90 ($\pm 0,06$) ^{ns}	0,83 ($\pm 0,02$)*	0,72 ($\pm 0,04$)*
Soja	-0,09 ($\pm 0,04$) ^{ns}	-0,15 ($\pm 0,01$)*	-0,08 ($\pm 0,03$)*
Resistente	-0,01 ($\pm 0,04$) ^{ns}	-0,02 ($\pm 0,03$) ^{ns}	-0,20 ($\pm 0,04$)*
Total	0,90 ($\pm 0,03$)*	0,83 ($\pm 0,03$)*	0,73 ($\pm 0,03$)*
Suscetível	0,10 ($\pm 0,03$) ^{ns}	0,08 ($\pm 0,08$) ^{ns}	0,08 ($\pm 0,03$) ^{ns}
Resistente	0,05 ($\pm 0,06$) ^{ns}	0,01 ($\pm 0,01$) ^{ns}	-0,04 ($\pm 0,02$) ^{ns}
Total	1,15 ($\pm 0,02$) ^{ns}	1,08 ($\pm 0,08$) ^{ns}	0,99 ($\pm 0,04$) ^{ns}

^{ns} Não significativo e * significativo pelo teste t ($p \leq 0,05$). Valores entre parênteses representam os erros padrões das médias.

Para os biótipos de azevém competindo entre si, os resultados da PR para as variáveis AF e MSPA demonstraram equivalência, uma vez que as retas estimadas foram semelhantes às hipotéticas (Fig. 7), sendo assim, os competidores apresentam habilidades competitivas equivalentes, competindo pelo(s) mesmo(s) recurso(s) (Fig. 7, tab. 3.). Creditam-se estes resultados às características intrínsecas dos competidores, como duração do ciclo, produção de matéria seca e estatura, as quais podem influenciar seus crescimentos relativos. Estes resultados corroboram trabalho sobre competição entre biótipos de azevém suscetível e com resistência de nível baixo a herbicidas inibidores da enzima acetil coa carboxilase (FRAGA, 2012).

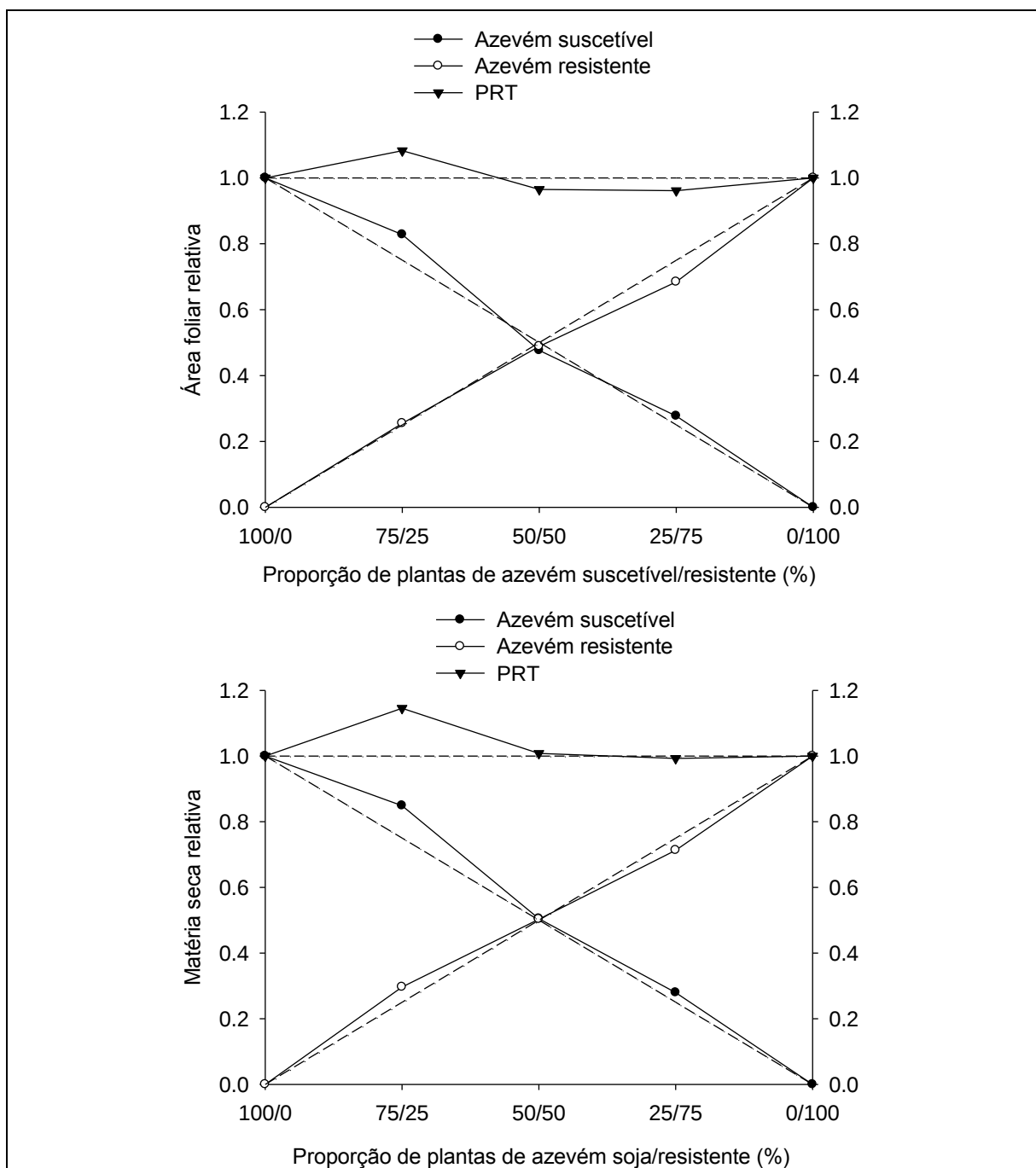


Figura 7 - Produtividade relativa (PR) e total (PRT) para área foliar e matéria seca de plantas de azevém suscetível e resistente ao herbicida glyphosate, FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2011/12. Círculos vazios (○) representam a PR do biótipo de azevém resistente, círculos cheios (●) a PR do biótipo de azevém suscetível e triângulos (▼) indicam a PRT. Linhas tracejadas referem-se às produtividades relativas hipotéticas, quando não ocorre interferência de uma espécie sobre a outra.

Para as variáveis estudadas, quando a cultivar de soja CD226RR competiu com o biótipo suscetível de azevém, em geral, não se observaram diferenças das variáveis em relação ao monocultivo (tab. 4). O azevém suscetível apresentou redução da AF quando se encontrava em igual ou maior proporção de plantas (50:50

e 25:75), e de MSPA quando em maior proporção na mistura (25:75). Isto evidencia maior efeito da competição intraespecífica para este biótipo; resultado semelhante foi demonstrado para azevém em competição com trigo (RIGOLI et al., 2008).

Para convivência entre a soja e o biótipo de azevém resistente, verificou-se redução das variáveis morfológicas avaliadas para a cultura, quando essa cresceu em igual ou menor proporções de plantas (50:50 e 25:75) (tab. 4). Estes resultados demonstram que a competição interespecífica com azevém foi mais prejudicial para à cultura, ou seja, ela conviver melhor com a própria espécie. O biótipo de azevém resistente, em geral, não sofreu reduções das variáveis estudadas. Apenas houve redução da variável MSPA na maior proporção de plantas de azevém (25:75), como se verificou para o biótipo suscetível.

Tabela 4 – Respostas para área foliar e matéria seca da parte aérea de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível e resistente ao herbicida glyphosate, competindo com soja, cultivar CD226RR, sob várias proporções de plantas. FAEM/UFPeL, Capão do Leão/RS, 2011/12.

	Proporção de plantas					C.V.(%)
	100:0	75:25	50:50	25:75	0:100	
Biótipo	Área foliar					
Soja	215,0	205,9 ^{ns}	186,2 ^{ns}	181,5 ^{ns}	-	11,19
Suscetível	-	147,3 ^{ns}	119,2*	102,3*	150,9	10,27
Soja	215,0	203,6 ^{ns}	162,6*	119,0*	-	6,04
Resistente	-	128,1 ^{ns}	126,0 ^{ns}	98,3*	128,2	7,48
Suscetível	134,4	148,4 ^{ns}	128,1 ^{ns}	149,1 ^{ns}	-	7,43
Resistente	-	156,0 ^{ns}	150,5 ^{ns}	140,5 ^{ns}	154,0	8,45
	Matéria seca da parte aérea					
Soja	1,28	1,15 ^{ns}	1,06 ^{ns}	1,13 ^{ns}	-	16,60
Suscetível	-	1,11 ^{ns}	1,10 ^{ns}	0,85*	1,16	10,05
Soja	1,28	1,13 ^{ns}	0,91*	0,88*	-	17,69
Resistente	-	1,11 ^{ns}	1,10 ^{ns}	0,85 ^{ns}	1,15	19,05
Suscetível	0,95	1,08 ^{ns}	0,96 ^{ns}	1,07 ^{ns}	-	9,22
Resistente	-	1,40 ^{ns}	1,18 ^{ns}	1,12 ^{ns}	1,18	7,22

^{ns} Não significativo e * significativo em relação à respectiva testemunha (100%) pelo teste de Dunnett (p≤0,05). C. V – Coeficiente de variação.

Trabalhos de competição entre soja e outras espécies poáceas, com arroz vermelho e papuã, demonstraram, diferentemente deste estudo, que a competição intraespecífica foi mais danosa à cultura (AGOSTINETTO et al., 2009; MORAES et al., 2009). Os resultados encontrados, possivelmente decorreram da época de emergência da soja em relação às plantas de azevém. A época de emergência das plantas daninhas, em relação à emergência da soja, influencia a intensidade de

redução de sua massa. A emergência de plantas daninhas quatro dias antes da soja causou perda de biomassa de 42,4%; ao passo que na emergência daquelas simultaneamente com a soja a perda foi reduzida para 22,7% (RIZZARDI et al., 2004).

A época de emergência das plantas pode afetar também a relação entre as partes aérea e de raiz da soja, pois estudos demonstraram que plantas podem antecipar a competição com proliferação de raízes na presença de raízes de plantas vizinhas (MAINA; BROWN; GERSANI, 2002; O'BRIEN; GERSANI; BROWN, 2005). Estudos realizados em soja, feijão e ervilha concluíram que as plantas que cresciam convivendo com as raízes de plantas vizinhas mostravam massa radicular aumentada; no entanto, apresentavam redução da parte aérea (GERSANI et al., 2001; MAINA; BROWN; GERSANI, 2002; O'BRIEN; GERSANI; BROWN, 2005). Como não foram avaliados neste estudo variáveis referentes ao crescimento radicular, não foi possível determinar diferenças de alocação de recursos entre parte aérea e raízes.

Quando os biótipos suscetível e resistente de azevém competiram entre si, não houve efeito desse processo sobre as variáveis AF e MSPA (tab. 4). Isto demonstra que os biótipos possuem habilidade competitiva equivalente, a exemplo do que ocorreu com biótipos de *Lolium rigidum* resistentes a glyphosate, que não diferiram na competitividade e no crescimento, quando comparados ao biótipo suscetível (PEDERSEN, et al., 2007).

Considerando-se que a cultura da soja seja mais competitiva que o azevém, quando $CR > 1$, $K_s > K_a$ e $C > 0$ (HOFFMAN; BUHLER, 2002) e, adotando-se como critério para comprovar sua superioridade competitiva a ocorrência de diferenças significativas em pelo menos dois desses índices (BIANCHI; FLACK; LAMEGO, 2006), observou-se, para as variáveis AF e MSPA, que a soja possui competitividade equivalente à do biótipo suscetível e inferior à do biótipo resistente (tab. 5). Estes resultados diferem dos relatados para competição de biótipos de azevém com a cultura do trigo, em que o biótipo resistente de azevém se apresentou menos competitivo com o trigo, mostrando menor crescimento vegetativo (VILA-AIUB; NEVE; POWLES, 2008) além de apresentarem menor produção de sementes e menor habilidade competitiva quando comparados aos biótipos suscetíveis (FERREIRA et al., 2008; VARGAS et al., 2005).

Tabela 5 - Índices de competitividade entre biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível e resistente ao herbicida glyphosate, competindo com soja, cultivar CD226RR, expressos por competitividade relativa (CR), coeficientes de agrupamento relativo (K) e de competitividade (C). FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2011/12.

