



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL –
PPGCTACAMPUS ERECHIM**

CARLOS DANIEL BALLA

**IDENTIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE ALTERNATIVO DE
BIÓTIPOS DE *Stellaria media* RESISTENTES A HERBICIDAS INIBIDORES DA
ENZIMA ACETOLACTATO SINTASE**

ERECHIM

2025

CARLOS DANIEL BALLA

**IDENTIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE ALTERNATIVO DE
BIÓTIPOS DE *Stellaria media* RESISTENTES A HERBICIDAS INIBIDORES DA
ENZIMA ACETOLACTATO SINTASE**

Dissertação de mestrado, apresentada para o Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. D. Sc. Leandro Galon

ERECHIM

2025

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Balla, Carlos Daniel

IDENTIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE ALTERNATIVO DE BIÓTIPOS DE *Stellaria media* RESISTENTES A HERBICIDAS INIBIDORES DA ENZIMA ACETOLACTATO SINTASE:

IDENTIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE ALTERNATIVO DE BIÓTIPOS DE *Stellaria media* RESISTENTES A HERBICIDAS INIBIDORES DA ALS / Carlos Daniel Balla. -- 2025.

56 f.

Orientador: D. Sc. Leandro Galon

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Erechim, RS, 2025.

1. Resistência de Planta Daninha. 2. *Stellaria media*. 3. Resistência ao Metsulfuron-methyl. 4. Sustentabilidade. I. Galon, Leandro, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CARLOS DANIEL BALLA

**IDENTIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE ALTERNATIVO DE
BIÓTIPOS DE *Stellaria media* RESISTENTES A HERBICIDAS INIBIDORES
DA ENZIMA ACETOLACTATO SINTASE**

Dissertação de mestrado, apresentada para o Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. D. Sc. Leandro Galon

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em: 19/11/2025.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 LEANDRO GALON
CPF: 00/10/1975 RG: 1623-0088
Verifique em <https://validar.id.gov.br>

Prof. D. Sc. Leandro Galon - UFFS
Orientador

Documento assinado digitalmente
 LEANDRO VARGAS
Data: 02/12/2025 09:04:12-0000
Verifique em <https://validar.id.gov.br>

Prof. D. Sc. Leandro Vargas – EMBRAPA Trigo
Avaliador

Documento assinado digitalmente
 FERNANDO MACHADO DOS SANTOS
CPF: 00/10/1975 RG: 4423-0088
Verifique em <https://validar.id.gov.br>

Prof. Dr. Fernando Machado dos Santos - IFRS
Avaliador

ERECHIM
2025

DEDICO

Ao meu filho Lorenzo Gobbi Balla, a minha esposa Ândrea Machado Pereira Franco e aos meus pais Antonio e Jandira aos meus irmãos Juliana, Janaina e André, também aos sobrinhos e cunhados pela compreensão de minha ausência em tantos momentos, pelo carinho, amizade, companheirismo, dedicação, e principalmente por estarem sempre ao meu lado me apoiando carinhosamente em mais essa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço principalmente à Deus, pelas tantas proteções, orientações e bênçãos. Iluminando mais essa jornada, guiando minha caminhada possibilitando chegar até esse momento.

Aos meu pai Antonio Carlos Balla e minha mãe Maria Jandira Seben Balla, aos meus irmãos Juliana Balla Donato, Janaina Balla Burgert e André Adair Balla, também aos cunhados Rafael e Everton e os sobrinhos Eloisa, Gabriel, Gustavo e Germano e todos demais minha família, pelo amor, apoio incondicional e por sempre me incentivarem. Vocês foram minha base e fonte de inspiração ao longo de toda essa caminhada.

Meus agradecimentos a Embrapa Trigo por durante o período de estágio, conceder-me a possibilidade de aperfeiçoar os conhecimentos adquiridos nos bancos acadêmicos em situações práticas influenciando significativamente meu desenvolvimento profissional.

Meu especial agradecimento ao Pesquisador D. Sc Leandro Vargas meu supervisor de estágio, juntamente com a equipe do Laboratório de Plantas Daninhas a Química Industrial de Alimentos Sra. Marina Santos Teixeira e o Tecnólogo em gestão Ambiental Sr. Evandro Ademir Lampert, e demais colegas pelo constante incentivo, orientações e paciência. Em que a convivência e o aprendizado proporcionados pela equipe foram essenciais em meu acolhimento e motivaram a oferecer meu melhor desempenho todos os dias.

Aos professores Dr. Gismael Francisco Perin e Professora Dra. Aline Pompermaier minha gratidão pelos incentivos, auxílios e direcionamentos em meus estudos.

Agradeço meu orientador e amigo D. Sc. Leandro Galon por ter aceito realizar minha orientação nessa etapa de pós-graduação, minha gratidão pelo apoio e contribuições não apenas nessa dissertação, mas em tantas outras atividades nesses últimos anos na UFFS.

À coordenação e aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental.

À secretaria do curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, pelo auxílio durante o curso e por estarem sempre dispostas a ajudar.

Aos Técnicos dos Laboratórios pelo apoio e auxílio em minhas atividades.

Aos amigos, colegas e o grupo MASSA, obrigado pelas alegrias e atividades experimentais conduzidas, pelas experiências e por trilharmos juntos essa caminhada.

E a todas as pessoas que de alguma forma estiveram presentes durante essa caminhada.

Minha gratidão e sincero muito obrigado!

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** - Controle (%) de biótipos de *S. media* sensível aos inibidores da ALS em resposta ao efeito de aplicação de doses de metsulfuron-methyl, em pós-emergência. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 202434
- FIGURA 2** - Controle (%) de biótipos de *S. media* resistente aos inibidores da ALS em resposta ao efeito de aplicação de doses de metsulfuron-methyl, em pós-emergência. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.....34
- FIGURA 3** - Controle (%) de biótipo de *S. media*, sensível (s) e resistente (r) em diferentes doses de metsulfuron-methyl após 28 dias da aplicação do tratamento, EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024. As linhas representam os valores médios das quatro repetições e as faixas, intervalos de confiança para a dose que causa 50% de controle na planta, com 95% de significância.36
- FIGURA 4** - Redução (%) de massa seca de biótipo de *S. media*, sensível (S) e resistente (R) em relação a aplicação de doses de metsulfuron-methyl, após 28 dias da aplicação dos tratamentos. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024. As linhas representam os valores médios das quatro repetições e as faixas, intervalos de confiança para a dose que causa 50% de controle na planta, com 95% de significância.39
- FIGURA 5** - Controle (%) de biótipo de *S. media* sensível (S), resistente (R) e resistente com adição de malathion (RM) Em relação a aplicação de doses de metsulfuron-methyl, após 28 dias da aplicação dos tratamentos. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024. As linhas representam os valores médios das quatro repetições e as faixas, intervalos de confiança, com 95% de significância.39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Tratamentos, mecanismo de ação, dose de ingrediente ativo, nome comercial, e dose comercial da dose utilizadas nos tratamentos aplicados em pós-emergência da <i>S. media</i> . EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.....	23
TABELA 2 - Tratamentos, nome comercial, época de aplicação, dose e porcentagem da dose utilizadas nos tratamentos aplicados em pós-emergência da <i>S. media</i> . EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.	24
TABELA 3 - Controle (%) de biótipos de <i>S. media</i> com suspeita de resistência ao metsulfuron-methyl em resposta ao efeito de aplicação de herbicidas em pós-emergência. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.....	29
TABELA 4 - Dados de dl_{50} com intervalo de confiança (ic) e fator de resistência (fr) dos biótipos de <i>S. media</i> sensível e resistente após aplicação de doses crescentes do herbicida metsulfuron-methyl, aos 28 dias após os tratamentos (DAT), EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.	35
TABELA 5 - Dados de gr_{50} com intervalo de confiança (ic) e fator de resistência (fr) dos biótipos de <i>S. media</i> sensível e resistente, aos 28 dias após aplicação de doses crescentes do herbicida metsulfuron-methyl, EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024...	37
TABELA 6 – Tratamentos e doses aplicados em pós-emergência para o controle alternativo de <i>S. media</i> . EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.	44
TABELA 7 - Controle (%) de <i>S. media</i> resistente aos inibidores da als, (metsulfuron-methyl e iodosulfuron) com herbicidas alternativos. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.....	46

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. Primers utilizados para detecção do fragmento do gene ALS e sequenciamento.....	28
QUADRO 2. Regiões e mutações analisadas nas sequências de dois biótipos de <i>Stellaria media</i>	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. CAPÍTULO 1. SUSCETIBILIDADE DE BIÓTIPOS DE <i>Stellaria media</i> A HERBICIDAS	18
RESUMO	18
ABSTRACT	18
2.1 INTRODUÇÃO.....	19
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
2.2.1 TESTE DE HERBICIDAS EM <i>S. MEDIA</i>	22
2.2.2 CURVA DOSE RESPOSTA DE METSULFUROM-METHYL EM <i>S. MEDIA</i>	23
2.2.3 METABOLISMO OXIDATIVO DO METSULFURON-METHYL PELA <i>STELLARIA MEDIA</i>	25
2.2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA ALS DE <i>STELLARIA MEDIA</i>	25
2.2.4.1 EXTRAÇÃO DA ENZIMA ALS DE FOLHAS DE <i>STELLARIA MEDIA</i>	25
2.2.4.2 BIOENSAIO “ <i>IN VITRO</i> ” COM A ENZIMA ALS DE <i>STELLARIA MEDIA</i>	26
2.2.6 SEQUENCIAMENTO DO GENE QUE CODIFICA A ENZIMA ALS EM <i>STELLARIA MEDIA</i>	27
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
2.3.1 TESTE HERBICIDA EM <i>STELLARIA MEDIA</i>	28
2.3.2 CURVA DOSE RESPOSTA DE METSULFUROM-METHYL EM <i>S. MEDIA</i>	31
2.3.3. METABOLISMOS OXIDATIVO DO METSULFURON-METHYL PELA <i>STELLARIA MEDIA</i>	38
2.3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA ALS DE <i>STELLARIA MEDIA</i>	39
2.3.5 SEQUENCIAMENTO DO GENE QUE CODIFICA A ENZIMA ALS EM <i>STELLARIA MEDIA</i>	40
2.4 CONCLUSÕES.....	40
3 CAPÍTULO 2. HERBICIDAS ALTERNATIVOS PARA CONTROLE DE <i>Stellaria media</i> RESISTENTE AO METSULFURON-METHYL.....	41
RESUMO	41
ABSTRACT	41
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
3.4 CONCLUSÃO	48
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
5. REFERÊNCIAS.....	50

IDENTIFICAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE ALTERNATIVO DE BIÓTIPOS DE *Stellaria media* RESISTENTES A HERBICIDAS INIBIDORES DA ENZIMA ACETOLACTATO SINTASE

RESUMO - A pressão de seleção imposta pelo uso repetido de herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) tem selecionado biótipos de *Stellaria media* resistentes a esses produtos. A caracterização desses biótipos é imprescindível para estabelecer estratégias de manejo e que evitem a disseminação da resistência. Dessa forma, estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar o nível, o mecanismo de resistência e herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *S. media* resistentes ao metsulfuron-methyl. Os estudos foram conduzidos com biótipos resistentes oriundos de Carazinho e sensível de Passo Fundo. De acordo com os resultados, os biótipos resistentes necessitam doses de metsulfuron-methyl 8 vezes maiores que o sensível para se ter redução de 50% da massa seca. Os biótipos resistentes são controlados, em pós-emergência, com os herbicidas que apresentam mecanismos de ação alternativos, como, glyphosate, saflufenacil, glufosinate-ammonium e diquat. O mecanismo de resistência não está associado a metabolismo diferencial, ou alterações no gene ou na enzima ALS.

Palavras-chave: Esparguta; Resistência a ALS; Sulfoniluréias.

IDENTIFICATION, CHARACTERIZATION, AND ALTERNATIVE CONTROL OF *Stellaria media* BIOTYPES RESISTANT TO ACETOLACTATE SYNTHASE- INHIBITING HERBICIDES

ABSTRACT - The selection pressure imposed by the repeated use of acetolactate synthase (ALS) inhibiting herbicides has selected *Stellaria media* biotypes resistant to these products. The characterization of these biotypes is essential to establish management strategies that prevent the spread of resistance. Thus, studies were conducted with the objective of evaluating the level, the mechanism of resistance, and alternative herbicides for the control of *S. media* biotypes resistant to metsulfuron-methyl. The studies were conducted with resistant biotypes from Carazinho and a susceptible one from Passo Fundo. According to the results, the resistant biotypes require metsulfuron-methyl doses 8 times higher than the susceptible biotype to achieve a 50% reduction in dry mass. The resistant biotypes are controlled, in post-emergence, with herbicides that present alternative mechanisms of action, such as glyphosate, saflufenacil, glufosinate-ammonium, and diquat. The resistance mechanism is not associated with differential metabolism, or alterations in the ALS gene or enzyme.

Keywords: Chickweed; ALS Resistance; Sulfonylureas.

1. INTRODUÇÃO

O metsulfuron-methyl é um herbicida pós-emergente amplamente utilizado nas culturas de inverno, principalmente as pertencentes à família das Poaceae/Gramineae (Balem et al., 2021). Este herbicida pertence ao grupo químico das sulfoniluréias recomendado para o controle de plantas daninhas de folhas largas (Rambe et al., 2025), o qual inibe a enzima acetolactato sintase (ALS). Esta enzima catalisa o primeiro passo da rota de biossíntese dos aminoácidos de cadeia ramificada, valina, leucina e isoleucina (Xu et al., 2020).

Os herbicidas inibidores da ALS têm se consolidado como uma das principais ferramentas no manejo de plantas daninhas, em muitas culturas de interesse agrícola no mundo e no Brasil. Isso ocorre em razão de serem eficazes em baixas doses, apresentarem amplo espectro de controle, baixa toxicidade para mamíferos (Vijayarajan et al., 2025) e a possibilidade de serem usados em uma gama diversificada de culturas pertencentes a várias famílias botânicas. O uso repetido desse mecanismo de ação, no qual se insere o herbicida metsulfuron-methyl, tem levado ao aparecimento e à disseminação de biótipos resistentes em diferentes regiões do mundo e inclusive no Brasil (Yu et al., 2021; Heap, 2025; Yadav et al., 2025).

O amplo uso de herbicidas sintéticos, nos últimos anos, fez aumentar os casos de resistência de populações de plantas daninhas, devido à seleção de biótipos que apresentavam tendência preexistente à resistência. Os casos de resistência evoluem pela intensificação da pressão de seleção exercida por repetidas aplicações do mesmo mecanismo de ação e pela eliminação das plantas sensíveis. Desta forma, esses biótipos resistentes se multiplicam, se adaptam tornando-se predominantes nos sistemas agrícolas (Gaines et al., 2020). Atualmente, a resistência das plantas daninhas a herbicidas é um dos maiores desafios para produtores e técnicos em todo o mundo (Beckie et al., 2020), onde se tem 539 casos de plantas resistentes. E no Brasil há relatos de mais de 55 casos documentados de espécies com resistência a algum herbicida (Heap, 2025).

A resistência aumenta os custos de produção, ocasiona redução da qualidade e da produtividade das culturas, reduz a disponibilidade de herbicidas, requer em alguns casos a substituição de moléculas e de sistemas de cultivo, ocasiona maiores investimentos do produtor ou mesmo maior poluição ambiental (Martins et al., 2023). Além disso, a aplicação repetida e intensiva de herbicida, devido a falhas no controle

de plantas daninhas, leva ao uso de doses maiores e misturas de produtos. Isso pode resultar no aumento de resíduos no ambiente, elevando o risco de contaminação do solo e da água (Moss et al., 2019; Salomão et al., 2020; Matzrafi et al., 2021).

