

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

MAYRA LUIZA SCHELTER

**CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DA RESISTÊNCIA DE
CAPIM-ARROZ (*Echinochloa crus-galli*) A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETIL-
CoA CARBOXILASE EM SANTA CATARINA**

LAGES/SC

2022

MAYRA LUIZA SCHELTER

**CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DA RESISTÊNCIA DE
CAPIM-ARROZ (*Echinochloa crus-galli*) A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETIL-
CoA CARBOXILASE EM SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Mendes de Oliveira Neto.

LAGES/SC

2022

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Schelter, Mayra Luiza

CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DA
RESISTÊNCIA DE CAPIM-ARROZ (*Echinochloa crus-galli*) A
HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETIL-CoA CARBOXILASE
EM SANTA CATARINA / Mayra Luiza Schelter. -- 2022.

94 p.

Orientador: Antonio Mendes de Oliveira Neto

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2022.

1. Ariloxifenoxipropionatos. 2. Ciclohexanodionas. 3.
mecanismo de resistência. 4. sítio de ação. 5. Trp-2027-Cys. I.
Mendes de Oliveira Neto, Antonio . II. Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal. III. Título.

MAYRA LUIZA SCHELTER

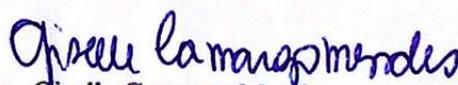
**CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DA RESISTÊNCIA DE
CAPIM-ARROZ (*Echinochloa crus-galli*) A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACETIL-
CoA CARBOXILASE EM SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

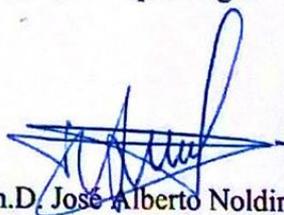
BANCA EXAMINADORA



Dr. Antonio Mendes de Oliveira Neto
CAV/UEDESC



Dra. Giselle Camargo Mendes
IFSC/Campus Lages



Ph.D. José Alberto Noldin
EPAGRI/Estação Experimental de Itajaí

Lages, 24 de fevereiro de 2022.

Dedico este trabalho a Deus e a minha família: meu pai Udo, minha mãe Lurdes e meu irmão Maycon, por todo seu amor, compreensão e apoio ao longo deste trajeto, nunca deixando de acreditar no meu potencial. Em seus braços pude ter o conforto e a esperança para continuar, nunca desanimar e jamais desistir.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre estar presente em minha vida, iluminando e guiando meus passos.

À minha família, em especial aos meus pais, Udo Schelter e Lurdes Aparecida da Silva e ao meu irmão Maycon Victor Schelter, por todo apoio, amor e carinho fornecidos durante esses anos. Por não me deixarem desanimar em nenhum momento, por segurarem a minha mão ao longo dessa trajetória, por todo apoio e puxões de orelha, agradeço todos os dias em ter a sorte de vocês serem a minha família. A participação de vocês foi imprescindível na concretização dessa etapa em minha vida.

Ao meu namorado/esposo Glauco Pedro Rieth pelo amor, companheirismo e principalmente paciência para comigo durante a fase final e por não me abandonar nos momentos mais difíceis.

Às minhas amigas, colegas de quarto e companheiras de aventuras Fatima Saraiva e Jadina C.V.M Bellotto por todo apoio e incentivo concedidos a mim, agradeço por vocês fazerem parte dessa trajetória.

Ao meu orientador professor Dr. Antonio Mendes de Oliveira Neto pela orientação, dedicação e disposição ao me orientar, pela paciência e compreensão durante o período de realização do trabalho. Obrigada por confiar em mim e além de me permitir evoluir permitir que eu fosse além do que eu acreditava ser o meu potencial e enxergar, não só o mundo acadêmico, outras formas de pensar e agir.