	CR	Ks ³	Kas	C
Soja : Suscetível				
AF ¹	1,10 (±0,07) ^{ns}	0,77 (±0,06) ^{ns}	0,65 (±0,02)	0,04 (±0,03) ^{ns}
MSPA ²	1,20 (±0,11) ^{ns}	0,72 (±0,03) ^{ns}	0,55 (±0,04)	0,06 (±0,03) ^{ns}
	CR	Ks	Kar	C
Soja : Resistente				
AF ¹	0,77 (±0,04)*	0,61 (±0,01)*	0,98 (±0,09)	-0,11 (±0,02)*
MSPA ²	0,75 (±0,06)*	0,55 (±0,02)*	0,94 (±0,12)	-0,12 (±0,04)*
	CR	Kas	Kar	C
Suscetível : Resistente				
AF ¹	0,98 (±0,11) ^{ns}	0,94 (±0,18) ^{ns}	0,96 (±0,02)	-0,01 (±0,05) ^{ns}
MSPA ²	1,00 (±0,08) ^{ns}	1,04 (±0,14) ^{ns}	1,01 (±0,02)	0,01 (±0,04) ^{ns}

¹Área foliar; ²Matéria seca da parte aérea; ³ Ks – soja; Kas – azevém suscetível; e, Kar – azevém resistente; ^{ns} Não significativo e * significativo pelo teste t (p≤0,05). Valores entre parênteses representam os erros padrões das médias.

O crescimento relativo dos biótipos de azevém competindo entre si, representado pelo índice CR, foi inferior ou igual a 1, para as variáveis estudadas, o que demonstra que os biótipos se equivaleram em crescimento (tab. 5). Os índices K e C não diferiram, comprovando que os biótipos se equivaleram quanto à habilidade competitiva. Uma possível causa para que os biótipos não diferenciassem sua competitividade são as semelhanças morfofisiológicas entre eles, por pertencerem a mesma espécie (*L. multiflorum*), comporta-se de modo análogo e explorando o mesmo nicho ecológico. Resultados semelhantes foram referidos para biótipos de *Bidens subalternans* resistentes e suscetíveis a herbicidas inibidores de ALS (LAMEGO et al., 2011), biótipos de *Cyperus difformis* resistentes e suscetíveis a herbicidas inibidores da ALS (DAL MAGRO et al., 2011) e biótipos de *Digitaria ciliaris* resistente e suscetível a herbicidas inibidores de ACCase (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2007). Por outro lado, resultados diferentes foram encontrados para *Conyza canadensis*, em que o biótipo resistente a glyphosate foi mais competitivo que o suscetível (SHRESTHA et al., 2010), e para *Lolium multiflorum* onde o biótipo suscetível a glyphosate apresentou maior capacidade competitiva que o resistente, causando maiores danos à cultura do trigo (FERREIRA et al., 2008).

Interpretando conjuntamente as análises gráficas das variáveis relativas às variáveis morfológicas e aos índices de competitividade, em geral, constataram-se

maiores efeitos de competição do biótipo de azevém resistente sobre a cultivar de soja CD226RR. Porém, quando os biótipos de azevém suscetível e resistente competiram entre si, ambos demonstraram possuir habilidade competitiva semelhante.

Os maiores efeitos de competição do biótipo resistente sobre a soja pode decorrer de diferenças na morfologia das plantas dos biótipos, suscetível e o resistente; contudo, essas diferenças não influenciaram na habilidade competitiva desses biótipos quando em convivência. Comparações entre biótipos de plantas resistentes e suscetíveis a herbicidas indicaram que as populações variam em relação às características morfológicas, como forma e ângulo foliar, pilosidade da folha, crescimento de raiz (WARWICK, 1990).

Cabe ressaltar que os experimentos substitutivos são referidos como inadequados para predizer a dinâmica populacional de duas espécies concorrentes ao longo do tempo, ou seja, não é possível predizer se ocorrerá redução da população de uma espécie devido a ela ser menos competitiva (COUSENS, 1991). Também, considera-se ser um método artificial para implantar em campo, porque a proporção de plantas varia, sendo inapropriado para estudar associações de espécies com hábitos de crescimento diferentes.

Nos casos em que os biótipos resistentes sejam menos competitivos, técnicas culturais, como aumento do número de plantas da cultura por área e/ou redução do espaçamento entre fileiras, podem ser usadas como auxiliares, para suprimir o crescimento desses (VARGAS; SILVA, 2009). Porém os resultados do presente trabalho mostraram não haver diferenças de adaptabilidade entre os biótipos de *L. multiflorum* resistentes e suscetíveis ao herbicida glyphosate. Assim, mesmo que, esse herbicida não seja mais utilizado em áreas com problemas de resistência de azevém, não levaria à redução das populações resistentes. Desta forma, o mais adequado é a adoção de práticas que, além do controle químico, utilizem outros métodos de controle, como o mecânico, para manejar a resistência do azevém em soja.

2.4 Conclusões

A cultura da soja possui competitividade equivalente à do biótipo de azevém suscetível ao herbicida glyphosate, mas inferior à do biótipo resistente, enquanto esses apresentam habilidade competitiva equivalente.

Em geral, a competição intraespecífica é mais prejudicial aos biótipos de azevém, quando em competição com a soja, enquanto a competição interespecífica é preponderante para a cultura.

4 CAPÍTULO III – Alteração do metabolismo secundário em biótipos de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) resistentes e suscetíveis a glyphosate em competição com soja

4.1 Introdução

O Rio Grande do Sul (RS) é um dos principais produtores de soja do Brasil, com área cultivada de 4,2 milhões de hectares (CONAB, 2012). Na última década, a área cultivada com a oleaginosa no RS cresceu mais de 40%, enquanto a produtividade aumentou em 50%. Dentre os fatores que contribuíram com esse crescimento inclui-se o desenvolvimento de cultivares de soja resistentes ao herbicida glyphosate, o que permitiu aos agricultores simplificar o controle de plantas daninhas na cultura, substituindo a utilização de diversos herbicidas por um único composto (SHANER, 2000).

A utilização continuada do glyphosate para controle de plantas daninhas conduziu à seleção de biótipos resistentes, como por exemplo, o azevém (ROMAN et al., 2004), tornando-o uma das principais plantas daninhas para manejar em áreas em sistema de cultivo direto e, também, nas fases iniciais de desenvolvimento das culturas de verão, como a soja.

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas pode resultar de mudanças bioquímicas, fisiológicas, morfológicas ou fenológicas em biótipos de plantas daninhas (CHRISTOFFOLETI; FILHO; SILVA, 1994). Trabalhos realizados para determinar a habilidade competitiva e o crescimento de biótipos de plantas daninhas resistentes, comparando-os aos biótipos suscetíveis, demonstraram que as plantas resistentes apresentam menor adaptabilidade, quando comparadas às suscetíveis. Biótipos de *Bromus tectorum* com resistência múltipla a inibidores de ALS, ACCase e do fotossistema II (PARK; MALLORY-SMITH, 2005) e biótipos de *Lolium multiflorum*

resistentes a glyphosate, foram menos competitivos que os biótipos suscetíveis (FERREIRA et al., 2008).

A compreensão das consequências que o alelo de resistência terá sobre a habilidade competitiva das plantas é importante para se prever a dinâmica evolutiva de resistência aos herbicidas (NEVE, et al., 2003) e, por conseguinte, em conceber estratégias contra a seleção de plantas resistentes (BECKIE, 2006; WALSH; POWLES, 2007). A competição estabelecida entre a cultura e a plantas daninha é muito comum em sistemas agrícolas, o que acarreta redução da produtividade e da qualidade do produto final; entretanto, os efeitos variam e dependem da intensidade dessa competição.

Estudos desenvolvidos recentemente investigaram a capacidade competitiva a partir de características de crescimento, incluindo estatura, área foliar, afilamento e produção de matéria seca da parte aérea. Porém, poucos trabalhos avaliaram as alterações fisiológicas e metabólicas nas plantas, em resposta ao estresse causado pela competição.

Os metabólitos secundários nem sempre são necessários para que uma planta complete seu ciclo de vida; porém, eles desempenham papel importante na interação das plantas com fatores bióticos (WINKEL-SHIRLEY, 2002), como a competição entre plantas (ORMEÑO; FERNANDEZ; MÉVY, 2007), abióticos (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011) e xenobióticos (SONG et al., 2007).

O conhecimento dos mecanismos bioquímicos que controlam o tipo e a quantidade dos compostos fenólicos sintetizados, sob diferentes condições de estresse, tornam-se um desafio para a pesquisa, que busca isolar e modificar as plantas para maior produção dos mesmos (WINKEL-SHIRLEY, 2002), e consequente menor perda de produtividade dos cultivos decorrente da interferência das plantas daninhas.

A ação de fatores bióticos, abióticos ou xenobióticos poderá alterar o metabolismo das plantas. Dentre as modificações, inclui-se o aumento da peroxidação de membranas que afetam a estrutura e a funcionalidade do aparato fotossintético, inativando os centros de reação dos fotossistemas (TRIPATHY; MOHAPATRA; GUPTA, 2007). Os teores de clorofila e carotenoides nas folhas indicam, entre outros, o nível de dano que determinado estresse, pode estar causando à planta, sendo a clorose, normalmente, um dos primeiros sintomas expressos (CATUNDA et al., 2005; RUBIN, 2012).

A competição pode causar danos irreversíveis nas membranas celulares, de modo similar à aplicação de herbicida (YIN et al., 2008), à radiação ultravioleta (TIAN; LEI, 2007) ou ao estresse por metais pesados (ZHOU et al., 2007). Esses danos podem ser detectados a partir da quantificação do teor de peróxido de hidrogênio, peroxidação lipídica e pela permeabilidade relativa das membranas, determinada por meio do extravasamento de eletrólitos (TARHANEN et al., 1999).

A peroxidação lipídica resulta na formação de hidroperóxidos, que são convertidos em produtos secundários, tais como espécies reativas de oxigênio (EROs), radicais livres, aldeídos, alcanos, oxiácidos, ácido jasmônico e metil jasmonatos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1985; VICK; ZIMMERMAN, 1987). O oxigênio e os radicais livres danificam a estrutura da membrana e a sua organização, alterando a função de enzimas e de receptores ligados à membrana (VICK; ZIMMERMAN, 1987). Para que isso seja evitado, as plantas possuem sistemas de defesa antioxidantes enzimático e não enzimático, que permitem a eliminação de EROs e a proteção do dano oxidativo.

O sistema de defesa enzimático das plantas inclui diversas enzimas antioxidantes nos diferentes compartimentos celulares. Dentre as principais, podem-se citar superóxido desmutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalases (CAT), que, juntamente com outras enzimas do ciclo ascorbato-glutadiona, promovem a eliminação das EROs (CAVALCANTI et al., 2004). O grau de estresse oxidativo em uma célula é determinado pelas quantidades de superóxido, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxilas. Portanto, o balanço das atividades da SOD, APX e CAT é crucial para suprimir os níveis tóxicos de EROs na célula (APEL; HIRT, 2004).

A hipótese do trabalho é que a cultura da soja e os biótipos de azevém resistentes e suscetíveis a glyphosate apresentam aumentos no metabolismo secundário e nos danos oxidativos, quando em competição. Assim, o objetivo do estudo foi verificar as alterações em compostos do metabolismo secundário e os danos celulares na soja e em biótipos de azevém, suscetível e resistente, sob competição.

4.2 Materiais e métodos

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e em laboratório na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no Município de Capão do Leão - RS, em 2011/12. Para a realização dos experimentos utilizaram-se sementes de biótipos de azevém resistentes e/ou suscetível, ao herbicida glyphosate, conforme descrito no capítulo II.

Para determinar as variações metabólicas entre os biótipos de azevém suscetível e resistente em convivência e destes com a cultura da soja, cultivar CD226RR, conduziram-se três experimentos em casa de vegetação, em série de substituição. Os tratamentos (espécies e populações), delineamento experimental, número de repetições, tamanho das unidades experimental e época de semeadura, estão descritos no capítulo II.

Aos 40 DAE da cultura da soja e aos 60DAE das plantas de azevém, realizou-se a coleta de folhas das plantas competidoras, separadamente, e feita amostra composta com todas as plantas da unidade experimental, as quais foram armazenadas a -80°C até o momento da quantificação das variáveis.