Os mecanismos de resistência apresentados pelas plantas daninhas podem ser de dois tipos, os relacionados ao local ou sítio de ação (RELA) e os não relacionados ao local de ação (N-RELA), ou envolvendo o acúmulo dos dois tipos de mecanismos (Agostinetto e Vargas, 2014). No RELA, as informações genéticas estão contidas no DNA, quando as alterações que não causam a morte da planta são repassadas a próxima geração. Os genes são responsáveis por repassar informações para replicação do DNA. Em determinadas situações essas podem ser repassadas com erros e lesões espontâneas, que geram mutações das bases nitrogenadas e provocam mudanças genéticas e, conseqüentemente, dão origem a biótipos de plantas daninhas resistentes (Lujan et al., 2025). A resistência a herbicida também pode ocorrer pela super expressão da enzima-alvo, oriunda da amplificação do gene ou causada por um rearranjo genômico, por ocorrência natural ou por transcrição do RNA (Johanson et al., 2025).

A resistência não relacionada ao local de ação está condicionada aos mecanismos de absorção e translocação ou metabolização em que não é alterado o local de ação do herbicida, mas que reprimem a chegada da dose letal do produto ao local de ação com capacidade de realizar a inibição (Agostinetto e Vargas, 2014). Em discrepância com a resistência RELA, a N-RELA é um processo dinâmico regulado e quantitativo, que envolve uma rede de genes. Nesse mecanismo, múltiplos genes atuam associados, e a contribuição individual de cada um resulta na redução da fitotoxicidade do herbicida pela planta (Jugulam e Shyam, 2019; Mucheri et al., 2024).

A resistência N-RELA é capaz de surgir oportunamente com a redução da absorção do herbicida pela planta, modificação na translocação, retenção ou fragmentação do produto, aumento da metabolização e instantânea necrose. Dentre esses, a metabolização do herbicida ou detoxificação pela planta é, provavelmente o mecanismo mais comum (Gaines et al., 2020; Mucheri et al., 2024). Com relação ao manejo de plantas daninhas, essa categoria de resistência pode estar associada a manifestações de resistência múltipla, na qual plantas são resistentes a herbicidas de vários grupos químicos, pertencentes a distintos mecanismos de ação (Torra et al., 2021). Isso torna ainda mais enigmática e valiosa a compreensão dessa resistência, devido à diminuição das alternativas de herbicidas, tendo em vista que essas

populações podem ser resistentes a produtos ainda nem conhecidos.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas pode ser classificada em diferentes tipos, com base no mecanismo de resistência envolvido. A resistência simples ocorre quando um biótipo de planta daninha desenvolve resistência a um único herbicida. Enquanto a resistência cruzada é a capacidade hereditária de uma planta daninha sobreviver a dois ou mais herbicidas diferentes de grupos químicos distintos que pertencem ao um mesmo mecanismo de ação. Os biótipos com resistência múltipla são os que apresentam controle mais difícil, uma vez que as plantas daninhas com esta resistência sobrevivem a aplicação de dois ou mais herbicidas pertencentes a dois mecanismos de ação distintos (Heap, 2025). Todos os tipos de resistência exigem de técnicos e produtores a adoção de estratégias de manejo diferenciadas, como rotação de culturas, de mecanismos de ação, uso de método alternativos, dentre outras.

A identificação do nível de resistência, ou também denominado de “Fator de Resistência” (FR) e do mecanismo que confere a resistência é fundamental para estabelecer medidas de controle e evitar a proliferação da população resistente (Moss et al., 2017). Para sua obtenção, determina-se a dose em que se obtém 50% de controle (CL_{50} ou DL_{50}) ou de redução de massa seca (GR_{50}) nos indivíduos resistentes (R), dividindo-se pela DL_{50} ou GR_{50} dos biótipos sensíveis (S), tendo: $FR = R/S$. Consequentemente, o FR quantifica o quanto excede a dose de um herbicida para controlar 50% de uma população resistente se comparada com a obtenção do mesmo resultado em uma população sensível (Messelhäuser et al., 2021).

Nesse contexto, estudos que estimem parâmetros como DL_{50} (dose letal 50%) e GR_{50} (redução de biomassa em 50%) são fundamentais para quantificar a resposta entre populações sensíveis e resistentes. Além de confirmar a resistência, esses parâmetros permitem calcular o fator de resistência (FR) dos biótipos, subsidiando recomendações técnicas para o manejo.

Uma vez caracterizado o nível e mecanismo de resistência dos biótipos, ações alternativas de controle devem ser implementadas. De acordo com Riechers et al. (2024), quando uma população apresenta resistência a apenas um grupo herbicida, o êxito no manejo da resistência pode ser alcançado através da utilização de herbicidas com mecanismo de ação de ingredientes ativos alternativos. Essa alternativa deve ser inserida num contexto de manejo integrado, quando são empregadas diversas

estratégias de forma combinada para reduzir a pressão de seleção por biótipos resistentes.

O manejo integrado preconiza o uso de diversas estratégias para o controle de plantas daninhas que combinam vários métodos de controle, como práticas culturais, mecânicas, químicas, físicas e biológicas em um sistema coordenado que busca reduzir a interferência das plantas daninhas abaixo do limiar econômico, retardar a evolução da resistência a herbicidas e minimizar impactos ambientais (Takano et al., 2021; Tataridas et al., 2022).

Entre as estratégias deve-se combinar a rotação e mistura de herbicidas com diferentes mecanismos de ação e o uso de pré-emergentes, que deve ser complementada com práticas culturais, como o uso de culturas de cobertura, rotação de culturas, eliminação de pousio e limpeza de máquinas. Além disso, o uso do controle mecânico e biológico, com liberação de inimigos naturais e a aplicação de microrganismos com atividade bioherbicidas contribuem para a redução do banco de sementes. O uso de adjuvantes e formulações otimizadas maximiza a eficácia dos herbicidas. Em associação a estas técnicas, deve-se manter um monitoramento contínuo com auxílio do sensoriamento remoto e testes rápidos de resistência que permitem intervenções no momento mais vulnerável do ciclo da planta daninha. Por fim, a fiscalização de sementes contaminadas, o uso de sementes com elevada pureza física, fisiológica e sanitária, além da conscientização dos agricultores fortalecem a prevenção e o manejo sustentável das lavouras (Tataridas et al., 2022; Martins et al., 2023)

Dentre as várias espécies de plantas daninhas que infestam as culturas de inverno destaca-se a esparguta (*Stellaria media*) sendo uma espécie dicotiledônea, da família *Caryophyllaceae* (Carneiro, 2025). A *S. media* compete diretamente com as culturas pelos recursos disponíveis no meio, como água, luz e nutrientes, o que provoca redução da produtividade e da qualidade dos grãos colhidos (Pihu et al., 2025).

Nesse sentido, as perdas variam entre as diferentes culturas, sistemas de produção e pela população de plantas daninhas. Para a *S. media*, a semeadura das culturas de inverno antes da emergência das plantas daninhas pode ser uma alternativa de controle cultural eficiente, uma vez que o desenvolvimento das culturas de interesse pode suprimir a população de *S. media*. No entanto, quando a população de *S. media* emerge do solo simultaneamente com a cultura, a competição pelos

recursos é imediata e severa, provocando um impacto negativo significativo na produtividade da cultura de interesse (Martins et al., 2023; Pacanoski, 2024).

A *S. media* é encontrada distribuída por várias regiões do estado do Rio Grande do Sul (RS) em áreas cultivadas com canola, trigo, triticale, centeio, cevada, aveia, hortaliças, dentre outras (Nichelati et al., 2020; Fernandes et al., 2023). Nesse contexto de pressão seletiva e surgimento de biótipos resistentes, espécies naturalmente adaptadas e competitivas tornam-se um desafio para o produtor. Os biótipos resistentes de *S. media* foram identificados pela primeira vez na Alemanha em 1978 para o herbicida atrazina, inibidor de fotossistema II. Os primeiros casos de resistência aos herbicidas inibidores da ALS foram registrados no Reino Unido (1985), Canada (1988), Dinamarca (1991), Nova Zelândia e Suécia (1995), chegando aos Estados Unidos (2008), espalhando-se posteriormente por diversos estados e outros países (Heap, 2025).

Com isso, a perda de eficiência destes herbicidas no controle de *S. media* causa impacto agrônômico significativo, uma vez que exige a intensificação de estratégias do manejo integrado, com a rotação de herbicidas com diferentes mecanismos de ação associados a métodos não químicos, para evitar a disseminação dos biótipos resistentes (Vargas et al., 2021). No sul do Brasil, em lavouras de trigo foram identificados biótipos de *S. media* com suspeita de resistência ao herbicida metsulfuron-methyl.

Diante disso, esse trabalho teve como hipóteses: a) Os biótipos de *S. media* apresentam resistência ao herbicida metsulfuron-methyl, pertencente ao mecanismo de ação inibidor da enzima ALS; b) Os biótipos resistentes de *S. media* podem ser controlados por herbicidas pertencentes a diferentes mecanismos de ação recomendados para a espécie; c) O mecanismo responsável pela resistência ao herbicida metsulfuron-methyl decorre da insensibilidade da enzima ALS. Assim, objetivou-se com o trabalho avaliar o nível e o mecanismo de resistência, e herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *S. media* resistentes ao metsulfuron-methyl.

2. CAPÍTULO 1. SUSCETIBILIDADE DE BIÓTIPOS DE *Stellaria media* A HERBICIDAS

RESUMO – A utilização contínua de herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS) tem selecionado biótipos de *Stellaria media* com suspeita de resistência ao metsulfuron-methyl. Diante disso, objetivou-se com o trabalho avaliar o nível e o mecanismo de resistência de biótipos de *S. media* a herbicidas. As sementes com suspeita de resistência foram coletadas em Carazinho/RS e suscetíveis em Passo Fundo/RS. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Foram avaliados dez tratamentos, incluindo herbicidas inibidores da ALS (metsulfuron-methyl em quatro doses – 3,6; 6,0; 9,0 e 12,0 g ha⁻¹, iodosulfuron-methyl – 6,0 g ha⁻¹, piroxsulam – 18,0 g ha⁻¹) e com mecanismos alternativos (glyphosate – 480 g ha⁻¹, saflufenacil – 49 g ha⁻¹, metamifope – 300 g ha⁻¹), aplicados em pós-emergência. Foram avaliados o controle visual aos 7, 14, 21, 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), massa seca da parte aérea e a DL₅₀ e GR₅₀. Os biótipos resistentes não foram controlados pelos inibidores da ALS, mesmo com doses até oito vezes superiores à recomendada. O fator de resistência (FR) foi de 29 (baseado na DL₅₀) e 37 (baseado na GR₅₀). Não foram detectadas mutações no gene que codifica a enzima ALS, alterações na enzima ALS ou aumento do metabolismo via citocromo P450 nos biótipos resistentes de *Stellaria media*.

Palavras-chave: Esparguta, Dose Resposta, Fator de Resistência

SUSCEPTIBILITY OF *Stellaria media* BIOTYPES TO HERBICIDES

ABSTRACT - The continuous use of herbicides that inhibit the enzyme acetolactate synthase (ALS) has selected for *Stellaria media* biotypes suspected of resistance to metsulfuron-methyl. Therefore, the objective of this study was to evaluate the resistance level and mechanism of *S. media* biotypes to the herbicide. Seeds suspected of resistance were collected in Carazinho/RS, and susceptible seeds were collected in Passo Fundo/RS. The experiments were conducted in a greenhouse, in a completely randomized design with four replications. Ten treatments were evaluated, including ALS-inhibiting herbicides (metsulfuron-methyl at four doses, iodosulfuron-methyl, piroxsulam) and herbicides with alternative mechanisms of action (glyphosate, saflufenacil, metamifop), applied in post-emergence. Visual control (7, 14, 21, 28 DAA), dry mass, and dose-response parameters (LD₅₀ and GR₅₀) were evaluated. The resistant biotypes were not controlled by the ALS inhibitors, even with doses up to eight times higher than the recommended rate. The resistance factor (RF) was 29 (based on LD₅₀) and 37 (based on GR₅₀). No mutations were detected in the gene encoding the ALS enzyme, nor alterations in the enzyme itself, or increased metabolism via cytochrome P450 in the resistant *Stellaria media* biotypes.

Keywords: Common chickweed, Dose Response, Resistance Factor.

2.1 INTRODUÇÃO

O aumento da população mundial e os impactos de eventos climáticos extremos geram incertezas quanto à capacidade de manutenção da segurança alimentar global. Esse cenário impõe à humanidade a necessidade de intensificação da agricultura sustentável. Tal abordagem visa o aumento da produtividade das áreas já cultivadas, evitando a expansão desordenada da agricultura e, conseqüentemente, promovendo a resiliência dos sistemas alimentares (FAO, 2024).

Nesse cenário, o aumento da resiliência dos sistemas de produção depende da implementação de práticas de manejo que priorizem a gestão sustentável do solo e da água, como o sistema de semeadura direta, manutenção de cobertura vegetal e morta sobre o solo, correção nutricional dos solos, uso racional de agrotóxicos, dentre outros. A integração de diversas estratégias de manejo pode contribuir para o desenvolvimento de um agroecossistema mais equilibrado que auxilia no controle de doenças, insetos e plantas daninhas (FAO, 2024).

No entanto, o que tem se verificado é o aumento do número de espécies consideradas plantas daninhas com algum tipo de resistência a herbicidas. Atualmente, existem 539 casos registros de plantas daninhas resistentes a herbicidas no mundo. Destes, são 57 casos no Brasil que infestam diversas culturas e em várias regiões do país (Heap, 2025). O uso exclusivo do método de controle químico de plantas daninhas nas lavouras, com dependência de um único grupo de herbicidas com mesmo mecanismo de ação, em aplicação repetidas, pode resultar no surgimento de plantas daninhas resistentes (Kaur et al. 2022).

A resistência de plantas daninhas à herbicidas é determinada quando populações de plantas desenvolvem a capacidade de sobreviver a doses de herbicidas que anteriormente eram letais, reduzindo a eficiência do controle químico e comprometendo a produtividade das culturas agrícolas (Toubou et al., 2020). O nível de resistência pode ser determinado pelo “Fator de Resistência” (FR), que permite analisar a intensidade de resistência de populações (Moss, 2017). Para sua determinação são necessários a dose em que se obtém 50% de controle (CL₅₀ ou DL₅₀) ou de redução de massa seca (GR₅₀) nos indivíduos resistentes (R) e divide-se pelo DL₅₀ ou GR₅₀ dos biótipos sensíveis (S), tendo: $FR = R/S$. Conseqüentemente, o FR quantifica o quanto excede a dose de um herbicida para controlar 50% de uma população resistente se comparada para obter o mesmo resultado em uma população sensível (Messelhäuser et al., 2021).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas provoca aumentos dos custos de produção (Martins et al., 2023), podendo provocar aumento de até 400% nos custos de controle, devido a necessidade de aplicações adicionais, uso de herbicidas de maior valor e combinações químicas complexas (Horvath et al., 2023; Martins et al., 2023).