Aos meus colegas de mestrado Diogo Fruet e Marissa Prá de Souza, e à equipe do Laboratório de Plantas Daninhas e Herbicidas – Elias G. S. Kowalski, Lariane Fontana de Freitas, Leonardo Motta e João Vitor Ritter por todo apoio, risadas e companheirismo ao decorrer desses anos. Agradeço a cada um de vocês por me proporcionarem momentos de alegria e tristeza e que de alguma maneira me ajudaram e me apoiaram a chegar até aqui. Meu muito obrigado a todos.

A todas as empresas e pessoas que apoiaram na localização e coleta dos biótipos: Ricieri Verdi e a toda a equipe da Epagri do Alto Vale, ao Júlio Marcos Catoni e a empresa Famer Up consultoria e pesquisa, a Cristiane Mara Fiedler e a empresa Corteva.

A todos os professores e colaboradores do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal por repassarem seu pleno conhecimento.

Agradeço também aos colegas de curso, pelos momentos de conversa, troca de conhecimento e companheirismo nos diversos momentos.

Agradeço a Samara Nascimento, ao Prof. Dr. Fabio Nascimento da Silva e a Prof. Dra. Giselle Camargo Mendes pelo auxílio na execução das análises moleculares e por repassarem parte do conhecimento e experiência de vocês.

Ao CAV/UDESC, por fornecer uma excelente estrutura física e profissionais de todos os setores. Aos professores do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, pelo conhecimento gerado.

Agradeço a todos que de forma direta ou indireta estiveram envolvidos com a condução destes experimentos.

Aos demais familiares que me apoiaram e que eu não poderia deixar de agradecer, em especial aos que partiram neste ano e levaram consigo um pedaço do meu coração, meu avô José da Silva e minha tia Adelinda Schelter!

Da mesma forma agradeço aos meus vizinhos (Dona Inês, Solange, Fernanda, Adilson e Morgana,), pessoas incríveis que sempre me apoiaram.

Às minhas amigas de longa data e distância Luana Beatriz Kuestner, Djéssica Strey, Gabriela Sagas, Patricia Goulart da Silva por me animarem e estarem presentes em todos os momentos, por lembrarem de mim com tanto carinho quanto eu sinto ao lembrar de vocês.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Santa Catarina (FAPESC) e a UDESC/PROMOP, pela disponibilização da bolsa de estudo para o desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

“Quanto mais aumenta nosso conhecimento,
mais evidente fica nossa ignorância”

John F. Kennedy

RESUMO

A ocorrência de plantas daninhas nas lavouras de arroz irrigado representa um dos fatores limitantes da produtividade, dentre as plantas daninhas que infestam as lavouras de arroz irrigado encontra-se o capim-arroz (*Echinochloa* spp.). A principal medida de controle dessa espécie é através da aplicação de herbicidas, como os herbicidas inibidores da Acetil-CoA Carboxilase (ACCase). Porém o uso frequente desse método tem agravado a evolução da resistência de plantas daninhas a herbicidas. O objetivo do trabalho foi caracterizar a resistência de um biótipo de capim-arroz a herbicidas inibidores da ACCase, por meio de um ensaio de dose resposta, verificar o mecanismo de resistência e indicar alternativas de controle químico para o biótipo resistente. Todos os experimentos foram realizados em casa de vegetação, inicialmente foi realizado um ensaio preliminar com a finalidade de selecionar possíveis biótipos resistentes, prosseguiu-se então com ensaios de dose resposta em duas gerações (F1 e F2), as sementes da primeira geração (F1) foram coletadas de biótipos de capim-arroz oriundos das principais regiões orizícolas do Estado de Santa Catarina e as sementes da segunda geração (F2) foram provenientes dos biótipos selecionados na geração F1. Foram testadas nos biótipos sensíveis e com suspeita de resistência doses crescentes de três herbicidas inibidores de ACCase (cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl e profoxydim), aplicados nas doses de 360 g i.a. ha⁻¹, 120 g i.a. ha⁻¹ e 170 g i.a. ha⁻¹, respectivamente. Posterior conduziu-se ensaios com a finalidade de estudar o mecanismo de resistência do biótipo, o primeiro teve como objetivo verificar se a resistência estava ligada ao aumento da metabolização e o segundo trabalho foi realizado com a finalidade de constatar, através de análises moleculares, se a resistência era ocasionada devido à mutação ou aumento da expressão da enzima alvo. Por fim, realizou-se um ensaio para avaliar alternativas de controle químico para o biótipo resistente. No ensaio preliminar três biótipos (CA02, CA05 e CA07) apresentaram suspeita de resistência e foram conduzidos no ensaio de dose resposta da geração F1. No ensaio de dose resposta dos biótipos que apresentavam suspeita de resistência apenas o CA07 confirmou-se, com fator de resistência (FR) de 5,7 para cyhalofop-p-butyl, 30,5 para quizalofop-p-ethyl e 16,05 para o profoxydim. Na geração seguinte (F2) o FR foi de 7,89 para o herbicida cyhalofop-p-butyl, 7,72 para o herbicida quizalofop-p-ethyl e 4,24 para o herbicida profoxydim, confirmando a resistência cruzada aos três herbicidas. No ensaio com alternativas de controle apenas os herbicidas pendimethalin e clomazone aplicados em pré-emergência foram eficientes no controle dos biótipos CA01 e CA07. O ensaio com o inibidor da Citocromo P450 (malathion) indicou que a resistência não é decorrente da