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com método descrito por Singleton e Rossi (1965), com modificações. Para a etapa de extração pesou-se 1g de amostra, diluiu-se em 20mL de metanol, colocou-se em banho-maria (25°C) durante período de 3 horas. Após, a amostra foi filtrada com algodão para balão volumétrico de 50mL, completando-se o volume com metanol. Para a etapa de quantificação dos fenóis foi retirado 1mL do extrato obtido e adicionado 10mL de água ultrapura e 0,5mL de Folin-Ciocalteau 2N, deixando-se reagir por 3 minutos. Após, foram adicionados 1,5mL de Na₂CO₃ 20% (m/v), permanecendo no escuro por mais 2 horas. Realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Ultrospec 2100 Pro UV/Visível – Amersham Bioscience) no comprimento de onda de 765nm. Elaborou-se a curva padrão com ácido gálico e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (mg GAE) por grama de matéria fresca (MF).

Os teores de clorofilas e de carotenoides totais foram determinados com amostras de 0,1g, maceradas em almofariz em presença de 5mL de acetona a 80% (v/v). O material foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante foi transferido para balão volumétrico de 20mL, completando-se esse volume com acetona a 80% (v/v). Calculou-se os teores de clorofila *a*, *b*, totais (*a+b*) e de

carotenoides totais pelas fórmulas de Lichtenthaler (1987), a partir da absorbância da solução obtida por espectrofotometria a 647, 663 e 470 nm, expressando-se os resultados em mg g^{-1} de MF.

Os danos celulares nos tecidos foram determinados através do teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), conforme descrito por Sergier, Alexieva e Karonov (1997) e os das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), via acúmulo de aldeído malônico (MDA), conforme descrito por Health e Packer (1968). Para proceder-se essa análises, 0,2g de folhas foi macerado com nitrogênio líquido, homogeneizados em 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 14000 rpm por 20 minutos. Para a quantificação de H_2O_2 , adicionaram-se alíquotas de 0,2mL do sobrenadante em 0,8mL de tampão fosfato 10 mM (pH 7,0) e 1 mL de iodeto de potássio 1M. A solução foi deixada em repouso por 10 minutos em temperatura ambiente, sendo a absorbância foi lida a 390nm. A concentração de H_2O_2 foi determinada através de curva padrão e expressa em mM/g.

Para determinar TBARS, alíquotas de 0,5mL do sobrenadante, como descrito anteriormente, foram adicionadas a 1,5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (m/v) e ácido tricloroacético 10% (m/v) e incubadas a 90°C por 20 minutos. A reação foi paralisada em banho de gelo por 10 minutos. A absorbância foi lida a 532nm, descontando-se a absorbância inespecífica a 600 nm. Calculou-se a concentração de MDA utilizando-se o coeficiente de absorvidade de 155 mM cm^{-1} , expressando-se resultados em nM MDA g^{-1} de MF.

Os danos celulares foram avaliados também pela permeabilidade relativa das membranas, determinada por meio do extravasamento de eletrólitos conforme descrito por Tarhanen et al. (1999). Para isso, 0,2g de amostra de folhas, foi seccionada com tesoura e lavada três vezes com água ultrapura para a retirada do conteúdo das células rompidas durante o corte e de outros eletrólitos aderidos às folhas. Após este procedimento, as mesmas foram colocadas em 50mL de água ultrapura e deixadas por 4 horas em banho-maria (25°C). Decorrido esse tempo, obteve-se a condutância inicial (C_i) utilizando-se condutivímetro (Lutron, CD-4301). Posteriormente a essa leitura, as mesmas amostras foram colocadas em estufa a 90°C por 2 horas e feita a segunda leitura (C_f). A permeabilidade relativa foi calculada pela relação $C_i/(C_i+C_f) \times 100$ e o resultado foi expresso em percentagem.

Para determinar a atividade das enzimas antioxidantes, superóxido desmutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalases (CAT), primeiramente

procedeu-se a extração, em que 0,2g de amostra foi macerada em almofariz de porcelana, na presença de nitrogênio líquido e 0,02g de polivinilpirrolidona (PVPP). Em seguida adicionaram-se 900µL de tampão fosfato 200mM (pH 7,8), 18µL de EDTA 10mM, 180µL de ácido ascórbico 200mM e 702µL de água ultrapura e centrifugado a 14000 *rpm*, a 4°C por 20 minutos. A partir deste extrato quantificou-se a proteína das amostras pelo método de Bradford (1976), adicionando-se 60µL do extrato em 2mL de solução de Bradford, realizando-se a leitura da absorbância no comprimento de onda de 595nm. Elaborou-se a curva padrão com globulina e os resultados foram expressos em miligramas de proteína (mg proteína) por grama de matéria fresca (MF).

A atividade da CAT foi determinada pelo consumo de H₂O₂ (coeficiente de extinção 39,4mM cm⁻¹). A mistura de reação continha 1mL do tampão fosfato de potássio 200mM (pH 7,0), 850µL de água ultrapura, 100µL de peróxido de hidrogênio 250mM e 50µL do extrato. Realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Ultrospec 6300 Pro UV/Visível – Amersham Bioscience), no comprimento de onda de 240nm, durante 90 segundos, com leituras em intervalos de 7 segundos.

A atividade da APX foi determinada pelo consumo de H₂O₂ (coeficiente de extinção 2,9mM cm⁻¹). A mistura de reação continha 1mL de tampão fosfato de potássio 200mM (pH 7,0), 750µL de água ultrapura, 100µL de ácido ascórbico 10mM, 100µL de peróxido de hidrogênio 2mM e 50µL do extrato. Realizou-se a leitura da absorbância no comprimento de onda de 290nm, durante 90 segundos, com leituras em intervalos de 7 segundos. Tanto a atividade da CAT quanto para da APX, para efeito de cálculos, considerou-se que o decréscimo de uma unidade de absorbância era equivalente a uma unidade ativa (UA). As atividades do extrato total foram determinadas a partir da quantidade de extrato que reduziu a leitura de absorbância em uma UA, e expressos em UA mg⁻¹ proteína minuto⁻¹.

A atividade da SOD foi determinada segundo metodologia adaptada de Peixoto (1999), a partir Del Longo et al. (1993) e Giannopolitis e Ries (1977). Por esse método, determinou-se a inibição da redução do NBT (p-nitro blue tetrazolium) pelo extrato enzimático, evitando-se assim, a formação do cromóforo. Neste ensaio, uma unidade de atividade enzimática (UA) de SOD foi considerada como a quantidade de enzima necessária para se obter 50% de inibição da redução do NBT pela SOD contida no extrato enzimático. Para a reação, adicionaram-se em tubo de

ensaio 1mL de tampão fosfato de potássio 100mM (pH 7,8), 400µL de metionina 70mM, 20µL de EDTA 10µM, 390µL de água ultrapura, 150µL de NBT 1mM, 20µL de riboflavina 0,2mM e 20µL de extrato. Em seguida os tubos foram levadas para câmara iluminada por lâmpada fluorescente de 15 Watts, por período de 10 minutos, sendo então foi realizada a leitura da absorbância a 560nm. Para efeito de cálculo, o branco da reação foi considerado como sendo tubos que não continham extratos, exposto e não expostos à luz. A atividade foi determinada pelo cálculo da quantidade de extrato que inibiu 50 % da reação de NBT e expressa em UA mg⁻¹ proteína minuto⁻¹.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e à homocedasticidade pelo teste de Hartley e, posteriormente, foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Os efeitos das proporções, em relação ao monocultivo (testemunha) foram avaliados pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$) e, entre as proporções em mistura, pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$), separadamente para cada competidor. A presença de correlações entre as variáveis dependentes do estudo foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson ($p \leq 0,05^*$).

4.3 Resultados e Discussão

O teor de fenóis totais na soja, quando competindo com o biótipo de azevém suscetível, não apresentou diferenças das proporções de plantas em relação à testemunha ou entre as proporções dos competidores (tab. 6). Já, para a soja competindo com o biótipo resistente, houve aumento no teor de fenóis totais quando o azevém estava em igual ou maior proporção na mistura. Portanto, o aumento da população de azevém resistente resultou no acréscimo de fenóis na cultura, ou seja, a competição interespecífica com o azevém resistente alterou o metabolismo da soja.

Tabela 6- Teores de fenóis totais (mg GAE g⁻¹ MF) extraídos de folhas de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível e resistente ao herbicida glyphosate competindo entre si e com soja cultivar CD 226 RR, em função de quatro proporções de plantas em séries substitutivas. FAEM/UFPeL, Capão do Leão/RS, 2011/12.

Proporção	Fenóis totais (mg GAE g ⁻¹ MF)	
	Experimento I (soja:azevém suscetível)	
	Soja	
100:0 (T)	32,47NS	
75:25	33,51	NS
50:50	32,64	
25:75	34,47	
	Azevém suscetível	
0:100 (T)	24,93	
25:75	23,22 ^{ns}	a ^{1/}
50:50	21,37 ^{ns}	a
75:25	17,09*	b
	Experimento II (soja:azevém resistente)	
	Soja	
100:0 (T)	32,47	
75:25	32,46 ^{ns}	b
50:50	40,37*	a
25:75	38,53*	a
	Azevém resistente	
0:100 (T)	20,00	
25:75	14,86*	a
50:50	11,93*	b
75:25	9,92*	b
	Experimento III (azevém suscetível:azevém resistente)	
	Azevém suscetível	
100:0 (T)	9,06NS	
75:25	7,67	NS
50:50	8,04	
25:75	7,17	
	Azevém resistente	
0:100 (T)	9,81NS	
25:75	7,57	NS
50:50	9,05	
75:25	8,41	

* ou ^{ns} média difere ou não da testemunha (T), na coluna, pelo teste Dunnett (p≤0,05). ^{1/} Médias seguidas por mesmas letras na coluna, em presença dos competidores, não diferem entre si pelo teste de Duncan (p≤0,05). NS médias não diferem entre si pelo teste F (p≤0,05).

Para os biótipos de azevém, em competição com a soja, observou-se que o biótipo suscetível apresentou menor concentração de fenóis na proporção 75:25, em relação a testemunha. Essa proporção também apresentou redução dos teores de fenóis, comparativamente às demais, quando analisado o efeito da competição

interespecífica (tab. 6). O biótipo resistente, por sua vez, teve redução de fenóis totais em todas as proporções, em relação à testemunha, enquanto na comparação entre proporções, 25:75 apresentou maior quantidade de fenóis, em relação às demais. De forma geral, verificou-se a diminuição de fenóis totais em ambos os biótipos de azevém quando aumentava o número de plantas de soja nas proporções.

Quando os biótipos de azevém conviveram entre si, não houve influência das proporções, em comparação com o monocultivo. Também não se observaram diferenças entre as proporções de plantas com presença dos competidores (tab. 6). Assim, verifica-se que não há alterações na concentração de fenóis totais nos biótipos de azevém quando esses competem entre si.

Os fenóis são produtos do metabolismo secundário das plantas e servem como mecanismos de defesa. Os resultados encontrados nos estudos evidenciam que a soja ativou os mecanismos de defesa, quando em associação com o biótipo de azevém resistente ao glyphosate. A síntese de compostos fenólicos pelas plantas representa respostas às injúrias físicas, infecção por patógenos ou temperatura entre outros efeitos (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR; 2011). A competição de arroz cultivado com arroz-vermelho indicou que a planta daninha obteve maior suporte para competir com a cultura, por ter desencadeado no seu metabolismo secundário maior produção de compostos fenólicos frente ao estresse, como forma de defesa (LANGARO et al., 2011).

O teor de fenóis totais em plantas também é referido como responsável por atividades alelopáticas (HE et al., 2012). Considerando que as plantas possuem capacidade de interagir, quando em condição de estresse por competição, tendem a liberar compostos no ambiente a fim de sinalizar sua presença ou inibir o crescimento de plantas vizinhas (BALDWIN et al., 2006). Contudo, a produção de metabólitos secundários pelas plantas, nem sempre é satisfatória, sendo muitas vezes limitada para certa espécie ou gênero e pode ser ativada apenas durante determinada fase de crescimento ou desenvolvimento, ou sob estresse específico, sazonal ou condições de disponibilidade de nutrientes (VERPOORTE; CONTIN; MEMELINK, 2002; ZHANG et al., 2004).

Considerando que o teor de fenóis totais se relaciona à proteção contra radicais livres (TAIZ; ZEIGER, 2009), os resultados indicaram que, os teores para a soja, em competição com altas proporções do biótipo resistente, aumentaram em

decorrência da competição interespecífica. Já, para os biótipos de azevém (suscetível e resistente), quando em altas proporções de plantas ocorreu aumento no teor de fenóis totais sob efeito de competição intraespecífica. Portanto, tanto a soja quanto o azevém toleram melhor como vizinhas plantas de soja. Os presentes resultados assemelham-se aos encontrados para competição entre soja e buva, onde houve aumentos dos teores de fenóis pela cultura em competição com biótipos de buva (SILVA, 2012). Porém, relataram-se resultados contrários para a competição de arroz com arroz-vermelho, em que para o do arroz, houve diminuição no teor de compostos fenólicos quando do incremento da competição com a planta daninha (RUBIN, 2012).