A ineficiência dos herbicidas em controlar plantas daninhas resistentes provoca aumento da matocompetição com as culturas de interesse econômico por recursos como água, luz e nutrientes (Horvath et al., 2023). A interferência de plantas daninhas causa perdas drásticas de produtividade, como a redução de 34 a 60% no trigo pelo azevém (Galon et al., 2019; Flessner et al., 2021; Thorne e Lyon, 2025), de até 26% quando a soja é infestada por buva (Piazzentine et al., 2024) e de 23 a 59% pelo capim-amargoso (Piazzentine et al., 2024). Em casos extremos, quando a competição ocorre por uma associação de espécies de plantas daninhas, a redução da produtividade das culturas de interesse econômico pode superar 75%, e ainda favorecer o aumento da população de insetos e doenças, interfere negativamente na umidade e impureza dos grãos e, conseqüentemente, impactar a lucratividade dos produtores (Horvath et al., 2023).

Além disso, o uso repetitivo e intensificado de herbicidas favorece a contaminação do solo e água devido a persistência de resíduos no ambiente (Salomão et al., 2020; Matzrafi et al., 2021). A falha no controle de plantas daninhas exige a aplicação de doses maiores e/ou misturas de herbicidas alternativos, aumentando a carga de produtos no ambiente. Isso aumenta o potencial de lixiviação e escoamento de compostos herbicidas para corpos de água e solo adjacentes (Moss et al., 2019; Matzrafi et al., 2021). O uso inadequado do controle químico como única estratégia de controle, sem rotação de mecanismos de ação e práticas integradas também contribui para o aumento do impacto ambiental e para a redução da sustentabilidade da agricultura (Shimada e Simon, 2022).

Nesse sentido, o uso de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação, como inibidores da ALS, ACCase e EPSPs, exerce elevada pressão de seleção sobre as populações de plantas daninhas, favorecendo a sobrevivência e a propagação de biótipos resistentes (Pettersson et al., 2015). Essa seleção contínua de biótipos resistentes, que podem possuir alterações no sítio de ação (RELA) ou metabolização acelerada do herbicida (N-RELA), resulta em redução da eficácia do controle químico e pode levar ao surgimento de resistência múltipla (Moss et al., 2019; Salomão et al.,

2020). Além disso, organismos não-alvo são afetados direta ou indiretamente, provocando interferências na biodiversidade dos agroecossistemas, com redução da microbiota do solo, insetos polinizadores e outros componentes da fauna (Rodrigues et al., 2020; Martins et al., 2023; Isaac et al., 2024).

Nesse contexto de pressão seletiva e surgimento de biótipos resistentes, espécies naturalmente adaptadas e competitivas, como a *Stellaria media*, tornam-se um desafio para o produtor. Amplamente distribuída, a *S. media* é encontrada no estado do Rio Grande do Sul (RS) em áreas com as culturas de canola, trigo, cevada, aveia e hortaliças (Nichelati et al., 2020; Fernandes et al., 2023).

O uso repetido de herbicidas inibidores da ALS resultou na seleção de biótipos resistentes a esse mecanismo de ação (Oliveira et al., 2024). Por isso, a perda de eficiência destes herbicidas, no qual se inclui o metsulfuron-methyl, no controle de *S. media* teria impacto agrônômico significativo, uma vez que exige a intensificação de estratégias do manejo integrado, com a rotação de herbicidas com diferentes mecanismos de ação associados a métodos não químicos, para evitar a disseminação dos biótipos resistentes (Vargas et al., 2021).

No entanto, ainda não existem estudos quantificando o nível de resistência e metabolização da espécie de *S. media* quanto ao herbicida metsulfuron-methyl. Por isso, essa quantificação é fundamental para o manejo sustentável desta espécie. A identificação precisa da resistência, como ressaltado por Vargas et al. (2025), é crucial para definição de estratégias de manejo, o que pode reduzir a dependência de um único mecanismo de ação. Além disso, quantificação da resistência de *S. media* é essencial para conter a disseminação de biótipos resistentes ao metsulfuron-methyl, preservando este herbicida como uma ferramenta para o controle da espécie. Nesse sentido, Beckie et al. (2019) ressalta que assegurar a eficácia de medidas de controle é uma estratégia primordial para evitar a dispersão de sementes resistentes nos agroecossistemas.

Diante disso, esse trabalho teve como hipóteses: a) Os biótipos de *S. media* apresentam resistência aos herbicidas inibidores de ALS, especialmente ao metsulfuron-methyl; b) O mecanismo responsável pela resistência ao herbicida metsulfuron-methyl decorre da insensibilidade da enzima ALS. Desta forma, os objetivos desse trabalho foram avaliar o nível e o mecanismo de resistência de biótipos de *S. media* ao herbicida metsulfuron-methyl.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas sementes de plantas de *S. media* com suspeita de resistência, no município de Carazinho, Rio Grande do Sul, Brasil (28°18'43" S e 52°45'09" W), que sobreviverem a aplicações de metsulfuron-methyl (4,0 g h⁻¹). A dose recomendada do metsulfuron-methyl, na cultura do trigo, varia de 3,3 a 6,6 g ha⁻¹ do produto comercial (Agrofit, 2025). As sementes de um biótipo sensível, usado como testemunha, foram coletadas em Passo Fundo/RS (28°13'41.3" S e 52°24'13.7" W). Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação da Embrapa Trigo, em Passo Fundo/RS (28°13'47.9" S e 52°24'10.8" W), em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições,

As unidades experimentais foram constituídas por vasos plásticos com capacidade para 500 mL, preenchidos com solo oriundo de área agrícola, caracterizado como Latossolo Vermelho Distrófico Típico (Streck et al., 2018). As características químicas e físicas do solo são: pH em água de 5,9; MO = 3,3%; P= 59,6 mg dm⁻³; K= 230 mg dm⁻³; Al³⁺= 0,0 cmolc dm⁻³; Ca²⁺= 6,8 cmolc dm⁻³; Mg²⁺= 3,2 cmolc dm⁻³; CTC(e)= 10,7 cmolc dm⁻³; CTC (TpH)= 7,0 = 13,4 cmolc dm⁻³; H+Al= 2,7 cmolc dm⁻³; SB= 10,6 cmolc dm⁻³; V= 79,5%; e Argila= 48.8%, Silte 22.1% e Areia 29.1%. Para a condução dos experimentos foi adicionado 20% de vermiculita.

Foram semeadas 10 sementes de *S. media* em cada unidade experimental, com posterior desbaste mantendo-se quatro plantas por vaso. A aplicação dos herbicidas foi realizada em pós-emergência quando as plantas de *S. media* estavam com 4 a 6 folhas. Para isso, utilizou-se um pulverizador costal de precisão, pressurizado com CO₂, equipado com 4 pontas DG 11002, espaçadas a 0,5 m calibrado para pulverizar 150 L ha⁻¹ de calda herbicida.

As avaliações de controle visual foram realizadas aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), adotando-se escala percentual, onde zero (0%) correspondeu a ausência de injúrias e cem (100%) a morte das plantas, conforme metodologia proposta pela SBPCPD (1995).

2.2.1 TESTE DE HERBICIDAS EM *S. media*

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 10, com quatro repetições. No Fator A foram alocados os biótipos

de *S. media* (Resistentes e Suscetíveis) e no Fator B os herbicidas, conforme o disposto na Tabela 1. Esta avaliação teve como objetivo avaliar o nível e o mecanismo de resistência de biótipos de *S. media* ao herbicida metsulfuron-methyl.

Tabela 1 – Tratamentos, mecanismo de ação, dose de ingrediente ativo, nome comercial, e dose comercial da dose utilizadas nos tratamentos aplicados em pós-emergência da *S. media*. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.

Tratamentos	Mecanismo de ação	Dose (g ha ⁻¹)	Nome comercial	Dose (kg/L ha ⁻¹)
Testemunha	--	--	Testemunha	--
Iodosulfuron-methyl	Inib. ALS	6,0	Hussar	0,12
Piroxsulam	Inib. ALS	18	Tricea	0,4
Metamifope	Inib. ACCase	300	Ally	1,0
Metsulfuron-methyl	Inib. ALS	3,6	Ally	0,006
Metsulfuron-methyl	Inib. ALS	6,0	Ally	0,01
Metsulfuron-methyl	Inib. ALS	9,0	Ally	0,015
Metsulfuron-methyl	Inib. ALS	12	Ally	0,02
Saflufenacil	Inib. PPO	49	Heat	0,07
Glyphosate	Inib. EPSPs	480	Glifosato Nortox	1,0

Foram adicionados os adjuvantes Hoefix (0,3% v/v) aos herbicidas, Hussar, Iharol Gold (0,25% v/v) ao Ally, Strike, Tricea e Heat.

Os dados obtidos foram avaliados quanto à homocedasticidade da variância e normalidade dos resíduos, e quando estes pressupostos foram atendidos efetuou-se a análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Em havendo significância as médias foram analisadas pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

2.2.2 CURVA DOSE RESPOSTA DE METSULFUROM-METHYL EM *S. media*

Esta avaliação buscou comparar a resposta do biótipo de plantas de *S. media* com suspeita de resistência com o biótipo sensível, para confirmar a resistência e determinar o fator de resistência (FR). Desta forma, o experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2×8 , com quatro repetições. No Fator A foram alocados os biótipos de *S. media* (Resistentes e Suscetíveis) e no fator B os tratamentos com herbicidas (Tabela 2).

Aos 28 DAT realizou-se a colheita da parte aérea das plantas para determinação da massa seca. O material colhido foi acondicionado em sacos de papel

kraft e dispostos em estufa de circulação forçada de ar, a temperatura de 60°C, até atingir massa constante. Após isso, as amostras foram pesadas em balança analítica de precisão para obtenção da massa seca da parte aérea.

Os dados obtidos foram analisados quanto à homocedasticidade da variância e normalidade dos resíduos e quando estes pressupostos foram atendidos, submeteu-se à análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Em caso de significância, aplicou-se o modelo log-logístico (Seefeldt et al., 1999) para calcular os valores da DL₅₀ e GR₅₀:

$$Y = Y_0 + [a / (1 + (X/X_0)^b)]$$

Onde: Y = controle (%) ou massa seca da parte aérea (g); Y₀ = mínimo (Y) controle ou massa seca obtidos; a = máximo (Y) controle ou massa seca obtidos; X = dose herbicida; X₀ = dose herbicida correspondente a 50% do controle ou responsável por reduzir em 50% o acúmulo de massa seca; b = parâmetro do modelo que descreve a declividade da curva.

Tabela 2 - Tratamentos, nome comercial, época de aplicação, dose e porcentagem da dose utilizadas nos tratamentos aplicados em pós-emergência da *S. media*. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.

Tratamentos	Nome com.	Época de aplicação	Dose (g ha ⁻¹)	Dose (%)
Testemunha	-	-	0	0
Metsulfuron-methyl	Ally	Pós-emergência	1	25
Metsulfuron-methyl	Ally	Pós-emergência	2	50
Metsulfuron-methyl	Ally	Pós-emergência	3	75
Metsulfuron-methyl	Ally	Pós-emergência	4	100
Metsulfuron-methyl	Ally	Pós-emergência	8	200
Metsulfuron-methyl	Ally	Pós-emergência	16	400
Metsulfuron-methyl	Ally	Pós-emergência	32	800

Foi adicionado Hoefix ao herbicida Ally (0,25% v/v).

O ajuste dos dados foi realizado por meio da análise do coeficiente de determinação (R²), do significado biológico do modelo e da significância nos parâmetros da equação. Além disso, a normalidade dos resíduos foi avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk e do valor de W Statistic. A distribuição dos resíduos foi

considerada normal quando o valor do teste de Shapiro-Wilk for superior a 0,05 e o W Statistic próximo a 1.

Os valores de DL_{50} e GR_{50} foram calculados a partir dos parâmetros da equação. O fator de resistência (FR) foi calculado pela razão do DL_{50} ou GR_{50} do biótipo resistente pelo do biótipo sensível. Foi utilizado o intervalo de confiança ($p \geq 0,95$) para avaliação da significância dos valores de DL_{50} ou GR_{50} dos biótipos. Quando o intervalo de confiança dos valores de DL_{50} ou GR_{50} dos biótipos foram sobrepostos não houve diferença significativa.

2.2.3 METABOLISMO OXIDATIVO DO METSULFURON-METHYL PELA *Stellaria media*

A avaliação envolvendo a resistência ao mecanismo de metabolização foi realizada através da aplicação do inseticida malathion, um organofosforado com a capacidade inibitória das isoenzimas P450 já conhecido (Yu et al., 2009). O experimento foi conduzido com os biótipos resistentes, tendo sido instalado de forma semelhante ao realizado para o ensaio de dose resposta, com quatro repetições, com e sem a utilização do malathion na aplicação dos tratamentos e 5 doses do herbicida metsulfuron-methyl (0, 4, 8, 16 e 32 g i.a ha⁻¹). O malathion foi aplicado na dose de 1000 g i.a ha⁻¹, 30 minutos antes da aplicação dos tratamentos herbicidas. Os dados obtidos foram analisados quanto a sua homocedasticidade, e posteriormente submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Em caso de significância, aplicou-se o modelo log-logístico (Seefeldt et al., 1999) para calcular os valores da DL_{50} e GR_{50} , de forma semelhante ao ensaio 2.2.2. Cada biótipo foi analisado separadamente. Em havendo significância estatística, os fatores avaliados foram ajustados ao modelo de regressão não linear loglogístico ou polinomial.

2.2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA ALS DE *Stellaria media*

2.2.4.1 EXTRAÇÃO DA ENZIMA ALS DE FOLHAS DE *Stellaria media*

O método de extração enzimática seguiu a metodologia proposta por Singh et al., (1988) com modificações. A proporção de plantas utilizadas para a extração foi

previamente testada. Usou-se seis diferentes proporções de peso da amostra em relação ao tampão de extração, sendo elas: 1/2, 1/4, 1/6, 1/8, 1/10 e 1/12 (p/v).

As plantas congeladas em nitrogênio líquido (N₂) foram maceradas até formar pó fino em almofariz e homogeneizadas com o tampão de extração fosfato 100 mM, pH 7,5, a 4°C.

O tampão foi preparado com: 0,5 mM de cloreto de magnésio (MgCl₂); 10 mM de piruvato de sódio; 0,5 mM de tiamina pirofosfato (TPP); 10 µM de flavina adenina dinucleotídeo (FAD); 10% v/v de glicerol; 1mM de ditiotreitol e 5% (p/v) de polivinilpolipirrolidona (PVPP).

O homogeneizado foi mantido sob agitação por 20 minutos a 4°C, e após filtrado em duas camadas de gaze para remoção e descarte dos resíduos sólidos. Em seguida, centrifugado a 5.800 xg durante 80 minutos a 4°C. Após a centrifugação, o sobrenadante (solução enzimática) foi retirado e o resíduo sólido descartado. A solução enzimática foi utilizada nos ensaios posteriores.

2.2.4.2 BIOENSAIO “*IN VITRO*” COM A ENZIMA ALS DE *Stellaria media*

Para os bioensaios *in vitro* foram preparadas reações em tubos de ensaio, onde cada tubo recebeu 200 µL da solução enzimática, o tampão de fosfato e o herbicida metsulfuron-methyl Pestanal (código Sigma Aldrich® 46432) para análise. Ao tratamento zero (testemunha), foi adicionado 50 µL de solução H₂SO₄ 3M para impedir a atividade da enzima. Os valores de absorbância da testemunha foram utilizados para descontar dos valores das leituras dos demais. Os experimentos foram realizados em delineamento experimental completamente casualizado, com três repetições.

Ao tampão de fosfato 75 mM, pH 7,5 para a reação foi adicionado: 20 mM de MgCl₂; 100 mM de piruvato de sódio; 2 mM de TPP; 20 µM de FAD, conforme metodologia de Yu et al. (2010), com algumas modificações.