metabolização do herbicida. Após o sequenciamento, a mutação encontrada foi decorrente de uma substituição de Trp-2027-Cys. Conclui-se que a resistência do biótipo proveniente da cidade de Tubarão-SC é ocasionada por uma mutação na posição 2027.

Palavras-chave: Ariloxifenoxipropionatos, Ciclohexanodionas, mecanismo de resistência, sítio de ação, Trp-2027-Cys.

**AGRONOMIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF
BARNYARDGRASS (*Echinochloa crus-galli*) RESISTANCE TO ACETYL-CoA
CARBOXYLASE INHIBITOR HERBICIDES IN SANTA CATARINA**

The occurrence of weeds in paddy rice crops represents one of the limiting factors of productivity, among the weeds that infest irrigated rice crops is the barnyardgrass. The main measure to control this species is through the application of herbicides, such as ACCase inhibitor herbicides. However, the frequent use of this method has aggravated the evolution of weed resistance to herbicides. The objective of this study was to characterize the resistance of a biotype of barnyardgrass to ACCase inhibitor herbicides using a whole plant dose response assay, to verify the mechanism of resistance and to indicate chemical control alternatives for the resistant biotype. All the experiments were carried out in a greenhouse. Initially, a preliminary test was carried out with the purpose of selecting possible resistant biotypes, which was then followed by rate response tests in two generations (F1 and F2). The seeds of the first generation (F1) were collected from barnyardgrass biotypes from the main rice-growing regions in the state of Santa Catarina and the seeds of the second generation (F2) came from biotypes selected in the F1 generation. Increasing doses of three ACCase inhibitor herbicides (cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl and profoxydim) were tested on the sensitive biotypes and those with suspected resistance. The recommended doses were 360 g i.a. ha⁻¹, 120 g i.a. ha⁻¹ and 170 g i.a. ha⁻¹, respectively. Later, trials were conducted with the purpose of studying the mechanism of resistance of the biotype, the first aimed to verify if the resistance was linked to increased metabolization and the second work was performed with the purpose of verifying, through molecular analysis, if the resistance was caused by mutation or increased expression of the target enzyme. Finally, a trial was conducted to evaluate chemical control alternatives for the resistant biotype. In the preliminary trial three biotypes (CA02, CA05 and CA07) showed suspected resistance and were conducted in the F1 generation dose response trial. In the dose response trial of the biotypes that presented suspected resistance only CA07 was confirmed, with FR of 5.7 for cyhalofop-p-butyl, 30.5 for quizalofop-p-ethyl and 16.05 for the herbicides, and profoxydim respectively. In the next generation (F2) the FR was 7.89 for cyhalofop-p-butyl herbicide, 7.72 for quizalofop-p-ethyl herbicide and 4.24 for profoxydim herbicide, confirming cross-resistance to all three herbicides. In the trial with control alternatives only the herbicides pendimethalin and clomazone applied preemergence were efficient in controlling the biotypes CA01 and CA07. The assay with the P450 inhibitor (malathion) indicated that the resistance is not due to herbicide metabolization. After sequencing the mutation found was due to a Trp-

2027-Cys substitution. It was concluded that the resistance of the biotype from the city of Tubarão-SC is opposed by a mutation at position 2027.