Houve reduções das variáveis clorofila *a*, *b* e totais (*a+b*) na soja em competição com o biótipo suscetível em comparação à testemunha (tab. 7). Para o azevém suscetível, em convivência com a soja, nenhuma das proporções de plantas testadas diferiu da testemunha. Não houve diferenças entre as proporções para a soja. Já para o azevém suscetível a proporção 75:25 apresentou mais pigmentos fotossintetizantes, demonstrando que, neste caso, a competição interespecífica favoreceu a espécie.

Para a soja convivendo com o biótipo de azevém suscetível, a variável carotenoides não mostrou diferenças das proporções de plantas em relação à testemunha ou entre as proporções (tab. 7). Para o biótipo suscetível, não houve diferenças das proporções em relação ao seu monocultivo. Quando analisadas as diferenças entre as proporções, a de 75:25 apresentou maior concentração de carotenoides que as demais, a exemplo do que ocorreu para os demais pigmentos analisados.

Quando convivendo com as maiores proporções do biótipo resistente, a soja reduziu os teores de clorofilas *a*, *b*, totais (*a+b*) e carotenoides (tab. 7). Comparado-se o efeito de proporções de plantas, a 75:25 apresentou maiores teores de pigmentos fotossintetizantes que as demais, ou seja, a competição com azevém resistente prejudicou a soja. Para o azevém, as proporções de plantas diferiram quanto aos teores de clorofila *a* e *b*, comparativamente à testemunha. No entanto os teores de clorofilas totais (*a+b*) e de carotenoides foram maiores nas proporções 50:50 e 75:25, comparativamente ao monocultivo. Verificou-se que na proporção 25:75, os teores de todos os pigmentos diminuíram, demonstrando que a

competição interespecífica favoreceu o azevém resistente, de modo semelhante ao constatando para o biótipo suscetível (tab. 7).

Tabela 7 - Teores de clorofila *a* (Ca), *b* (Cb), total (*a+b*) e carotenoides totais (CRT) (mg g⁻¹) extraídos de folhas de soja, cultivar CD 226 RR e azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível ou resistente em função de quatro proporções em séries substitutivas. FAEM/UFPEL, Capão do Leão/RS, 2011/12.

Proporção	Ca (mg.g ⁻¹)		Cb (mg.g ⁻¹)		a + b (mg.g ⁻¹)		CRT (mg.g ⁻¹)	
Experimento I (soja:azevém suscetível)								
Soja								
100:0 (T)	1,45		0,67		2,12		0,39NS	
75:25	0,80*	NS	0,39*	NS	1,18*	NS	0,30	NS
50:50	0,85*		0,33*		1,18*		0,25	
25:75	0,67*		0,26*		0,94*		0,24	
Azevém suscetível								
0:100 (T)	0,37 NS		0,26NS		0,68NS		0,07NS	
25:75	0,26	b ^{1/}	0,25	b	0,50	b	0,04	b
50:50	0,34	b	0,22	b	0,56	b	0,06	b
75:25	0,50	a	0,34	a	0,83	a	0,12	a
Experimento II (soja:azevém resistente)								
Soja								
100:0 (T)	0,80		0,39		1,18		0,30	
75:25	0,76 ^{ns}	a	0,25 ^{ns}	a	1,01*	a	0,31 ^{ns}	a
50:50	0,39*	b	0,06*	b	0,41*	b	0,16*	b
25:75	0,38*	b	0,17*	b	0,55*	b	0,15*	b
Azevém resistente								
0:100 (T)	0,73NS		0,40NS		1,13		0,14	
25:75	0,59	b	0,36	b	0,95 ^{ns}	b	0,15 ^{ns}	b
50:50	0,86	a	0,56	a	1,42*	a	0,22*	a
75:25	0,93	a	0,63	a	1,26*	a	0,19*	a
Experimento III (azevém suscetível:azevém resistente)								
Azevém suscetível								
100:0 (T)	0,86		0,35		1,21		0,25	
75:25	1,10 ^{ns}	a	0,50 ^{ns}	a	1,60 ^{ns}	a	0,31 ^{ns}	a
50:50	0,96 ^{ns}	a	0,42 ^{ns}	a	1,38 ^{ns}	a	0,29 ^{ns}	a
25:75	0,42*	b	0,18*	b	0,60*	b	0,12*	b
Azevém resistente								
0:100 (T)	0,44		0,18		0,62		0,14	
25:75	0,43 ^{ns}	b	0,19 ^{ns}	b	0,62 ^{ns}	b	0,16 ^{ns}	b
50:50	0,79*	a	0,34*	a	1,13*	a	0,23*	a
75:25	1,00*	a	0,40*	a	1,40*	a	0,32*	a

* ou ^{ns} média difere da testemunha (T), na coluna, pelo teste Dunnett (p≤0,05). ^{1/} Médias seguidas por mesma letra na coluna, em presença dos competidores, não diferem entre si pelo Duncan (p≤0,05). NS médias não diferem entre si pelo teste F (p≤0,05).

De forma geral, ocorreram reduções nos teores de clorofilas e de carotenoides da soja, em competição com azevém resistente e, também, dos

biótipos suscetível ou resistente, quando houve incremento das plantas de azevém nas misturas (tab. 7), o que pode ser decorrência do aumento do teor de fenóis observados nessa situação (tab. 6). Os fenóis relacionan-se ao aumento de radicais livres, os quais têm potencial de degradar pigmentos (MILLER et al., 2010). A redução nos pigmentos fotossintetizantes já foi relatada por outros autores (KHATTAB; KHATTAB, 2005), podendo também, dever-se à realocação de esqueletos de carbono e nitrogênio para a síntese de compostos do metabolismo secundário (YANG et al., 2003). Assim, em muitos casos, quanto maior for a produção de compostos fenólicos menores serão os teores de pigmentos fotossintetizantes nas plantas.

Para a convivência entre biótipos de azevém, ocorreram diminuições de clorofilas e de carotenoides nas plantas suscetíveis quando estas estavam na proporção 25:75, em comparação à testemunha. Já, as plantas do biótipo resistente, nas as proporções 50:50 e 75:25, apresentaram maiores quantidades de pigmentos fotossintetizantes que a testemunha (tab. 7). Quando analisado o efeito das proporções, constatou-se, tanto para o biótipo suscetível quanto para o resistente, que na proporção 25:75 ocorriam menos pigmentos fotossintetizantes do que nas demais. Tais resultados evidenciam que tanto o biótipo suscetível quanto o resistente, convivem melhor com plantas de azevém suscetível.

As diferenças nos teores de pigmentos, provavelmente ocorreram, porque, mesmo os biótipos pertencendo à da mesma espécie (*L. multiflorum*), podem apresentar diferenças morfológicas como em estatura de planta e largura de folhas. Estas diversidades possivelmente decorram dos diferentes locais de coletas dos biótipos, ou seja, de condições ambientais distintas. Não se pode afirmar, neste caso, que um biótipo seja mais competitivo que o outro, pois a capacidade competitiva das plantas daninhas não depende só da sua capacidade de competir por luz, (GIBSON; FISCHER, 2001). Portanto, deve-se analisar em conjunto de variáveis morfológicas, fisiológicas e bioquímicas para que se possa concluir sobre a competitividade dos biótipos.

As clorofilas e os carotenoides são pigmentos ligados à eficiência fotossintética e, em consequência, ao crescimento e adaptação das plantas a diversos ambientes (FORCE; CRITCHLEY; VAN RENSEN, 2003). As moléculas de clorofilas são pigmentos primários de captura de luz para as reações fotoquímicas, presentes nos centros de reação dos fotossistemas. Cada centro de reação possui,

aproximadamente, 200-300 moléculas antenas, entre clorofilas e carotenoides (TAIZ; ZEIGER, 2003), sendo a clorofila *a* o principal pigmento dos complexos coletores de luz em organismos aeróbicos. A maior parte dos pigmentos acessórios está presente nos complexos coletores do fotossistema II, em especial a clorofila *b* (PAULSEN, 1995). Os carotenoides, por sua vez, desempenham papel na proteção da planta contra, principalmente, os efeitos nocivos do excesso de radiação (HAVAUX; NIYAGI, 1999).

Todos os estresses que ocasionam peroxidação de membranas afetam a estrutura e a funcionalidade da maquinaria fotossintética, inativando os centros de reação dos fotossistemas (TRIPATHY; MOHAPATRA; GUPTA, 2007). Os teores de clorofilas e de carotenoides nas folhas também indicam, entre outros, o nível de dano que determinado estresse pode causar à planta, já que a clorose é, normalmente, um dos primeiros sintomas expressos (CATUNDA et al., 2005). Observaram-se reduções nos teores destes pigmentos fotossintéticos em plântulas de soja quando submetidas ao estresse salino (DOGAN, 2011), plântulas de trigo submetidas à aplicação de herbicida inibidor da ALS (YIN et al., 2008) e aplicação de herbicida quinclorac em *Echinochloa oryzicola* (SUNOHARA; MATSUMOTO, 2004) e em *Digitaria adscendens* (SUNOHARA et al., 2010), os quais também apresentaram redução no teor de clorofila. Nestes trabalhos, evidenciou-se forte correlação entre a quantidade de aldeído malônico e conteúdo de clorofila, indicando que os danos causados às membranas das células desencadearam prejuízos ao aparato fotossintético (SUNOHARA; MATSUMOTO, 2004; SUNOHARA et al., 2010).

Na pesquisa o estresse oxidativo foi avaliado a partir do teor de peróxido (H_2O_2) e a peroxidação lipídica a partir das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), via acúmulo de aldeído malônico (MDA) e pelo extravasamento de eletrólitos. Para as variáveis H_2O_2 e TBARS, a soja, convivendo com o azevém suscetível, apresentou aumentos nas concentrações na proporção de plantas 25:75, comparativamente à testemunha. Essa proporção também diferiu das demais quando analisado o efeito da competição interespecífica (tab. 8). O azevém suscetível não apresentou diferenças das proporções de plantas comparadas à testemunha. Na proporção 25:75 observaram aumentos para aquelas as variáveis, quando comparadas às demais proporções.

Tabela 8 - Teores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (mM/g), TBARS (nM MDA g⁻¹ de MF) e extravasamento de eletrólitos celulares (%) extraídos de folhas de soja, cultivar CD226RR e de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível ou resistente ao herbicida glyphosate em função de quatro proporções de plantas em séries substitutivas. FAEM/UFPel, Capão do Leão/RS, 2011/12.

Proporção	H ₂ O ₂ (mM/g)		TBARS (nM MDA g ⁻¹ MF)		Extravasamento (%)	
	Experimento I (soja:azevém suscetível)					
	Soja					
100:0 (T)	1,1		23,5		45,3	NS
75:25	1,0 ^{ns}	b ^{1/}	24,4 ^{ns}	b	44,9	NS
50:50	1,1 ^{ns}	b	24,6 ^{ns}	b	44,9	
25:75	1,5*	a	26,4*	a	43,7	
Azevém suscetível						
0:100 (T)	1,0	NS	18,5	NS	45,0	NS
25:75	0,9	a	17,0	a	45,7	NS
50:50	0,7	b	14,0	b	46,4	
75:25	0,7	b	15,0	b	44,0	
Experimento II (soja:azevém resistente)						
Soja						
100:0	1,0		30,8		44,7	NS
75:25	1,0 ^{ns}	b	31,2 ^{ns}	b	44,2	NS
50:50	1,2*	a	35,8*	a	45,2	
25:75	1,5*	a	38,4*	a	44,1	
Azevém resistente						
0:100 (T)	0,9		24,0		47,3	NS
25:75	0,6*	a	18,9 ^{ns}	a	48,1	NS
50:50	0,6*	a	17,0 ^{ns}	a	46,4	
75:25	0,2*	b	9,3*	b	46,7	
Experimento III (azevém suscetível:azevém resistente)						
Azevém suscetível						
100:0 (T)	0,2	NS	15,5	NS	44,6	NS
75:25	0,2	NS	14,7	NS	44,2	NS
50:50	0,2		13,9		44,3	
25:75	0,2		10,3		45,1	
Azevém resistente						
0:100 (T)	0,2	NS	12,6	NS	43,3	NS
25:75	0,1	NS	10,7	NS	42,9	NS
50:50	0,2		11,7		43,7	
75:25	0,1		10,7		43,5	

* ou ^{ns} média difere ou não da testemunha (T), na coluna, pelo teste Dunnett (p≤0,05). ^{1/}Médias seguidas por mesma letra na coluna, em presença dos competidores, não diferem entre si pelo teste Duncan (p≤0,05). NS médias não diferem entre si na coluna pelo teste F.