Após o preparo da reação, as amostras foram incubadas por 60 minutos a 35°C. A reação foi interrompida com adição de 50 µL de solução de H₂SO₄ 3M em cada tubo de ensaio, exceto no controle zero, que continha o ácido antes da incubação. A segunda incubação, por 15 minutos a 60°C, foi realizada para a formação da acetoína, a partir da reação do ácido sulfúrico com o acetolactato, formado durante a primeira reação.

A etapa seguinte foi realizada para a formação do complexo colorido onde foram adicionados 1 mL de solução de creatina 0,5% p/v e 1 mL de α -naphthol 5% p/v, preparado em NaOH 2,5M no momento do uso. Após a mistura, as amostras foram novamente incubadas por 15 minutos a 60°C, para o desenvolvimento da cor. Os tubos foram então resfriados à temperatura ambiente e a absorbância lida em espectrofotômetro a 530 nm.

Os valores referentes à atividade da enzima ALS foram padronizados pela concentração de proteína, quantificada pelo método Bradford, e apresentados por quantidade de acetoína produzida ($\mu\text{mol.mg}^{-1}.\text{hr}^{-1}$), determinado pela curva padrão de acetoína.

Para a determinação da curva padrão de acetoína foram preparadas reações em tubos de ensaio, com três repetições. Cada tubo continha 200 μL de solução de acetoína nas concentrações de 0, 5, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 μM e completadas até 1 mL com água.

Para a formação do complexo colorido foram adicionados em cada tubo 1mL de solução de creatina 0,5% p/v e 1 mL de 1-naphthol 5% p/v, preparado em NaOH 2,5M no momento do uso. Após, a mistura foi incubada por 15 minutos a 60°C, para o desenvolvimento da cor. Os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e a absorbância lida em espectrofotômetro a 530 nm.

2.2.5 SEQUENCIAMENTO DO GENE QUE CODIFICA A ENZIMA ALS EM *Stellaria media*

Para identificar possíveis alterações no gene que codifica enzima ALS, foi realizado o sequenciamento do mesmo em laboratório pertencente a empresa ATSI Brasil Pesquisa e Consultoria Agrônômica em Passo Fundo/RS.

A extração de DNA foi realizada em nitrogênio líquido através da metodologia de Doyle & Doyle (1987). A qualidade do DNA foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1%. A amplificação dos fragmentos do gene ALS foi realizada por PCR qualitativa (T100™ Thermal Cycler BioRad), utilizando dois conjuntos de primers (Quadro 1).

Quadro 1. Primers utilizados para detecção do fragmento do gene ALS e sequenciamento.

Espécie Alvo	Marcador	Tamanho do Fragmento	Sequência do primer*
	Gene	(pb)	
<i>Stellaria media</i>	Doms A e D (ALS)	560	5'TACCCGGGTGGCGCCTCTTTAG3' 5'ATCCCCGTCAATTGAACAAACCTCC3'
	Dom B (ALS)	360	5'GCTGACCTCTAGTGGGCTTG3' 5'GCCTCCCTAAGATCGGACAC3'

*Fonte: Marshall et al., (2010).

As reações de PCR foram purificadas e os amplicons foram obtidos através de Sequenciamento de Sanger. As sequências obtidas foram alinhadas utilizando o software MEGA 11 (Tamura et al., 2021) e o BLASTn (NCBI). As regiões analisadas são apresentadas na Quadro 2.

Quadro 2. Regiões e mutações analisadas nas sequências de dois biótipos de *Stellaria media*.

Marcador	Região analisada	Tipo de mutação	Descrição
Gene	(pb)		
Doms A e D (ALS)	197	Substituição	CCT / CTT (Pro > Leu)
Doms A e D (ALS)	205	Substituição	GCC / GTC (Ala > Val)
Dom B (ALS)	574	Substituição	TGG / TTG (Trp > Leu)

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 TESTE HERBICIDA EM *Stellaria media*

Os resultados demonstram que a aplicação de saflufenacil e glyphosate ocasionaram controle de 100% nos biótipos de *S. media*, dos 7 aos 28 DAT (dias após a aplicação dos tratamentos) sendo superior aos demais herbicidas (Tabela 3). O uso de metsulfuron-methyl em diferentes doses, iodosulfuron-methyl, metamifope e piroxsulam apresentaram os menores controles e não diferiram entre si e nem da testemunha em todas as avaliações (dos 7 aos 28 DAT) (Tabela 3). Estes resultados

indicam que os biótipos de *S. media* avaliados são resistentes ao mecanismo de ação da ALS, mas são suscetíveis a outros mecanismos de ação.

Observou-se ainda nas avaliações realizadas aos 7 e 14 DAT leves sintomas de injúrias, não mais visualizados dos 21 aos 28 DAT, quando o controle de *S. media* pelos herbicidas inibidores da ALS foi baixo (Tabela 3). A ausência de danos permanentes e a recuperação completa das plantas após a exposição a inibidores da ALS reforçam que os biótipos de *S. media* desenvolveram resistência a este mecanismo de ação, o que impede que os herbicidas causem injúrias permanentes ou o controle das plantas (Eceiza et al., 2023).

Tabela 3 - Controle (%) de biótipos de *S. media* com suspeita de resistência ao metsulfuron-methyl em resposta ao efeito de aplicação de herbicidas em pós-emergência. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.

Tratamentos	Dose (g ha ⁻¹)	7 DAT ¹	14 DAT	21 DAT	28 DAT
Testemunha sem herbicida	--	0,0 b ²	0,0 b	0,0 b	0,0 b
Iodosulfuron-methyl	6,0	6,3 b	2,5 b	0,0 b	0,0 b
Metamifope	18	8,75 b	5,0 b	1,3 b	0,0 b
Piroxsulam	300	10,0 b	1,3 b	0,0 b	0,0 b
Metsulfuron-methyl	3,6	1,3 b	0,0 b	0,0 b	0,0 b
Metsulfuron-methyl	6,0	3,8 b	2,5 b	0,0 b	0,0 b
Metsulfuron-methyl	9,0	13,8 b	15,0 b	6,3 b	0,0 b
Metsulfuron-methyl	12	26,3 b	20,0 b	8,8 b	0,0 b
Saflufenacil	49	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Glyphosate	480	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
CV (%)	--	8,8	12,4	8,4	0,0

¹ Dias após aplicação dos tratamentos. ² Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan (p≤0,05).

A confirmação da resistência de *S. media* aos herbicidas inibidores da ALS no Brasil reforça a tendência observada em outros países. A ausência de controle de *S. media* por herbicidas inibidores da ALS também foi encontrada por Kudsk et al., (1995) na Dinamarca, por Marshall et al., (2010) no Reino Unido e em 2013 na Finlândia (Salonen et al., 2023). A enzima ALS possui uma frequência natural de mutação na população de plantas daninhas que é naturalmente alta (Rey-Caballero et al., 2017).

A repetida aplicação de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação pode exercer pressão de seleção sobre biótipos resistentes, aumentando a prevalência destes na população de plantas (Toubou et al., 2020). A resistência de plantas daninhas a herbicidas inibidores da ALS ocorre, principalmente, por mutações pontuais no gene que codifica a enzima, o que implica em alterações de aminoácidos que reduzem a afinidade com os herbicidas. Por exemplo, para a *Poa annua* foram identificadas mutações no aminoácido prolina, que foi substituído por triptofano e glutamina, o que gerou resistência cruzada a sulfonilureias (SU) e triazolopirimidinas (TP) (Bhaskar et al., 2025). De modo semelhante, em *Papaver* sp. foram identificadas diversas substituições no códon Pro-197 (como Alanina, Arginina, Histidina, Leucina, Serina e Treonina), que conferiram resistência ao grupo das sulfonilureias (Stankiewicz-Kosyl et al., 2023; Koreki et al., 2023; Chtourou et al., 2024). Essas substituições de aminoácidos alteram a conformação das enzimas, reduzindo a afinidade dos herbicidas pelos sítios de ação sem comprometer significativamente a aptidão fisiológica da planta (Vila et al., 2019).

O controle eficaz alcançado por glyphosate e saflufenacil indica que os biótipos de *S. media* desenvolveram apenas resistência cruzada aos herbicidas inibidores da ALS e não resistência múltipla, indicado que esses produtos podem ser utilizados para controle da planta daninha. Estes resultados são corroborados por trabalhos realizados em *Raphanus sativus* resistentes ao iodosulfuron, quando o glyphosate e o saflufenacil apresentaram controle de 100% de plantas aos 28 DAT (Cechin et al., 2016). Montgomery et al. (2025) verificaram que o saflufenacil apresentou elevados índices de controle dos biótipos resistente e suscetível na dose recomendada da espécie *Amaranthus deflexus* (resistente a ALS/PPO).

O herbicida metamifope demonstrou baixo controle de *S. media*, contrariando relatos de campo, por parte de produtores, de sua eficiência para controle dessa espécie, apesar de não apresentar indicação na bula para o controle dessa planta daninha (Agrofit, 2025). A ineficácia no controle de *S. media* por metsulfuron-methyl em doses crescentes e doses fixas de iodosulfuron-methyl e piroxsulam indica ocorrência de resistência aos herbicidas inibidores de ALS (Tabela 3). A resistência de *S. media* a esses herbicidas, provavelmente, decorre de alguma alteração no sítio-alvo da enzima ALS, mecanismo conhecido como Resistência Relacionada ao Sítio de ação (RELA), quando mutações genéticas causam modificações na enzima que reduzem a afinidade de ligação com herbicida (Gaines et al., 2020; Heap, 2025).

A identificação precoce da resistência à herbicidas é fundamental para a eficácia do manejo de plantas daninhas, uma vez que pode impedir a disseminação dos biótipos resistentes em larga escala (Tataridas et al., 2022). Essa identificação permite o planejamento e implementação de manejo integrado (rotação de herbicidas com diferentes mecanismos de ação, uso de culturas de cobertura, controle mecânico, entre outros) para reduzir a pressão de seleção. Nesse sentido, o elevado nível de controle apresentado pelos herbicidas saflufenacil e glyphosate aponta que essas moléculas são alternativa viável para serem inseridos em programas de manejo que visem o controle dos biótipos resistentes aos herbicidas inibidores da ALS.

2.3.2 CURVA DOSE RESPOSTA DE METSULFUROM-METHYL EM *S. media*

Observou-se interação significativa entre biótipo e dose de metsulfuron-methyl através da análise de variância. Os resultados demonstram para o biótipo sensível que o aumento das doses de metsulfuron-methyl resultou no maior controle, dos 7 aos 28 DAT (Figura 1). Inicialmente com o aumento da dose teve-se incremento do controle e a partir do uso de 6 g ha⁻¹ ocorreu estabilização das respostas da planta daninha, atingindo níveis de controle de 100% dos 21 aos 28 DAT.

Na avaliação dos 7 DAT o controle de *S. media* ficou em torno de 60% ao se aplicar 4 g ha⁻¹ de metsulfuron-methyl e mesmo com o incremento das doses não se obteve respostas de controle (Figura 1). Observou-se que com o passar do tempo (14 aos 28 DAT) o metsulfuron-methyl foi aumentando o índice de controle da planta daninha, característica essa peculiar aos herbicidas inibidores de ALS que demonstram efeito de controle de forma mais tardia quando comparados a outros produtos. Outros estudos também observaram que a taxa de eficácia dos herbicidas pyroxsulam, iodosulfuron-methyl e metsulfuron-methyl para controlar nabo aumentou com o passar do tempo (Balem et al., 2021; Galon et al., 2023), corroborando com os resultados do presente estudo.

Os resultados indicam que a dose de 6 g ha⁻¹ é o ponto a partir do qual se obtém controle de 100% da população sensível, a partir dos 21 DAT (Figura 1). O uso de doses superiores a 6 g ha⁻¹ não incrementou o controle do biótipo sensível de *S. media*. Além disso, o uso de doses acima daquela que apresenta controle máximo eleva os custos de produção, contamina o ambiente e favorece a seleção de plantas daninhas resistentes (Procópio et al., 2024).

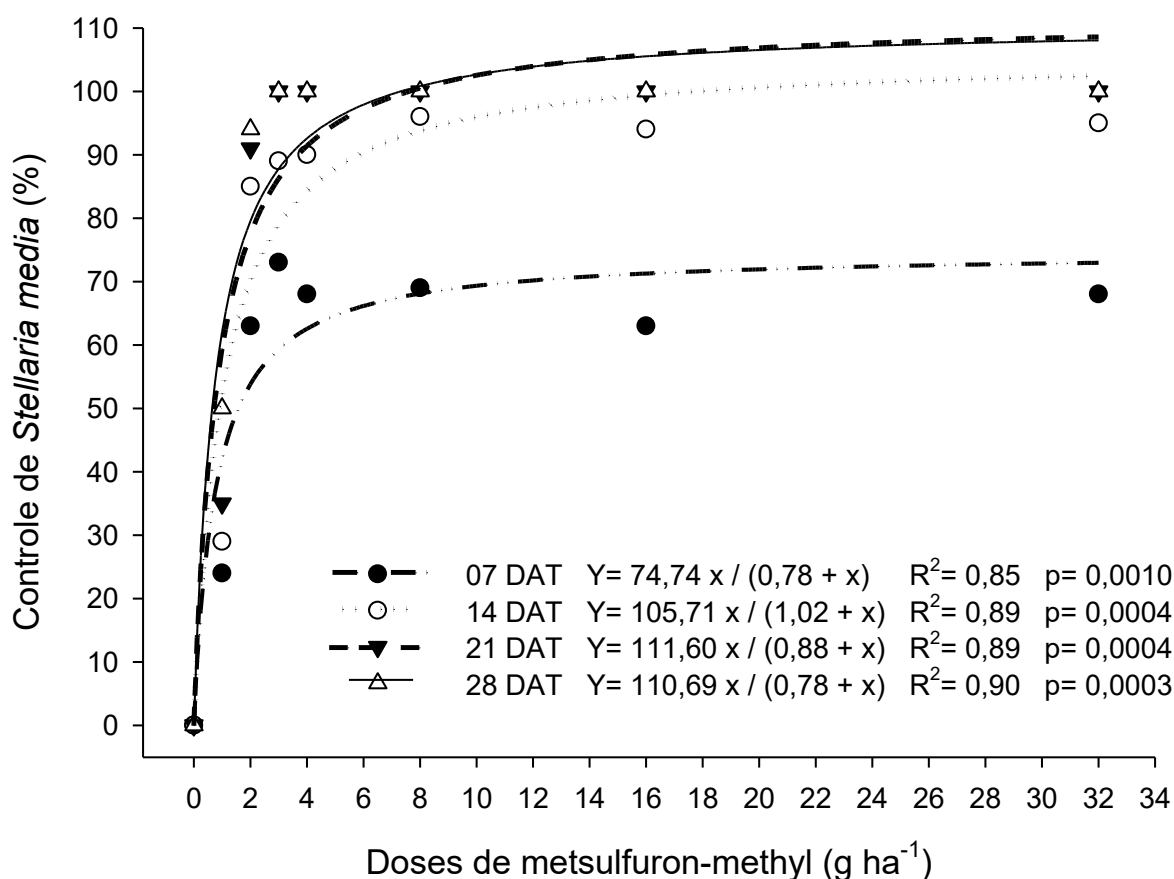


Figura 1. Controle (%) de biótipos de *S. media* sensível aos inibidores da ALS em resposta ao efeito de aplicação de doses de metsulfuron-methyl, em pós-emergência. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.

