

SELEÇÃO COM SUBDOSES DE HERBICIDAS CAUSA DIMINUIÇÃO DE CONTROLE POR QUINCLORAQUE EM *Echinochloa crus-galli*

Carlos Alberto Gonsiorkiewicz Rigon¹; Paula Sinigaglia Angonese², Luan Cutti¹, Enrico Zilch Ferreira², Walker Schaidhauer¹, Eduardo Silvestri Artico², Aldo Merotto Jr³

Palavras-chave: evolução, resistência-múltipla, capim-arroz, fenoxaprope, imazethapyr

INTRODUÇÃO

O aumento dos casos de resistência múltipla por metabolização aos herbicidas vem dificultando o manejo das plantas daninhas (HEAP, 2019; NANDULA et al., 2019). A utilização de subdoses com o objetivo de diminuir o custo do herbicida é uma das práticas associada na evolução da resistência aos herbicidas (TEHRANCHIAN et al., 2017). Somado a isso, aplicações em condições ambientais inadequadas, deficiente cobertura e também momento inadequado de aplicação resultam na ocorrência de subdoses e contribuem para a evolução da resistência a herbicidas.

A aplicação recorrente de doses menores que a recomendada resulta na seleção de indivíduos que apresentam menor sensibilidade ao herbicida (NEVE e POWLES, 2005). Poucos ciclos de seleções com subdoses de herbicidas são suficientes para reduzir o controle de plantas daninhas. Apenas três ciclos de aplicação de subdoses de diclofope-metil e dicamba foram capazes de diminuir o controle em plantas suscetíveis de *Lolium rigidum* e *Amaranthus palmeri*, respectivamente, devido ao acúmulo de alelos relacionados a enzimas detoxificadoras (NEVE e POWLES, 2005; TEHRANCHIAN et al., 2017).

A seleção com subdoses também tem potencial para evolução da resistência cruzada ou múltipla. O uso de subdoses de diclofope na seleção de plantas de *Avena fatua* proporcionou rápida evolução da resistência ao herbicida e aos inibidores da enzima ALS mesosulfuron e imazapir + imazapique (BUSI et al., 2016). A resistência por metabolização em plantas daninhas é a mais preocupante pois apresenta esta característica da capacidade de metabolizar herbicidas de diferentes grupos e até mesmo moléculas que nunca antes foram aplicadas ou utilizadas em anos anteriores nas lavouras (NANDULA et al., 2019).

O grande número de casos de resistência a herbicidas causada por incremento de metabolização em capim-arroz (MATZENBACHER et al., 2015; HEAP, 2019) caracteriza uma nova dinâmica da evolução de plantas resistentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da seleção de plantas com o uso contínuo de subdoses de fenoxaprope-p-etílico, imazetapir e mistura destes na evolução da resistência ao herbicida quincloraque por metabolização 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 (MATZENBACHER et al., 2015). Os herbicidas utilizados foram o fenoxaprope-p-etílico (Starice®, 69 g L⁻¹) (fenoxaprope) e Imazetapir (Imazetapir Plus Nortox, 100 g L⁻¹). Aplicações recorrentes de subdoses, seleção de plantas sobreviventes e multiplicação foram realizadas até a obtenção de

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. ²Graduando (a) em Agronomia, UFRGS/Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, Brasil, email: paulasangonese@gmail.com, enricozpferreira@gmail.com, eduardostarlone@gmail.com. ³Eng. Agr. Dr. Docente da UFRGS/Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, Brasil, e-mail: aldo.merotto@ufrgs.br.

sementes da geração G2 selecionadas com fenoxaprope, imazetapir e mistura 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 fenoxaprope foram obtidas após seleção e multiplicação de plantas sobreviventes às doses de 17,2 (G0) e 17,2 (G1) para o biótipo MOST e às doses de 13,8 (G0) e 20,7 g ha⁻¹ de fenoxaprope (G1) para o biótipo CAMAQ. As plantas da geração G2 selecionadas com imazetapir foram obtidas da seleção de plantas sobreviventes após aplicação das subdoses de oito (G0) e 15 (G1) para MOST e 320 (G0) e 640 g ha⁻¹ de imazetapir (G1) para o biótipo CAMAQ. As plantas da geração G2 selecionadas com mistura foram obtidas da seleção de plantas sobreviventes após aplicação das subdoses de 3,4 + 20 (G0) e 6,9 + 30 (G1) para MOST e 10,3 + 35 (G0) e 27,6 + 80 g ha⁻¹ de fenoxaprope + imazetapir (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).

Após a obtenção das gerações selecionadas, experimento final de curva de dose-resposta com o herbicida quincloraque foi realizado. A verificação da diminuição do controle pela maior metabolização foi realizada pela aplicação do inibidor de enzimas P450 malathion. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema trifatorial 3 × 8 × 2, com 4 repetições. O fator A foi composto pelas gerações de seleção G0, G2 controle (não selecionada) e G2 selecionada com fenoxaprope ou imazetapir ou mistura de cada biótipo, o fator B pelas doses de 0; 18,7; 37,5; 75; 150; 225 (para MOST); 300; 375 e 750 g ha⁻¹ (para CAMAQ) de quincloraque e o fator C pela aplicação ou não do inibidor malathion, duas horas antes da aplicação dos herbicidas. A unidade experimental foi composta por vaso com volume de 200 mL com uma planta individual. A variável avaliada foi o controle visual aos 21 dias após a aplicação (DAA).

A aplicação dos herbicidas foi realizada em câmara de pulverização automatizada (Greenhouse Spray Chamber, modelo Generation III), utilizando ponta de pulverização TJ8002E. O 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.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação tripla entre os fatores geração, inibidor e doses do herbicida foi significativa para as variáveis controle visual aos 21 DAA para ambos os biótipos MOST e CAMAQ. O controle das plantas da G2 selecionadas do biótipo MOST foi maior em comparação à G0, principalmente nas plantas das gerações G2 selecionadas com fenoxaprope e com mistura (Figura 1A). Sem a aplicação prévia de malathion, os valores de FR não diferiram da G0 para esse biótipo (Tabela 1). A aplicação do inibidor de P450 malathion proporcionou maior controle das plantas, diminuindo significativamente os valores de C₅₀ das gerações G2 selecionadas (Figura 1B e Tabela 1). No entanto, esse efeito também ocorreu para as plantas da geração G0 (Tabela 1).

As plantas das gerações G2 selecionadas tanto com fenoxaprope quanto com mistura do biótipo CAMAQ apresentaram maior tolerância ao quincloraque em relação à G0 (Figura 1C). O controle das plantas selecionadas com imazetapir foi similar ao controle das plantas da geração G0, ou seja, foram suscetíveis ao herbicida quincloraque (Figura 1C). As plantas da G2

selecionadas com fenoxaprop e mistura apresentaram C_{50} de 165,9 e 121,6g de quincloraque, respectivamente, comparada com 34,6g da geração G0 (Tabela 1). Estes resultados proporcionaram um FR alto e significativo de 4,8 e 3,5, respectivamente (Tabela 1). A aplicação prévia do inibidor malathion resultou em maior controle pelo herbicida quincloraque das plantas da G2 selecionadas com fenoxaprop e mistura (Figura 1D e Tabela 1). Os valores de FR diminuíram de 4,8 para 1,7 e de 3,5 para 1,7, respectivamente para G2 selecionada com fenoxaprop e G2 selecionada com mistura deste biótipo (Tabela 1). Não foi verificado efeito da aplicação prévia do malathion no controle das plantas da geração G0 do biótipo CAMAQ (Tabela 1).

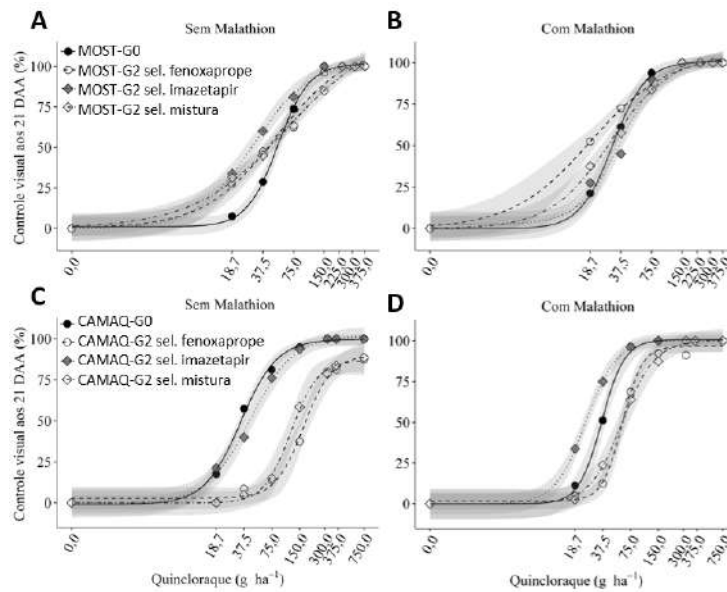


Figura 1. Controle visual aos 21 DAA (%) das plantas de capim-arroz das gerações G0, G2 selecionada com subdoses de fenoxaprop, G2 selecionada com subdoses de imazetapir e G2 selecionada com subdoses de mistura do biótipo MOST (A e B) e CAMAQ (C e D) em relação à aplicação do herbicida quincloraque sem (A e C) ou com (B e D) a aplicação de 1000g ha⁻¹ do inibidor malathion duas horas antes da aplicação do herbicida.

A evolução do aumento de tolerância ao quincloraque ocorrida no biótipo CAMAQ é possivelmente devido ao incremento de metabolização, embora outra regulação pode ter sido causada pelas gerações de seleção com os herbicidas fenoxaprop e fenoxaprop + imazetapir. Este biótipo já possui regulação genética para aumento de metabolização do herbicida imazetapir (MATZENBACHER et al., 2015) e possivelmente os mesmos genes podem estar regulando para a diminuição do controle pelo quincloraque. Vários casos de resistência múltipla aos herbicidas inibidores da ALS e quincloraque foram relatados em biótipos de capim-arroz (MATZENBACHER et al., 2015; WRIGHT et al., 2018; HEAP, 2019) e os resultados do presente estudo podem ajudar a explicar como pode ter sido iniciado a evolução da resistência múltipla nas lavouras, principalmente quando do uso de misturas de herbicidas em subdoses para o manejo da resistência.

De forma semelhante ao presente trabalho, o uso de malathion também reverteu a resistência ao quincloraque em biótipos de *E. phyllopogon* (YASUOR et al., 2012). A aplicação de malathion reduziu a atividade da enzima β -CAS em até 40%, diminuindo significativamente a degradação de cianeto, tornando a planta resistente mais suscetível ao quincloraque (YASUOR et al., 2012). Com base nos resultados obtidos, a seleção de biótipos de capim-arroz pelas subdoses de fenoxaprop e mistura de fenoxaprop + imazetapir possivelmente promoveram regulação para maior atividade da enzima β -CAS, a qual permite maior detoxificação de cianeto. Esta regulação se confirma devido a reversão dos FRs através da aplicação prévia de malathion (Tabela

1). No entanto, outras regulações podem ter proporcionado a maior tolerância e estudos posteriores serão realizados para elucidar melhor os mecanismos.

Tabela 1. Fator de resistência (FR) para a variável controle visual aos 21 DAA das plantas de capim-arroz das gerações G0, G2 selecionada com fenoxaprope, G2 selecionada com imazetapir, G2 selecionada com mistura do biótipo CAMAQ submetidas às diferentes doses de quincloraque com ou sem a aplicação prévia de 1000 g ha⁻¹ do inibidor malathion.

Geração	Malathion (1000 g ha ⁻¹)	C ₅₀		FR	C ₅₀		FR
		Dose (g ha ⁻¹)	IC		Dose (g ha ⁻¹)	IC	
-----MOST-----				-----CAMAQ-----			
G0 não selecionada	sem	52,7	±6,27	-	34,6	±6,0	
	com	31,3	±3,93	0,6*	36,9	±4,2	1,1
G2 selecionada com fenoxaprope	sem	50,5	±5,23	0,9	165,9	±27,9	4,8*
	com	18,9	±3,50	0,3*	60,9	±7,1	1,7*
G2 selecionada com imazetapir	sem	30,6	±6,30	0,6*	44,1	±8,7	1,2
	com	37,5	±6,30	0,7*	24,5	±3,6	0,7*
G2 selecionada com mistura	sem	63,5	±27,5	1,2	121,6	±19,3	3,5*
	com	30	±6,20	0,6*	60,2	±9,3	1,7*

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 das gerações G2 submetidas a aplicação dos tratamentos/C₅₀ da geração G0 tratada com quincloraque sem aplicação prévia do inibidor. Mistura: fenoxaprope + imazetapir. * p<0,05 pelo teste F.

CONCLUSÃO

A seleção com aplicações contínuas de subdoses de fenoxaprope e fenoxaprope + imazetapir proporcionam diminuição do controle por quincloraque em plantas de *Echinochloa crus-galli*, principalmente em plantas com características de resistência aos herbicidas causada por incremento de metabolização.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo suporte financeiro ao desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUSI, R.; GIROTTO, M.; POWLES, S. B. Response to low-dose herbicide selection in self-pollinated *Avena fatua*. **Pest Management Science**, v. 72, n. 3, p. 603-608, 2016.
- HEAP, I. **The international survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em <<http://www.weedscience.com>> Acesso em: 10 de março de 2019.
- MATZENBACHER, F. O. et al. Distribution and analysis of the mechanisms of resistance of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) to imidazolinone and quinclorac herbicides. **Journal of Agricultural Science**, v. 153, n. 6, p. 1044-1058, 2015.
- 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.
- TEHRANCHIAN, P. et al. Recurrent sublethal-dose selection for reduced susceptibility of palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) to dicamba. **Weed Science**, v. 65, n. 2, p. 206-212, 2017.
- WRIGHT, A. A. et al. Multiple herbicide-resistant junglerice (*Echinochloa colona*): identification of genes potentially involved in resistance through differential gene expression analysis. **Weed Science**, v. 66, n. 3, p. 347-354, 2018.
- YASUOR, H. et al. Quinclorac resistance: a concerted hormonal and enzymatic effort in *Echinochloa phyllopogon*. **Pest Management Science**, v. 68, n. 1, p. 108-115, 2012.