Keywords: Aryloxyphenoxypropionates, Cyclohexanediones, resistance mechanism, site of action, Trp-2027-Cys.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Resultado do ensaio preliminar demonstrando a dispersão de biótipos de *Echinochloa* spp. em função no nível de controle.55
- Figura 2 – Avaliação do ensaio de dose resposta realizada aos 28 dias após a aplicação do herbicida cyhalofop-p-butyl, A: biótipo CA07 na segunda geração; B: biótipo CA07 na segunda geração; C: biótipo CA02 na primeira geração; D: biótipo CA05 na primeira geração.....56
- Figura 3 – Curvas de dose resposta para o herbicida cyhalofop-p-butyl, A: biótipo CA07 na geração F1, B: biótipo CA01 na geração F1, C: biótipo CA05 na geração F1, D: biótipo CA02 na geração F1, E: biótipos CA01 e CA07 na geração F2 e F: massa seca da parte aérea dos biótipos CA01 e CA07 na geração F2.....57
- Figura 4 – Curvas de dose resposta para o herbicida quizalofop-p-ethyl, A: biótipo CA07 na geração F1, B: biótipo CA01 na geração F1, C: biótipo CA05 na geração F1, D: biótipo CA02 na geração F1, E: biótipos CA01 e CA07 na geração F2 e F: massa seca da parte aérea dos biótipos CA01 e CA07 na geração F2.....60
- Figura 5 – Curvas de dose resposta para o herbicida profoxydim, A: biótipo CA07 na geração F1, B: biótipo CA01 na geração F1, C: biótipo CA05 na geração F1, D: biótipo CA02 na geração F1, E: biótipos CA01 e CA07 na geração F2 e F: massa seca da parte aérea dos biótipos CA01 e CA07 na geração F2.63
- Figura 6 – Massa seca da parte aérea (g) para os biótipos CA01 e CA07 aos 28 dias após a aplicação dos tratamentos.68
- Figura 7 – Avaliação do biótipo CA07 representado por A e biótipo CA01 representada por B aos 28 dias após a aplicação dos tratamentos herbicidas, na presença ou ausência do inseticida malathion82
- Figura 8 – Massa seca (g) de dois biótipos: CA01 (S) e CA07 ® submetidos a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência do inseticida malathion.....84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização de espiguetas e panícula de duas variedades de <i>Echinochloa crus-galli</i> (<i>E. crus-galli</i> var. <i>crus-galli</i> e <i>E. crus-galli</i> var. <i>crus-pavonis</i>).	24
Tabela 2 – Representação da identificação (nomenclatura atribuída a cada um dos biótipos), município de coleta, densidade de plantas infestantes e área total infestada no momento da coleta das sementes.	49
Tabela 3 – Descrição dos herbicidas, modalidade de aplicação e dose aplicada no estudo de controle alternativo.	52
Tabela 4 – Parâmetros da equação logística e fator de resistência (FR) para a variável controle aos 28 DAA dos biótipos CA01(S) e CA07 (R).	58
Tabela 5 – Parâmetros da equação logística e fator de resistência (FR) para a variável controle aos 28 DAA dos biótipos CA01 (S) e CA07 (R).	61
Tabela 6 – Parâmetros da equação logística e fator de resistência (FR) para a variável controle aos 28 DAA dos biótipos CA01 (S) e CA07 (R).	64
Tabela 7 – Controle (%) de dois biótipos de capim-arroz (CA01 e CA07) aos 7, 14 e 28 DAA.	67
Tabela 8 – Dose de aplicação dos herbicidas cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl e profoxydim e do inseticida Malathion.	80
Tabela 9 – Primers utilizados para amplificação e sequenciamento do gene ACCase em biótipos de <i>Echinochloa crus-galli</i> sensível (S) e resistente (R) a inibidores de ACCase. ...	81
Tabela 10 – Avaliação de controle (%) aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes tratamentos com e sem a utilização de bloqueador de P450 (malathion) em dois biótipos de capim-arroz (CA01 e CA07).	83
Tabela 11 – Alinhamento das sequências nucleotídicas para o gene ACCase. Em negrito destaca-se os nucleotídeos que codificam a Trp-2027 no biótipo CA01 (S) e a mutação no biótipo CA07 (R).	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACCCase	Acetil-CoA carboxilase
cm	Centímetro
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
Dm ²	Decímetro quadrado
i.a.	Ingrediente ativo
g	Gramma
ha	Hectare
h	Horas
°C	Graus Celsius
kg	Kilograma
kPa	Kilopascal
μL	Microlitro
μm	Micrometro
mm	Milímetro
m	Metro
m ²	Metro quadrado
M	Molar
MS	Massa seca da parte aérea
%	Porcentagem
pb	Pares de bases
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
psi	libra-força por polegada quadrada
RNA	Ácido ribonucleico
L	Litro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 A CULTURA DO ARROZ	20
2.2 CARACTERÍSTICAS DO CAPIM-ARROZ E INTERFERÊNCIA.....	21
2.2.1 Características de <i>E. colonum</i>	22
2.2.2 Características de <i>E. crus-galli</i>	23
2.3 MANEJO DE PLANTAS DANINHAS NA CULTURA DO ARROZ.....	24
2.4 RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS: DEFINIÇÕES, EVOLUÇÃO E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA	27
2.5 MECANISMOS QUE CONFEREM RESISTÊNCIA A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACCCase	30
3 REFERÊNCIAS BLIBLIOGRÁFICAS	34
4 RESISTÊNCIA DE CAPIM-ARROZ (<i>Echinochloa crus-galli</i>) A INIBIDORES DA ACCASE: CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA E ALTERNATIVAS DE CONTROLE	43
4.1 RESUMO	43
4.2 ABSTRACT	44
4.3 INTRODUÇÃO.....	45
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
4.4.1 Coleta das sementes e biótipos	48
4.4.2 Quebra de dormência	50
4.4.3 Ensaio preliminar	50
4.4.4 Ensaios de dose resposta na geração F1.	50
4.4.5 Ensaios de dose resposta na geração F2.	51
4.4.6 Controle alternativo	52
4.4.7 Análise estatística	53
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.5.1 Ensaio Preliminar	54
4.5.2 Dose Resposta	55
4.5.2.1 <i>Cyhalofop-p-butyl</i>	55
4.5.2.2 <i>Quizalofop-p-ethyl</i>	59