No biótipo de *S. media* com suspeita de resistência ao metsulfuron-methyl o controle ficou próximo de 40%, mesmo ao se usar elevadas doses, como 32 g ha⁻¹ aos 28 DAT (Figura 2). O incremento das doses de metsulfuron-methyl pouco efeito demonstrou na planta daninha observando-se maior controle até os 14 DAT e a partir dessa avaliação ocorreu drástica redução na porcentagem de controle, ficando a patamares inferiores a 20%, com uso de 32 g ha⁻¹ do produto. Estes resultados confirmam a resistência dos biótipos de *S. media* ao metsulfuron-methyl, que mesmo com doses elevadas provocou baixo controle inicial e com o passar do tempo ocorreu recuperação dos efeitos iniciais do produto sem se ter controle efetivo da planta daninha.

A dose necessária para controlar 50% (DL₅₀) do biótipo sensível de *S. media* ao metsulfuron-methyl, aos 28 Dias Após o Tratamento (DAT), foi de 1,1 g ha⁻¹ (Figura

3). Enquanto isso, o controle de 100% foi atingido com doses próximas a 3 g ha⁻¹ (Figura 3). Para biótipo com suspeita de resistência ao metsulfurom-methyl (R) mesmo na dose mais alta testada (32 g ha⁻¹) o controle de plantas foi menor que 50% (Figura 3). Portanto, a (DL₅₀) é superior a este valor. Enquanto o biótipo sensível foi controlado com doses inferiores à recomendação oficial (4 g ha⁻¹), o biótipo resistente não foi controlado nem mesmo com dose 800% superior à registrada para controle de *S. media*.

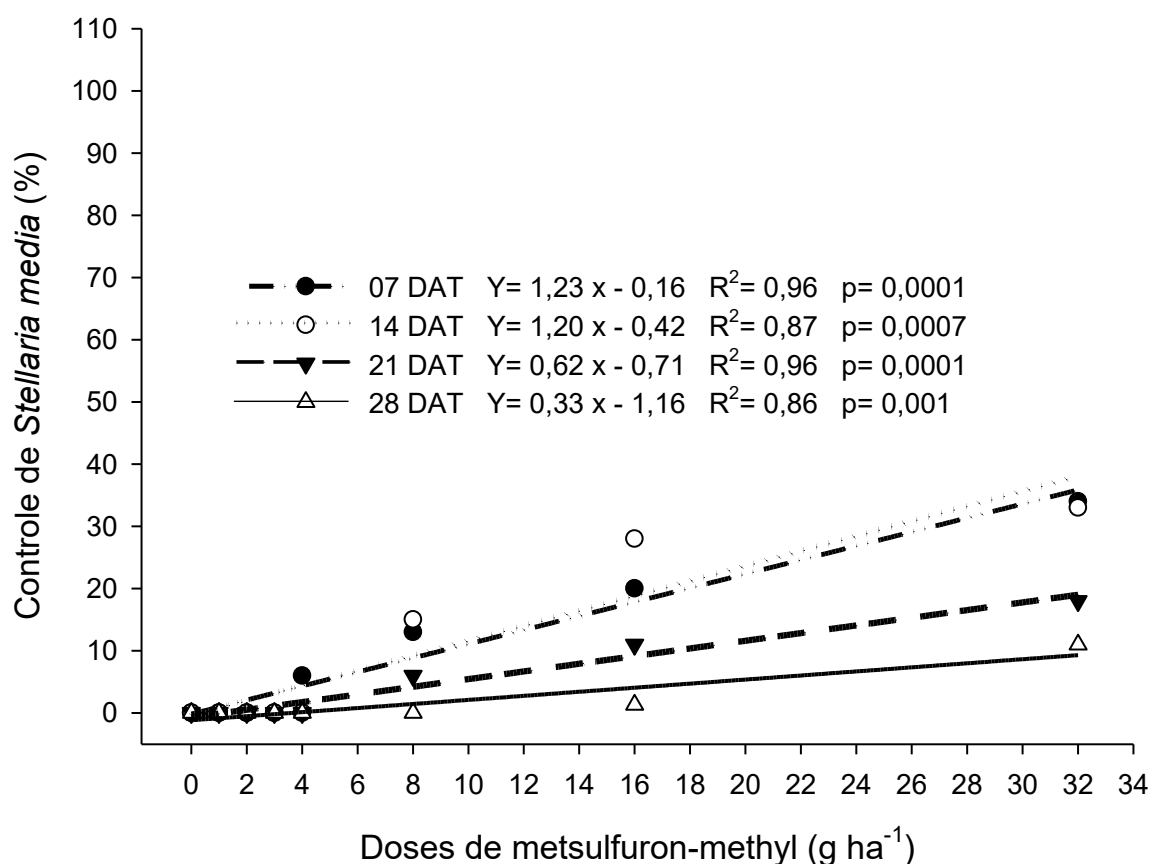


Figura 2. Controle (%) de biótipos de *S. media* resistente aos inibidores da ALS em resposta ao efeito de aplicação de doses de metsulfuron-methyl, em pós-emergência. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.

Além disso, a ausência de sobreposição do intervalo de confiança das duas curvas confirma que a resposta dos biótipos é estatisticamente diferente e que se tratam de populações com sensibilidade distintas ao metsulfurom-methyl (Figura 3).

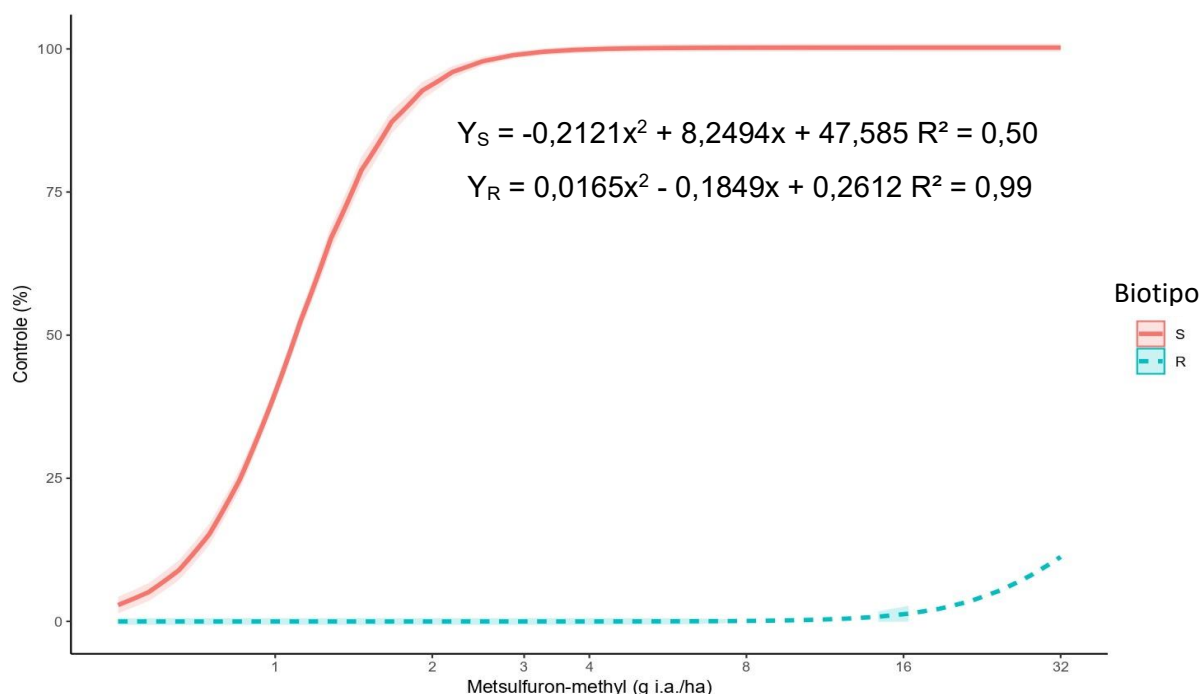


Figura 3 - Controle (%) de biótipo de *S. media*, sensível (S) e resistente (R) em diferentes doses de metsulfuron-methyl após 28 dias da aplicação do tratamento, EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024. As linhas representam os valores médios das quatro repetições e as faixas, intervalos de confiança para a dose que causa 50% de controle na planta, com 95% de significância.

O cálculo do Fator de Resistência (FR), que compara a DL_{50} do biótipo resistente com a do sensível, resultou em um valor superior a 29,2 (Tabela 4). Este valor indica que seria necessário aplicar uma dose 29 vezes maior do herbicida para se obter o mesmo nível de controle (DL_{50}) no biótipo resistente se comparado com suscetível. A combinação de uma DL_{50} não atingida nas doses testadas em biótipos resistentes e um FR elevado consolida a ineficiência do metsulfuron-methyl no controle destes biótipos.

A dose necessária para reduzir em 50% a massa seca das plantas (GR_{50}) dos biótipos de *S. media* também confirma o elevado nível de resistência ao metsulfuron-methyl (Figura 4 e Tabela 5). Nos biótipos suscetíveis a GR_{50} foi de $0,845 \text{ g ha}^{-1}$, enquanto para os biótipos resistentes a maior dose avaliada (32 g ha^{-1}) não reduziu 50% a massa seca das plantas (Figura 4 e Tabela 5). O fator de resistência (FR), que compara o GR_{50} dos biótipos resistentes com os suscetíveis, foi de 37,9. Esse resultado demonstra que seria necessário aplicar uma dose 37,9 vezes maior de

herbicida para os biótipos resistentes para alcançar a GR₅₀ (Figura 4 e Tabela 5). Esses resultados indicam um nível de resistência elevado e consistente, compatível com relatos internacionais para *S. media* e outras espécies de pequeno porte resistentes a inibidores da ALS (HEAP, 2025).

Tabela 4 - Dados de DL₅₀ com intervalo de confiança (IC) e fator de resistência (FR) dos biótipos de *S. media* sensível e resistente após aplicação de doses crescentes do herbicida metsulfuron-methyl, aos 28 dias após os tratamentos (DAT), EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.

Biótipos	DL ₅₀ ¹		Fator de Resistência ² - (FR)
	g ha ⁻¹	CI 95%	
	DL ₅₀		
Sensível	1,1	1,08 - 1,12	-
Resistente	> 32,0	não estimável	> 29,2

¹ DL₅₀ = dose necessária para obter controle de 50% da população. ² FR obtido pela divisão do DL₅₀ do biótipo resistente pelo DL₅₀ do biótipo sensível.

Desta forma, a combinação de GR₅₀ não alcançada, mesmo com a dose máxima avaliada, e um valor de FR elevado corrobora com os resultados de controle visual já apresentados, confirmando a resistência do biótipo avaliado ao metsulfurom-methyl.

A alta diferença de sensibilidade entre os biótipos de *S. media* avaliados corrobora com a literatura, que aponta para múltiplos mecanismos de resistência associados aos herbicidas inibidores de ALS. Estudo de Li et al., (2019) mostra que populações de *Capsella bursa-pastoris* resistentes na China não apresentaram redução significativa de biomassa mesmo em doses dezenas de vezes superiores à recomendada, sugerindo a presença de mutações específicas no gene ALS. De forma semelhante, Freut et al. (2024) documentaram no Brasil a persistência de biótipos de *Raphanus sativus* resistentes ao metsulfuron-methyl, evidenciando a ampla difusão desse problema em condições tropicais e subtropicais ao se usar herbicidas pertencentes a esse mecanismo de ação. Esses estudos reforçam que a resistência aos inibidores da ALS não se limita a casos pontuais, mas compõe uma tendência global de seleção natural em espécies expostas de forma contínua a herbicidas pertencentes ao mesmo mecanismo de ação.

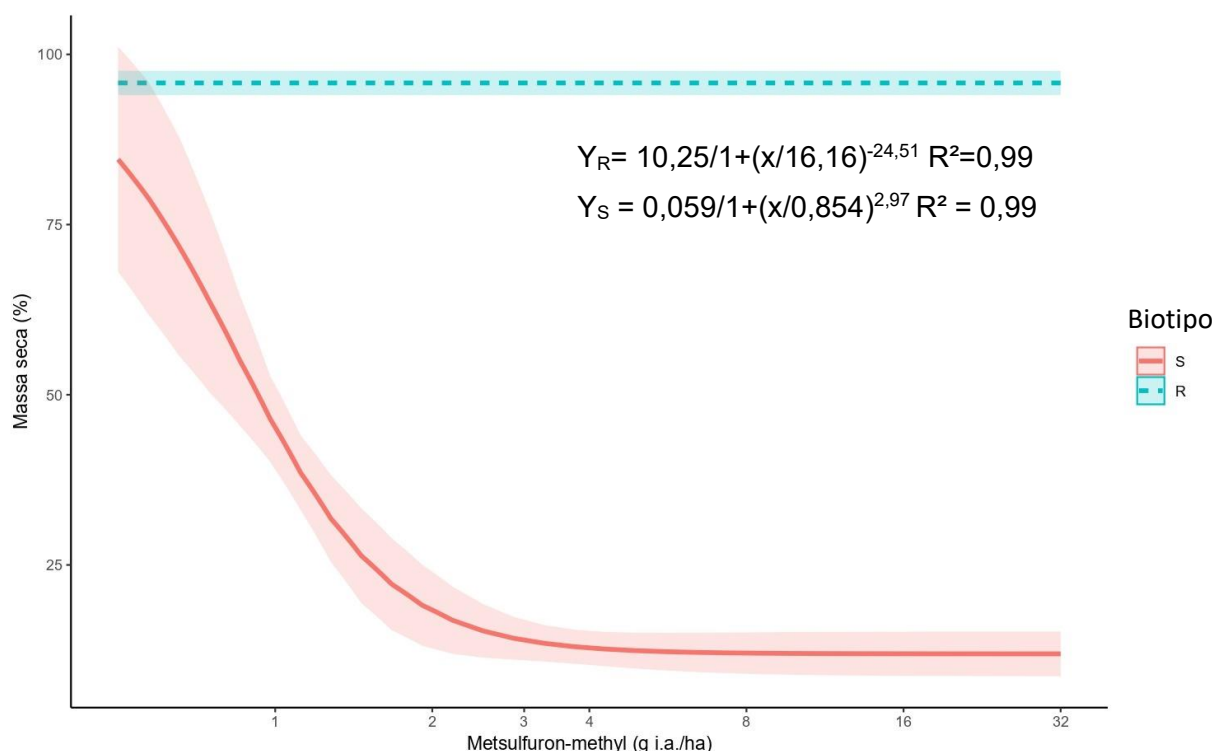


Figura 4 - Redução (%) de massa seca de biótipo de *S. media*, sensível (S) e resistente (R) em relação a aplicação de doses de metsulfuron-methyl, após 28 dias da aplicação dos tratamentos. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024. As linhas representam os valores médios das quatro repetições e as faixas, intervalos de confiança para a dose que causa 50% de controle na planta, com 95% de significância.

Os valores de DL_{50} observados no decorrer das diferentes datas de avaliação evidenciam um comportamento diferencial entre os biótipos. Enquanto o biótipo sensível apresentou redução progressiva nos valores de DL_{50} entre 7 e 28 DAT, o biótipo resistente manteve níveis de DL_{50} significativamente superiores em todas as avaliações. Esse padrão é coerente com os resultados apresentados por Cechin et al. (2016) para a espécie *Raphanus sativus*, quando verificaram que biótipos resistentes requerem doses significativamente maiores para alcançar níveis de controle similares a biótipos suscetíveis.

A ausência de resposta do biótipo resistente em todas as doses testadas sugere que a resistência na população estudada pode estar relacionada tanto a mutações em genes relacionados ao metabolismo da enzima ALS, quanto a mecanismos de metabolismo intensificado, responsáveis por degradar ou modificar o herbicida antes de sua ação no sítio-alvo. Estudos realizados na Estônia identificaram

mutações em gene da ALS, com a substituição de Trp-574-Leu, que conferiram resistência as sulfoniluréias (Pihu et al., 2025).

