

## RESPOSTA *IN VITRO* DE *Euphorbia heterophylla* L. AO HERBICIDA GLYPHOSATE

JÉSSICA RODRIGUES GARCIA<sup>1</sup>; ANDRÉ DA ROSA ULGUIM<sup>2</sup>; JULIANA APARECIDA FERNANDO<sup>2</sup>; LEANDRO VARGAS<sup>3</sup>; JOSÉ ANTÔNIO PETERS<sup>2</sup>; DIRCEU AGOSTINETTO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [jejesvp@hotmail.com](mailto:jejesvp@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [andre\\_ulguim@yahoo.com.br](mailto:andre_ulguim@yahoo.com.br); [joseapeters16@gmail.com](mailto:joseapeters16@gmail.com); [juli\\_fernando@yahoo.com.br](mailto:juli_fernando@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Trigo - [vargas@cnpt.embrapa.br](mailto:vargas@cnpt.embrapa.br)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas - Orientador – [agostinnetto@ig.com.br](mailto:agostinnetto@ig.com.br)

### 1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja possui grande importância econômica para o Brasil, constituindo-se no principal cultivo agrícola. A produtividade da soja pode sofrer interferência negativa quando da presença de plantas daninhas, podendo ocasionar redução de até 80% da produção (GAZZIERO et al., 2004). Dentre estas plantas daninhas se destaca a leiteira (*Euphorbia heterophylla*), a qual pertence à família Euphorbiaceae, e é nativa das regiões tropicais e subtropicais das Américas (KISSMANN & GROTH, 1999).

As falhas de controle de leiteira pela aplicação de glyphosate em lavouras de soja no Rio Grande do Sul (RS) são frequentemente relatadas pelos agricultores, sendo importante a confirmação ou não da resistência ao herbicida. O glyphosate é herbicida não seletivo, sistêmico que inibe a enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintase (EPSPs), da rota do ácido chiquímico (ROMAN et al., 2007; VELINI et al., 2009).

Para que uma planta possa ser caracterizada como resistente, devem-se realizar estudos que visam determinar o nível da resistência, mediante a realização de experimentos de curva de dose-resposta (CARVALHO et al., 2009). Nestes experimentos são analisadas variáveis morfológicas como massa seca, estatura de plantas, área folhar e eficiência de controle. Contudo, a variabilidade genética natural, ocorrente em plantas daninhas, dificulta a análise e obtenção dos resultados.

A cultura de tecidos é alternativa para uniformizar a população de plantas em estudo, e garantir que estão sendo manipulados clones de determinado biótipo. Além disso, a partir do estabelecimento *in vitro* de determinada planta daninha, pode-se realizar testes de resistência através da adição do herbicida em meio de cultura e assim reduzir o tempo para a confirmação da resistência. Desse modo, o desenvolvimento de tecnologias de cultivo *in vitro* de plantas daninhas é chave para o avanço da pesquisa na área.

Esse trabalho visou avaliar a viabilidade da realização de teste de comprovação de resistência *in vitro* e determinar a concentração de glyphosate, em meio de cultivo, capaz de provocar mortalidade e reduzir o comprimento de explantes de plantas de leiteira suscetível e com suspeita de resistência ao herbicida.

## 2. METODOLOGIA

Realizaram-se dois experimentos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições, com quatro explantes por repetição. Os experimentos foram conduzidos em câmara de crescimento, pertencente ao Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Herbologia, da Universidade Federal de Pelotas.

Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial, onde o fator A testou os biótipos de leiteira R (suspeito da resistência) e S (suscetível), enquanto que o fator B constou de diferentes concentrações de sal de glyphosate no meio de cultura (primeiro experimento – 0, 100, 150 e 200µM; e, segundo experimento - 0, 25, 50, 100µM).

O meio de cultura utilizado foi o MS, complementado com sacarose (30g L<sup>-1</sup>), mio-inositol (0,1g L<sup>-1</sup>) e BAP (0,5g L<sup>-1</sup>), com pH ajustado para 5,8, antes da adição de ágar (7g L<sup>-1</sup>). Após autoclavagem, adicionou-se ao meio a concentração do herbicida, de acordo com o tratamento. Para tal, utilizou-se solução estoque contendo o sal do herbicida glyphosate (Fluka®), que foi filtrada, em câmara de fluxo laminar, e adicionada ao meio ainda quente, de acordo com o tratamento. Em seguida, o meio foi vertido para tubos de ensaio (10mL tubo<sup>-1</sup>), onde inoculou-se um explante por tubo. Posteriormente, o material foi levado à câmara de crescimento, com fotoperíodo de 14/10h de luz/escuro e temperatura de 24°C durante todo o período do experimento.

