

MAPEAMENTO DA RESISTÊNCIA A HERBICIDAS INIBIDORES DA ALS EM BUVA EM LAVOURAS DE TERRAS BAIXAS E DEMAIS ÁREAS DO BRASIL INDICA GRANDE DIVERSIDADE DE MECANISMOS E DE RESISTÊNCIA CRUZADA

Autores: Paula Sinigaglia Angonese¹; [Fernanda Pinto Marques](#)²; Vinícius Ferrari Tasca³; Fernando Lacerda Capellari⁴; Aldo Merotto Jr.⁵

Palavras-chave: *Conyza sumatrensis*, *Conyza bonariensis*, mutação, número de cópias, expressão gênica

Introdução

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é um desafio crescente na agricultura brasileira que impacta a produtividade e aumenta os custos de produção. Espécies de buva, especialmente *Conyza sumatrensis* e *C. bonariensis*, destacam-se como problemáticas no Brasil devido à ampla distribuição, elevada variabilidade genética e capacidade de evoluir para resistência a múltiplos herbicidas (Bajwa et al. 2016; Kalsing et al. 2024). Numerosos casos de resistência a herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) têm sido registrados em diversas regiões do país devido ao amplo uso desses herbicidas em pré e pós-emergência para controle de buva, principalmente em áreas de cultivo de soja (Mendes et al. 2021; Lorenzetti et al. 2024). Com a introdução da rotação com soja em áreas de terras baixas no sul do país, houve um incremento nos relatos de ocorrência de buva também nessas áreas, com sobrevivência principalmente em taipas.

Diante da problemática da resistência a herbicidas torna-se essencial identificar e mapear populações resistentes e compreender os mecanismos envolvidos na resistência em uma abordagem epidemiológica. Essas informações contribuem para o desenvolvimento de programas de manejo integrado de plantas daninhas que incluem rotação de culturas, diversificação de grupos químicos e mecanismos de ação dos herbicidas e adoção de práticas culturais que reduzam a pressão de seleção por resistência. Este estudo tem como objetivo avaliar a frequência da resistência de populações de buva à herbicidas inibidores da ALS em diferentes regiões do Brasil e associar esses casos aos mecanismos de resistência relacionados ao local de ação predominantes.

Material e Métodos

Entre 2016 e 2024, foram coletadas sementes de 70 populações de *C. sumatrensis* e *C. bonariensis* em áreas agrícolas de diferentes estados brasileiros, incluindo lavouras de arroz em terras baixas em rotação com soja no estado do RS. Plantas no estágio de 6 a 8 folhas foram submetidas à aplicação de herbicidas inibidores da ALS: clorimuron-etil (sulfonilureias - SU), imazetapir (imidazolinonas - IMI) e cloransulam-metil (triazolopirimidinas - TDP), em 50% e 100%

¹Aluna de doutorado em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, paulasangonese@gmail.com

²Aluna de graduação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, pintomarkesfernanda@gmail.com

³Aluno de graduação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, viniciustasca210900@gmail.com

⁴Aluno de graduação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, fernandocapellari7@gmail.com

⁵Professor orientador, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, aldo.merotto@ufrgs.br

da dose de bula, sendo 20 e 40 g ha⁻¹ de clorimuron-etil (Classic, 250g Kg⁻¹, WG, Corteva Agriscience) + adjuvante Veget'Oil (EC, Oxiquímica Agrociência LTDA) a 0,05% v/v; 50 e 100g ha⁻¹ de imazetapir (Zaphir, 106g L⁻¹, SL, UPL) + adjuvante Dash (EC, Basf) a 0,5% v/v; e 17 e 34g ha⁻¹ de cloransulam-metil (Pacto, 840g Kg⁻¹, WG, Corteva Agriscience) + adjuvante Dash a 0,5% v/v. As aplicações foram realizadas em câmara de pulverização automatizada (Generation III, Devries Manufacturing) com volume de calda de 200 L ha⁻¹. Cada tratamento foi composto por cinco repetições biológicas. A eficácia do controle foi avaliada visualmente aos 28 dias após a aplicação utilizando escala percentual onde 0% representa ausência de injúria e 100% indica morte das plantas. Populações com controle inferior a 85% foram classificadas como resistentes.