Para convivência entre soja e azevém resistente, verificou-se que as maiores proporções de soja (50:50 e 25:75) tiveram maior concentração de H₂O₂ e TBARS, que o monocultivo (tab. 8). A proporção 75:25 teve menores valores que as demais

para ambas as variáveis. O azevém resistente apresentou reduções nos teores de H_2O_2 quando conviveu com plantas de soja. Para a variável TBARS, somente a proporção 75:25 diferiu da testemunha. Quando comparadas as proporções, a 75:25 teve menores teores de H_2O_2 e TBARS que nas demais.

De modo geral, constataram-se aumentos de H_2O_2 e de TBARS na soja e no azevém (suscetível e resistente) em competição inter e intraespecíficas respectivamente. Isso pode indicar que nessas situações induz-se um estado de estresse que se relacionaria dano de membranas, o que corroboraria reduções nos teores de pigmentos fotossintetizantes (tab. 7). O H_2O_2 , assim como outras espécies reativas de oxigênio (EROs), como radical hidroxila ($\text{OH}^\cdot$), oxigênio singlete (O_2^*) e superóxido ($\text{O}_2^\cdot$), são fortes oxidantes que podem iniciar danos oxidativos, levando a distúrbios nas funções metabólicas e a perdas na integridade celular onde se acumularem (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011). Nas células ou tecidos onde a concentração de H_2O_2 for relativamente baixa, inicia-se uma resposta antioxidante (FOYER et al., 1997), como produção de fenóis ou aumento da atividade de enzimas antioxidantes.

O TBARS é produto da decomposição de ácidos graxos das biomembranas, ocasionada pela peroxidação dos lipídeos, atestando a presença de radicais livres (MUNNÉ-BOSCH; ALEGRE, 2002). O dano de membrana, ou seja, a peroxidação de lipídeos, causada pela competição (tab. 8), pode ser considerada elevada quando comparada aos danos causados pela aplicação de isoproturon em trigo, em que o teor variou de 1 a 7 nM MDA g^{-1} de MF para raiz e folha, respectivamente (YIN et al., 2008). Ainda, o dano é similar àquele causado pela toxicidade de alumínio em plantas de *Vicia faba* L., que apresentou variação no teor de MDA, entre 9 a 25 nM g^{-1} de MF (ZHANG et al., 2009). Porém, os danos observados são inferiores aos obtidos por Sairam e Srivastava (2001), que diferenciaram genótipos de trigo submetidos ao estresse hídrico, obtendo valores entre 550 a 1150 nM MDA g^{-1} de MF.

A competição entre os biótipos, suscetível e resistente de azevém não ocasionou diferenças nas concentrações de H_2O_2 e TBARS para as proporções de plantas, quando comparadas com a testemunha e, tampouco, nem entre as proporções das plantas de ambos os biótipos (tab. 8), o que demonstraria que a competição, possivelmente, não provoque danos oxidativos nos biótipos de azevém em convivência.

O resultado do estresse oxidativo é a peroxidação das membranas celulares, que culmina com o extravasamento do conteúdo celular para o meio externo. A solução que receber este extravasamento terá sua condutividade eletrolítica aumentada pela presença de íons e compostos polares presentes no citosol. Assim, quanto maior o estresse oxidativo, maior será a condutividade (DAYAN et al., 1997; LI et al., 2000).

Verificou-se que a variável extravasamento de eletrólitos, para a soja ou biótipos de azevém, suscetível e resistente, não apresentou diferenças em função da competição (tab. 8). Possivelmente o estresse oxidativo causado pela competição não causou degradação das membranas celulares, devido à eficiência do sistema antioxidante das plantas, tanto o não enzimático como o enzimático, os quais atuaram de maneira efetiva em evitar danos celulares. Ou ainda, o método utilizado no trabalho para quantificar a variável não tenha sido suficientemente sensível para detectar o extravasamento celular.

Os níveis de EROs estão sob controle enzimático e não enzimático, sendo que o aumento de determinados intermediários (como H_2O_2), pode resultar em acréscimos das atividades de enzimas (como CAT, APX e SOD), ou de metabólitos, como o ascorbato (DIPIERRO et al., 2005). Tais aumentos na atividade enzimática pode promover a queda nas concentrações desses intermediários e de outras EROs.

O H_2O_2 , enquanto é deletério para alguns componentes celulares, também é essencial para as plantas em diferentes reações biossintéticas, possivelmente, atuando na transdução de sinais que contribuem no sistema de defesa da planta, como a modulação da atividade de certas enzimas (SCHRECK; BAEUERLE, 1991). O estresse oxidativo corresponde ao desequilíbrio entre a taxa de produção de agentes oxidantes e sua degradação (SIES, 1991) e ocorre quando a produção de EROs está acelerada ou quando os mecanismos envolvidos na proteção contra as EROs encontram-se deteriorados (GIASSON et al., 2002). Portanto, para melhor compreensão dos diversos estresses sobre diferentes espécies vegetais, tem-se busca-se relacionar os níveis de EROs e a atividade de enzimas antioxidantes nos tecidos das plantas.

Neste estudo, verificou-se que, na soja, em competição com o biótipo de azevém suscetível, ocorreu redução da atividade da CAT nas proporções 50:50 e 25:75, comparativamente ao monocultivo. Já, a atividade da APX foi nas várias

associações de plantas do que no monocultivo (tab. 9). Comparando-se as proporções com presença das competidoras, a atividade da CAT foi maior na proporção 75:25 que nas demais, enquanto para a enzima APX não houve diferença entre as proporções.

Tabela 9 - Atividade das enzimas catalases (CAT) ($\text{UA mg}^{-1} \text{prot. min}^{-1}$), peroxidases de ascorbato (APX) e dismutases de superóxido (SOD) extraídas de folhas de azevém (*Lolium multiflorum*) suscetível e resistente ao herbicida glyphosate competindo entre si e com soja, cultivar CD 226 RR, em função de quatro proporções em séries substitutivas. FAEM/UFPEL, Capão do Leão/RS, 2011/12.

Proporção	CAT ($\text{UA mg}^{-1} \text{prot. min}^{-1}$)	APX ($\text{UA mg}^{-1} \text{prot. min}^{-1}$)	SOD ($\text{UA mg}^{-1} \text{prot. min}^{-1}$)
Experimento I (soja:azevém suscetível)			
Soja			
100:0	0,48	2,90	7,71
75:25	0,40 ^{ns} a ^{1/}	2,21* NS	11,59* b
50:50	0,26* b	2,15*	13,77* a
25:75	0,23* b	1,81*	16,45* a
Azevém suscetível			
0:100	0,56NS	5,96	19,48NS
25:75	0,72 b	7,44* b	20,73 NS
50:50	0,62 b	7,32* b	19,20
75:25	0,96 a	15,50* a	19,80
Experimento II (soja:azevém resistente)			
Soja			
100:0	0,48	2,90	7,17
75:25	0,38 ^{ns} NS	2,86 ^{ns} a	10,46* NS
50:50	0,36*	2,66 ^{ns} a	10,23*
25:75	0,33*	1,84* b	11,28*
Azevém resistente			
0:100	0,30NS	6,62	39,80
25:75	0,25 b	6,80 ^{ns} b	30,73* a
50:50	0,27 b	8,16 ^{ns} b	29,00* a
75:25	0,40 a	15,84* a	19,51* b
Experimento III (azevém suscetível:azevém resistente)			
Azevém suscetível			
100:0	1,11NS	4,32NS	5,51NS
75:25	1,16 NS	5,66 NS	5,90 NS
50:50	1,39	5,99	7,75
25:75	0,88	5,89	6,06
Azevém resistente			
0:100	1,18NS	5,54NS	7,31NS
25:75	1,28 NS	5,71 NS	6,02 NS
50:50	0,97	5,60	7,32
75:25	1,59	5,71	7,93

* ou ^{ns} média difere da testemunha (T), na coluna, pelo teste Dunnett ($p \leq 0,05$). ^{1/} Médias seguidas por mesma letra na coluna, em presença dos competidores, não diferem entre si pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$). NS médias não diferem entre si na coluna pelo teste F.

A diminuição na atividade de CAT em espécies em situação de estresse competitivo, possivelmente aconteceu devido ao aumento de H_2O_2 , pois a catalase pode ser inativada por ligação com H_2O_2 (KIRKMAN; GALIANO; GAETANI, 1987), ou com outros componentes celulares (DU; KLESSING, 1997), tais como: ácido salicílico; semidehidroascorbato (DAVISON; KETTLE; FATUR, 1986); glutadiona reduzida (SUN; OBERLEY, 1989); superóxido; e, radicais hidroxila (KONO; FRIDOVICH, 1982).

O elevado estresse também pode inibir a síntese da enzima ou levar a mudanças na montagem das suas subunidades (SOMASHEKARAI AH; PADMAJI; PRASAD, 1992), o que pode explicar o declínio na atividade das enzimas analisadas em ambas as espécies, quando submetidas ao estresse competitivo. A catalase está presente, principalmente, em peroxissomos; porém é indispensável para a detoxificação em altas produções de EROs, pois o estresse oxidativo causa proliferações de peroxissomos nas células (MITTLER, 2002). Acredita-se que a proteção das plantas contra o acúmulo de H_2O_2 decorra da ação conjunta das CATs com as APXs (MIZUNO; KAMEI; TSUCHIDA, 1998). As diferentes afinidades da APX e CAT pelo H_2O_2 sugerem que a APX é responsável pela modulação fina de sinalização da espécie reativa, enquanto a catalase remove o excesso durante o estresse (MITTLER, 2002).

As APX são consideradas as enzimas mais importantes na eliminação de H_2O_2 no citosol e no cloroplasto (INZE; VAN MONTAGU, 1995). Esta enzima utiliza o ascorbato como seu doador de elétrons específico para reduzir H_2O_2 a água, constituindo parte do ciclo conhecido como ciclo do ascorbato-glutationa (INZE; VAN MONTAGU, 1995; SHIGEOKA et al., 2002).

Observaram-se aumentos na atividade da SOD em plantas de soja convivendo com azevém, seja suscetível ou resistente, nas várias proporções de plantas comparativamente à testemunha (tab. 9). Quando analisado o efeito das proporções, verificou-se que, para soja convivendo com o biótipo suscetível, a proporção de plantas 75:25 ocasionou menor atividade da enzima SOD que as demais; porém, quando convivendo com o resistente, não houve nenhuma variação.

Para o azevém suscetível competindo com a soja, não houve diferenças na atividade da SOD das proporções testadas com a testemunha e, tampouco, entre proporções (tab. 9). No caso azevém resistente, a atividade da SOD decresceu nas proporções, comparativamente à testemunha. No entanto, na competição

interespecífica, a proporção 75:25 ocasionou menor atividade dessas enzimas do que as demais.

Em plantas de soja e de azevém resistente verificou-se comportamento inverso para a SOD, relação ao encontrado para a CAT e APX; ou seja, a atividade da superóxido desmutase aumentou quando a soja e o biótipo resistente encontravam-se nas proporções com maior número de plantas de azevém (tab. 9). A maior atividade dessa enzima, nessas circunstâncias, é creditada ao maior estresse a que as plantas foram submetidas nestes tratamentos. Com isso, as espécies ativaram seus sistemas de defesa enzimático, aumentando a atividade da SOD; porém, as demais enzimas analisadas não foram afetadas.

A SOD é a primeira enzima no processo de desintoxicação; catalisa a dismutação de superóxido (O_2^-) a H_2O_2 e O_2 (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). O H_2O_2 produzido é, por sua vez, convertido em H_2O e O_2 , por enzimas como CAT e APX (WANG et al., 2004). Desta forma, supõe-se que, quando a atividade da SOD é aumentada, ocorra também aumento da atividade das enzimas que metabolizam o H_2O_2 . No entanto, não foi o que se verificou no presente trabalho; por esse motivo, houve acúmulo de H_2O_2 nos tecidos das plantas, o que resultou em peroxidação das membranas.

O radical O_2^- é produzido onde existe transporte de elétrons; portanto, a ativação do O_2 pode ocorrer em diferentes compartimentos celulares (GECHEV et al., 2006), incluindo mitocôndrias, cloroplastos, microsomos, glioxissomos, peroxissomos, o que explica a presença de SODs em praticamente todas as regiões das células (GILL; TUTEJA, 2010).