As variáveis analisadas foram: percentagem de morte, contaminação fúngica; e, bacteriana de explantes, aos 15 e 20 dias após a inoculação (DAI). Os tubos que apresentavam explantes contaminados foram descartados. Aos 20 dias após a inoculação analisou-se o comprimento da parte aérea, mensurado da base do mesmo até a gema apical.

Os dados foram submetidos à análise da variância ( $p \leq 0,05$ ) e em caso de significância, o fator biótipo foi comparado por teste t ( $p \leq 0,05$ ) e o fator dose por regressão sigmoidal do tipo logístico, conforme segue:

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

onde: y = porcentagem de controle ou de redução de MS; x = dose do herbicida; e, a, x<sub>0</sub> e b = parâmetros da equação, sendo que a é a diferença entre os pontos máximo e mínimo da curva, x<sub>0</sub> é a dose que proporciona 50% de resposta da variável e b é a declividade da curva.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento, não foi observada interação entre os fatores testados, havendo somente efeito principal do fator concentração de glyphosate para a variável percentagem de morte aos 15 e 20 DAI (Figura 1 a e b). No segundo experimento, observou-se interação entre os fatores testados para as variáveis percentagem de morte aos 20 DAI e comprimento de parte aérea (Figura 2 a e b). Não foi observada significância estatística para as variáveis contaminação, em ambos experimentos (dados não apresentados).

Para as concentrações de glyphosate no primeiro experimento, verificou-se aos 15 DAI, que na menor concentração de herbicida a mortalidade, de explantes foi próxima a 100% (Figura 1), enquanto aos 20 DAI, independente da concentração, todas as plantas morreram, indicando serem essas concentrações elevadas para utilização nesta metodologia experimental.

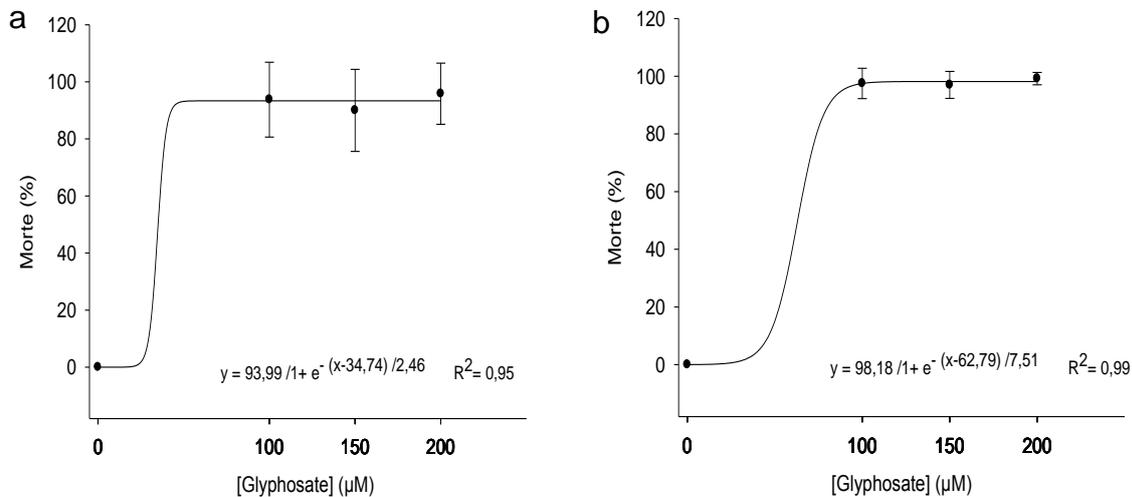


Figura 1. Percentagem de explantes mortos de leiteira (*Euphorbia heterophylla*) aos 15 (a) e 20 dias após a inoculação (DAI) (b), nas concentrações de 100, 150 e 200 µM de glyphosate. Capão do Leão, 2013.

