

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

DISSEMINAÇÃO ENDOZOOCÓRICA, GERMINAÇÃO E CONTROLE DE *Lolium multiflorum* Lam. RESISTENTE A HERBICIDA INIBIDOR DA ENZIMA EPSPs

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

RICARDO DE MELLO SCALCON

**Itaqui, RS, Brasil
2016**

RICARDO DE MELLO SCALCON

DISSEMINAÇÃO ENDOZOOCÓRICA, GERMINAÇÃO E CONTROLE DE *Lolium multiflorum* Lam. RESISTENTE A HERBICIDA INIBIDOR DA ENZIMA EPSPs

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Schaedler

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Bohrer de Azevedo

Itaqui, RS, Brasil
2016

RICARDO DE MELLO SCALCON

DISSEMINAÇÃO ENDOZOOCÓRICA, GERMINAÇÃO E CONTROLE DE *Lolium multiflorum* Lam. RESISTENTE A HERBICIDA INIBIDOR DA ENZIMA EPSPs

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em: 29 de junho de 2016.
Banca examinadora:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Schaedler
Orientador
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Prof. Dr. Eduardo Bohrer de Azevedo
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Prof. Dr. Guilherme Ribeiro
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus amados pais, Arami Scalcon e Mara Mello, e a minha irmã Bárbara Scalcon, pelas fontes inesgotáveis de incentivo, apoio, amor e compreensão, durante todo percurso da minha graduação.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela proteção e suporte espiritual em todos os momentos, principalmente nos instantes de maior fragilidade.

Ao meu pai, Arami Bortolo Scalcon, por conceder toda base estrutural da minha vida, dando-me conhecimento, incentivando e guiando-me em todos os momentos de dificuldade.

À minha mãe, Mara Solange Dias de Mello, por estar caminhando junto comigo em busca de meus sonhos, independente da distância que estamos, sempre demonstrando exemplo de pessoa alegre e atenciosa.

À minha irmã, Bárbara de Mello Scalcon, que embora distante fisicamente, sempre demonstrou carinho e afeto espiritualmente, juntamente com meu sobrinho Estevan Scalcon Vanti, que veio ao mundo para alegrar e unir ainda mais nossa família.

À Universidade Federal do Pampa, por toda base de ensinamentos adquiridos durante a graduação e auxílios financeiros.

Ao prof. orientador, Dr. Carlos Eduardo Schaedler, pelo companheirismo, respeito, e demonstração de caráter. Pelo conhecimento transmitido sempre que necessário, tanto no grupo de pesquisa quanto pessoalmente, e acima de tudo, por ser um grande amigo.

Ao prof. Dr. Eduardo Azevedo, pela co-orientação em meu trabalho, além de nossa amizade, e aos profs. Dr.^a Luciana Ethur e Dr. Marcos Toebe, pelas experiências transmitidas e pelos momentos vividos juntos no grupo PET Agronomia.

Ao grupo PET Agronomia, por me tornar uma pessoa de melhor caráter, e me dar sustentação desde o momento inicial da minha graduação. A todos os colegas de convívio no grupo, pelo respeito, amizade e momentos inesquecíveis vividos juntos.

Aos colegas que iniciaram ao meu lado a graduação, e a todas as amizades feitas nesse período, em especial ao colega e amigo Francisco Goulart, pelos auxílios prestados, amizade e companheirismo em vários momentos, e ao amigo João Vitor Ail pela convivência desde os tempos do curso de técnico agrícola.

A todos os professores e funcionários pelas ajudas prestadas, amizades e por manterem o ambiente universitário de convívio agradável.

A EMBRAPA trigo, FEPAGRO forrageiras, GHEPA, GENUR e UNIPAMPA Campus Itaqui, pela parceria no desenvolvimento da pesquisa.

RESUMO

DISSEMINAÇÃO ENDOZOOCÓRICA, GERMINAÇÃO E CONTROLE DE *Lolium multiflorum* Lam. RESISTENTE A HERBICIDA INIBIDOR DA ENZIMA EPSPs

O azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) é uma gramínea utilizada no sul do Brasil para produção de cobertura do solo no sistema plantio direto e como forrageira. Esta espécie é de elevada dispersão, e, em áreas de plantio direto, é amplamente utilizado o herbicida *glyphosate* para seu manejo. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a disseminação endozoocórica, germinação e controle de *L. multiflorum* resistente a herbicida inibidor da enzima EPSPs. As sementes (25 g, 12.112 sementes) foram inseridas através de um tubo até o rúmen de seis novilhos, mantidos em gaiolas para ensaios metabólicos. Foi realizado teste de germinação em sementes recuperadas nas fezes e sementes que não passaram pelo trato gastrointestinal, e, posteriormente, feita aplicação de *glyphosate* em diferentes doses para avaliar a resistência das plantas (0, 1, 2, 4, 8, 16 e 32 vezes a dose recomendada). Das sementes fornecidas aos animais, 9,1% foram recuperadas nas fezes. Aquelas recuperadas nos três primeiros dias corresponderam a 92,6% da quantidade de sementes do total recuperadas. A ausência de sementes de azevém nas fezes ocorre a partir do oitavo dia após a ingestão. A germinação das sementes recuperadas após 44 e 72 h foi de 41 e 32%, respectivamente, apresentando valores menores em comparação com a germinação da testemunha (66%). Para as sementes recuperadas 96 h após, a germinação foi 21%. O tempo de permanência no trato gastrointestinal influencia na redução da germinação das sementes de azevém. Até oito vezes acima da dose recomendada do herbicida, houve apenas 50% do controle sobre as plantas. Assim, para evitar dispersão endozoocórica de uma área com biótipos resistentes a *glyphosate* para áreas livres de infestação de azevém, os bovinos devem permanecer em quarentena por oito dias para eliminação total das sementes do trato gastrointestinal. Além disso, o manejo com esse herbicida permanece ineficiente mesmo após as sementes passarem pelo sistema digestivo.

Palavras-chave: Azevém anual, dispersão, *glyphosate*, plantas daninhas, resistência.

ABSTRACT

ENDOZOOCHORY DISPERSAL, GERMINATION AND CONTROL OF *Lolium multiflorum* Lam. RESISTANT TO EPSPs ENZYME INHIBITOR HERBICIDE

Annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) is a winter grass in southern Brazil with annual cycle, used for the production of ground cover on tillage and as forage. This species is highly dispersed, and no-till areas, *glyphosate* herbicide is widely used for its management. Therefore, the objective of this study was to evaluate the endozoochory dissemination, germination and control of *L. multiflorum* resistant to EPSPs enzyme inhibitor herbicide. Seeds (25 g, 12.112 seeds) were offered through a tube into the rumen of six calves were kept in metabolic cages for testing. It was performed germination in seeds recovered in the feces and seeds that have not passed through the digestive tract, and, subsequent application of *glyphosate* at different doses to evaluate the resistance of plants (0, 1, 2, 4, 8, 16 and 32 times the recommended dose). Seeds provided to the animals, 9.1% were recovered in the faeces. Those first three days recovered corresponding to 92.6% of the total amount of seed recovered. The absence of ryegrass seeds occurs in the faeces from the eighth day after ingestion. The germination of seeds recovered was lower compared to the germination of the control (66%) after 44 and 72 h, the germination was 41 and 32% respectively. For seed recovered 96 h after, germination was 21%. The residence time in the gastrointestinal tract influences the reduction of the germination of ryegrass seed. Up to eight times the recommended dose of herbicide, there was only 50% of the control over the plants. So, to avoid endozoochory dispersion of an area with resistant biotypes *glyphosate* to areas free of ryegrass infestation, calves should be quarantined for eight days to complete elimination of the seeds of the digestive system. Furthermore, the management inefficient with this herbicide remains even after the seeds passing through the rumen.

Keywords: Annual ryegrass, dispersal, *glyphosate*, resistance, weed.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Número de sementes de *Lolium multiflorum* Lam. resistente ao *glyphosate*, recuperadas em fezes de bovinos, em função do tempo em dias após a ingestão, São Gabriel-RS.....19
- Figura 2: Germinação de sementes de *Lolium multiflorum* Lam. resistentes ao *glyphosate*, em função do tempo de recuperação em horas após a ingestão, recuperadas em fezes de bovinos, Itaqui-RS.....20
- Figura 3: Matéria seca da parte aérea (MSPA) de *Lolium multiflorum* Lam. resistente ao *glyphosate*, em função da aplicação de 3 L ha⁻¹ de Roundup®, e testemunha e testemunha recuperada (sem receberem aplicação), analisadas pelo teste de Fischer ($p \leq 0,05$), Itaqui-RS.....21
- Figura 4: Controle de plantas de *Lolium multiflorum* Lam. resistentes ao *glyphosate*, em função de diferentes doses em gramas de equivalente ácido de *glyphosate* por hectare (g e.a ha⁻¹), Itaqui-RS.....22
- Figura 5: Matéria seca da parte aérea (MSPA) da curva dose resposta, de *Lolium multiflorum* Lam. resistente ao *glyphosate*, em função de diferentes doses em gramas de equivalente ácido por hectare (g e.a ha⁻¹) de *glyphosate*, 28 dias após aplicação, Itaqui-RS.....22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Relação entre os componentes de produtividade de <i>Lolium multiflorum</i> Lam. resistente ao <i>glyphosate</i> e seu nicho de desenvolvimento, Itaqui-RS 2015.....	23
---	----

ABREVIATURAS

e.a – equivalente ácido

ed. – edição

et al. – e outros

g – gramas

ha – hectare

n. – número

p. – página

v. – volume

LISTA DE SIGLAS

FEPAGRO - Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária

UNIPAMPA – Universidade Federal do Pampa

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAL E MÉTODOS	16
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4 CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

O azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) é uma gramínea hibernal, pertencente à família Poaceae. É originário do mediterrâneo e atualmente difundido no sul do Brasil, Argentina, Uruguai, Austrália, Nova Zelândia e alguns países do hemisfério norte (REIS & DANELLI, 2011). Apresenta rota metabólica do tipo C3 e capacidade de rebrota, sendo considerado importante espécie para cobertura do solo, produção de palhada e alimentação animal (FONTANELI, 1993). Esta espécie também apresenta rusticidade e desenvolvimento mesmo em solos com baixa fertilidade e estresse hídrico, respondendo à adubação, principalmente nitrogenada (VARGAS et al., 2007b).

Em decorrência à sua adaptabilidade, fácil dispersão e formação de banco de sementes no solo, é considerada uma das principais plantas daninhas em diversas regiões do mundo (GE et al., 2012; IN KUK et al., 2008). Na região sul do Brasil, apresenta capacidade competitiva em pomares e cereis de inverno, como o trigo, cevada e aveia (VARGAS et al., 2011). Pequenas populações de azevém em competição com cevada são suficientes para reduzir afilhamento, área foliar e matéria seca da parte aérea nessa cultura (GALON et al., 2011). No estabelecimento normal do ciclo, as sementes dispersas no final da primavera permanecem dormentes até o outono, onde é superada em virtude das temperaturas mais elevadas do verão, tornando-se planta infestante nas áreas agricultáveis, estradas e rodovias (REIS & DANELLI, 2011).

Dentre os métodos de controle para essa espécie, e para maioria das plantas daninhas, destaca-se o químico. Um dos herbicidas mais utilizados para isso é o *glyphosate*, em decorrência à eficiência do produto e ao custo relativamente baixo em relação aos demais. Apresenta ação sistêmica, não seletivo e de amplo espectro, utilizado para controle de plantas daninhas anuais e perenes, em pós emergência (ALBRECHT et al., 2014). Esse produto tornou-se de uso praticamente exclusivo principalmente após a consolidação de áreas do sistema de plantio direto para dessecação de plantas, pois o acúmulo de restos culturais favorece a redução da germinação de várias espécies indesejadas em decorrência à profundidade das sementes e à baixa movimentação do solo (DEUBER, 1997).

A germinação de sementes é regulada por um conjunto de fatores que podem influenciar a taxa de emergência e estande, de forma positiva ou não. Temperatura,

luminosidade, umidade e pH, dentre outros fatores, são apontados como alguns dos controladores da germinação de sementes no campo, havendo variação de acordo com cada espécie (PEREZ & PRADO, 1993). Sementes ingeridas por animais ruminantes podem sofrer processos físicos na ruminação, ação de microorganismos presentes no rúmen para degradação do alimento, e ainda ação química, quando em contato com o abomaso. Subprodutos da degradação dos carboidratos, como ácidos graxos voláteis, além da temperatura ruminal e pH interno, variam conforme a natureza da dieta fornecida (OLIVEIRA et al., 2013). Supostamente, esse conjunto de fatores pode influenciar a germinação das sementes após passagem pelo trato gastrointestinal.

Um dos herbicidas mais utilizados para controle químico de plantas daninhas é o *glyphosate*, por apresentar elevada eficiência. Porém, sua utilização indiscriminada vem causando intensa pressão de seleção sobre as plantas, exercida pelo uso contínuo do mesmo ingrediente ativo sobre mesma área. A pressão de seleção, associada com condições climáticas e tecnológicas de aplicação desfavoráveis, pode promover biótipos preexistentes de espécies de plantas daninhas resistentes a esse herbicida. O primeiro caso de resistência de *L. multiflorum* foi comprovado no ano de 2002 no Chile (PEREZ & KOGAN, 2003) pelo uso excessivo de *glyphosate* continuamente. No Brasil, os primeiros casos foram identificados no estado do Rio Grande do Sul em 2003, nos municípios de Vacaria e Tapejara, expandindo-se também para demais regiões do estado, além de Santa Catarina e Paraná (ROMAN et al., 2004; VARGAS et al., 2007a).

Para eficiente controle de espécies de plantas daninhas resistentes, destaca-se a necessidade importância do uso do manejo integrado, em especial o controle preventivo, afim de evitar disseminação e/ou produção de sementes em áreas livres de ocorrência. A dispersão é entendida como o desligamento e deslocamento de propágulos vegetais (frutos ou sementes) a partir da planta mãe (CORDEIRO & HOWE, 2003). De acordo com a afinidade de cada espécie, família ou região predominante, pode ser classificada como: anemocoria (vento), balocoria (explosão), barocoria (gravidade), hidrocoria (água) e zoocoria (animais) (HALL & SWAINE, 1980). Há também a dispersão denominada antropocoria, causada direta ou indiretamente pelo homem (HARTMANN et al., 1995).

A dispersão zoocórica apresenta subdivisão quanto à sua forma específica de ocorrer. A epizóica é a capacidade com que as sementes têm de aderirem-se ao

corpo dos animais por meio de ganchos ou cerdas, e, posteriormente dispersarem-se, ou seja, pela parte externa (SCHNEIDER et al., 1994). Já a endozóica ocorre através da ingestão pelo animal de uma parte da planta que contenha semente, sendo posteriormente eliminada junto às fezes, podendo sofrer ou não alguma mudança na sua estrutura (DEMINICIS et al., 2009). Apesar de existirem estudos relacionados a disseminação, muitas vezes são apenas parâmetros ou formas próximas às estimativas, contendo informações de modo empírico.

Com o surgimento do sistema integrado de produção agropecuária como alternativa de renda ao produtor rural, lavouras da região sul do país tornam-se pastagem. No entanto, evidencia-se que mais de 90% das espécies utilizadas para pastagem expressam potencial com características de plantas invasoras (DRISCOLL et al., 2014). O uso dessa integração com animais pode contribuir com a redução do banco de sementes em áreas de azevém resistente ao *glyphosate*. Porém, dependendo da finalidade de cada área, o manejo inadequado também pode oferecer risco para agricultura, sendo uma via de disseminação da resistência a partir da ingestão pelos animais de inflorescência de azevém com maturação fisiológica. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a disseminação endozoocórica, germinação e controle de *Lolium multiflorum* Lam. resistente a herbicida inibidor da enzima EPSPs.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em duas etapas, a primeira junto à FEPAGRO Forrageiras (coordenadas 30° 21' S e 54° 16' W), na cidade de São Gabriel-RS e a segunda na UNIPAMPA (coordenadas 29° 12' S e 56° 18' W), Campus Itaqui-RS, nos meses de junho a dezembro de 2015. Sementes de biótipos de *Lolium multiflorum* Lam. resistentes à enzima EPSPs foram coletados na área de ensaios com herbicidas da EMBRAPA Trigo (coordenadas 28° 16' S e 52° 24' W), na cidade de Passo Fundo-RS.

Para o estudo de disseminação endozoocórica, utilizou-se seis novilhos com peso médio de 350 kg cada, mantidos em gaiolas para ensaios metabólicos. Nesse sistema era possível contato visual entre os animais, movimentação dentro da gaiola possibilitando aos mesmos deitar, e água à vontade. Optou-se por machos em decorrência das fezes não serem misturadas com urina no momento da coleta. Cada animal representou uma repetição, sendo fornecido 25 g (equivalente a 12.112 sementes) de azevém para cada novilho. Como forma de garantir a ingestão, as sementes foram introduzidas com bastão flexível, inserido manualmente através da glote. Os tratamentos foram baseados em épocas de recuperação de sementes nas fezes dos bovinos, a cada 24 horas após a oferta, finalizando no sexto dia (144 horas) após a oferta.

Os novilhos permaneceram nas gaiolas metabólicas durante 15 dias, sendo que no dia nove as sementes foram ofertadas. O período anterior à oferta serviu para adaptação do local e da dieta. Coletou-se as fezes diretamente em bolsões feitos de material PVC Vinil específico para os animais, para garantir o armazenamento total das fezes. Os bolsões eram trocados em média três vezes por dia, em decorrência do acúmulo de fezes, sendo que a cada 24 horas completas, o material de cada animal era coletado e misturado, retirando-se 10% de amostra homogênea, onde posteriormente efetuava-se lavagem com água corrente em peneira com malha de 1 mm para separação das sementes.

A dieta dos novilhos baseava-se no corte diário de forragem de campo nativo do Bioma Pampa, contendo principalmente plantas nativas, como *Desmodium incanum* e *Paspalum notatum*, ofertadas em gaiolas de metabolismo, isenta de azevém, afim de garantir maior exatidão nos resultados. As sementes recuperadas eram acondicionadas em embalagens plásticas e levadas à geladeira com

temperatura próxima dos 8 °C e umidade relativa do ar 85%. Esse processo reduz as trocas gasosas da semente com o ambiente, permitindo a conservação por maior tempo.

Na segunda etapa do experimento, as sementes foram levadas para o laboratório de sementes da UNIPAMPA Campus Itaqui em condicionamento térmico, contabilizadas e postas para germinar. Utilizou-se papéis germitest umedecidos com 2,5 vezes o seu peso, sendo levados subsequente a câmara de germinação BOD com temperatura de 20°C e fotoperíodo de 12 horas. Além das sementes recuperadas, foi realizado teste de germinação na testemunha (sem passar pelo rúmen), utilizando quatro repetições de 50 sementes.

Para germinação das sementes que passaram pelo trato gastrointestinal, foram contabilizadas apenas as recuperadas no 2, 3 e 4º dia, em decorrência da quantidade não expressiva nas demais épocas avaliadas, porém, todas as sementes foram postas para germinar. A primeira contagem aconteceu aos sete dias após expostas para germinar, e, no 14º dia, foi estabelecida contagem final. Os demais procedimentos como caracterização de plântula normal ou não, foram seguidos conforme recomendação das Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Após a quantificação das sementes germinadas, realizou-se o transplante para copos de 200 mL todas as plântulas normais recuperadas, passando por aclimação durante 24 horas dentro do laboratório, e, posteriormente, levadas para casa de vegetação. Utilizou-se substrato comercial para plantas Carolina II®, e borrifador para auxiliar na irrigação, mantendo o substrato com umidade adequada durante o experimento. Tão logo as plantas apresentaram estabelecimento com até cinco folhas e três afilhos, foram submetidas a aplicação de *glyphosate*.

Para isso, foi utilizado Roundup Original® conforme recomendação de rótulo, na dose de 3 L ha⁻¹ (correspondente a 1080 g. equivalente ácido do sal de isopropilamina) de produto comercial, com auxílio de pulverizador costal propelido a CO₂, dotado de barra com duas pontas espaçadas 50 cm. Manteve-se velocidade de deslocamento de 1 m s⁻¹, com pontas reguladas para pulverizar 120 L ha⁻¹. No dia da aplicação, a temperatura e umidade relativa do ar aproximavam-se dos 24 °C e 69%, respectivamente, em horário próximo às 10 horas, com vento na velocidade de 6,5 km h⁻¹.

Aos 20 dias após a aplicação (DAA), foram coletadas plantas para a determinação inicial da matéria seca da parte aérea (MSPA) os seguintes

tratamentos: testemunha (plantas sem receber aplicação, originadas de sementes sem passar pelo trato gastrointestinal); testemunha recuperada (plantas sem receber aplicação, originadas de sementes que passaram pelo trato gastrointestinal) e plantas resistentes (plantas que receberam aplicação na dose recomendada, originadas de sementes que passaram pelo trato gastrointestinal). Utilizou-se para isso uma planta por repetição, e quatro repetições por tratamento, efetuando coleta da parte aérea, acondicionando-as em sacos de papel, sendo levadas à estufa com temperatura de 60 °C, até obtenção de peso constante do material.

Do restante das plantas resistentes, oito foram transplantadas para vasos de oito litros (uma planta por vaso), e oito levadas a campo, com espaçamento de 30 cm entre plantas, para expressar seu potencial produtivo de acordo com o local de desenvolvimento e completarem o ciclo, afim de obter número de espiguetas, espigas e sementes por planta. As demais plantas que receberam aplicação de *glyphosate*, foram propagadas a partir dos afilhos e transplantadas para novos copos de 200 mL. Efetuou-se o corte das folhas, deixando resíduo de aproximadamente 3 cm para induzir o crescimento de folhas novas, e, posteriormente, ao atingirem até cinco folhas, receberem novamente aplicação de *glyphosate*. Nessa etapa, o herbicida foi aplicado em diferentes doses: Testemunha (sem aplicação), 1, 2, 4, 8, 16 e 32 vezes a dose recomendada, com quatro repetições, contendo uma planta por repetição.

A avaliação visual de toxicidade das plantas foi baseada utilizando a metodologia de Frans e Crowley (1986), estabelecendo nota zero para ausência de sintomas, e 100 para morte completa da planta. Avaliou-se as plantas visualmente aos 7, 14, 21 e 28 DAA. Aos 28 DAA, realizou-se coleta das plantas para determinação da MSPA da curva dose resposta. Para MSPA inicial, os dados foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$) pelo teste de Fischer. Para a variável recuperação de sementes, germinação, toxicidade e MSPA da curva dose resposta, os dados obtidos foram analisados quanto à homogeneidade, e, posteriormente, submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) pelo programa SAS. Quando os testes foram significativos, os dados foram calculados pelo modelo Sigmoidal Logístico.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se nos valores obtidos na recuperação (Figura 1), que houve 1109 (9,1%) sementes recuperadas nas fezes dos bovinos do total ofertado, após passagem pelo trato gastrointestinal. Depois de ofertar aos animais, 48 horas após a ingestão foi verificado o valor máximo de sementes recuperadas, totalizando 728 (65% do total recuperado). O valor de recuperação nos três primeiros dias correspondeu a 92,6%. Evidencia-se que, nas primeiras 24 horas após a oferta, já há indícios de passagem de sementes pelo rúmen, e que, a partir do segundo dia de coleta, ocorre decréscimo na recuperação. Após 96 horas da ingestão, a quantidade recuperada é reduzida, sendo que, conforme equação apresentada, no oitavo dia já não são mais encontradas sementes nas fezes.

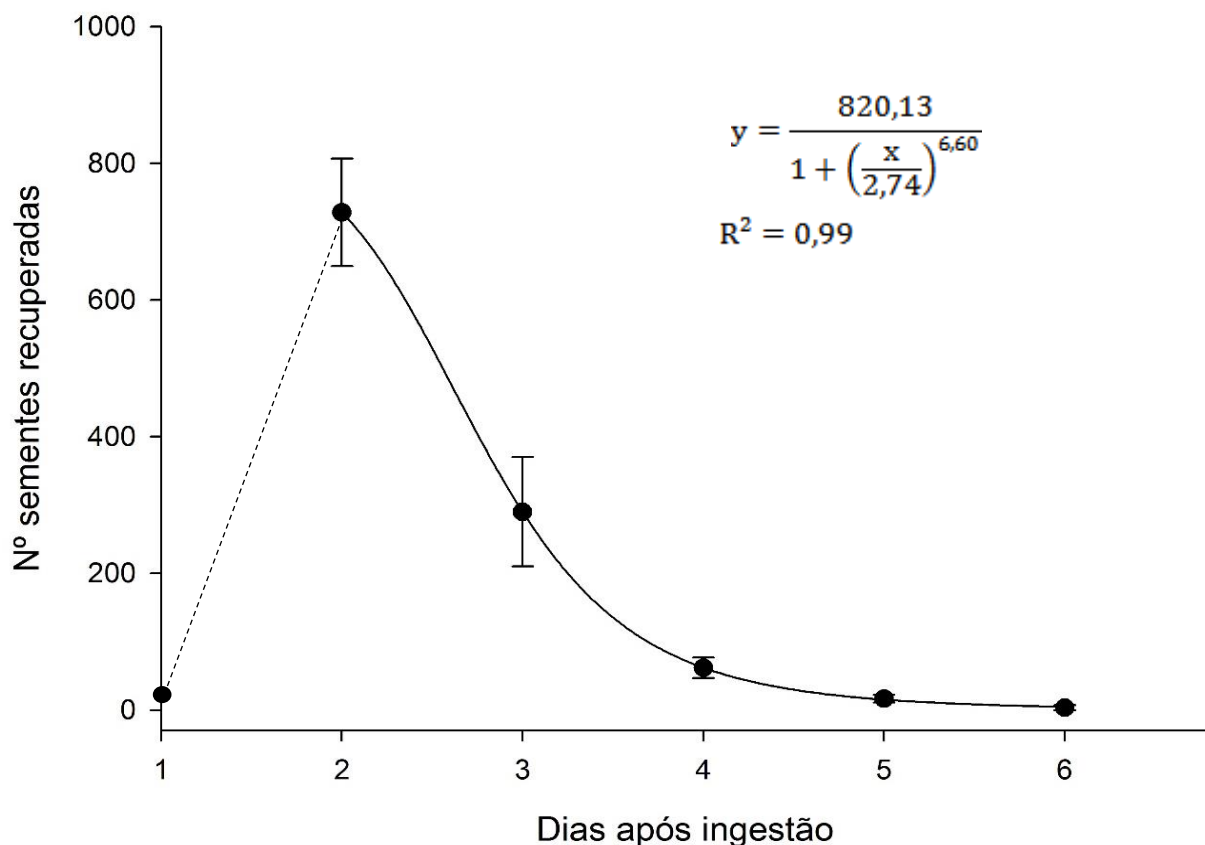


Figura 1: Média do número de sementes de *Lolium multiflorum* Lam. resistente ao *glyphosate*, recuperadas em fezes de bovinos, em função do tempo em dias após a ingestão, São Gabriel-RS.

Para germinação, conforme o maior tempo de retenção das sementes no rúmen, menor é o potencial germinativo (Figura 2). Destaca-se que a partir das 72 horas após as sementes permanecerem sistema digestivo, a germinação é reduzida em 50% em comparação à testemunha, que apresentou 66% de germinação. Os resultados obtidos para variável MSPA apontaram semelhança nos valores do tratamento testemunha e testemunha recuperada (Figura 3). Embora a aplicação de *glyphosate* na dose recomendada não tenha apresentado controle sobre as plantas resistentes, a MSPA para esse tratamento reduziu o valor médio obtido em relação às testemunhas.

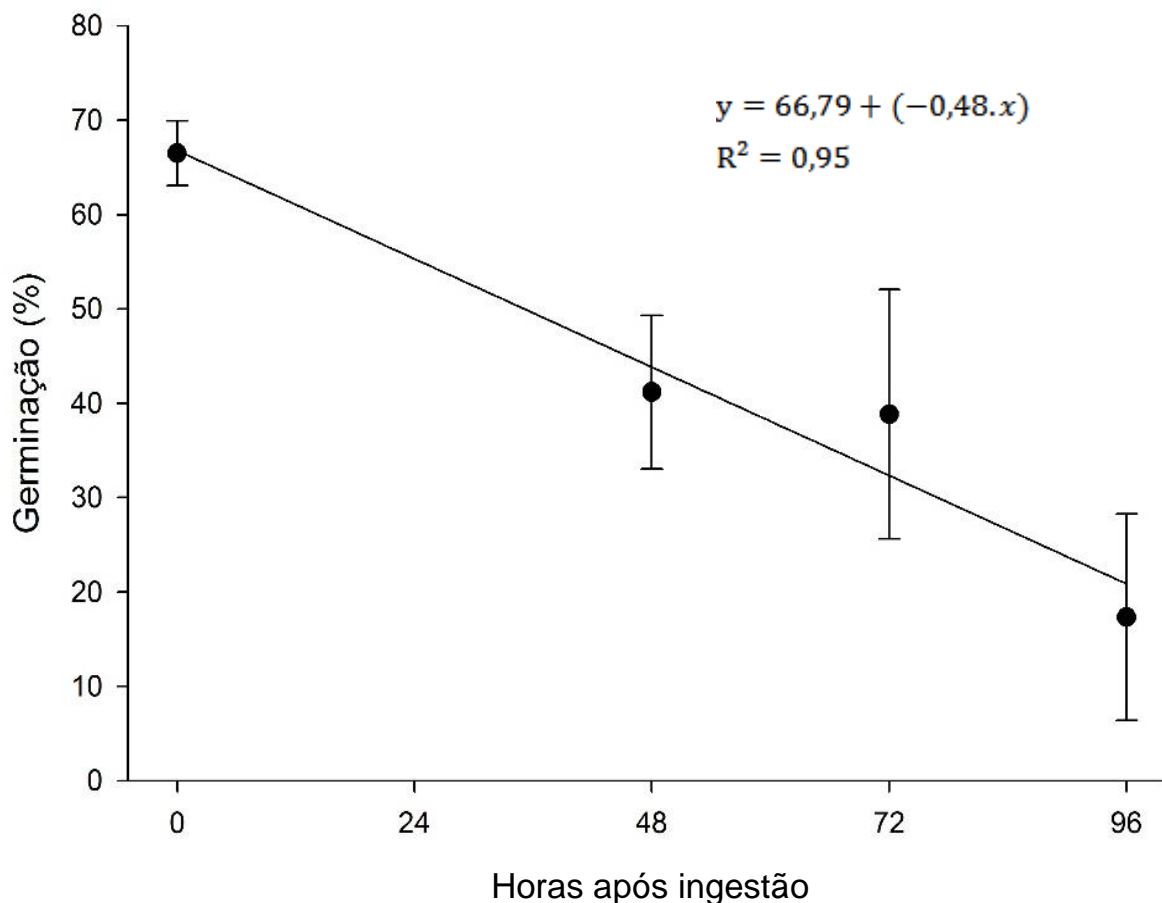


Figura 2: Germinação de sementes de *Lolium multiflorum* Lam. resistentes ao *glyphosate*, em função do tempo de recuperação em horas após a ingestão, recuperadas em fezes de bovinos, Itaqui-RS.

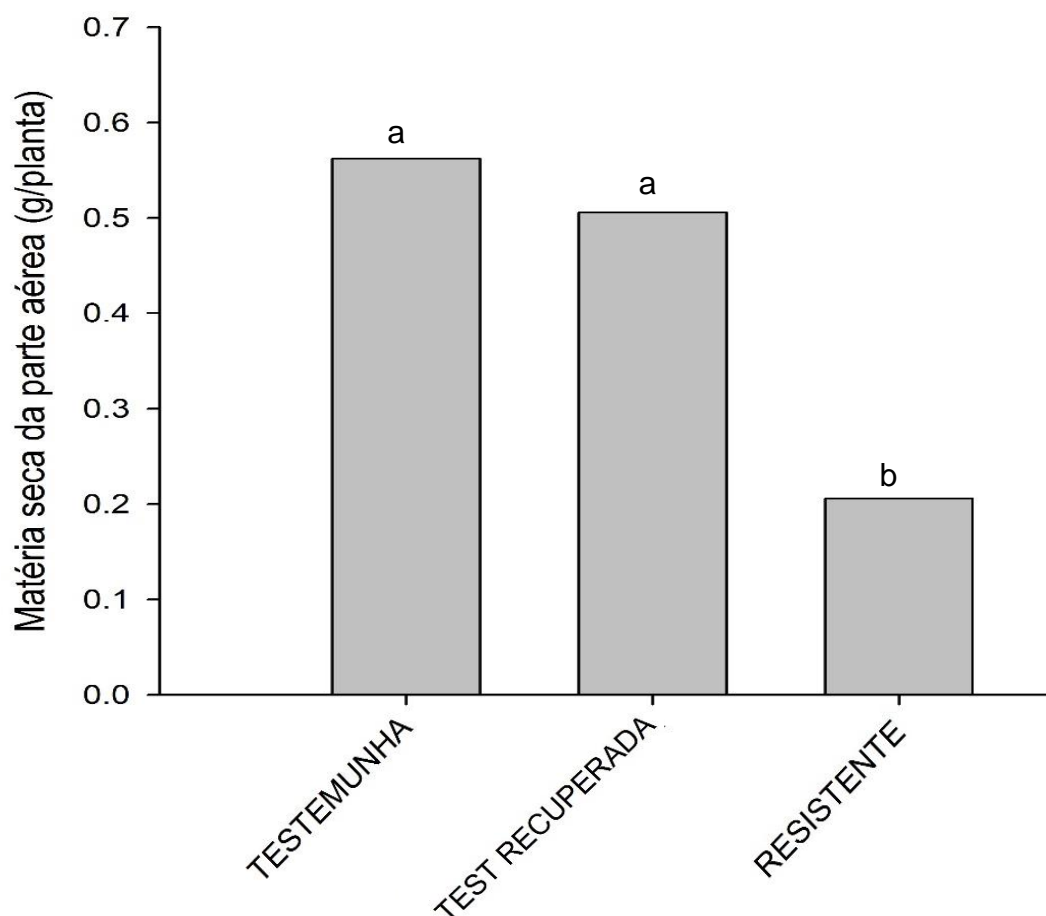


Figura 3: Matéria seca da parte aérea (MSPA) de *Lolium multiflorum* Lam. resistente ao *glyphosate*, (com aplicação de 3 L ha⁻¹ de Roundup®) e testemunha e testemunha recuperada (sem receberem aplicação), analisadas pelo teste de Fischer ($p \leq 0,05$), Itaqui-RS.

Para a variável controle das plantas resistentes em função das doses de equivalente ácido de *glyphosate* (Figura 4), observou-se que a dose recomendada do herbicida (1080 g e.a) apresentou eficiência de apenas 6% sobre as plantas. Até oito vezes (8640 g e.a) acima da dose recomendada do herbicida, tem-se no máximo 50% de plantas controladas. O controle apenas é superior a 90% quando utilizado aproximadamente 14 vezes ou mais da dose recomendada para controlar plantas suscetíveis. A MSPA da curva dose resposta apresentou redução de 54% do peso em comparação à testemunha, quando aplicado oito vezes acima da dose recomendada (Figura 5). Tão logo, quanto maior a dose, menor o peso final, sendo que o tratamento com 32 vezes reduziu 82% o peso do respectivo tratamento.

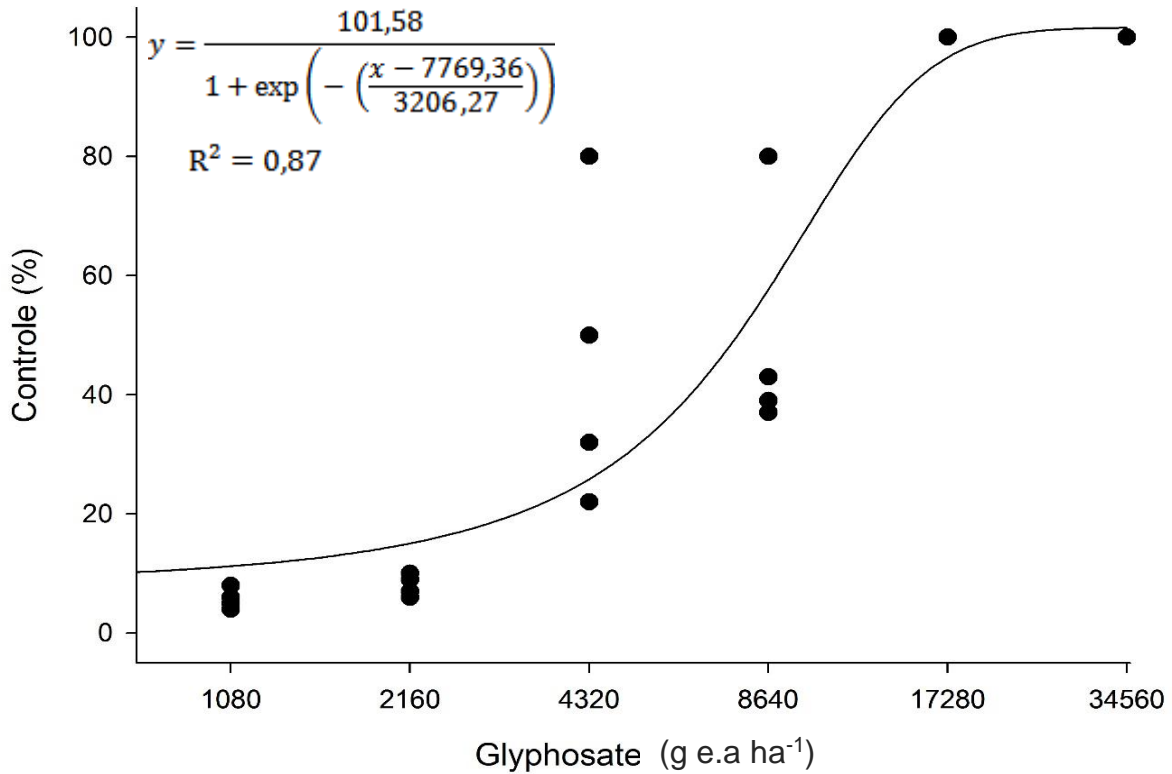


Figura 4: Controle de plantas de *Lolium multiflorum* Lam. resistentes ao *glyphosate*, em função de diferentes doses em gramas de equivalente ácido de *glyphosate* por hectare (g e.a ha⁻¹), Itaquí-RS.

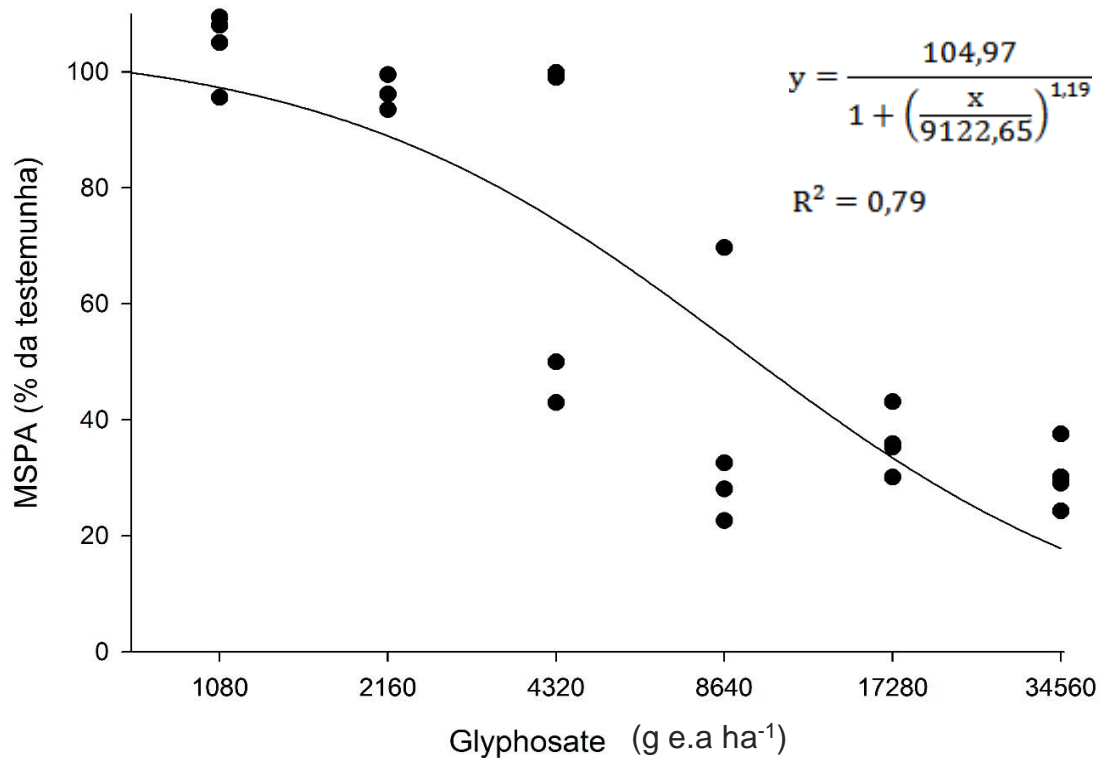


Figura 5: Matéria seca da parte aérea (MSPA) da curva dose resposta, de *Lolium multiflorum* Lam. resistente ao *glyphosate*, em função de diferentes doses em gramas de equivalente ácido por hectare (g e.a ha⁻¹) de *glyphosate*, 28 dias após aplicação, Itaquí-RS.

Os resultados obtidos para os componentes de produtividade conforme local de desenvolvimento, evidenciam maior número de espigas, espiguetas e sementes por planta, quando as plantas expressaram seu potencial produtivo a campo (Tabela 1). Para o número de espigas, o tratamento a campo promoveu acréscimo de mais de três vezes os valores comparados à restrição nutricional. Outro dado interessante é que as plantas que se desenvolveram a campo, apresentaram média de 4350 sementes. Isso corresponde a quase cinco vezes mais do que em ambiente com restrição nutricional.

Tabela 1: Relação entre os componentes de produtividade de *Lolium multiflorum* Lam. resistente ao *glyphosate* e seu nicho de desenvolvimento, Itaqui-RS 2015.

Componentes	Média	
	Em vaso	A campo
Espigas/planta	7	25
Espiguetas/planta	184	548
Sementes/planta	1156	4350

Embora a quantidade de sementes recuperadas nas fezes dos bovinos expresse um valor bastante inferior ao ingerido, é possível afirmar que, mesmo após as sementes serem ingeridas, ruminadas e passadas pelo sistema digestivo, uma parte é excretada junto as fezes dos animais. Em estudo realizado por Simão Neto et al. (1987) para avaliar os efeitos de diferentes espécies de sementes forrageiras ingeridas por ruminantes, foi verificado 12% de recuperação de sementes viáveis da espécie *Brachiaria decumbens*, sendo o segundo e terceiro dia os de maior quantificação. Já Lisboa et al. (2009) verificaram 43% de sementes de capim-annoni recuperadas do total ofertado para bovinos, sendo destas, 97,2% nos três primeiros dias. Esses dois trabalhos corroboram com os valores encontrados nessa pesquisa.

A propagação pela dispersão de sementes é um dos principais fatores que afetam a restauração de plantas na maioria das espécies utilizadas para pastagem (WENNY & LEVEY, 1998). Estudos sobre recuperação de sementes são realizados principalmente em espécies forrageiras, pela importância da ressemeadura natural na renovação e persistência de espécies utilizadas na forma de pastagens. Embora

para plantas daninhas sejam poucos relatos, Benvenuti (2007) aponta que, dentre os métodos de dispersão, a endozocoria contribui com 1,5% em nível mundial. Ruminantes como bovinos e ovinos são animais considerados com maior capacidade de dispersão zoocórica, destacando plantas da família Poaceae quanto trata-se de endozocoria (FISCHER et al., 1996).

As sementes após a ingestão podem sofrer danos por mastigação, degradação e digestão, assim, estão diretamente relacionados à dureza do tegumento, formato das sementes, e ainda, a espécie animal que as ingeriu, à qualidade da dieta consumida, estágio de maturidade e ao período de retenção no sistema digestivo (JANZEN, 1985; DEMINICIS et al., 2009). A passagem pelo sistema digestivo pode causar alterações na longevidade, dormência e germinação das sementes (MACHADO et al. 1997). Sementes pequenas e esféricas são mais propícias a permanecerem viáveis após excretadas, em decorrência da menor suscetibilidade por dano de mastigação (GARDENER et al., 1993).

Nos três dias de maior recuperação, a germinação média foi de 32%, inferior à testemunha (Figura 2). Em relatos feitos por Ocumpaugh et al. (1993), também houve redução linear no poder germinativo em espécies de gramíneas conforme o tempo de permanência no trato gastrointestinal de bovinos. Suspeita-se de que uma série de processos no trato gastrointestinal podem influenciar a redução de sementes excretadas nas fezes e sua viabilidade. A ruminação pode ocasionar danos mecânicos e o tempo de permanência no rúmen sofrendo ação dos microorganismos é variável conforme características da semente e do tipo da dieta. Além disso, também pode ocorrer influência do abomaso em decorrência da redução do pH e presença de ácido clorídrico.

Mesmo após passar pelo sistema digestivo dos bovinos, as sementes permaneceram resistentes ao *glyphosate*. Em dosagem onde o controle é satisfatório (Figura 4), o custo de aplicação e a pressão de seleção são elevados. Os resultados encontrados no controle de plantas são semelhantes aos observados por Vargas & Roman (2006) em biótipo resistente, havendo 45% de controle quando expostas a 5760 g e.a ha⁻¹. No atual trabalho, para os mesmos 45% de controle de plantas suscetíveis, foi preciso 7000 g e.a de *glyphosate*. Caso os animais estejam em área de pastagem consolidada apenas com azevém durante a estação fria de cada ano, a disseminação apenas no local não é prejudicial. Porém, caso haja outra

cultura em rotação com, ou os animais dessa área sejam deslocados para um local livre de infestação, é preferível evitar a formação de sementes pela planta.

Conforme os resultados obtidos na Tabela 1, pode-se fazer a simulação para ingestão. Considerando que um novilho em área com azevém com inflorescência madura, consome uma planta resistente ou o número de sementes viáveis produzidas por uma planta (4.350), haverá possibilidade de 396 sementes expostas ao ambiente. Levando em consideração o potencial de germinação de 32%, poderá haver 127 novas plantas resistentes no local. Diante disso, essa projeção aponta para o eminente cuidado ao manejar bovinos dentro de uma área com presença de azevém resistente aos herbicidas inibidores da EPSPs, pois o surgimento de inflorescência e conseqüentemente a formação de sementes maduras na planta diretamente disponíveis para pastejo, pode promover novos casos em áreas desprovidas de resistência caso não respeitado o período de quarentena.

O manejo adequado do azevém é fundamental, pois em área utilizada somente para pastagem sem rotação de culturas e sem presença de lavouras próximas, a ingestão dessas sementes pode contribuir com a manutenção do banco de sementes e conseqüentemente da pastagem. Em áreas onde é utilizada posteriormente outra cultura além do azevém, como trigo ou aveia por exemplo, é necessário impedir a formação de sementes viáveis e a ingestão destas, caso contrário, ocorrerá novas plantas resistentes no local. Já em outro caso, supondo que a formação da inflorescência e de sementes viáveis seja inevitável, o recurso do pastejo com bovinos pode reduzir a quantidade do banco de sementes, bem como a viabilidade, após passagem pelo sistema digestório.

4 CONCLUSÕES

Há capacidade de disseminação endozoocórica de sementes de *Lolium multiflorum* Lam. após passagem pelo trato gastrointestinal dos bovinos, inclusive nas 24 horas após ingestão. A ausência de sementes percebida no oitavo dia, indica o período de quarentena para a limpeza do trato gastrointestinal dos bovinos, impedindo novas contaminações de resistência. O tempo de permanência das sementes no sistema digestivo influencia a germinação de forma negativa. Embora a germinação seja reduzida, uma fração das sementes ainda permanecem viáveis.

A utilização de bovinos em áreas com presença de azevém resistente ao *glyphosate*, pode contribuir na redução do banco de sementes e sua viabilidade, desde que respeitado as condições de manejo propostas. O recurso do herbicida *glyphosate* é inviável para o controle satisfatório de novas plantas disseminadas na área, mesmo ocorrendo redução do peso da parte aérea após sua utilização.

REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, A.; ALBRECHT, L.; BARROSO, A.; VICTÓRIA FILHO, R. O milho RR2 e o glyphosate: Uma revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 13, n. 1, p. 58-67, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regra para análise de sementes/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria da Defesa Agropecuária – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.
- CORDEIRO, N.; HOWE, H.F. Forest fragmentation severs mutualism between seed dispersers and an endemic African tree. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 100, p.14052-14054, 2003.
- DEMINICIS, B.B.; VIEIRA, H.D.; ARAÚJO, S.A.C.; JARDIM, J.G.; PÁDUA, F.T.; NETO, A.C. Dispersão natural de sementes: importância, classificação e sua dinâmica nas pastagens tropicais. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 58, p. 35-58, 2009.
- DEUBER, R. **Ciência das Plantas Infestantes: Manejo**, 1. ed. Campinas, v. 2, 1997, 285p.
- DRISCOLL, D.A.; CATFORD, J.A.; BARNEY, J.N.; HULME, P.E.; INDERJIT, MARTIN, T.G.; PAUCHARD, A.; PYSEK, P.; RICHARDSON, D.M.; RILEY, S.; VISSER, V. New pasture plants intensify invasive species risk. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 111, n. 46, 2014.
- FISCHER, S.F.; POSCHLOD, P.; BEINLICH, B. Experimental studies on the dispersal of plants and animals on sheep in calcareous grasslands. **Journal of Applied Ecology**, Londres, v. 33, p. 1206-1222, 1996.
- FONTANELI, R. S. Azevém anual. In: FONTANELI, R.S.; SARTORI, J.F. **Estabelecimento, utilização e manejo de plantas forrageiras**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1993. 139p.
- FRANS, R.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. In: Southern Weed Science Society. **Research methods in weed science**, 3 ed. Clemson, 1986, p. 29-45.
- GALON, L.; TIRONI, S.P.; ROCHA, P.R.R.; CONCENÇO, G.; SILVA, A.F.; VARGAS, L.; SILVA, A.A.; FERREIRA, E.A.; MINELLA, E.; SOARES, E.R.; FERREIRA, F.A. Habilidade competitiva de cultivares de cevada convivendo com azevém. **Planta daninha**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 771-781, 2011.
- GARDENER, C.J.; MCLVOR, J.G.; JANSEN, A. Passage of legume and grass seeds through the digestive tract of cattle and their survival in feces. **Journal of Applied Ecology**, Londres, v. 30, p. 63–74, 1993.
- GE, X.; D'AVIGNON, D.A.; ACKERMAN, J.J.; COLLAVO, A.; SATTIN, M.; OSTRANDER, E.L.; PRESTON, C. Vacuolar glyphosate-sequestration correlates

with glyphosate resistance in ryegrass (*Lolium* spp.) from Australia, South America, and Europe: a ³¹P NMR investigation. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, v. 60, n. 5, p. 1243-1250, 2012.

HALL, J.B.; SWAINE, M.D. Seed Stocks in Ghanaian Forest Soils. **Biotropica**, Marburg, v. 12, p. 256-263, 1980.

HARTMANN, E.; SCHULDES H.; KÜBLER, R.; KONOLD, W. **Neophyten. Biologie, Verbreitung und Kontrolle ausgewählter Arten**. Landsberg: Ecomed, 1995, 302p.

IN KUK, Y.; BURGOS, N.R.; SCOTT, R.C. Resistance profile of diclofop-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) to ACCase-and ALS-inhibiting herbicides in Arkansas, USA. **Weed science**, v. 56, n. 4, p. 614-623, 2008.

JANZEN, D.H. How fast and why do germinating guanacaste seeds (*Enterolobium cyclocarpum*) die inside cows and horse. **Biotropica**, Marburg, v. 17, n. 4, p. 322-325, 1985.

LISBOA, C.A.V.; MEDEIROS, R.B.D.; AZEVEDO, E.B.D.; OSPINA PATINO, H.; CARLOTTO, S.B. Poder germinativo de sementes de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Ness) recuperadas em fezes de bovinos. **Revista brasileira de zootecnia: Brazilian journal of animal Science**, Viçosa, v. 38, n. 3, p. 405-410, 2009.

MACHADO, L.A.Z.; DENARDIN, R.N; JACQUES, A.V. A percentagem e dureza do tegumento de sementes de três espécies forrageiras recuperadas em fezes ovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 42-45, 1997.

OCUMPAUGH, W.R.; STUTH, J.W.; ARCHER, S.R. **Recovery and germination of switcgrass seed fed to cattle**. In: International grassland congress, 17, 1993. Glen Osmond, South Australia. Proceedings... Glen Ormond: The University of Adelaide, Wait Agricultural Institute, Australia, 1993, p. 316-319.

OLIVEIRA, V.D.S.; NETO, S.; ADELSON, J.; VALENÇA, R.D.L. Características químicas e fisiológicas da fermentação ruminal de bovinos em pastejo. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, Garça, v. 9, n. 20, 2013.

PEREZ, A.; KOGAN, M. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. **Weed Research**, Oxford, v. 43, n. 1, p. 12-19, 2003.

PEREZ, S.C.J.G.; PRADO, C.H.B.A. Efeitos de diferentes tratamentos pré-germinativos e da concentração de alumínio no processo germinativo de sementes de *Copaifera langsdorffii*. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 15, n.1, p.115-118, 1993.

REIS, E.M.; DANELLI, A.L.D. O azevém e a sanidade das lavouras de cereais de inverno: uma planta do bem ou do mal? **Revista Plantio Direto**, Passo Fundo, p. 52, 2011.

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

SCHNEIDER, C.; SUKOPP, U.; SUKOPP, H. Biologisch-ökologische Grundlagen des Schutzes gefährdeter Segetalpflanzen. **Schrift Vegetationsk**, v. 26, p. 1-356, 1994.

SIMÃO NETO, M.; JONES, R.M.; RATCLIFF, D. Recovery of pasture seed fed to ruminants. Seed of tropical pasture species fed to cattle, sheep and goats. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Austrália, v. 27, p. 239-246, 1987.

BENVENUTI, S. Weed seed movement and dispersal strategies in the agricultural environment. **Weed Biology and Management**, v. 7, n.3, p. 141-157, 2007.

VARGAS, L.; BIANCHI, M.A.; RIZZARDI, M.A. Resistência. **Cultivar**, Pelotas, v.9, n.97, p.5-7, 2007a.

VARGAS, L.; MORAES, R.M.A.; BERTO, C.M. Herança da resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao glyphosate. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 25, n.3, p.567-571, 2007b.

VARGAS, L.; GAZZIERO, D.L.P.; KARAM, D. **Azevém resistente ao glifosato: características, manejo e controle**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. 4p.

VARGAS, L.; ROMAN, E.S. **Características e manejo de azevém resistente ao glyphosate**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 9p.

WENNY, D.G.; LEVEY, D.J. Directed seed dispersal by bellbirds in a tropical cloud forest. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 95, p. 6204-6207, 1998.