Diversos trabalhos mostram correlações entre resistência de plantas ao estresse oxidativo e a atividade da SOD, como os realizados com discos foliares de milho (PASTORI; TRIPPI, 1992), cevada (CASANO et al., 1999; MASCHER et al., 2005) e trigo (LASCANO et al. 2003). Houve aumentos da atividade da SOD quando as plantas foram submetidas à aplicação do herbicida paraquat.

A competição entre os biótipos de azevém suscetível e resistente a glyphosate, não modificou a atividade das enzimas antioxidantes estudadas em nenhum dos dois biótipos (tab.9). Resultados que corroboram, em parte, o encontrado para conteúdos de fenóis, H_2O_2 e TBARS, evidenciando, desta forma, não haver dano oxidativo nas plantas de azevém desses biótipos quando estes competem.

Cabe ressaltar que nesse estudo, para a soja competindo com o azevém suscetível, foi verificada correlação entre a atividade das enzimas APX ou CAT e o teor de clorofilas totais ($r=0,98^*$; $r=0,84$, respectivamente) ou carotenoides ($r=0,96^*$; $r=0,95^*$, respectivamente). Houve correlação negativa entre as variáveis clorofilas totais ($r=-0,92^*$) e carotenoides ($r=-0,96^*$) com atividade da enzima SOD.

Para a soja convivendo com o azevém resistente, foi observada correlação negativa entre as variáveis fenóis totais e clorofilas totais ($r=-0,98^*$) e carotenoides ($r=-0,97$). Ainda, nesse sentido foram encontradas correlações negativas entre TBARS e clorofila a ($r=-0,96$) ou carotenoides ($r=-0,95$). Estes resultados de certa forma, enfatizam que a produção de diferentes metabólitos secundários frente a situações de estresse estão diretamente ligados entre si e, ainda apresentam estreita relação na redução dos teores de pigmentos do sistema fotossintético (HUANG et al., 2005).

Com base nos resultados desta pesquisa pode-se inferir que o azevém, suscetível ou resistente, causa estresse competitivo nas plantas de soja. Verificou-se que a competição interespecífica foi mais significativa, causando maiores alterações no metabolismo das plantas de soja, em convivência com o azevém.

Para os biótipos de azevém, suscetível ou resistente, competindo com a soja, em geral não houve variações nos níveis de metabólitos e danos oxidativos, demonstrando que, nessa situação, as plantas de azevém não são afetadas de forma relevante pela competição, seja intra ou interespecífica.

Os resultados encontrados para a competição entre os biótipos de azevém, suscetível e resistente a glyphosate, em geral, não demonstraram ocorrer estresse competitivo quando esses conviveram. Possivelmente, isso decorra de diferenças morfológicas, fisiológicas e/ou genéticas existentes entre os biótipos, o que permite que esses aproveitem os recursos do meio de forma mais eficiente.

Observaram-se diferenças, em valor absoluto, nas variáveis analisadas para as plantas de azevém suscetível ou resistente quando competindo com a soja (experimento I e II) comparativamente com as plantas dos biótipos de azevém competindo entre si (experimento III), credita-se essa variação as diferentes épocas em que os experimentos foram conduzidos. O azevém para passar da fase vegetativa para a reprodutiva necessita ser exposto a determinado número de horas a uma temperatura baixa e também a um período de luminosidade mais prolongado (KISSMANN, 2007). Dessa forma a época de semeadura das plantas,

interferiu no desenvolvimento destas o que causou diferenças no metabolismo das plantas de azevém nos diferentes experimentos.

Com base no exposto, pode-se inferir que a competição estimula o metabolismo secundário das plantas de soja através da síntese de moléculas antioxidantes, comparável aos estresses induzidos por temperatura, patógenos, insetos, radiação ultravioleta, déficit hídrico e deficiência de nutrientes. Porém, é necessário mais estudos para identificar as razões da competição entre soja e azevém causar estresse oxidativo nas plantas.

Outro ponto que merece mais investigações é a atividade das enzimas antioxidantes, pois como estas apresentam diversas isoformas com afinidades diferentes por seus respectivos substratos, é necessário identificar quais dessas isoformas são expressas quando as plantas são submetidas ao estresse competitivo.

4.4 Conclusões:

Para plantas de soja a produção de compostos secundários e os danos oxidativos aumentaram em decorrência da competição interespecífica com azevém.

Os biótipos de azevém, suscetível ou resistente ao herbicida glyphosate, em geral não apresentam modificações na produção de metabólitos secundários e nos danos oxidativos das plantas quando competem entre si ou com a soja.

5 CONCLUSÕES

O biótipo investigado é resistente ao herbicida glyphosate, sendo que para controle equivalente dos biótipos são necessárias, para o biótipo resistente, doses superiores a 40 vezes àquela necessária para o biótipo suscetível.

Para a redução de 50% da matéria seca da parte aérea do biótipo resistente, são necessárias doses 450 vezes maiores do que as necessárias para o biótipo suscetível.

A cultura da soja possui competitividade equivalente à do biótipo de azevém suscetível ao herbicida glyphosate, mas inferior à do biótipo resistente, enquanto esses biótipos apresentam habilidade competitiva equivalente.

Em geral, a competição intraespecífica é mais prejudicial aos biótipos de azevém, quando em competição com a soja, enquanto a competição interespecífica é mais preponderante para a soja.

Para as plantas de soja a produção de compostos secundários, e os danos oxidativos aumentam em decorrência da competição interespecífica.

Os biótipos de azevém, suscetível ou resistente ao herbicida glyphosate, em geral não apresentam modificações na produção de metabólitos secundários e nos teores de metabólitos secundários e nos danos oxidativos das plantas quando competem entre si ou com a soja.

6 REFERÊNCIAS

AGOSTINETTO, D.; RIGOLI, R.P.; GALON, L.; MORAES, P.V.D.; FONTANA, L.C. Competitividade relativa da soja em convivência com papuã (*Brachiaria plantaginea*). **Scientia Agraria**, v.10, n.3, p.185-190, 2009.

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 7 jun. 2012.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, n.1, p.373-399, 2004.

BAERSON, S.R.; RODRIGUEZ, D.J.; BIEST, N.A.; TRAN, M.; YOU, J.; KREUGER, R.W.; DIL, G.M.; PRATLEY, J.E.; GRUYS, K.J. Investigating the mechanism of glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). **Weed Science**, v.50, n.1, p.721-730, 2002.

BALDWIN, I.T.; HALITSCHKE, R.; PASCHOLD, A.; VON DAHL, C.C.; PRESTON, C.A. Volatile signaling in plant-plant interactions: "talking trees" in the genomics era. **Science**, v.311, n.1, p.812-815, 2006.

BECKIE, H.J. Herbicide-resistant weeds: management tactics and practices. **Weed Technology**, v.20, n.3, p.793-814, 2006.

BIANCHI, M.A.; FLECK, N.G.; LAMEGO, F.P. Proporção entre plantas de soja e plantas competidoras e as relações de interferência mútua. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1380-1387, 2006.

BOERBOOM, C.M. Nonchemical options for delaying weed resistance to herbicides in Midwest cropping systems. **Weed Technology**, v.13, n.3, p.636-642, 1999.

BRADFORD, M.A. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.1, p.248-254, 1976.

CARÁMBULA, M. **Pasturas e forrajes**. Editorial Agropecuario Hemisferio Sur, TOMO I, p.357, 2007.

CASANO, L.M.; MARTIN, M.; ZAPATA, J.M.; SABATER, B. Leaf age and paraquat concentration dependent effects on the levels of enzymes protecting against photooxidative stress. **Plant Science**, v.149, n.1, p.13-22, 1999.

CATUNDA, M.G.; FREITAS, S.P.; OLIVEIRA, J.G.; SILVA, C.M.M. Efeitos de herbicidas na atividade fotossintética e no crescimento de abacaxi (*Ananas comosus*) **Planta Daninha**, v.23, n.1, p.115-121, 2005.

CAVALCANTI, F.R.; OLIVEIRA, J.T.A.; MARTINS-MIRANDA, A.S.; VIÉGAS, R.A.; SILVEIRA, J.A.G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, v.163, n.3, p.563-571, 2004.

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

CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Definições e situação da resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.) **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Londrina: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR), 2008. p.2-21.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; WESTRA, P.; MOORE, F. Growth analysis of sulfonylurea - resistant and susceptible kochia (*Kochia scoparia*). **Weed Science**, v.45, n.5, p.691-695, 1997.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_06_12_16_15_32_boletim_portportu_junho_2012.pdf>. Acesso em: 7. out. 2012.

COUSENS, R. Aspects of the design and interpretation of competition (interference) experiments. **Weed Technology**, v.5, n.3, p.664-673, 1991.

COUSENS, R.; O'NEILL, M. Density dependence of replacement series experiments. **Oikos**, v.66, n.2, p.347-352, 1993.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M.; LEWIS, N.G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p.1250-1318.

DAL MAGRO, T.; SCHAEGLER, C.E.; FONTANA, L.C.; AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. Habilidade competitiva entre biótipos de *Cyperus difformis* L. resistente ou suscetível a herbicidas inibidores de ALS e destes com arroz irrigado. **Bragantia**, v.70, n.2, p.294-301, 2011.

DAVISON, A.J.; KETTLE, A.J.; FATUR, D.J. Mechanism of the inhibition of catalase by ascorbate. Roles of active oxygen species, copper and semidehydroascorbate. **Journal Biological Chemistry**, v.261, n.3, p.1193-1200, 1986.

DAYAN, F.E.; WEETE, J.D.; DUKE, S.O.; HANCOCK, H.G. Soybean (*Glycine max*) cultivar differences in response to sulfentrazone. **Weed Science**, v.45, n.6, p.634-641, 1997.

DE CARVALHO, L.B.; ALVES, P.L.D.C.A.; GONZÁLEZ-TORRALVA, F.; CRUZ-HIPOLITO, H.E.; ROJANO-DELGADO, A.M.; DE PRADO, R.; GIL-HUMANES, J.; BARRO, F.; LUQUE DE CASTRO, M.D. Pool of resistance mechanisms to glyphosate in *Digitaria insularis*. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.60, n.2, p.615-622, 2012.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, C.A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxygenic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, v.34, n.7, p.1023-1028, 1993.

DIPIERRO, N.; MONDELLI, D.; PACIOLLA, C.; BRUNETTI, G.; DIPIERRO, S. Changes in the ascorbate system in the response of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) roots to aluminum stress. **Journal of Plant Physiology**, v.162, n.1, p.536-539, 2005.

DOGAN, M. Antioxidative and proline potentials as a protective mechanism in soybean plants under salinity stress. **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.32, p.5972-5978, 2011.

DU, H.; KLESSIG, D.F. Identification of a soluble, highaffinity salicylic acid-binding protein in tobacco. **Plant Physiology**, v.113, n.4, p.1319–1327, 1997.

EMBRAPA - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária . Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 1999. 412 p.

FERREIRA, E.A.; CONCENÇO, G.; SILVA, A.A.; REIS, M.R.; VARGAS, L.; VIANA, R.G.; GUIMARÃES, A.A.; GALON, L. Potencial produtivo de biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*). **Planta Daninha**, v.26, n.2, p.261-269, 2008.

FORCE, L.; CRITCHLEY, C.; VAN RENSEN, J.J.S. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. **Photosynthesis Research**, v.78, n.1, p.17-33, 2003.

FOYER, C.H.; LOPEZ-DELGADO, H.; DAT, J.F.; SCOTT, I.M. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling. **Plant Physiology**, v.100, n.1, p. 241-254, 1997.

FRAGA, D.S. **Resposta de *Lolium multiflorum* Lam. aos herbicidas inibidores da enzima ACCase**. 2012. 77f. Dissertação (Mestrado em fitossanidade) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

FRANS, R.; TALBERT, R.; MARX, D.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. In: CAMPER, N.D. (Ed.) **Research methods in weed science**. 3 ed. Champaign: Southern Weed Science Society, 1986. 37p.

GE, X.; D'AVIGNON, D.A.; ACKERMAN, J.J.H.; COLLAVO, A.; SATTIN, M.; OSTRANDER, E.L.; HALL, E.L.; SAMMONS, R.D.; PRESTON, C. Vacuolar glyphosate-sequestration correlates with glyphosate resistance in ryegrass (*Lolium* spp.) from Australia, South America, and Europe: a ^{31}P NMR investigation, **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.60, n.5, p.1243-1250, 2012.