4.5.2.3 <i>Profoxydim</i>	62
4.5.3 Controle alternativo	65
4.6 CONCLUSÕES	68
4.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
5. MECANISMOS QUE CONFEREM RESISTÊNCIA CRUZADA AOS HERBICIDAS INIBIDORES DE ACCASE EM CAPIM-ARROZ (<i>Echinochloa crus-galli</i>)	74
5.1 RESUMO	74
5.3 INTRODUÇÃO.....	76
5.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	79
5.4.1 Ensaio com inibidor de citocromo P450	79
5.4.2 Ensaio para identificação de mutação na enzima ACCase.....	80
5.4.2.1 <i>Extração de DNA</i>	80
5.4.2.2 <i>PCR e sequenciamento</i>	81
5.5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
5.5.2.1 <i>Ensaio com inibidor de citocromo P450</i>	81
5.5.2.2 <i>Ensaio para identificação de mutação na enzima ACCase</i>	85
5.6 CONCLUSÃO.....	87
5.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	93

1 INTRODUÇÃO

A interferência de plantas daninhas sobre as culturas é um dos principais fatores que levam a redução de qualidade e produtividade em lavouras do mundo todo. As plantas daninhas são aquelas que se encontram em um local onde são indesejadas. Por sua vez, estas espécies apresentam em sua grande maioria uma alta capacidade adaptativa, reprodutiva e dispersiva, o que proporciona a elas vantagens sobre as culturas de interesse, fazendo-se necessário o controle dessas espécies.