Vinte populações de buva foram sequenciadas para o gene *ALS*. Três conjuntos de primers foram desenhados para cobrir todas as regiões conhecidas com mutações associadas à resistência a herbicidas - Ala122, Pro197, Ala205, Phe206, Asp376, Arg377, Trp574, Ser653 e Gly654. Ambas as espécies são hexaplóides e possuem três cópias do gene *ALS*, no cromossomo 2 em *C. bonariensis* e nos cromossomos 3, 22 e 23 em *C. sumatrensis* (Côrtes Gomes et al. 2025). Os primers foram desenhados para amplificar todas as cópias do gene em ambas as espécies. O DNA total foi extraído pelo método (CTAB). O gene foi amplificado em PCR convencional e sequenciado pelo método Sanger. As sequências obtidas foram alinhadas com o gene *ALS* de *Arabidopsis thaliana* como referência (X51514.1). Os cromatogramas foram analisados com o software SnapGene® (<https://www.snapgene.com/>).

Marcadores do tipo SNAP (single-nucleotide amplified polymorphism) foram desenvolvidos para cinco mutações identificadas no estudo de sequenciamento do gene *ALS* em ambas as espécies: Ala122Thr, Pro197Ser, Pro197Arg, Pro197His e Trp574Le. Os marcadores foram analisados em RT-qPCR.

A variação no número de cópias (CNV) e a superexpressão do gene *ALS* também foram investigadas através de RT-qPCR, utilizando um par de primers que amplifica os três genes *ALS* das espécies de buva. O estudo de CNV foi conduzido com DNA genômico e a avaliação da superexpressão foi realizada com cDNA proveniente de RNA extraído de plantas não tratadas. A extração de RNA foi realizada com Concert™ (Invitrogen), e o cDNA foi sintetizado utilizando a transcriptase reversa M-MLV (Invitrogen). CNV e superexpressão do gene *ALS* foram calculadas em relação às populações suscetíveis utilizando o método 2^{-ΔΔCt}. O gene *HSP70* foi utilizado como gene de referência (Moretti et al. 2017).

Resultados e Discussão

Resistência a herbicidas inibidores da *ALS* em buva apresentou variações regionais significativas no Brasil. Apenas 11% das 70 populações avaliadas foram suscetíveis aos três herbicidas testados. Resistência cruzada a clorimuron-etil, imazetapir e cloransulam-metil foi observada em 21% das populações, enquanto 3% foram resistentes apenas à clorimuron-etil, 27% à imazetapir e 3% à cloransulam-metil (Figura 1A). A resistência a esses herbicidas foi identificada em todas as regiões avaliadas, com padrões específicos. No Mato Grosso do Sul, a resistência ao imazetapir predominou. No Paraná, cerca de metade das populações foram resistentes a todos os herbicidas testados, com destaque para Toledo, onde a resistência ao imazetapir sugere uma possível origem única seguida de dispersão. No Rio Grande do Sul, a resistência a todos os herbicidas foi predominante, especialmente em populações de *C. bonariensis*, inclusive nas cinco populações provenientes de terras baixas das cidades de Capão do Leão, Vila Nova do Sul, Santa Maria e Uruguaiana (Figura 1B).

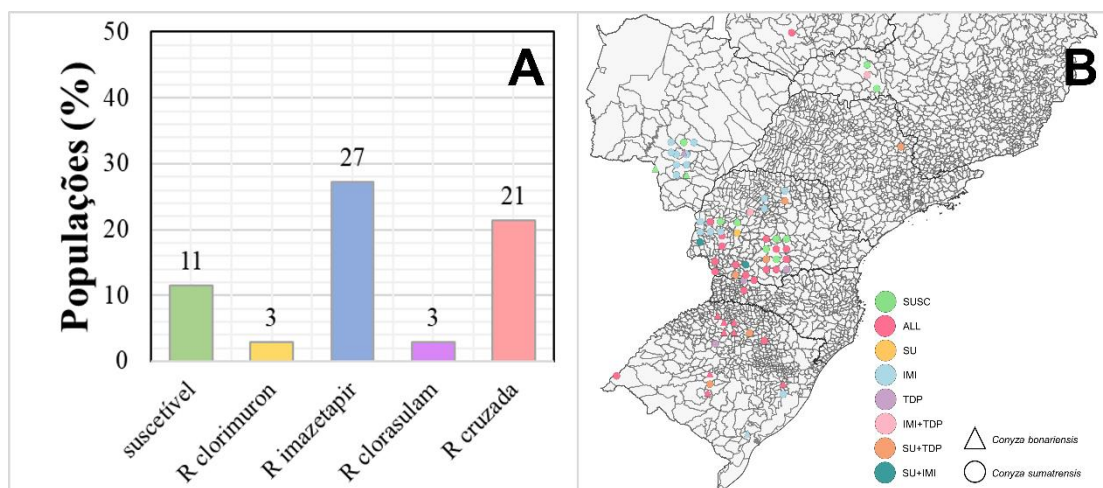


Figura 1. Resistência a herbicidas inibidores da ALS em 70 populações de buva (A) e sua distribuição no Brasil (B). SUSC - suscetível; SU - resistente apenas à sulfonilureias; IMI - resistente apenas à imidazolinonas; TDP - resistente apenas à triazolopirimidinas; ALL - resistência cruzada aos três grupos químicos.

O sequenciamento do gene *ALS* de 20 populações indicou presença das substituições Thr122, Ser197, Arg197, His197 e Leu574 em 1, 2, 1, 3 e 3 populações, respectivamente. Uma população de *C. sumatrensis* apresentou duas substituições de aminoácidos nas posições 122 e 197 (Ala122Thr + Pro197His). Essa população apresentou resistência aos três grupos de herbicidas inibidores da ALS avaliados. Das cinco populações coletadas na região sul do RS, duas delas apresentaram a mutação Ser197 (Santa Maria e Uruguaiana), e nas outras três populações não foram identificadas mutações.

A genotipagem de 57 populações resistentes de buva através de marcadores moleculares SNAP para as mutações Thr122, Ser197, Arg197, His197 e Leu574 foi positiva em uma, quinze, seis, sete e cinco populações, respectivamente, totalizando 34 populações (Figura 2A). No entanto, 27 populações resistentes não apresentaram amplificação para nenhuma das mutações testadas, indicando que a resistência em mais de 45% das populações resistentes possivelmente é causada por outras mutações ou outros mecanismos de resistência.

Cruzando os resultados das análises fenotípica e genotípica, de forma geral, as mutações Thr122, His197 e Leu574 conferem resistência às sulfonilureias, imidazolinonas e triazolopirimidinas. Em contraste, os resultados para Ser197 e Arg197 são mais variáveis, provavelmente devido à contribuição de outros mecanismos de resistência na resposta de resistência. Nos casos em que as populações são resistentes a apenas um ou dois grupos de herbicidas inibidores da ALS, herbicidas dos grupos restantes ainda podem controlar eficientemente plantas com essas mutações específicas.

Complementarmente ao sequenciamento do gene *ALS*, a resistência relacionada ao local de ação foi avaliada através da análise do número de cópias relativo do gene e da expressão gênica relativa. Aproximadamente 50% das populações resistentes apresentaram o mesmo número de cópias que as populações suscetíveis. Entretanto, 38%, 10% e 2% apresentaram número de cópias 2, 3 e 4 vezes maior, respectivamente (Figura 2B). Em relação à expressão gênica, 54% das populações apresentaram níveis de expressão semelhantes aos das populações suscetíveis. Em contraste, 30%, 2%, 10% e 4% das populações apresentaram expressão do gene *ALS* 2, 3, 4 e 6 vezes maior, respectivamente (Figura 2B).

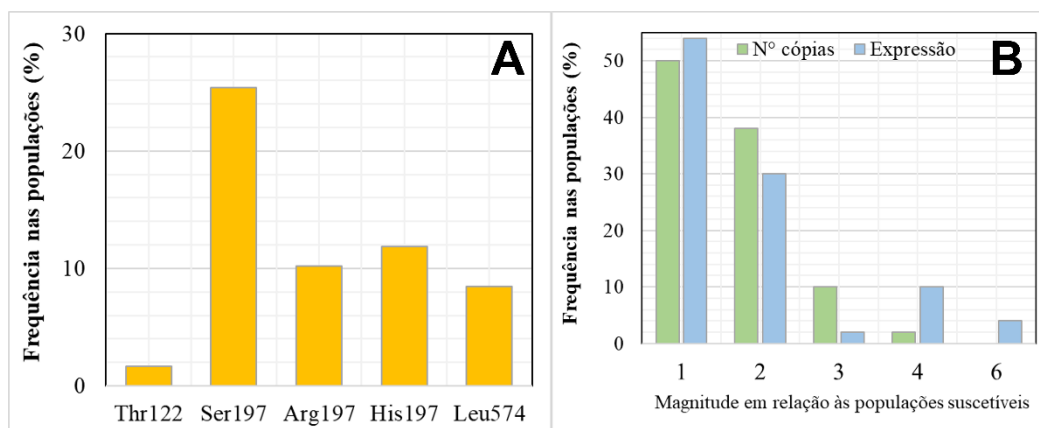


Figura 2. Frequência nas populações de buva das mutações Thr122, Ser197, Arg197, His197 e Leu574 (A) e frequência de 1, 2, 3, 4 e 6 vezes o número de cópias e a expressão relativa do gene *ALS* nas populações resistentes em relação às populações suscetíveis (B).

Conclusões

Este estudo revelou grande variabilidade de resistência em buva a herbicidas inibidores da ALS em diversas regiões agrícolas do Brasil, inclusive em regiões de terras baixas. Mutação no gene *ALS* na posição Pro197 resultou em resistência em 47% das populações. A mutação mais frequente foi Ser197, encontrada em 25% das populações resistentes. Cinco diferentes mutações no gene *ALS*, até quatro vezes maior número de cópias e até seis vezes maior expressão gênica do gene *ALS* resultaram em grandes variações nos níveis de resistência e nos padrões de resistência cruzada nas populações. Esses resultados destacam a contribuição de múltiplos mecanismos de resistência aos herbicidas inibidores da ALS, níveis variáveis de resistência cruzada e potencial de uso de herbicidas de outros grupos químicos da ALS em populações resistentes de buva. O estudo também sinaliza a necessidade de atenção para manejo dessa espécie em áreas de terras baixas para controle da sua dispersão nessas regiões.

Referências

- BAJWA, A. A.; SADIA, S.; ALI, H. H.; JABRAN, K.; PEERZADA, A. M.; CHAUHAN, B. S. Biology and management of two important *Conyza* weeds: a global review. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 23, n. 24, p. 24694–24710, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7794-7>.
- KALSING, A.; NUNES, F. A.; GOTARDI, G. A.; BUENO, J. C.; SCHNEIDER, A. A.; TROPALDI, L.; VELINI, E. D.; MEROTTO, A.; CARBONARI, C. A. Taxonomic resolution of fleabane species (*Conyza* spp.) based on morphological and molecular markers and their dispersion across soybean-cropping macroregions and seasons in Brazil. *Weed Science*, v. 72, n. 2, p. 192–204, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/wsc.2024.3>.
- LORENZETTI, J. B.; DANILUSSI, M. T. Y.; ALBRECHT, A. J. P.; BARROSO, A. A. M.; ALBRECHT, L. P.; SILVA, A. F. M.; SANTOS, G. R.; CANEPELE, G. A. M. Identification, mapping, and chemical control of fleabane resistant to glyphosate, chlorimuron, paraquat, and 2,4-D. *Weed Technology*, v. 38, p. 1–12, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/wet.2024.10>.
- MENDES, R. R.; TAKANO, H. K.; NETTO, A. G.; PEREIRA JÚNIOR, G. J.; CAVENAGHI, A. L.; SILVA, V. F. V.; NICOLAI, M.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; DE MELO, M. S. C.; OVEJERO, R. F. L. Monitoring glyphosate- and chlorimuron-resistant *Conyza* spp. populations in Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 93, n. 1, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0001-376520210190425>.
- MORETTI, M. L.; HANSON, B. D. Reduced translocation is involved in resistance to glyphosate and paraquat in *Conyza bonariensis* and *Conyza canadensis* from California. *Weed Research*, v. 57, n. 1, p. 25–34, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/wre.12230>.