Tabela 5 - Dados de GR₅₀ com intervalo de confiança (IC) e fator de resistência (FR) dos biótipos de *S. media* sensível e resistente, aos 28 dias após aplicação de doses crescentes do herbicida metsulfuron-methyl, EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.

Biótipos	GR ₅₀ ¹		Fator de Resistência ² - (FR)
	g ha ⁻¹	CI 95% GR ₅₀	
Sensível	0,845	0,790 - 0,900	-
Resistente	> 32,0	não estimável	> 37,9

¹ GR₅₀ = dose necessária para obter controle de 50%. ² FR obtido pela divisão do GR₅₀ do biótipo resistente pelo GR₅₀ do biótipo sensível.

Pihu et al., (2025) também observaram que parte das populações de *S. media* estudadas não apresentaram essa mutação. Nestas populações os autores sugeriram que os mecanismos de resistência não são relacionados ao sítio-alvo, e possivelmente sejam metabólicos, que assim degradam ou modificam a molécula herbicida antes de sua ação. Esses dois mecanismos, isolados ou combinados, explicam a dificuldade em se obter níveis satisfatórios de controle a campo e indicam que o problema pode se perpetuar rapidamente, se não forem implementadas medidas de manejo integrado.

Diante disso, os resultados aqui apresentados evidenciam a necessidade de diversificação das práticas de manejo, evitando a dependência exclusiva de herbicidas inibidores da ALS. Estratégias como rotação de mecanismos de ação, uso de misturas de herbicidas com diferentes sítios de ação, além de práticas culturais (rotação de culturas, aumento da competitividade das plantas cultivadas em detrimento das plantas daninhas e adoção de coberturas verdes) são fundamentais para reduzir a pressão de seleção e retardar a evolução da resistência.

Nesse sentido sabe-se que o controle de algumas espécies de plantas daninhas com uso de métodos isolados é praticamente inviável. Para *Amaranthus palmeri* (caruru-gigante) estratégias como a integração de herbicidas com culturas de cobertura suprimem com sucesso a densidade de plantas, a produção de sementes e o crescimento radicular das plantas (Tataridas et al., 2022). Tataridas et al., (2022) também relatam que o controle químico com aplicações em estádios iniciais de

crescimento das plantas daninhas ou aplicações sequenciais ao longo do tempo, pode reduzir significativamente a densidade ou melhorar o controle de plantas e como consequência aumentar a produtividade das culturas. Além disso, o manejo biológico, com liberação do inseto *Leptinotarsa texana*, complementa o controle. O *A. palmeri* é uma espécie que apresenta resistência múltipla no Brasil e nos Estados Unidos (Heap, 2025), sendo o manejo integrado com uso de vários métodos de controle o recomendado para se ter sucesso. A combinação de culturas de cobertura de inverno, como o centeio, com aplicação de herbicidas pré e pós-emergentes com modos de ação distintos, reduz drasticamente o crescimento de *A. palmeri* e assegura a produtividade das culturas agrícolas. Complementarmente, estratégias com métodos ecológicos, como a indução de assincronia de floração da planta daninha por estresse hídrico e o uso de rizobactérias com atividade bioherbicida, oferecem alternativas de controle sustentáveis (Tataridas et al., 2022).

Dessa forma, observa-se a confirmação do biótipo sensível mantendo elevada sensibilidade ao metsulfuron-methyl, enquanto o resistente apresenta insensibilidade generalizada. Bai et al., (2025) e Pihu et al., (2025) também encontraram resultados similares aos observados no presente estudo, ao avaliarem a resistência de *S. media* ao metsulfuron-methyl. Esses achados reforçam a urgência de estratégias integradas de manejo para conter a disseminação da resistência e garantir a eficiência de herbicidas disponíveis atualmente no mercado para o controle químico de *S. media*.

2.3.3. METABOLISMOS OXIDATIVO DO METSULFURON-METHYL PELA *Stellaria media*

A análise de variância não apresentou interação significativa entre doses de metsulfuron-methyl e malathion para os biótipos de *S. media*.

Os resultados indicam que a metabolização do metsulfuron-methyl pelas isoenzimas P450 é um mecanismo de resistência pouco provável para os biótipos avaliados. Caso o mecanismo de resistência fosse relacionado as isoenzimas P450, seria esperada uma inibição mais pronunciada e uma reversão da resistência ao metsulfuron-methyl mais significativa, ao ser usado em associação com o malathion, o que não foi observado nos biótipos avaliados.

Essa resposta contrasta com relatos encontrados em outras espécies, como *Papaver rhoeas* resistente ao imazamox na Tunísia, que apresentou melhor controle

quando associado ao malathion (Chtourou et al., 2024). Em *L. rigidum* resistente aos inibidores de ALS, houve reversão da resistência em duas das sete populações de azevém, após aplicação de malathion que inibiu a monoxigenase do citocromo P450, aumentando a sensibilidade ao piroxsulam e demonstrando assim resistência não alvo em algumas populações do mesmo (El-Mastouri et al., 2024). Esse fato comprova que o mecanismo de resistência associado não envolve o aumento do metabolismo mediado pelas isoenzimas P450.

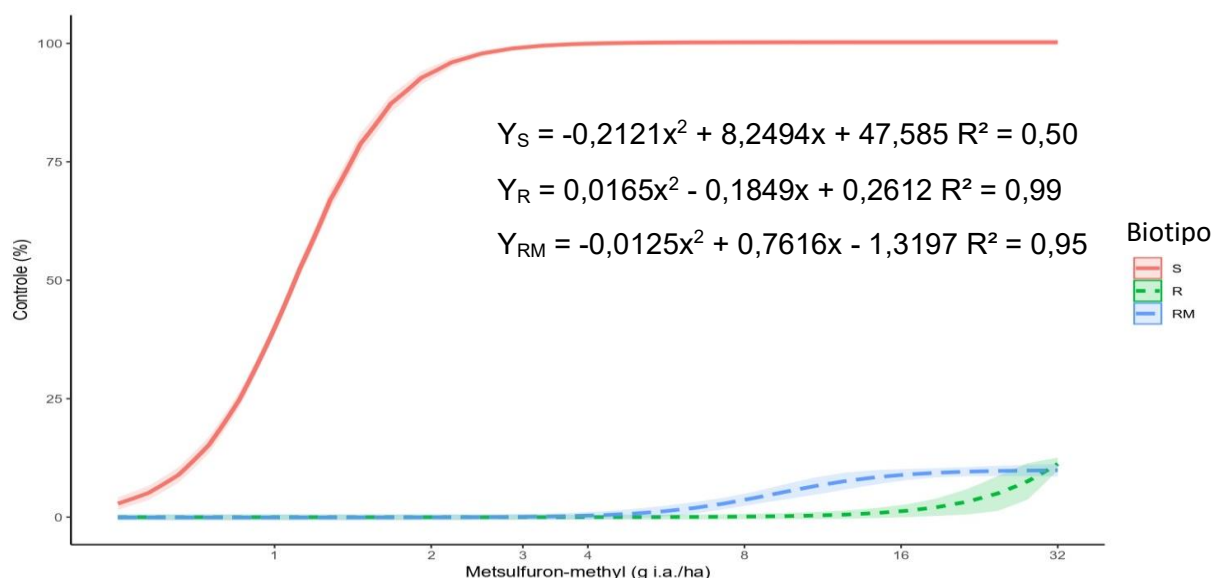


Figura 5 - Controle (%) de biótipo de *S. media* sensível (S), resistente (R) e resistente com adição de malathion (RM) em relação a aplicação de doses de metsulfuron-methyl, após 28 dias da aplicação dos tratamentos. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024. As linhas representam os valores médios das quatro repetições e as faixas, intervalos de confiança, com 95% de significância.

2.3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA ALS DE *Stellaria media*

No ensaio *in vitro* com a enzima ALS observou-se que a enzima do biótipo sensível e do resistente foram inibidas igualmente pelo herbicida metsulfuron-methyl (Dados não apresentados). Esses resultados indicam que o mecanismo responsável por conferir resistência aos biótipos não está relacionado com a sensibilidade da enzima ALS ao metsulfuron-methyl. Yu et al., (2009) ao pesquisar o herbicida clorosulfurom aplicado em *Lolium rigidum* também não encontraram diferenças na atividade da enzima ALS, o que corrobora com os resultados do presente estudo.

2.3.5 SEQUENCIAMENTO DO GENE QUE CODIFICA A ENZIMA ALS EM *Stellaria media*

O sequenciamento do gene que codifica a enzima ALS dos biótipos sensível e resistente não identificou diferenças entre os mesmos (dados não apresentados). Esse resultado indica que mutações na enzima ALS não são responsáveis pela resistência de *Stellaria media* ao herbicida metsulfuron-methyl. Herbicidas inibidores de ALS aplicados em *Papaver rhoeas* não apresentaram diferenças na atividade da enzima (Stankiewicz-Kosyl et al., 2023) o que corrobora com os resultados do presente estudo.

2.4 CONCLUSÕES

O estudo confirmou a ocorrência do primeiro caso de biótipos de *Stellaria media* resistente ao herbicida metsulfuron-methyl no Brasil;

O fator de resistência (FR) considerando DL₅₀ e GR₅₀ foram superiores a 29 e 37, respectivamente;

Os biótipos de *Stellaria media* apresentam resistência cruzada aos herbicidas metsulfuron-methyl e idosulfuron-methyl, do grupo das sulfoniluréias, e piroxsulam, do grupo das triazolopirimidina;

Os herbicidas glyphosate e saflufenacil controlam os biótipos de *S. media* resistentes e sensíveis ao metsulfuron-methyl;

Não houve evidências que a resistência esteja relacionada a metabolização, mediada pelas isoenzimas P450 ou mutações no gene que codifica a enzima ALS.

3 CAPÍTULO 2. HERBICIDAS ALTERNATIVOS PARA CONTROLE DE *Stellaria media* RESISTENTE AO METSULFURON-METHYL

RESUMO - A resistência de *Stellaria media* ao herbicida metsulfuron-methyl, inibidor da enzima acetolactato sintase (ALS), representa um desafio crescente no manejo químico dessa planta daninha. Assim objetivou-se avaliar herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *S. media* resistentes ao metsulfuron-methyl. Para isso, sementes de um biótipo de *S. media* sensível e outro resistentes aos herbicidas inibidores da ALS foram coletadas e utilizadas em experimentos em casa de vegetação da EMBRAPA trigo, Passo Fundo/RS. O delineamento utilizado foi inteiramente caualizado, com quatro repetições. Após a emergência das plantas, em estadio de 3 a 4 folhas, foram aplicados os herbicidas metsulfuron-methyl, iodosulfuron-methyl, glufosinate-ammonium, saflufenacil, diquat e glyphosate. Os resultados demonstraram que os biótipos resistentes não são controlados pelos herbicidas metsulfuron-methyl e iodosulfuron-methyl. Já os herbicidas glufosinate-ammonium, saflufenacil, diquat e glyphosate controlam os biótipos resistentes de *S. media*, caracterizando-se como herbicidas alternativos para manejo de áreas com resistência.

Palavras-chave: Resistência a herbicidas; Inibidores da ALS; Esparguta

ALTERNATIVE HERBICIDES FOR THE CONTROL OF *Stellaria media* RESISTANT TO METSULFURON-METHYL

ABSTRACT – The resistance of *Stellaria media* to the herbicide metsulfuron-methyl, an inhibitor of the enzyme acetolactate synthase (ALS), represents a growing challenge in the chemical management of this weed. Therefore, the objective of this study was to evaluate alternative herbicides for the control of *S. media* biotypes resistant to metsulfuron-methyl. For this purpose, seeds from one *Stellaria media* biotype susceptible and another resistant to ALS-inhibiting herbicides were collected and used in greenhouse experiments at Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS. The experimental design was completely randomized, with four replications. After plant emergence, at the 3–4 leaf stage, the herbicides metsulfuron-methyl, iodosulfuron-methyl, glufosinate-ammonium, saflufenacil, diquat, and glyphosate were applied. The results showed that the resistant biotypes were not controlled by metsulfuron-methyl and iodosulfuron-methyl. However, the herbicides glufosinate-ammonium, saflufenacil, diquat, and glyphosate effectively controlled the resistant *Stellaria media* biotypes, characterizing them as alternative herbicides for managing resistant populations.

Keywords: herbicide resistance, ALS inhibitors; herbicide rotation.

3.1 INTRODUÇÃO

O uso contínuo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação seleciona planta daninha resistente, uma vez que exerce pressão de seleção sobre as populações (Torra, 2025). Essa pressão de seleção favorece indivíduos com mutações no sítio de ação dos herbicidas ou com mecanismos fisiológicos que

reduzem a eficiência dos mesmos, originando assim biótipos resistentes (Papapanagiotou, 2024). Nesse sentido, os mecanismos de ação que apresentam mais casos de plantas daninhas resistentes são os inibidores de Acetil-CoA carboxilase (ACCase), da acetolactato sintase (ALS), do Fotossistema II (FSII), da Protoporfirinogênio oxidase (PROTOX) e inibidores da 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs) (Moss et al., 2019; Heap, 2025).

A predominância de casos de resistência a herbicidas destes mecanismos de ação se deve a uma interação entre as propriedades bioquímicas do produto, da biologia da planta daninha e uso de práticas de manejo intensivas e inadequadas (Moss et al., 2019). A interação desses fatores, a plasticidade adaptativa das plantas daninhas e a adoção recorrente de práticas de manejo intensivas e inadequadas (uso contínuo e generalizado de herbicidas com mesmo mecanismo de ação em monocultura) exerce uma pressão seletiva intensa, favorecendo a propagação de biótipos resistentes na população (Shekhawat, et al., 2022; Martins et al., 2023; Presoto, 2024). Essa pressão seleciona biótipos resistentes especialmente em espécies de plantas com alta variabilidade genética e grande produção de sementes, como *Alopecurus myosuroides*, *Amaranthus* spp. e *Lolium* spp. (Moss et al., 2019; Heap, 2025).

Dentre os mecanismos de ação mais utilizados nas lavouras destacam-se os inibidores de ALS, no qual se inclui o herbicida metsulfuron-methyl, sendo esse muito utilizado em função de sua alta eficiência e amplo espectro de ação. Entretanto, a utilização repetida de produtos com esse mecanismo de ação tem levado ao aparecimento e à disseminação de biótipos resistentes em diferentes regiões do mundo (Chtourou et al., 2024; Oliveira et al., 2024; Heap, 2025). Em estudo realizado por Cechin et al. (2016), para avaliar o controle de *Raphanus sativus* na cultura de trigo, verificou-se controle superior a 90% com o uso de ammonium-glufosinate, diuron + paraquat, paraquat, glyphosate, saflufenacil, metribuzin, bentazon e 2,4-D. Por outro lado, o herbicida metsulfuron-methyl aplicado em biótipos resistentes apresentou eficiência inferior a 16%. Costa e Rizzardi (2013) observaram em biótipos de *Raphanus raphanistrum*, a ocorrência de resistência ao metsulfuron-methyl ou de outros grupos de herbicidas inibidores da ALS, como sulfoniluréias, imidazolinonas e triazolopirimidinas. Os estudos demonstram que, para um controle eficiente e duradouro de plantas daninhas resistentes, é essencial adotar o manejo integrado. O manejo integrado combina diversas estratégias para controle de plantas daninhas

reunindo vários métodos de controle, como práticas culturais, mecânicas, químicas e biológicas, em um sistema coordenado que busca reduzir a interferência das plantas daninhas abaixo do limiar econômico, retardar a evolução da resistência a herbicidas e minimizar impactos ambientais (Takano et al., 2021; Tataridas et al., 2022).