GECHEV, T.S.; BREUSEGEM, F.V.; STONE, J.M.; DENEV, L.; LALOI, C. Reactive oxygen species as signal that modulate plant stress responses and programmed cell death. **Bio Essays**, v.28, n.11, p.1091-1101, 2006.

GERSANI, M.; BROWN, J.S.; O'BRIEN, E.E.; MAINA, G.M.; ABRAMSKY, Z. Tragedy of the commons as a result of root competition. **Journal of Ecology**, v.89, n.1, p.660-669, 2001

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutase. **Plant Physiology**, v.59, n.2, p.309-314, 1977.

GIASSON, B.I.; ISCHIROPOULOS, H.; LEE, V.M.Y.; TROJANOWSKI, J.Q. The relationship between oxidative/nitrative stress and pathological Alzheimer's and Parkinson's diseases. **Free Radical Biology**, v.32, n.12, p.1264-1275, 2002.

GIBSON, K.D.; FISCHER, A.J. Relative growth and photosynthetic response of water-seeded and *Echinochloa oryzoides* (Ard.) Fritsch to shade. **International Journal of Pest Management**, v.47, n.1, p.305-309, 2001.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plant. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n.1, p.909-930, 2010.

GONZÁLEZ- TORRALVA, F.; GIL-HUMANES, J.; BARROS, F.; BRANTS, I.; DE PRADO, R. Target site mutation and reduced translocation are present in a glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* Lam. biotype from Spain. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.58, n.1, p.16-22, 2012.

HALL, L.M.; STROME, K.M.; HORSMAN, G.P. Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false clover (*Gallium spurium*). **Weed Science**, v.46, n.1, p.390-396, 1998.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Lipid peroxidation a radical chain reaction. In: HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. (Eds.). **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Clarendon Press, 1985. p.139-205.

HAVAUX, M.; NIYOGI, K.K. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. **Proceeding of the National Academy of sciences of the United States of America**, v.96, n.15, p.8762-8767, 1999.

HE, H.; WANG, H.; FANG, C.; WU, H.; GUO, X.; LIU, C.; LIN, Z.; LIN, W. Barnyard-grass stress up regulates the biosynthesis of phenolic compounds in allelopathic rice. **Journal of Plant Physiology**, v.169, n.17, p-1747-1753, 2012.

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

HEAP, I. **Internacional survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: <www.weedscience.org>. Acessos em: 25 nov., 2012; 10 jan., 2013.

HOFFMAN, M.L.; BUHLER, D.D. Utilizing *Sorghum* as functional model of crop-weed competition. I. Establishing a competitive hierarchy. **Weed Science**, v.50, n.4, p.466-472, 2002.

HRAC- **Herbicides resistance action committee**. Disponível em: <<http://www.hracglobal.com>>. Acesso em: 21 mar., 2013.

HUANG, C.; HE, W.; GUO, J.; CHANG, X.; SU, P.; ZHANG, L. Increased sensitivity to salt stress in an ascorbate-deficient *Arabidopsis* mutant. **Journal of Experimental Botany**, v.56, n.422, p.3041-3049, 2005.

INZE, D.; VAN MONTAGU, M. Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v.6, n.2, p.153-158, 1995.

JASIENIUK, M.; BRÛLÉ-BABEL, A.L.; MORRISON, I.N. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. **Weed Science**, v.44, n.1, p.176-193, 1996.

JIANG, L.; YANG, H. Prometryne-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes in wheat. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, n.6, p.1687-1693, 2009.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J.C.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KI, W. Reactive oxygen species in plant: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.6, p.709-725, 2011.

KAUNDUN, S.S.; DALE, R.P.; ZELAYA, I.A.; DINELLI, G.; MAROTTI, I.; MCINDOE, E.; CAIRNS, A. A novel P106L mutation in EPSPs and an unknown mechanism(s) act additively to confer resistance to glyphosate in a South African *Lolium rigidum* population. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.59, n.7, p.3227-3233, 2011.

KHATTAB, H.; KHATTAB, I. Responses of eucalypt trees to the insect feeding (*Gall-forming psyllid*). **International Journal of Agriculture and Biology**, v.7, n.6, p.979-984, 2005.

KIRKMAN, H.N.; GALIANO, S.; GAETANI, G.F. The function of catalase-bound NADPH, **Journal Biology Chemical**, v.262, n.1, p.660-666, 1987.

KISSMANN, K.G.; **Plantas infestantes e nocivas**. TOMO I. 3ª Ed. São Paulo: Basf Brasileira, 2007. CD-ROM.

- KISSMANN, K.G. **Resistência de plantas a herbicidas**. São Paulo: Basf Brasileira, 1996. 33p.
- KONO, Y.; FRIDOVICH, I. Superoxide radical inhibits catalase. **Journal Biology Chemical**, v.257, n.1, p.5751-5754, 1982.
- LAMEGO, F.P.; VIDAL, R.A.; BURGOS, N.R. Competitiveness of ALS inhibitors resistant and susceptible biotypes of Greater Beggarticks (*Bidens subalternans*). **Planta Daninha**, v.29, n.2, p.457-464, 2011.
- LANGARO, A.C.; MANICA-BERTO, R.; NOHATTO, M.A.; RUBIM, R.S.; ZAMBIASI, R.C.; AGOSTINETTO, D. Danos celulares em plantas de arroz e capim-arroz cultivadas sob condições de competição. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ARROZ IRRIGADO, 7., 2011, Balneário Camboriú. **Anais do...** p.423-426.
- LASCANO, H.R.; MELCHIORRE, M.N.; LUNA, C.M.; TRIPPI, V.S. Effect of photooxidative stress induced by paraquat in two wheat cultivars with differential tolerance to water stress. **Plant Science**, v.164, n.5, p.841-848. 2003.
- LI, Z.; WALKER, R.H.; WEHTJE, G.; HANCOCK, H. G. Using electrolyte leakage to detect soybean (*Glycine max*) cultivars sensitive to sulfentrazone. **Weed Technology**, v.14, n.4. p.699-704, 2000.
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: COLOWICK, S. P.; KAPLAN, N. O. **Methods in enzymology**. San Diego: Academic Press, 1987. p.350-382.
- LÓPEZ-GRESA, M.P.; TORRES, C.; CAMPOS, L.; LISÓN, P.; RODRIGO, I.; BELLÉS, J.M.; CONEJERO, V. Identification of defence metabolites in tomato plants infected by the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*. **Environmental and Experimental Botany**, v.74, n.1, p.216-228, 2011.
- LÓPEZ-OVEJERO, F.R.; NOVO, M.C.S.S.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Crescimento e competitividade de biótipos de capim-colchão resistente e suscetível aos herbicidas inibidores da acetil coenzima A carboxilase. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.1, p.1-8, 2007.
- MAINA, G.G.; BROWN, J.S.; GERSANI, M. Intra-plant versus inter-plant root competition in beans: avoidance, resource matching or tragedy of the commons. **Plant Ecology**, v.160, n.1, p.235–247, 2002.
- MARTINEZ-CAYUELA, M. Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. **Ars Pharmaceutica**, v.39, n.1, p.5-18, 1998.
- MASCHER, R.; NAGY, E.; LIPPMANN, B.; HORNLEIN, S.; SCHEIDING, W.; NEAGOE, A.; BERGMANN, H. Improvement of tolerance to paraquat and drought in barley (*Hordeum vulgare* L.) by exogenous 2-aminoethanol: effects on superoxide dismutase activity and chloroplast ultrastructure. **Plant Science**, v.168, n.1, p.691-698, 2005.

MATSUMURA, T.; TABAYASHI, N.; KAMAGATA, Y.; SOUMA, C.; SARUYAMA, H. Wheat catalase expressed in transgenic rice can improve tolerance against low temperature stress. **Physiologia Plantarum**, v.116, n.3, p.317-327, 2002.

MICHITTE, P.; PRADO, R.; ESPINOZA, N.; RUIZ-SANTAELLA, J.P.; GAUVRIT, C. Mechanisms of resistance to glyphosate in a ryegrass (*Lolium multiflorum*) biotype from Chile. **Weed Science**, v.55, n.5, p.435-440, 2007.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, v.33, n.4, p.453-467, 2010.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, n.1, p.405-410, 2002.

MIZUNO, M.; KAMEI, M.; TSUCHIDA, H. Ascorbate peroxidase and catalase cooperate for protection against hydrogen peroxide generated in potato tuber during low-temperature storage. **Biochemistry Molecular Biology International**, v.44, n.4, p.717-725, 1998.

MORAES, P.V.D.; AGOSTINETTO, D.; GALON, L.; RIGOLI, R.P. Competitividade relativa de soja com arroz-vermelho. **Planta Daninha**, v.27, n.1, p.35-40, 2009.

MOREIRA, M.S.; MELO, M.S.C.; CARVALHO, S.J.P.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Herbicidas alternativos para controle de biótipos de *Conyza bonariensis* e *C. canadensis* resistentes ao glyphosate. **Planta Daninha**, v.28, n.1, p.167-175, 2010.

MULUGETA, D.; BOERBOOM, C.M. Critical time of weed remove in glyphosate-resistant *Glycine max*. **Weed Science**, v.48, n.1, p.35-42, 2000.

MUNNÉ -BOSCH, S.; ALEGRE, L. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.21, n.1, p.31-57, 2002.

NANDULA, V.K.; REDDY, K.N.; POSTON, D.H.; RIMANDO, A.M.; DUKE, S.O. Glyphosate tolerance mechanism in italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) from Mississippi. **Weed Science**, v.56, n.1, p.344-349, 2008.

NEVE, P.; DIGGLE, A.J.; SMITH, F.P.; POWLES, S.B. Simulating evolution of glyphosate resistance in *Lolium rigidum* I: population biology of a rare resistance trait. **Weed Research**, v.43, n.1, p.404-417, 2003.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.30, n.1, p.369-389, 1992.

O'BRIEN, E.E.; GERSANI, M.; BROWN, J.S. Root proliferation and seed yield in response to spatial heterogeneity of below-ground competition. **New Phytologist**, v.168, n.2, p.401-412, 2005.

ORMEÑO, E.; FERNANDEZ, C.; MÉVY, J.P. Plant coexistence alters terpene emission and content of mediterranean species. **Phytochemistry**, v.68, n.6, p. 840-852, 2007.

PARK, K.W.; MALLORY-SMITH, C.A. Multiple herbicide resistance in downy brome (*Bromus tectorum*) and its impact on fitness. **Weed Science**, v.53, n.1, p.780-786, 2005.

PASSINI, T. **Competitividade e predição de perdas de rendimento da cultura de feijão quando em convivência com *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.** 2001. 130f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 2001.

PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Oxidative stress induces high rate of glutathione reductase synthesis in a drought-resistant mayze strain. **Plant Cell Physiology**, v.33, n.7, p.957-61, 1992.

PAULSEN, H. Chlorophyll a/b- binding protein. **Photochemistry and Photobiology**, v.62, n.3, p.367-382, 1995.

PEDERSEN, B.P.; NEVE, P.; ANDREASEN, C.; POWLES, S.B. Ecological fitness of a glyphosate-resistant *Lolium rigidum*: growth and seed production, along a competition gradient. **Basic and Applied Ecology**, v.8, n.1, p.258-268, 2007.

PEIXOTO, P.H.P. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

PEREZ, A.; KOGAN, M. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in chilean orchards. **Weed Research**, v.43, n.1, p.12-19, 2002.

PEREZ-JONES, A.; PARK, K.W.; POLGE, N.; COLQUHOUN, J.; MALLORY-SMITH, C.A. Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. **Planta**, v.226, n.2, p.395-404, 2007.

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, v.5, n.3, p.237-243, 2002.

POWLES, S.B.; LORRAINE-COLWILL, D.F.; DELLOW, J.J.; PRESTON, C. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. **Weed Science**, v.46, n.5, p.604-607, 1998.

POWLES, S.B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v.61, n.7, p.317-347, 2010.

PRATLEY, J.; URWIN, N.; STANTON, R.; BAINES, P.; BROSTER, J.; CULLIS, K.; SCHAFER, D.; BONH, J.; KRUEGER, R. Resistance to glyphosate in *Lolium rigidum* L. Bioevaluation. **Weed Science**, v.47, n.4, p.405-411, 1999.

PRESTON, C.; POWLES, S.B. Evolution of herbicide resistance in weeds: initial frequency of target site-based resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in *Lolium rigidum*. **Heredity**, v.88, n.1, p.8–13, 2002.

PRESTON, C.; WAKELIN, A.M.; DOLMAN, F.C.; BOSTAMAM, Y.; BOUTSALIS, P. A decade of glyphosate-resistant *Lolium* around the world: mechanisms, genes, fitness, and agronomic management. **Weed Science**, v.57, n.1, p.435-441, 2009.