No segundo experimento, observou-se diferença entre os biótipos para percentagem de morte aos 20 DAI, sendo que na concentração de 25µM, o biótipo R apresentou menor taxa de mortalidade que o S (Figura 2 a). Os herbicidas imazaquin e fomesafem reduziram o crescimento radicular de leiteira em meio MS/2, não provocando a morte dos mesmos (COLUSSI, 2006).

Em relação ao comprimento da parte aérea, os biótipos não apresentaram diferença, porém a presença de glyphosate no meio de cultura interferiu negativamente no crescimento dos explantes (Figura 2 b).

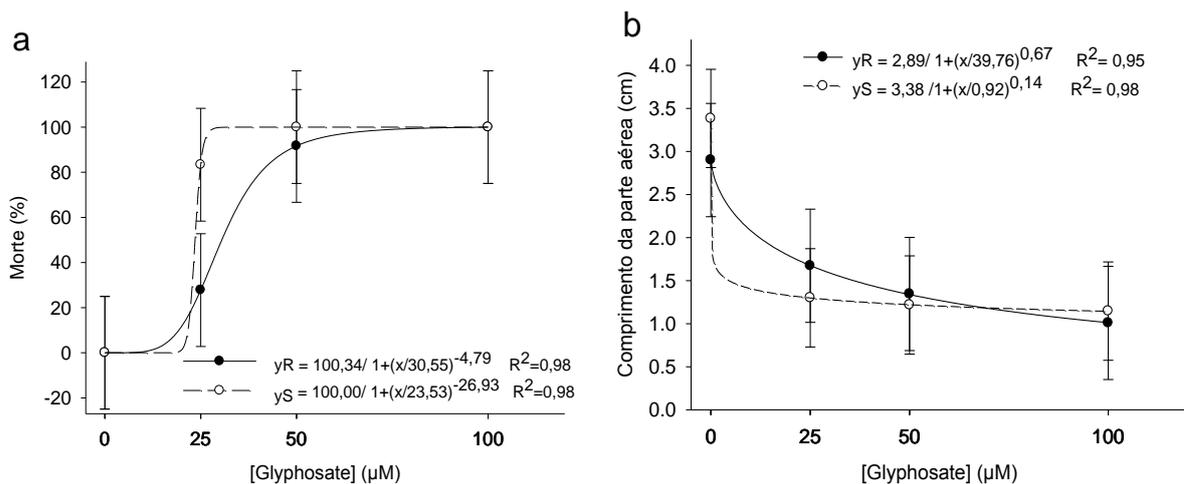


Figura 2. Comprimento da parte aérea (cm) (a) e percentagem de explantes mortos (b) de biótipos de leiteira (*Euphorbia heterophylla*) com suspeita de resistência (R) e suscetível (S) ao glyphosate, 20 dias após a inoculação (DAI) em meio de cultura com diferentes concentrações do herbicida. Capão do Leão, 2013.

#### 4. CONCLUSÕES

O método de cultivo in vitro mostrou-se eficiente para seleção de biótipos de leiteira resistentes a herbicidas. As concentrações de sal de glyphosate em meio de cultivo MS, em concentração acima de 50µM, provocam a totalidade de morte de explantes de leiteira e a redução da parte aérea dos mesmos, independente do biótipo ser resistente ou suscetível.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, S.J.P. de; CHRISTOFFOLETI, P.J.; LÓPEX-OVEJERO, R.F. Métodos para comprovação da resistência de plantas daninhas a herbicidas. In: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. **Resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Passo Fundo: Berthier, 2009. p.103-122.

COLUSSI, Francielli. **Cultura de tecidos de *Euphobia heterophylla***. 2006. 59f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.

GAZZIERO, L.P.D.; VARGAS, L.; ROMAN, E.S. Manejo e controle de plantas daninhas em soja. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. **Manual e controle de plantas daninhas**. EMBRAPA, p.595-635, 2004.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: Basf Brasileira, 1999. 978p.

ROMAN, E.S.; BECKIE, H.; VARGAS, L.; HALL, L.; RIZZARDI, M.A.; WOLF, T.M. **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação**. Passo Fundo: Ed. Berthier, 2007. 160p.

VELINI, E.D.; DUKE, S.O.; TRINDADE, M.L.B.; MESCHEDE, D.K.; CARBONARI, C.A. Modo de ação do glyphosate. In: VELINI, E.D.; MESCHEDE, D.K.; CARBONARI, C.A.; TRINDADE, M.L.B. (Eds.) **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. p.113-134.