

## USO RECORRENTE DE SUBDOSES DE HERBICIDAS EM MISTURA DIMINUI O CONTROLE DE *Echinochloa crus-galli*

Guilherme Menegol Turra<sup>2</sup>, Carlos Alberto Gonsiorkiewicz Rigon<sup>1</sup>, Christian Menegaz<sup>1</sup>, Mateus Gallon<sup>1</sup>, Joana Schroeder de Souza<sup>2</sup>, Catarine Markus<sup>3</sup>, Emerson da Silva Teixeira<sup>1</sup>, Aldo Merotto Jr<sup>3</sup>

Palavras-chave: sobrevivência, capim-arroz, fenoxaprope, imazethapyr

### INTRODUÇÃO

A mistura de herbicidas é utilizada para aumentar o espectro de controle e reduzir custos de aplicações (ZHANG et al., 1995). O uso de herbicidas isolados ou em rotações anuais resulta imposição da pressão de seleção apenas por um mecanismo de ação, enquanto que na aplicação em mistura a pressão de seleção imposta é múltipla e simultânea. Com a aplicação em misturas, a pressão de seleção de dois mecanismos de ação diferentes resulta na sobrevivência de apenas indivíduos raros que tenham desenvolvido resistência múltipla via mutação nos loci dos genes codificantes das enzimas alvos (NORSWORTHY et al., 2012) ou devido a evolução simultânea de genes não associados ao local de ação.

A prática da mistura tem sido designada como uma das principais estratégias para evitar a resistência a herbicidas (BECKIE e HARKER, 2017). No entanto, esta recomendação é efetuada principalmente com base na evolução da resistência associada às mutações nos genes codificantes das enzimas alvos. A utilização da mistura de herbicidas para prevenção e controle da ocorrência da resistência não tem sido avaliada em relação à evolução da resistência causada por metabolização. Além disso, a mistura de herbicidas é realizada, na maioria dos casos, sem nenhum acompanhamento técnico ou conhecimento prévio por parte do produtor, ou recomendações sobre as doses e características dos herbicidas utilizados (GAZZIERO, 2015; MATZENBACHER et al., 2015).

A evolução de resistência por metabolização pode ocorrer pela seleção de plantas daninhas através do uso de subdoses (NEVE e POWLES et al., 2005). Isto ocorre pelo empilhamento de genes de menores efeitos nas progênies, como os da família citocromo P450 monooxigenases (P450), glutathione-S-transferases (GST) e glicosiltransferases (GT) que codificam enzimas capazes de metabolizar a molécula herbicida (NEVE e POWLES, 2005 e NANDULA et al., 2019).

A hipótese do trabalho é que a utilização de misturas em subdoses dos herbicidas pode favorecer a evolução da resistência por metabolização. O efeito de um dos componentes da mistura pode contribuir para a evolução da resistência por metabolização através de genes associados à tolerância ao outro produto. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da seleção de plantas com o uso recorrente de subdoses da mistura dos herbicidas fenoxaprope-p-etílico e imazetapir na evolução da resistência 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. Os herbicidas utilizados foram o fenoxaprope-p-etílico (Starice<sup>®</sup>, 69 g L<sup>-1</sup>) (fenoxaprope) e Imazetapir (Imazetapir Plus Nortox, 100 g L<sup>-1</sup>).

<sup>1</sup>Estudante de Pós-graduação em Fitotecnia, UFRGS/Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, Brasil, e-mail: ca\_rigon@hotmail.com, menegazmello@hotmail.com, mtgallon90@yahoo.com.br, emerson\_teixeira20@yahoo.com.br. <sup>2</sup>Graduando (a) em Agronomia, UFRGS/Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, Brasil, email: [turragn@gmail.com](mailto:turragn@gmail.com), [joanadesouza29@gmail.com](mailto:joanadesouza29@gmail.com). <sup>3</sup>Eng. (a), Agr. (a) Dr. (a) Docente da UFRGS/Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, RS, Brasil, e-mail: [catarine.markus@ufrgs.br](mailto:catarine.markus@ufrgs.br), [aldo.merotto@ufrgs.br](mailto:aldo.merotto@ufrgs.br).

Experimento prévio de curva de dose-resposta foi realizado com os herbicidas isolados e em mistura para ambos os biótipos para a definição das subdoses (dados não apresentados). As maiores subdoses dos 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 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<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> 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).

O 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 fenoxaprope, imazetapir e mistura 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 fenoxaprope ou imazetapir ou mistura de cada biótipo 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 fenoxaprope ou 0, 1; 2,5; 5; 10; 20; 40; 80 e 100 g de imazetapir e 0,8+5; 1,7+10; 3,4+20; 6,9+30; 13,8+40; 27,6+80; 55,2+160; 110+320 g ha<sup>-1</sup> de fenoxaprope + imazetapir. 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 com volume de calda de 200 L ha<sup>-1</sup>. A aspersão dos herbicidas ocorreu no estágio de 3-4 folhas das plantas. As plantas foram mantidas em casa de vegetação climatizada e a lâmina de água foi mantida ao nível do solo até as avaliações finais dos experimentos.

A análise dos dados foi realizada através do *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 (C<sub>50</sub>) foram estimados pela equação do modelo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação entre os fatores geração (G) e doses dos herbicidas fenoxaprope, imazetapir e mistura foi significativa para a variável controle aos 21 DAA para os biótipos MOST e CAMAQ. O controle da geração G2 selecionada com fenoxaprope foi significativamente reduzido em comparação com a G0, para ambos os biótipos após aplicação de fenoxaprope (Figura 1 A e B). Os valores do fator de resistência (FR) das gerações G2 selecionadas destes biótipos foram de 3,2 e 2 para MOST e CAMAQ, respectivamente, demonstrando diminuição do controle (Tabela 1).

O controle das plantas da geração G2 selecionadas com imazetapir foi similar à geração G0 em ambos os biótipos (Figura 1B e D). O valor de C<sub>50</sub> da geração G2 selecionada com imazetapir do biótipo MOST (6,2g) e CAMAQ (5,7g) não resultaram em aumento significativo do FR (Tabela 1). As plantas da G2 controle (não selecionada) foram significativamente mais suscetíveis ao herbicida para o biótipo MOST e para CAMAQ nas maiores doses (Figura 1C e D). As plantas da G2 selecionadas com imazetapir não mostraram nenhuma redução de controle, ao contrário do que ocorreu com as plantas selecionadas com subdoses do herbicida fenoxapropre (Tabela 1).

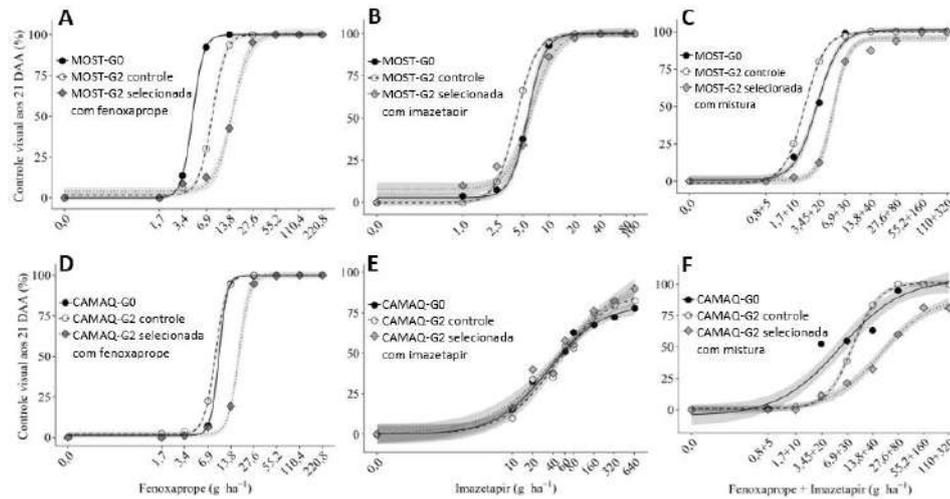


Figura 1. Controle visual aos 21 DAA (%) das plantas de capim-arroz das gerações G0, G2 controle e G2 selecionadas do biótipo MOST (A, B e C) e CAMAQ (D, E e F) em relação à aplicação do herbicida fenoxapropre (A e D), imazetapir (B e E) e mistura (fenoxapropre + imazetapir) (C e F).

As plantas de capim-arroz da G2 selecionadas com subdoses de mistura foram controladas em menor magnitude em comparação à G0 e G2 controle (Figura 1C e F). O controle destas plantas G2 selecionadas foi significativamente reduzido em ambos os biótipos. As plantas do biótipo resistente CAMAQ G2 selecionadas com mistura apresentaram maior controle, resultado em FR de 3,1, em comparação ao FR de 1,6 do biótipo suscetível MOST (Tabela 1). As maiores doses da associação dos herbicidas, como 55,2 + 160 e 110 + 320g ha<sup>-1</sup> de fenoxapropre + imazetapir, respectivamente, não proporcionaram controle total das plantas G2 selecionadas do biótipo resistente CAMAQ (Figura 1C e F).

Tabela 1. 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 selecionada com subdoses de fenoxapropre, imazetapir e mistura submetidas às diferentes doses de fenoxapropre, imazetapir e mistura.

Geração	Herbicida aplicado	C <sub>50</sub>		FR	C <sub>50</sub>		FR
		Dose (g ha <sup>-1</sup> )	IC		Dose (g ha <sup>-1</sup> )	IC	
				-----MOST-----		-----CAMAQ-----	
G0		4,6	±0,2	-	9,6	±0,4	-
G2 controle	fenoxapropre	8,2	±0,3	1,8*	8,6	±0,5	0,9
G2 selecionada com fenoxapropre		15,1	±0,5	3,2*	17,6	±0,7	2,0*
G0		5,7	±1,0	-	34,3	±8,9	-
G2 controle	imazetapir	4,2	±0,7	0,7*	44,7	±11,3	1,3
G2 selecionada com imazetapir		6,2	±0,5	1,1	53,1	±21,5	1,5
G0		3,2+18,8	±0,2	-	5,8+26,8	±1,3	-
G2 controle	mistura	2,3+13,5	±0,1	0,7*	8,1+31,7	±0,8	1,4*
G2 selecionada com mistura		5,1+24,8	±0,3	1,6*	17,3+50,1	±4,3	3,0*

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

Os resultados evidenciam evolução para a maior tolerância nas progênes através do uso de seleção com subdoses dos herbicidas fenoxaprop e mistura. A maior tolerância pelas plantas daninhas aos herbicidas após seleção recorrente com subdoses de herbicidas inibidores da enzima ACCase já foram identificadas em *Lolium rigidum* (NEVE e POWLES, 2005) e *Avena fatua* (BUSI et al., 2016). No entanto, o presente estudo é pioneiro em relação ao estudo do efeito da mistura de herbicidas como fator para evolução da resistência em plantas. A maior tolerância das plantas da G2 selecionadas tanto com fenoxaprop quanto com a mistura de fenoxaprop + imazetapir (Figura 1) está, possivelmente, associada à maior capacidade de detoxificação dos herbicidas adquirida nas progênes (GHANIZADEH E HARRINGTON, 2017).

A maior redução do controle pela aplicação da mistura foi encontrada nas plantas da G2 selecionadas do biótipo resistente CAMAQ em comparação ao biótipo suscetível MOST (Figura 1). As enzimas do citocromo P450, responsáveis pela resistência ao imazetapir por metabolização neste biótipo, têm possivelmente grande papel na maior tolerância das G2 selecionadas em comparação ao suscetível MOST. Após a identificação de plantas resistentes na lavoura, a prática de associar outro herbicida na aplicação é uma das mais utilizadas (GAZZIERO, 2015). Caso o controle não seja satisfatório, progênes das plantas sobreviventes poderão apresentar maior capacidade de metabolizar os produtos da mistura no próximo ciclo, podendo em poucas gerações serem capazes de metabolizar a dose recomendada de cada herbicida, como visto nos resultados do presente trabalho (Figura 1 e Tabela 1).

## CONCLUSÃO

A utilização de subdoses da mistura de fenoxaprop + imazetapir na seleção de plantas de capim-arroz por duas gerações resultou em aumento na tolerância, principalmente em capim-arroz resistente a inibidores da ALS devido a metabolização.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo suporte financeiro ao desenvolvimento da pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BECKIE, H. J.; HARKER, K. N. Our top 10 herbicide-resistant weed management practices. **Pest Management Science**, v. 73, n. 6, p. 1045-1052, 2017.
- BUSI, R.; GIOTTO, 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.
- GAZZIERO, D. L. P. Mixtures of pesticides in tank, in brazilian farms. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 83-92, 2015.
- GHANIZADEH, H.; HARRINGTON, K. C. Non-target site mechanisms of resistance to herbicides. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 36, n. 1, p. 24-34, 2017.
- MATZENBACHER, F. O. et al. Antagonism is the predominant effect of herbicide mixtures used for imidazolinone-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) control. **Planta Daninha**, v. 33, n. 3, p. 587-597, 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.
- NORSWORTHY, J. K. et al. Reducing the risks of herbicide resistance: best management practices and recommendations. **Weed Science**, v. 60, p. 31-62, 2012.
- 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.
- ZHANG, J. H.; HAMILL, A. S.; WEAVER, S. E. Antagonism and synergism between herbicides - trends from previous studies. **Weed Technology**, v. 9, n. 1, p. 86-90, 1995.