RADOSEVICH, S.R. Methods to study interactions among crops and weeds. **Weed Technology**, v.1, n.3, p.190-198, 1987.

RADOSEVICH, S.R.; HOLT, J.S.; GHERSA, C.M. **Ecology of weeds and invasive plants**: relationship to agriculture and natural resource management. 3.ed. Hoboken: Wiley, 2007. 454p.

RADOSEVICH, S.R.; HOLT, J.S.; GHERSA, C.M. **Weed ecology**. Implications for vegetation management. 2. ed. New York: Wiley, 1997. 589p.

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v.6, n.11, p.1720-1731, 2011.

REDDY, K.N.; WHITING, K. Weed control and economic comparisons of glyphosate-resistant, sulfonylurea-tolerant, and conventional soybean (*Glycine max*) systems. **Weed Technology**, v.14, n.1, p.204-211, 2000.

RIGOLI, R.P.; AGOSTINETTO, D.; SCHAEDELER, C.E.; DAL MAGRO, T.; TIRONI, S. Habilidade competitiva relativa do trigo (*Triticum aestivum*) em convivência com azevém (*Lolium multiflorum*) ou nabo (*Raphanus raphanistrum*). **Planta Daninha**, v.26, n.1, p.93-100, 2008.

RIZZARDI, M.A.; ROMAN, E.S.; BOROWSKI, D.Z.; MARCON, R. Interferência de populações de *Euphorbia heterophylla* e *Ipomoea ramosissima* isoladas ou em mistura sobre a cultura da soja. **Planta Daninha**, v.22, n.1, p-29-34, 2004.

ROMAN, E.S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M.A.; MATTEI, R.W.. Resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 22, n.2, p.301-306, 2004.

ROUSH, M.L.; RADOSEVICH, S.R.; WAGNER, R.G.; MAXWELL, B.D.; PETERSEN, T.D. A comparison of methods for measuring effects of density and proportion in plant competition experiments. **Weed Science**, v.37, n.2, p.268-275, 1989.

RUBIN, R.S. **Alterações morfofisiológicas em biótipos de arroz-vermelho em competição com arroz-irrigado**. 2012. 101 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.): variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.186, n.1, p.63-70, 2001.

SCHRAMMA, K.; VASSÃO, D. G.; REICHEL, M.; GERSHENZON, J.; WITTSTOCK, U. Metabolism of glucosinolate-derived isothiocyanates to glutathione conjugates in generalist lepidopteran herbivores. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.42, n.3, p.174-182, 2012.

SCHRECK, R.; BAEUERLE, P.A. The role of oxygen radicals as second messenger. **Trends Cell Biology**, v.1, n.1, p.39-42, 1991.

SEEFELDT, S.S.; JENSEN, J.E.; FUERST, E.P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. **Weed Technology**, v.9, n.2, p.218-227, 1995.

SERGIER, I.; ALEXIEVA, V.; KARANOV, E. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plant. **Comptes Rendus de l'Académie Bulgare des Sciences**, v.51, n.3, p.121-124, 1997.

SHANER, D. Impact of glyphosate-tolerant crops on the use of others herbicides and on resistance management. **Pesticide Science**, v.56, n.4, p.320-326, 2000.

SHIGEOKA, M.M.; MAJAHARJU, M.; SOMERSALO, S.; PEHU, E. Freezing tolerance, cold acclimation and oxidative stress in potato: paraquat tolerance is related to acclimation but it a poor indicator of freezing tolerance. **Physiologia Plantarum**, v.2, n.3, p.454-460, 2002.

SHRESTHA, A.; HANSON, B.D.; FIDELIBUS, M.W.; ALCORTA, M. Growth, phenology, and intraspecific competition between glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible horseweeds (*Conyza canadensis*) in the San Joaquin Valley of California. **Weed Science**, v.58, n.1, p.147-153, 2010.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **American Journal of Medicine**, v.91, n.3, p.31-38, 1991.

SIGMAPLOT – **Scientific graphing software**. Version 10.0, 2007.

SILVA, A.F.; CONCENÇO, G.; ASPIAZÚ, I.; FERREIRA, E.A.; GALON, L.; FREITAS, M.A.M.; SILVA, A.A.; FERREIRA, F.A. Período anterior à interferência na cultura da soja-RR em condições de baixa, média e alta infestação. **Planta Daninha**, v.27, n.1, p.57-66, 2009.

SILVA, D.R.O. **Competitividade e características genéticas de *Conyza bonariensis* resistentes e suscetíveis ao glifosato ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul**. 2012. 137f. Tese (Doutorado em fitossanidade) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, 2012.

SILVEIRA, J.A.G.; MELO, A.R.B.; VIÉGAS, R.A.; OLIVEIRA, J.T.A. Salinity-induced effects on nitrogen assimilation related to growth in cowpea plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.46, n.2, p.171-179, 2001.

SIMARMATA, M.; PENNER, D. The basis for glyphosate resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) from California. **Weed Science**, v.56, n.1, p.181-188, 2008.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, n.3, p.144-158, 1965.

SOMASHEKARAIHAH, S.V.; PADMAJI, K.; PRASAD, A.R.K. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedling of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): involvement of lipid peroxidation in chlorophyll degradation. **Physiologia Plantarum**, v.85, n.1, p.85-89, 1992.

SONG, N.H.; YIN, X.L.; CHEN, G.F.; YANG, H. Biological response of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide chlorotoluron in soil. **Chemosphere**, v.68, n.9, p.1779-1787, 2007.

SUNOHARA, Y.; MATSUMOTO, H. Oxidative injury induced by the herbicide quinclorac on *Echinochloa oryzicola* Vasing. and the involvement of antioxidative ability in its highly selective action in grass species. **Plant Science**, v.167, n.3, p.597-606, 2004.

SUNOHARA, Y.; SHIRAI, S.; WONGKANTRAKORN, N.; MATSUMOTO, H. Sensitivity and physiological responses of *Eleusine indica* and *Digitaria adscendens* to herbicides quinclorac and 2,4-D. **Environmental and Experimental Botany**, v.68, n.2, p.157-164, 2010.

SUN, Y.; OBERLEY, L.W. The inhibition of catalase by glutathione, **Free Radical Biology Medical**. v.7, n.6, p.595-602, 1989.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 848p.

TARHANEN, S.; METSARINNE, S.; HOLOPAINEN, T.; OKSANEN, J. Membrane permeability response of lichen *Bryoria fuscescens* to wet deposited heavy metals and acid rain. **Environmental Pollution**, v.104, n.1, p.121-129, 1999.

TIAN, X.R.; LEI, Y.B. Physiological responses of wheat seedlings to drought and UV-B radiation. Effect of exogenous sodium nitroprusside application. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.54, n.5, p.676-682, 2007.

TRIPATHY, B.C.; MOHAPATRA, A.; GUPTA, I. Impairment of the photosynthetic apparatus by oxidative stress induced by photosensitization reaction of protoporphyrin IX. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1767, n.6, p.860-868, 2007.

VARGAS, L.; BORÉM, A.; SILVA, A.A. da. Técnica de cruzamentos controlados em *Euphorbia heterophylla* L. **Bragantia**, v.58, n.1, p.23-27, 2009.

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.

VARGAS, L.; ROMAN, E.S.; RIZZARDI, M.A.; SILVA, V.C. Alteração das características biológicas dos biótipos de azevém (*Lolium multiflorum*) ocasionada pela resistência ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v.23, n.1, p.153-160, 2005.

VARGAS, L.; SILVA, A.A. da. Resistência de *Euphorbia heterophylla* a herbicidas inibidores da ALS. In: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. (Eds.) **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Passo Fundo: Berthier, 2009.143-174p.

VERPOORTE, R.; CONTIN, A.; MEMELINK, J. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. **Phytochemistry Reviews**, v.1, n.1, p.13-25, 2002.

VICK, B.A.; ZIMMERMAN, D.C. Oxidative systems for modification of fatty acids: the lipoxygenase pathway. In: STUMPF, P.K. (Eds.) **The biochemistry of plants, lipids: structure and function**. New York: Academic Press, 1987. 54-89p.

VILA-AIUB, M.M.; NEVE, P.; POWLES, S.B. Evidence for an ecological cost of enhanced herbicide metabolism in *Lolium rigidum*. **Journal of Ecology**, v.97, n.4, p.772-780, 2009.

WALSH, M.J.; POWLES, S.B. Management strategies for herbicide resistant weed populations in Australian dryland crop production systems. **Weed Technology**. v.21, n.2, p.332-338, 2007.

WANG, S.H.; YANG, Z.M.; LU, B.; LI, S.Q.; LU, Y.P..Copper induced stress and antioxidative responses in roots of *Brassica juncea* L. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v.45, n.1, p.203-212, 2004.

WANG, Y.; WISNIEWSKI, M.; MEILAN, R.; CUI, M.; FUCHIGAMI, L. Transgenic tomato (*Lycopersicon esculentum*) overexpressing cAPX exhibits enhanced tolerance to UV-B and heat stress. **Journal of Applied Horticulture**, v.8, n.1, p.87-90, 2006.

WANG, Y.; WISNIEWSKI, M.; MEILAN, R.; CUI, M.; WEBB, R.; FUCHIGAMI, L. Overexpression of cytosolic ascorbate peroxidase in tomato confers tolerance to chilling and salt stress. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.130, n.1, p.167-173, 2005.

WARWICK, S.I., Genetic variation in weeds Ewith particular reference to Canadian agricultural weeds. In: **Biological approaches and evolutionary trends in plants**. New York: Academic Press, 1990. p.3-17.

WINKEL-SHIRLEY, B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. **Current Opinion in Plant Biology**, v.5, n.3, p.218–223, 2002.

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

YAN, J.; WANG, J.; TISSUE, D.; HOLADAY, A.S.; ALLEN, R.; H. ZHANG, H. Photosynthesis and seed production under water-deficit conditions in transgenic tobacco plants that overexpress an arabidopsis ascorbate peroxidase gene. **Crop Science**, v.43, n.4, p.1477-1483, 2003.

YANG, C.M.; YANG, M.M.; HUANG, M.Y.; HSU, J.M.; JANE, W.N. Herbivorous insect causes deficiency of pigment-protein complexes in an oval-pointed cecidomyiid gall of *Machilus thunbergii* leaves. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v.44, n.1, p.314-321, 2003.

YIN, X.L.; JIANG, L.; SONG, N.H.; YANG, H. Toxic reactivity of wheat (*Triticum aestivum*) plants to herbicide isoproturon. **Journal of Agronomy and Food Chemistry**, v.56, n.12, p.4825-4831, 2008.

YU, Q.; ABDALLAH, I.; HAN, H.; OWEN, M.; POWLES, S. Distinct non-target site mechanisms endow resistance to glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides in multiple herbicide-resistant *Lolium rigidum*. **Planta**, v. 230, n.4, p.713-723, 2009.

YU, Q.; CAIRNS, A.; POWLES, S.B. Glyphosate, paraquat and ACCase multiple resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. **Planta**, v.225, n.2, p.499–513, 2007.

ZHANG, H.; ZHANG, S.; MENG, Q.; ZOU, J.; JIANG, W.; LIU, D. Effects of aluminum on nucleoli in root tip cells, root growth and the antioxidant defense system in *Vicia faba* L. **Acta Biologica Cracoviensia**, v.51, n.2, p.99-106, 2009.

ZHANG, W.; FRANCO, C.; CURTIN, C.; CONN, S. To stretch the boundary of secondary metabolite production in plant cell-based bioprocessing: anthocyanin as a case study. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.5, n.5, p.264-271, 2004.

ZHOU, Z.S.; HUANG, S.Q.; GUO, K.; MEHTA, S.K.; ZHANG, P.C.; YANG, Z.M. Metabolic adaptations to mercury-induced oxidative stress in roots of *Medicago sativa* L. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.101, n.1, p.1-9, 2007.

VITA

Claudia de Oliveira é filha de José Dearali de Oliveira e Sonia Mariza de Oliveira. Nasceu em 04 de fevereiro de 1986, no Município de Pinheiro Machado, Rio Grande do Sul. Formou-se no Centro Federal de Educação Tecnológica de Pelotas/RS, no ano de 2005. No ano de 2006 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), onde se graduou como Engenheira Agrônoma em 2011. No período de 2006 a 2010 desenvolveu atividades como estagiária⁰ e bolsista de Iniciação Científica (CNPq), atuando no Departamento de Fitossanidade. Em 2011, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel.