

PROTETOR ISOXADIFEN DIMINUI CONTROLE DE *Echinochloa crus-galli* APÓS SELEÇÕES RECORRENTES COM FENOXAPROPE-P-ETÍLICO

Carlos Alberto Gonsiorkiewicz Rigon¹; Enrico Zilch Ferreira², Luan Cutti¹, Walker Schaidhauer¹, Guilherme Menegol Turra², Estefani Sulzbach², Andrew Rerison Silva de Queiroz¹, Aldo Merotto Jr.³

Palavras-chave: resistência, evolução, subdoses, capim-arroz,

INTRODUÇÃO

Protetores são compostos químicos utilizados para aumentar a seletividade dos herbicidas às culturas (ROSINGER e SHULTE, 2019). Estes produtos são compostos orgânicos bioativos que são aplicados em associação com herbicidas ou como tratamentos de sementes (HATZIOS e BURGOS, 2004). Os protetores são usados, na sua maioria, associados com herbicidas inibidores da enzima ACCase, ALS e também com inibidores de 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenase (4-HPPD) (ROSINGER e SHULTE, 2019).

A maior seletividade nas culturas através do uso de protetor ocorre devido a estes aumentarem a degradação do herbicida pela ativação de genes de detoxificação (HATZIOS e BURGOS, 2004). A ação destas moléculas ocorre rapidamente quando atinge a planta, antes que o herbicida cause fitotoxicidade à cultura (ROSINGER e SHULTE, 2019). O aumento da degradação do herbicida desencadeado pelo protetor é similar ao mecanismo de resistência aos herbicidas não relacionado ao local de ação (GHANIZADEH e HARRINGTON, 2017; NANDULA et al., 2019). As famílias de enzimas nas quais os protetores agem são as mesmas relacionadas à resistência aos herbicidas causada por incremento de metabolização, como principalmente enzimas do citocromo P450, glicosil-transferases (GT), e glutationa-S-transferases (GST) (HATZIOS e BURGOS, 2004; DELYE, 2013).

A evolução da resistência a partir da seleção por subdoses ocorre devido ao acúmulo de alelos de menor efeito de genes relacionados à metabolização dos herbicidas, principalmente genes da família citocromo P450 e GST (YU e POWLES, 2014). Vários genes da família CYP81, CYP72 e GSTs já foram identificados como responsáveis pela resistência aos herbicidas em várias espécies de plantas daninhas (IWAKAMI et al., 2019; DUHOUX et al., 2017; CHEN et al., 2018).

A hipótese deste estudo é que o efeito de protetores pode contribuir para a evolução da resistência em plantas daninhas, principalmente causada por metabolização de forma similar ao que ocorre quando usados herbicidas em subdoses. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito do uso recorrente de subdoses do herbicida fenoxaprope-p-etílico em associação com o protetor isoxadifen-etílico na evolução da resistência a este herbicida em *Echinochloa crus-galli*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os biótipos de capim-arroz MOST (suscetível aos inibidores da ACCase e ALS) e CAMAQ (resistente ao imazetapir por incremento de metabolização) foram utilizados no experimento. Os herbicidas utilizados foram o fenoxaprope-p-etílico (Podium[®] EW, 69 g L⁻¹) (fenoxaprope) e fenoxaprope-p-etílico + isoxadifen (Starice[®], 69 g L⁻¹ fenoxaprope-p-etílico e 75 g L⁻¹ de isoxadifen) (fenoxaprope + isoxadifen). O herbicida Starice apresenta formulação do ingrediente ativo fenoxaprope juntamente com o protetor isoxadifen.

¹Estudante de Pós-graduação em Fitotecnia, UFRGS/Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, Brasil, e-mail: ca_rigon@hotmail.com, luancutti@hotmail.com, wschaidhauer@hotmail.com, andrew_rerison@hotmail.com, ²Graduando em Agronomia, UFRGS/Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, Brasil, email: enricozpferreira@gmail.com, turragn@gmail.com; estefanisulzbach@gmail.com. ³Eng. Agr. Dr. Docente da UFRGS/Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, Brasil, e-mail: aldo.merotto@ufrgs.br.

Experimento prévio de curva de dose-resposta foi realizado com os herbicidas para ambos os biótipos para a definição das subdoses (dados não apresentados). A partir destes resultados, as maiores subdoses de ambos os herbicidas que não obtiveram controle total das plantas foram escolhidas para realizar as seleções recorrentes das gerações (G) de ambos os biótipos. Aplicações recorrentes de subdoses, seleção de plantas sobreviventes e multiplicação foram realizadas até a obtenção de sementes da geração G2 selecionadas com fenoxaprop e fenoxaprop + isoxadifen de ambos os biótipos. As aplicações das subdoses foram realizadas em população média de 189 plantas em cada geração distribuídas em bandejas preenchidas com solo. As plantas da geração G2 selecionadas com fenoxaprop foram obtidas após seleção e multiplicação de plantas sobreviventes às doses de 13,8 (G0) e 17,25 g ha⁻¹ de fenoxaprop (G1) para o biótipo MOST e às doses de 13,8 (G0) e 13,8 g ha⁻¹ de fenoxaprop (G1) para o biótipo CAMAQ. As plantas da geração G2 selecionadas com fenoxaprop + isoxadifen foram obtidas após seleção e multiplicação de plantas sobreviventes às doses de 17,25 (G0) e 17,25 g ha⁻¹ de fenoxaprop + isoxadifen (G1) para o biótipo MOST e às doses de 13,8 (G0) e 20,7 g ha⁻¹ de fenoxaprop + isoxadifen (G1) para o biótipo CAMAQ. Em cada ciclo de seleção, uma população de 40 a 50 plantas de cada biótipo foi utilizada como testemunha sem seleção de plantas (sem aplicação de herbicida). Destas plantas, 20 plantas foram escolhidas aleatoriamente para obter as gerações G1 e G2 controle (sem seleção).

Experimento final de curva de dose-resposta foi realizado com as plantas de capim-arroz dos biótipos MOST e CAMAQ das gerações G0, G2 controle e G2 selecionadas com os herbicidas fenoxaprop e fenoxaprop + isoxadifen com cada herbicida utilizado nas seleções das gerações. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 × 8, com 4 repetições. A unidade experimental foi composta por vaso com volume de 200 mL com uma planta individual. O fator A foi composto pelas gerações de seleção G0, G2 controle (não selecionada) e G2 selecionada com fenoxaprop ou com fenoxaprop + isoxadifen de cada biótipo (MOST ou CAMAQ) e o fator B pelas doses 0; 1,7; 3,4; 6,9; 13,8; 27,6; 55,2; 110,4 e 220,8g de fenoxaprop ou fenoxaprop + isoxadifen. A variável avaliada foi o controle visual aos 21 dias após a aplicação (DAA). Foram também realizadas avaliações de massa seca e fresca (dados não apresentados).

A aplicação dos herbicidas foi realizada em câmara de pulverização automatizada (Greenhouse Spray Chamber, modelo Generation III), utilizando ponta de pulverização TJ8002E, com volume de calda foi de 200 L ha⁻¹. A aspersão dos herbicidas ocorreu no estágio de 3-4 folhas das plantas. As plantas foram mantidas em casa de vegetação climatizada e lâmina de água foi mantida ao nível do solo até as avaliações finais dos experimentos.

A análise dos dados foi realizada com o *software* estatístico R v.3.5.3 (R CORE TEAM, 2019). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ajustados pelo modelo log-logístico de 4 parâmetros. As doses dos herbicidas que causaram redução de 50% no controle visual (C₅₀) foram estimados pela equação do modelo utilizado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação entre os fatores geração e dose dos herbicidas fenoxaprop ou fenoxaprop + isoxadifen foram significativas para a variável controle visual aos 21 DAA para os biótipos MOST e CAMAQ. O controle das plantas de capim-arroz do biótipo MOST e CAMAQ da geração G2 selecionada com fenoxaprop foi significativamente menor em relação às plantas das gerações G0 e G2 controle após aplicação de doses de fenoxaprop (Figura 1 A e C). Do mesmo modo, o controle das plantas da geração G2 selecionada com fenoxaprop + isoxadifen foi reduzido após aplicação deste herbicida para ambos os biótipos (Figura 1 B e D).

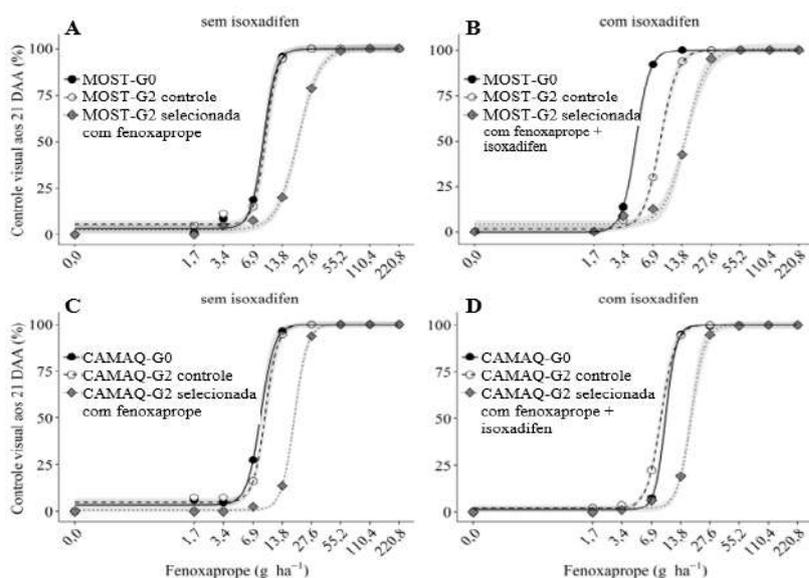


Figura 1. Figura 1. Controle visual aos 21 DAA (%) das plantas das gerações de seleções dos biótipos de capim-arroz MOST (A e B) e CAMAQ (C e D) em relação à aplicação do herbicida fenoxaprop (A e C) e fenoxaprop + isoxadifen (B e D).

O fator de resistência (FR) da variável controle visual para o biótipo MOST após aplicação de fenoxaprop foi de 2,3 (Tabela 1). A aplicação de fenoxaprop com isoxadifen aumentou o FR das plantas da G2 selecionada para 3,3 (Tabela 1). O FR da variável controle para o biótipo CAMAQ foi de 2,2 e 1,8 para os herbicidas fenoxaprop e fenoxaprop + isoxadifen, respectivamente. Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que o controle das gerações G2 de ambos os biótipos selecionadas com os herbicidas fenoxaprop associado ou não com o protetor isoxadifen, foi menor e significativo em comparação as plantas da geração G0 e G2 não selecionada. A sobrevivência de plantas daninhas a partir do uso de subdoses de herbicidas proporciona a diminuição do controle das suas progênies (NEVE e POWLES, 2005). Isto ocorre pelo fato de que a aplicação de subdoses de herbicida age na variação genética da população de plantas daninhas, permitindo a sobrevivência de plantas que apresentam capacidade de metabolizar pequenas doses (BUSI et al., 2013).

Tabela 1. Parâmetros da equação logística e fator de resistência (FR) para a variável controle visual aos 21 DAA das plantas de capim-arroz MOST e CAMAQ das gerações G0 (não selecionada), G2 controle (não selecionada) e G2 selecionadas submetidas às diferentes doses de fenoxaprop e fenoxaprop + isoxadifen.

Geração	Herbicida aplicado	C ₅₀		FR	C ₅₀		FR
		Dose (g ha ⁻¹)	IC		Dose (g ha ⁻¹)	IC	
		-----MOST-----			-----CAMAQ-----		
G0		8,8	±0,5	-	8,2	±0,2	-
G2 controle	fenoxaprop	7,5	±6,4	0,8	9,2	±0,6	1,1
G2 selecionada com fenoxaprop		20,1	±1,0	2,3*	18,3	±0,7	2,2*
		-----MOST-----			-----CAMAQ-----		
G0		4,6	±0,2	-	9,5	±0,4	-
G2 controle	fenoxaprop + isoxadifen	8,2	±0,3	1,8*	8,6	±0,5	0,9
G2 selecionada com fenoxaprop + isoxadifen		15,1	±0,6	3,3*	17,5	±0,7	1,8*

C₅₀: dose do herbicida que causa redução de 50% da variável controle; IC: intervalo de confiança do parâmetro C₅₀ ($\alpha=0,05$); FR: fator de resistência = C₅₀ da G2 controle (não selecionada) ou G2 selecionada/C₅₀ da G0 (não selecionada) dentro de cada biótipo e herbicida. *p<0,05 pelo teste F.

O uso de subdoses do protetor isoxadifen com fenoxaprop na seleção das gerações

proporcionou maior redução da sensibilidade das plantas do biótipo MOST na geração G2, aumentando o FR (Tabela 1). Para o biótipo CAMAQ, apesar das plantas G2 selecionadas com os herbicidas apresentarem menor controle, a adição do protetor não aumentou o FR para este biótipo (Tabela 1). Isto demonstra que a especificidade do protetor ocorre não apenas nas culturas (ROSINGER e SHULTE, 2019), mas também em biótipos de plantas daninhas. O protetor isoxadifen proporcionou aumento do fator de resistência provavelmente pela ativação de genes que codificam enzimas envolvidas na defesa da planta, como as citocromo P450, GST, GT (DUHOX et al., 2017). O protetor isoxadifen já foi identificado na ativação de genes P450, GST e GT na cultura do milho na metabolização de nicosulfuron (SUN et al., 2017; SUN et al., 2018), o que pode ter ocorrido no presente estudo.

CONCLUSÃO

Plantas da geração G2 selecionadas com subdoses de fenoxaprop apresentam maior tolerância ao herbicida em comparação com a G0. O protetor isoxadifen associado ao herbicida fenoxaprop proporcionou aumento do FR no biótipo MOST. O uso de subdoses do herbicida fenoxaprop associado ou não ao protetor isoxadifen apresenta potencial para a evolução da resistência a este herbicida.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo suporte financeiro ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUSI, R.; NEVE, P.; POWLES, S. Evolved polygenic herbicide resistance in *Lolium rigidum* by low-dose herbicide selection within standing genetic variation. **Evolutionary Applications**, v.6, n.2, p. 231-242, 2013.
- CHEN, G. Q. et al. Fenoxaprop-P-ethyl resistance conferred by cytochrome P450s and target site mutation in *Alopecurus japonicus*. **Pest Management Science**, v.74, n.7, p.1694-1703, 2018.
- DELYE, C. Unravelling the genetic bases of non-target-site-based resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forth coming decade. **Pest Management Science**, v.69, n.2, p. 176-187, 2013.
- DUHOX, A. et al. Herbicide safeners decrease sensitivity to herbicides inhibiting acetolactate-synthase and likely activate non-target-site-based resistance pathways in the major grass weed *Lolium* sp (rye-grass). **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.14, 2017.
- HATZIOS, K. K.; BURGOS, N. Metabolism-based herbicide resistance: regulation by safeners. **Weed Science**, v.52, n.3, p.454-467, 2004.
- IWAKAMI, S. et al. CYP81A P450s are involved in concomitant cross-resistance to acetolactate synthase and acetyl-CoA carboxylase herbicides in *Echinochloa phylllopogon*. **New Phytologist**, v. 221, n.4, p.2112-2122, 2019.
- NANDULA, V. K. et al. Herbicide metabolism: crop selectivity, bioactivation, weed resistance, and regulation. **Weed Science**, v.67, n.2, p.149-175, 2019.
- NEVE, P.; POWLES, S. High survival frequencies at low herbicide use rates in populations of *Lolium rigidum* result in rapid evolution of herbicide resistance. **Heredity**, v.95, n.6, p.485-492, 2005.
- R Core Team. R version 3.3.3: **A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. URL <https://www.r-project.org/>. 2019.
- ROSINGER, C; SCHULTE, W. **Safeners for herbicides**. In: Modern Crop Protection Compounds. 3.nd, ed. Jeschke, P.; Witschel, M.; Krämer, W.; Schirmer, U., Wiley J. Editors. Vol.1-3. Wiley-VCH Verlag; Weinheim, Germany, 2019. p 425-450.
- SUN, L. L. et al. Physiological basis for isoxadifen-ethyl induction of nicosulfuron detoxification in maize hybrids. **Plos One**, v.12, n.3, p.16, 2017.
- SUN, L. L. et al. The expression of detoxification genes in two maize cultivars by interaction of isoxadifen-ethyl and nicosulfuron. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.129, p.101-108, 2018.
- YU, Q.; POWLES, S. Metabolism-based herbicide resistance and cross-resistance in crop weeds: a threat to herbicide sustainability and global crop production. **Plant Physiology**, v.166, n.3, p.1106-1118, 2014.