Dentre as muitas espécies de plantas daninhas que infestam as culturas de inverno no Sul do Brasil, destaca-se a esparguta (*Stellaria media*). A *S. media* pertence à classe das espécies dicotiledônea e da família *Caryophyllaceae* (Sharples, 2019). A *S. media* compete diretamente com as culturas pelos recursos disponíveis, como água, luz e nutrientes (Pihu, 2025), provocando perdas que variam entre as diferentes culturas, sistemas de produção e pela população existente. O controle ineficiente provoca aumento progressivo nos custos de produção, redução de potencial produtivo e preocupação para os agricultores (Santos et al., 2025).

Além disso, o uso repetido de herbicidas de mesmo mecanismo de ação está promovendo a seleção de biótipos resistentes (Riechers et al., 2021). Nesse sentido, o primeiro caso de *S. media* foi identificado em 1978 na Alemanha, ao se verificar a resistência ao herbicida atrazina, inibidor de fotossistema II. Enquanto isso, os primeiros casos de resistência aos herbicidas inibidores da ALS foram registrados no Reino Unido (1985), Canadá (1988), Dinamarca (1991), Nova Zelândia e Suécia (1995), chegando aos Estados Unidos (2008) onde se espalhou por diversos estados e também para outros países (Heap, 2025).

A identificação precoce de biótipos resistentes é fundamental para um manejo eficaz, pois permite conter a disseminação antes que se tornem um problema em larga escala (Tataridas et al., 2022). A perda de eficácia do metsulfuron-methyl no controle de *S. media* tem um impacto agrônomo significativo, uma vez que exige a adoção de herbicidas com mecanismos de ação alternativos e a intensificação de práticas de manejo integrado para conter a disseminação de biótipos resistentes (Vargas et al., 2021; Correia, 2023).

Diante disso, esse trabalho teve como hipótese que biótipos resistentes de *S. media* são controlados por herbicidas pertencentes a diferentes mecanismos de ação recomendados para a espécie. Com isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia de herbicidas alternativos para o controle de biótipos de *S. media* resistentes ao metsulfuron-methyl.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas sementes de plantas de *S. media* com suspeita de resistência, no município de Carazinho, Rio Grande do Sul, Brasil (28°18'43" S e 52°45'09" W), que sobreviverem a aplicações de metsulfuron-methyl (4,0 g h⁻¹). Sementes de um biótipo sensível, usado como testemunha, foram coletadas em Passo Fundo/RS (28°13'41.3" S e 52°24'13.7" W). Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação da Embrapa Trigo, em Passo Fundo/RS (28°13'47.9" S e 52°24'10.8" W), em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições,

As unidades experimentais foram constituídas por vasos plásticos com capacidade para 500 mL, preenchidos com solo oriundo de área agrícola, caracterizado como Latossolo Vermelho Distrófico Típico (Streck et al., 2018). As características químicas e físicas do solo são: pH em água de 5,9; MO = 3,3%; P= 59,6 mg dm⁻³; K= 230 mg dm⁻³; Al³⁺= 0,0 cmolc dm⁻³; Ca²⁺= 6,8 cmolc dm⁻³; Mg²⁺= 3,2 cmolc dm⁻³; CTC(e)= 10,7 cmolc dm⁻³; CTC (TpH)= 7,0 = 13,4 cmolc dm⁻³; H+Al= 2,7 cmolc dm⁻³; SB= 10,6 cmolc dm⁻³; V= 79,5%; e Argila= 48.8%, Silte 22.1% e Areia 29.1%. Ao solo foi adicionado 20% de vermiculita.

O delineamento experimental adotado foi blocos casualizados, arranjos em esquema fatorial 2 X 7, com quatro repetições. No fator A foram alocados os biótipos (resistente e sensível) e no fator B os tratamentos, dispostos na Tabela 6.

Tabela 6 – Tratamentos e doses aplicados em pós-emergência para o controle alternativo de *S. media*. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.

Tratamentos	Dose (g i.a. ha ⁻¹)	Nome Comercial	Dose (kg/L ha ⁻¹)
Testemunha	--	--	--
Metsulfuron-methyl	7,2	Ally	0,012
Iodosulfuron-methyl	6,0	Hussar	0,12
Glufosinate-ammonium	300	Glufosinato Nortox	1,5
Saflufenacil	49	Heat	0,07
Diquat	747	Diquat Nortox	2,0
Glyphosate	480	Glifosato Nortox WG	1,0

Foi adicionado ao Hussar o adjuvante Hoefix (0,3% v/v) e Iharol Gold (0,25% v/v) aos herbicidas Ally, Glufosinato Nortox, Diquat Nortox e Heat.

Foram semeadas 10 sementes de *S. media* em cada unidade experimental, com posterior desbaste, mantendo-se quatro plantas por vaso. A aplicação dos

herbicidas foi realizada em pós-emergência quando as plantas de *S. media* estavam com 4 a 6 folhas. Para isso, utilizou-se um pulverizador costal de precisão, pressurizado com CO₂, equipado com 4 pontas DG 110.02, espaçadas a 0,5 m calibrado para pulverizar 150 L ha⁻¹ de calda herbicida.

As avaliações de controle visual foram realizadas aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação dos tratamentos (DAT), adotando-se escala percentual, onde zero (0%) correspondeu a ausência de injúrias e cem (100%) a morte das plantas, conforme metodologia proposta pela SBPCD (1995). Os biótipos identificados como resistentes, tiveram as sementes coletadas para uso em experimentos posteriores.

Os dados obtidos foram avaliados quanto à homocedasticidade da variância e normalidade dos resíduos, e quando estes pressupostos foram atendidos efetuou-se a análise de variância pelo teste F ($p \leq 0,05$). Em havendo significância as médias foram analisadas pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que o controle de *S. media* pelos herbicidas inibidores da ALS (metsulfuron-methyl e iodosulfuron-methyl) foi baixo, sendo inferior a 8% aos 7 DAT – dias após a aplicação dos tratamentos (Tabela 7). Entre os 14 aos 28 DAT as plantas apresentaram recuperação, e o controle do metsulfuron-methyl e iodosulfuron-methyl não diferiu estatisticamente da testemunha. Enquanto isso, os herbicidas glufosinate-ammonium, saflufenacil e diquat apresentaram 100% de controle da planta daninha em todas as épocas avaliadas. O glyphosate apresentou controle inferior aos herbicidas glufosinate-ammonium, saflufenacil e diquat até os 21 DAT, sendo superior ao metsulfuron-methyl e iodosulfuron-methyl. Aos 28 DAT o glyphosate também atingiu 100% de controle das plantas de *S. media*.

O baixo controle de *S. media* pelos herbicidas metsulfuron-methyl e iodosulfuron-methyl, está relacionado à resistência que esse biótipo apresenta a esses produtos, e que ambos pertencem ao mesmo mecanismo de ação e grupo químico (inibidores da ALS - sulfonilureias).

Nesse sentido, estudos recentes têm demonstrado que a resistência a inibidores da ALS frequentemente está associada a mutações no sítio de ação da enzima, que pode promover resistência a herbicidas pertencentes a mesmos ou diferentes grupos químicos dentro desse mecanismo de ação, como sulfonilureias e outras sub-classes

de ALS (Eceiza et al., 2023; Fruet et al., 2024). Chtourou et al., (2024) relataram resistência a diferentes herbicidas pertencentes a inibidores da ALS em populações de *P. rhoeas*, indicando que a resistência pode se estender para outros grupos químicos. Bhaskar et al. (2025) verificaram que *Poa annua* apresenta alta resistência a sulfonilureias, uma vez que mesmo em doses elevadas não foi observado controle de plantas. Em estudo realizado na Índia, Dhanda et al. (2020) também encontraram alta frequência de biótipos de *Rumex dentatus* resistentes ao metsulfuron-methyl, o que se assemelha aos resultados encontrados neste estudo.

Tabela 7 - Controle (%) de *S. media* resistente aos inibidores da ALS, (metsulfuron-methyl e iodosulfuron) com herbicidas alternativos. EMBRAPA, Passo Fundo/RS, 2024.

Tratamentos	Dose (kg/L ha ⁻¹)	7 DAT ¹	14 DAT	21 DAT	28 DAT
Testemunha	--	0,0 d ²	0,0 b	0,0 b	0,0 b
Metsulfuron-methyl	0,012	6,3 c	1,3 b	0,0 b	0,0 b
Iodosulfuron-methyl	0,12	7,5 c	2,5 b	0,0 b	0,0 b
Glufosinate-ammonium	1,5	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Saflufenacil	0,07	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Diquat	2,0	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Glyphosate	1,0	43,8 b	65,0 c	90,0 c	100,0 a
CV (%)		7,0	6,3	2,8	0,0

¹ Dias após aplicação dos tratamentos. ²Médias seguida de mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente pelo teste de Duncan (p≤0,05).

Por outro lado, os herbicidas glufosinate-ammonium, saflufenacil, diquat e glyphosate que apresentam mecanismos de ação alternativos, proporcionaram controle de 100% dos biótipos resistentes aos inibidores de ALS, aos 28 DAT (Tabela 9). O controle eficaz de glufosinate-ammonium e glyphosate corrobora com os achados de Bhaskar et al. (2025), que encontraram nestes herbicidas alternativas eficazes para o controle de biótipos de *Poa annua* resistentes a inibidores da ALS. Galon et al. (2023) verificaram que os herbicidas como flumioxazin e clodinafop-propargyl foram eficazes no controle de plantas daninhas resistentes a inibidores da ALS em lavouras de trigo.

O baixo controle (menor que 65%) até os 14 DAT pode estar associado com maior tempo que esse herbicida necessita para absorver, translocar e expressar os

sintomas de danos nas plantas daninhas ao se comparar com outros produtos (Nath et al., 2024). Essa inferência se justifica pelo fato de que aos 28 DAT as plantas expostas ao glyphosate apresentaram 100% de controle. Estudos demonstram que absorção do glyphosate pode ser um processo gradual, variando conforme a espécie de planta daninha. Além disso, a translocação basípeta, essencial para o controle de plantas perenes, pode ser limitada por características anatômicas da planta, como a alta concentração de lignina nas folhas, retardando a chegada do herbicida aos meristemas (Castro et al., 2016; Caratti et al., 2022). Em eucalipto, por exemplo, os sintomas máximos de intoxicação foram observados apenas aos 14 DAT (Nalin et al., 2023). Portanto, o controle inicial inferior de *S. media*, provavelmente, se deve a fase de acumulação e translocação do herbicida dentro da planta, com a expressão máxima do dano, sendo alcançada em avaliações mais tardias, aos 28 DAT. Firmani et al., (2024) encontraram resposta semelhante para *Uruchloa Brizantha* com redução máxima da massa seca de raízes ocorrendo aos 28 DAT, quando o glyphosate foi totalmente translocado e exerceu seu efeito em todos os tecidos meristemáticos.

Os resultados com os herbicidas alternativos encontrados neste trabalho são corroborados por estudo de Mora et al. (2025). Os autores verificaram que a população de *Bassia scoparia* resistente a inibidores de ALS são controlados por dicamba e fluroxypyr. O uso de herbicidas alternativo deve ser inserido num contexto de manejo integrado de plantas daninhas, incluindo uso de sementes com elevada pureza e vigor, rotação de culturas e de mecanismos de ação, o uso de culturas de cobertura, controle mecânico, uso de inimigos naturais, mapeamento e monitoramento de plantas daninhas sobreviventes, monitoramento molecular, entre outros. Desta forma, a integração de métodos auxilia na preservação das moléculas disponíveis atualmente, reduz a pressão de seleção e esgota o banco de sementes do solo, impedindo assim a proliferação e disseminação dos biótipos resistentes, contribuindo para evitar a seleção de novos casos e garantindo a sustentabilidade do sistema produtivo (Tataridas et al., 2022; Tsukahara et al., 2024).

Diante dos resultados alcançados neste trabalho, é possível inferir que a resistência dos biótipos de *S. media* avaliados é específica aos herbicidas com mecanismo de ação de inibidores da ALS e não está associada a resistências múltiplas ou resistência não-específica. A ausência de mecanismos de resistência não-específicos está de acordo com os resultados de Eceiza et al. (2023), quando demonstraram que plantas resistentes a inibidores da ALS não apresentam alterações

no metabolismo oxidativo basal ou em sistemas de detoxificação que confeririam resistência cruzada a outros mecanismos de ação.

Portanto, o controle alcançado pelos herbicidas glufosinate-ammonium, saflufenacil, diquat e glyphosate demonstra que a estratégia de rotação de mecanismos de ação pode ser utilizada e inserida no manejo integrado para controlar os biótipos de *S. media* resistentes aos herbicidas inibidores da ALS.

3.4 CONCLUSÃO

Os biótipos de *Stellaria media* resistentes aos herbicidas metsulfuron-methyl e iodosulfuron-methyl foram controlados de forma eficiente pelo glufosinate-ammonium, saflufenacil, diquat e glyphosate.

A rotação de mecanismos de ação com uso dos herbicidas glufosinate-ammonium, saflufenacil, diquat e glyphosate é uma prática eficiente para o controle de *S. media* resistente aos herbicidas inibidores de ALS.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A confirmação da resistência de *Stellaria media* no Brasil aos herbicidas inibidores da ALS, como metsulfuron-methyl, evidencia a necessidade de mudanças nas estratégias de manejo da espécie. Os resultados deste estudo mostram que o manejo eficaz de *S. media* deve ser fundamentado na rotação de mecanismos de ação utilizando-se herbicidas como glufosinate-ammonium (inibidor da GS), saflufenacil (inibidor da PROTOX), diquat (inibidor do FS I) e glyphosate (inibidor da EPSPs) para manejo da vegetação em pré-semeadura das culturas. No caso do saflufenacil pode ser usado ainda na pós-emergência da cultura do trigo para o controle de plantas daninhas de folhas largas.

As recomendações para controle de *S. media* devem-se fundamentar na adoção de programa de manejo que incluam herbicidas com diferentes mecanismos de ação, intercalando-os de modo a reduzir a pressão de seleção e associando seu uso a práticas não-químicas, como o uso de culturas de cobertura, sementes com elevada qualidade física, fisiológica e sanitária e o monitoramento da área, para detecção precoce de falhas de controle.

A persistência no uso exclusivo e repetido de um único mecanismo de ação é uma estratégia insustentável. Esta prática colabora para seleção de biótipos resistentes e pode levar ao surgimento de resistência múltipla, quando um biótipo é resistente a vários mecanismos de ação. As consequências disso são o aumento dos custos de controle, devido à necessidade de aplicações mais frequentes e aumento da possibilidade de contaminação ambiental. Esse cenário pode comprometer a produtividade das culturas, o que implica em menor lucratividade para os produtores rurais e ameaça a estabilidade dos sistemas agrícolas.

Os resultados e estratégias de manejo propostas neste trabalho estão alinhados com os princípios dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável que objetiva alcançar a segurança alimentar e promover a agricultura sustentável. A confirmação da resistência de *S. media* e, consequentemente, as recomendações de manejo integrado reforçam a necessidade de desenvolver uma agricultura mais resiliente e menos dependente de insumos químicos, que venha a ser mais sustentável. A recomendação de rotação de mecanismos de ação e diversificação de estratégias de manejo preconiza a redução do uso de herbicidas, o que também pode auxiliar na preservação das moléculas existentes. Portanto, o uso racional de herbicidas é fundamental para a sustentabilidade agrícola e ambiental, que objetiva

assegurar a produtividade a longo prazo, reduzindo o impacto ambiental e garantindo a viabilidade econômica das propriedades rurais.