Os herbicidas são amplamente utilizados no controle de plantas daninhas, sendo o controle químico o principal método empregado com a finalidade de reduzir as perdas decorrentes da interferência. Essa predominância é atribuída às diversas vantagens que esse método propicia, dentre elas a especificidade e eficiência de controle, facilidade de uso e aplicação, além disso possui um amplo espectro de controle.

As vantagens supracitadas promoveram uma rápida adoção do controle químico e acarretaram na seleção e evolução de biótipos de plantas daninhas resistentes a herbicidas, de acordo com o Comitê de Ação a Resistência aos Herbicidas (HRAC, 2022), a definição de resistência é "a capacidade natural e hereditária de alguns biótipos de planta daninha em uma dada população, em sobreviver a um tratamento herbicida, que deveria efetivamente controlar a população selvagem em condições normais de utilização".

Há naturalmente plantas resistentes em uma população, porém a resistência evolui a partir da utilização contínua de herbicidas que possuem um mesmo mecanismo de ação ou detoxificação semelhante, esse processo pode ser denominado de pressão de seleção e a partir dele ocorre a seleção e evolução dos biótipos resistentes dentro da população. Quando isso ocorre, o controle químico passa a não ser eficaz, dificultando e reduzindo as alternativas de controle das plantas daninhas.

Uma mesma espécie de planta daninha pode desenvolver resistência a vários herbicidas e a resistência ao mesmo herbicida pode estar relacionada a diferentes mecanismos sendo possível que vários mecanismos de resistência possam ser desenvolvidos em uma única planta. Dessa forma, faz-se necessário compreender a os mecanismos que levam à resistência das plantas daninhas, bem como o mecanismo de ação dos herbicidas e a fisiologia e comportamento das plantas daninhas no ambiente.

O arroz irrigado é uma das culturas mais importantes para o estado de Santa Catarina, se destacando pela área de cultivo, produção e produtividade, tendo grande importância em

termos de valor econômico. Essa cultura está sujeita a uma série de fatores do ambiente que influenciam o rendimento e a qualidade dos grãos. Dentre esses fatores, as plantas daninhas assumem lugar de destaque, devido aos efeitos negativos observados no crescimento, desenvolvimento e produtividade. As espécies do gênero *Echinochloa* são frequentemente distribuídas em lavouras de arroz irrigado no Brasil e no mundo (BORTOLY et al., 2015). O controle químico é o método mais utilizado para controle das principais plantas daninhas que afetam a cultura com destaque para os herbicidas inibidores da acetil-Coa carboxilase (ACCCase) que são amplamente utilizados no controle de plantas daninhas na cultura do arroz por sua alta eficiência e baixa toxicidade, controlando exclusivamente espécies gramíneas. São agrupados em dois grupos químicos: ariloxifenoxipropiônicos (FOP) e as ciclohexanodionas (DIM) e já apresentam casos de resistência confirmados no Brasil. Herbicidas inibidores de ACCCase têm atividade específica em gramíneas devido à sua inibição seletiva de ACCCase plastídica homodimérica, o plastídeo heteromérico e as formas citosólicas homodiméricas não são inibidas pelos inibidores de ACCCase, tornando as outras famílias tolerantes a esses herbicidas (KUKORELLI et al., 2013).

O último registro de resistência para a cultura do arroz no Brasil da espécie *Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli* ocorreu no ano de 2015 em Tubarão-SC, nesse caso as plantas apresentaram resistência múltipla para herbicidas inibidores da acetil CoA carboxilase, inibidores da acetolactato sintase e inibidores da síntese de celulose, não houve a caracterização da resistência e a determinação do mecanismo de resistência. O problema de resistência mundial mais grave para esta espécie está nos Estados Unidos, onde foi comprovada resistência a quatro diferentes mecanismos de ação: inibidores da acetil-CoA carboxilase, inibidores da acetolactato sintase, inibidores de FSII e inibidores da síntese de celulose (HEAP, 2021).