5. REFERÊNCIAS

AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas. In: AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L.; **Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas no Brasil**. Editora UFPel, p.9-32, 2014.

AGROFIT. Brasília, DF, [2025]. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 23 out. 2025.

BAI, D. et al. Tribenuron-methyl resistance in *Capsella bursa-pastoris*: the co-existence of ALS target enzyme mutation (Pro-197-Ser) and overexpression of GSTF12 and ADP/ATP carrier protein. **Pest Management Science**, v.81, n.8, p.4365-4372, 2025.

BHASKAR, A.V.V. et al. Insights into ALS-inhibiting herbicide resistance in *Poa annua* in an arable cropping system. **Pest Management Science**, v.81, n.12, p.8128-8136, 2025.

BALEM, R. et al. Controle de nabo e azevém em trigo com herbicidas pós-emergentes. **Ciência e Inovação**, v.6, n.1, p.45-56, 2021.

BECKIE, H.J. et al. Herbicide resistance management: recent developments and trends. **Plants**, v.8, n.6, p.161, 2019.

BECKIE, H.J. et al. Herbicide resistance in plantas. **Plants**, v.9, n.4, p.435, 2020.

CARATTI, F.C. et al. Glyphosate efficacy, absorption and translocation for *Eragrostis plana* control. **Advances in Weed Science**, v.40, e020220025, 2022.

CASTRO, E.B. et al. Absorção, translocação e efeitos metabólicos do glyphosate em plantas de eucalipto. **Scientia Forestalis**, v.44, n.111, p.719-727, 2016.

CARNEIRO, C.E. Caryophyllaceae in flora e funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB6729>>. Acesso em: 30 out. 2025.

CECHIN, J. et al. Resistance of radish biotypes to iodosulfuron and alternative control. **Planta Daninha**, v. 34, n.1, p.151-160, 2016.

CHTOUROU, M. et al. Occurrence and mechanisms conferring multiple resistance to ALS-inhibiting and auxins mimics herbicides in *Papaver rhoeas* from Tunisia. **Agronomy**, v.14, n.6, p.1249, 2024.

CORREIA, N.M. Estratégias de manejo químico e cultural de capim-amargoso resistente ao glifosato no Brasil central. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.58, e02900, 2023.

COSTA, L.O.; RIZZARDI, M.A. Herbicidas alternativos para o controle de *Raphanus raphanistrum* L. resistente ao herbicida metsulfurom-metílico. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.12, n.3, p.268-276, 2013.

DHANDA, S.O. et al. Confirmation of metsulfuron-resistant *Rumex dentatus* in Punjab and Haryana and its management. **Agricultural Research Journal**, v.59, n.3, p.429-437. 2022.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, n.1, p.11-15, 1987.

ECEIZA, M.V. et al. Role of oxidative stress in the physiology of sensitive and resistant *Amaranthus palmeri* populations treated with herbicides inhibiting acetoacetate synthase. **Frontiers in Plant Science**, v.13, p.1040456, 2023.

EL-MASTOURI, Z. et al. Insight into the herbicide resistance patterns in *Lolium rigidum* populations in Tunisian and Moroccan wheat regions. **Frontiers in Plant Science**, v.15, p.1-12, 2024.

FAO. **Realizing the right to food in a changing world – The Right to Food Guidelines: 20 years on and beyond**. Roma: FAO, 2024. 82p. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cd3573en>. Acesso em: 18 out. 2025.

FERNANDES, A.M. et al. Impacts of using herbicides utilized in wheat culture on the environment and human health: a systematic review of the literature. **Innovation and Sustainability**, v.14, n.1, p.25-38, 2023.

FIRMANI, J.F. et al. Addition of ammonium sulfate to glyphosate in the desiccation of *Urochloa brizantha* cv. BRS “Piatã”. **Weed Control Journal**, v.23, e.202400857, 2024.

FLESSNER, M.L. et al. Potential wheat yield loss due to weeds in the United States and Canada. **Weed Technology**, v.35, n.6, p.916-923, 2021.

FRUET, D.L. et al. Try574 leu mutation confers cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides in wild radish. **Revista Caatinga**, v.37, e.11974, 2024.

GAINES, T.A. et al. Mechanisms of evolved herbicide resistance. **The Journal of Biological Chemistry**, v.295, n.30, p.10307-10330, 2020.

GALON, L. Weed interference period and economic threshold level of ryegrass in wheat. **Bragantia**, v.78, n.3, p.409-422, 2019.

GALON, L. et al. Manejo químico de plantas daninhas infestantes da cultura do trigo. **Brazilian Journal of Science**, v.2, n.8, p.1-22, 2023.

HEAP, I. The International herbicide-resistant weed. Disponível em: www.weedscience.org. Acesso em: 18 out. 2025.

HORVATH, D.P. et al. Weed-induced crop yield loss: a new paradigm and new challenges. **Trends in Plant Science**, v.28, n.5, p.567-582, 2023.

ISAAC, L. et al. Impacto dos produtos químicos agrícolas nos insetos polinizadores. **Insetos Polinizadores**, v.6, p.210-220, 2024.

JOHNSON, N.A. et al. Genomic structural variation and herbicide resistance. **Canadian Journal of Plant Science**, v.105, p.1-10, 2025.

JUGULAM M.; SHYAM, C. Non-target-site resistance to herbicides: recent developments. **Plants**, v.8, n.10, e.417, 2019.

KAUR, S. et al. Current status of erbicide-resistant weeds and their management in the rice-wheat cropping system of South Asia. **Advances in Agronomy**, v.172, p.307–354, 2022.

KOREKI, A. et al. Prevalence, spatial structure and evolution of resistance to acetolactate-synthase (ALS) inhibitors and 2,4-D in the major weed *Papaver rhoeas* (L.) assessed using a massive, country-wide sampling. **Pest Management Science**, v.80, n.2, p.637-647, 2024.

KUDSK, P. et al. Sulfonylurea resistance in *Stellaria media* [L.] Vill. **Weed Research**, v.35, n.1, p.19-24, 1995.

LAFOREST, M. et al. Coevolution of two sulfonylurea-resistant common chickweed (*Stellaria media*) biotypes with different mutations in the acetolactate synthase gene. **Weed Science**, v.66, n.4, p.439-445, 2018.

LI, J. et al. Resistance evolution and mechanisms to ALS-inhibiting herbicides in *Capsella bursa-pastoris* populations from China. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.159, n.1, p.17-21, 2019.

LUJAN, S.A. et al. Evidence that transient replication errors initiate nuclear genome mutations. **Nucleic Acids Research**, v.19, n.14, e.53, 2025.

MARSHALL R. et al. Target site resistance to ALS inhibiting herbicides in *Papaver rhoeas* and *Stellaria media* biotypes from the UK. **Weed Research**, v.50, n.6, p.621-630, 2010.

MARTINS, J.M.M. et al. Impactos das plantas daninhas nas culturas agrícolas e seus métodos de controle. **Revista Vida**, v.1, n.2, p.34-54, 2023.

MATZRAFI, M. et al. Herbicide resistance in weed management. **Agronomy**, v.11, n.2, e.280, 2021.

MESCHEDE, D.K. et al. Absorption and translocation tolerance of glyphosate. **African Journal of Agricultural Research**, v.10, n.52, p.4738-4747, 2015.

MESSELHÄUSER, M.H. et al. Development of an agar bioassay sensitivity test in *alopecurus myosuroides* for the pre-emergence herbicides cinmethylin and flufenacet. **Agronomy**, v.11, n.7, e.1408, 2021.

MONTGOMERY, J. et al. Distribution of target site PPO-inhibiting herbicide resistance mutations in waterhemp and Palmer amaranth and association of epyrifenacil efficacy with PPX2 target site variants. **Weed Technology**, v.3, e.67, 2025.

MORA, G. et al. First case of triple resistance to EPSPS, ALS, and synthetic auxin herbicides in *Bassia scoparia* (L.) Voss in Europe. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.213, p.1-9, 2025.

MOSS, S.R. et al. A herbicide resistance risk matrix. **Crop Protection**. v.115, n.1, p.13-19, 2019.

MOSS, S.R. et al. Herbicide resistance in weeds. In: HATCHER, P.; FROUD-WILLIAMS, R.J. (Eds.). **Weed Research: Expanding horizons**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2017. 456p.

MUCHERI, T, RUGARE J.T, BAJWA A.A. Mechanistic understanding and sustainable management of non-target site herbicide resistance in modern day agriculture. **Advances in Weed Science**, v.42, e.20240056, 2024.

NALIN, D. et al. Absorption, translocation, and metabolism of glyphosate and imazethapyr in smooth pigweed with multiple resistance. **Agronomy**, v.13, e.1720, 2023.

NATH, C.P. et al. Challenges and alternatives of herbicide-based weed management. **Agronomy**, v.14, e.126, 2024.

NICHELATI, F.D. et al. Interferência de plantas daninhas na cultura da canola (*Brassica napus* L.). **Ciência Agrícola**, v.18, n.1, p.39-47, 2020.

OLIVEIRA, C. et al. Emergence of multiple resistance to epsps and als herbicides in smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*): a growing concern in Brazil. **Weed Science**, v.72, e.6, p.664-672, 2024.

PACANOSKI, Z. *Stellaria media* (L.) Vill. (common chickweed) – a strong or weak competitor in the autumn and early-spring sown crops? **Acta Herbologica**, v.33, e.2, p. 77-89, 2024.

PAPAPANAGIOTOU, A.P. et al. Field-evolved cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides in redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) populations and alternative chemical options for effective control. **Weed Technology**, v.38, e96, p.1-9, 2024.

PETERSON, D.E. et al. **Herbicide Mode of Action**. Kansas City. Editora Kansas State University, 2015. 28p.

PIAZENTINE, A.E. et al. Periods of sourgrass interference in the soybean. **Ciência Agrônômica**, v.55, n.1, p.28-39, 2024.

PIHU, S. et al. The first recorded case of herbicide resistance in Estonia: common chickweed (*Stellaria media*) resistant to sulfonylureas. **Agricultural and Food Science**, v.34, n.1, p.51–60, 2025.

PRESOTO, J.C. **Resistência múltipla de *Amaranthus deflexus* aos herbicidas inibidores da ALS-PPO e alternativas de controle em condições de pré e pós-emergência**. 2024. 75 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2024.

PROCÓPIO, S.O. et al. Impacts of weed resistance to glyphosate on herbicide commercialization in Brazil. **Agriculture**, v.14, n.12, p.1-15, 2024.

RAMBE, S.P. et al. Effectiveness of glyphosate and metsulfuron-methyl herbicide mixtures for weed management in oil palm plantations. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v.1494, e.012008, 2025.

RODRIGUES, M.S. et al. Efeito de agrotóxicos sobre a microbiota do solo. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v.1, n.2, ID 213, 2020.

RIECHERS, D. et al. Herbicide resistance is complex: a global review of cross-resistance in weeds within herbicide groups. **Weed Science**, v.72, n.5, p.465-486, 2024.

REY-CABALLERO, J. et al. Target-site and non-target-site resistance mechanisms to ALS inhibiting herbicides in *Papaver rhoeas*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.138, n.1, p.57-65, 2017.

SANTOS, L.D.T. et al. Plantas Daninhas: biologia e manejo sustentável. **Cultivar**, v.11, n.1, p.1-16, 2025.

SALOMÃO, P.E.A. et al. Herbicidas no Brasil: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v.9, n.2, e32921990, 2020.

SALONEN, J. et al. Fifth survey on weed flora in spring cereals in Finland. **Agricultural and Food Science**, v.32, n.1, p.51-68, 2023.

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.

SBCPD - SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS. **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. Londrina: SBCPD, 1995. 42 p.

SHARPLES, M.T. Taxonomic observations within *Stellaria* (Caryophyllaceae): insights from ecology, geography, morphology, and phylogeny suggest widespread parallelism in starworts and erode previous infrageneric classifications. **Systematic Botany**, v.44, p.877-886, 2019.

SHEKHAWAT K. et al. Exploring alternatives for assessing and improving herbicide use in intensive agroecosystems of South Asia: A review. **Advances in Weed Science**, v.40, e0202200116, 2022.

SHIMADA, B.S.; SIMON, M.V. Problems of chemical control in agriculture: a perspective of agriculture. **Colloquium Agrariae**, v.18, n.3, p.60-71, 2022.

SINGH, N.P. et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**, v.175, e.1, p.91-184, 1988.

STANKIEWICZ-KOSYL, M. et al. Occurrence and Mechanism of Papaver rhoeas ALS Inhibitors Resistance in Poland. **Agriculture**, v.13, n.1, p.82-97, 2023.

STRECK, E.V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS: EMATER/RS-ASCAR, 2018. 251 p.

TAKANO H.K. et al. ACCase-inhibiting herbicides: mechanism of action, resistance evolution and stewardship. **Scientia Agricola**, v.78, n.1, p.e20190102, 2021.

TAMURA, K. et al. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v.38, n.7, p.3022–3027, 2021.

TATARIDAS, A. et al. Early detection, herbicide resistance screening, and integrated management of invasive plant species: A review. **Pest Management Science**, v.78, n.10, p.3957-3972, 2022.

THORNE, M.E., LYON, D.J. Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) seed shatter in wheat. **Weed Science**, v.73, n.1, p.1-11, 2025.

TORRA, J. et al. Editorial: Multiple Herbicide-Resistant Weeds and Non-target Site Resistance Mechanisms: A Global Challenge for Food Production. **Frontiers in Plant Science**, v.12, p.763212, 2021.

TORRA, J. et al. Molecular mechanisms of herbicide resistance in weeds. **Journals Genes**, v.13, n.11, p.1-5, 2025.

TOUBOU, E. et al. Weed control practices and awareness of herbicide resistance among cereal farmers of northern. **Weed Technology**, v.34, n.6, p.909-915, 2020.

TSUKAHARA, R.Y. et al. Estratégias para o manejo de resistência de doenças e plantas daninhas a agroquímicos. **Revista Fundação ABC**, v.56, p.20, 2024.

VARGAS, L. et al. Ten steps for reports of new cases of herbicide resistance of weeds in Brazil. **Informe Técnico**, v.3, n.1, p.1-5, 2021.

VARGAS, L. et al. Mutation of Trp-574-Leu ALS gene confers resistance of radish biotypes to iodosulfuron and imazethapyr herbicides. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.47, n.1, 2025.

VIJAYARAJAN, V.B.A. et al. Confirmation and characterisation of ALS inhibitor resistant *Poa trivialis* from Ireland. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.208, p.106266, 2025.

VILA, A.M.M. et al. Do plants pay a fitness cost to be resistant to glyphosate? **New Phytologist**, v.223, n.2, p. 532–547, 2019.

XU, Y. et al. Investigation of resistant level to tribenuron-methyl, diversity and regional difference of the resistant mutations on acetolactate synthase (ALS) isozymes

in *Descurainia sophia* L. from China. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.1, p.169, 2020.

YADAV, A. et al. Detection of Herbicide Resistance and a Novel ALS-Inhibitor Mutation in Alabama Italian Ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) Populations. **Weed Science**, v.73, p.1-10, 2025.

YU, Q. et al. 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. et al. AHAS herbicide resistance endowing mutations: effect on AHAS functionality and plant growth. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, e. 14, p. 3925–3934, 2010.

YU, X. et al. Resistance Mechanism to Metsulfuron-Methyl in *Polypogon fugax*. **Plants**, v.10, e.7, p.1309, 2021.