O controle de plantas daninhas através do uso de herbicidas é indispensável para a manutenção da produtividade e qualidade da cultura de interesse, a utilização de forma inadequada e indiscriminada vêm, ao longo dos anos, selecionando indivíduos resistentes a herbicidas de diferentes mecanismos de ação e como consequência há a limitação e dificuldade em controlar as plantas indesejadas. Tendo em vista o agravante dos casos de resistência aos herbicidas inibidores da ACCCase faz-se necessário averiguar estratégias de controle químico com outros mecanismos de ação, Malik et al. (2010) identificaram que o controle de capim-arroz com a aplicação do herbicida pendimethalin decresce ao longo dos dias após a aplicação.

As hipóteses deste trabalho são que o biótipo investigado é resistente aos inibidores da ACCCase, a resistência estará relacionada a mutação em um ou mais sítios de ação, ou seja, será

um mecanismo relacionado ao sítio de ação, e a resistência não ocorrerá devido ao aumento da capacidade de metabolização do herbicida, e por fim que herbicidas com diferentes mecanismos de ação serão eficientes no controle de biótipos de capim-arroz resistentes aos inibidores da ACCase. O objetivo desta pesquisa foi confirmar a resistência cruzada de biótipos de capim-arroz provenientes das principais regiões orizícolas do estado de Santa Catarina, aos herbicidas inibidores de ACCase; verificar se o mecanismo de resistência se deve a uma alteração no sítio de ação ou não e avaliar as alternativas para o controle químico do biótipo resistente.

Esta dissertação é composta por dois capítulos, no primeiro capítulo estão os trabalhos de ensaio preliminar, dose resposta nas gerações F1 e F2 e controle alternativo. O segundo capítulo aborda a elucidação dos mecanismos de resistência.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A CULTURA DO ARROZ IRRIGADO

O arroz (*Oryza sativa*) é uma das principais culturas produzidas no Brasil, sendo o segundo cereal mais consumido a nível mundial, atrás somente do trigo (CONAB,2022). No Brasil, destacam-se duas técnicas de cultivo de arroz: o sistema irrigado e sistema sequeiro. O sistema de arroz irrigado representa 92% da área de arroz colhida no mundo, correspondente à cerca de 75% de todo arroz produzido (BOUMAN et al., 2007; SAITO et al., 2018). O arroz de terras altas ocupa apenas 8% da área cultivada com arroz no mundo (SAITO et al., 2018), esse modelo de cultivo ainda apresenta baixas produtividades, cerca de duas toneladas por hectare (PRASAD, 2011; SAITO et al., 2018).

No Brasil, o arroz produzido no sistema de terras altas teve grande importância principalmente nas décadas de 1970 e 1980 por ser a cultura pioneira utilizada na exploração de novas áreas na região do Cerrado, chegando a ocupar mais de 4,5 milhões de hectares (PINHEIRO et al., 2006). O arroz produzido nesse sistema foi caracterizado como atividade de baixo custo, alto risco climático e baixo retorno financeiro (PINHEIRO et al., 2006). Baixas produtividades do arroz de terras altas são frequentemente atribuídas a estresses bióticos e abióticos, além de poucas práticas tecnológicas empregadas pelos produtores nesse sistema de produção (HEINEMANN et al., 2009; SAITO et al., 2018).

O sistema irrigado demanda conhecimento do rizicultor, manejo, preparo do solo, adubação, sementes, entre outros. Apresentando alto custo de investimento no preparo da terra e insumos. Os sistemas de cultivo empregados na cultura do arroz irrigado distinguem-se, na preparação do solo, métodos de semeadura e o manejo inicial da água e são titulados: sistema convencional, cultivo mínimo, plantio direto, pré-germinado e transplante de mudas (NUNES 2018). A irrigação da lavoura de arroz está condicionada ao sistema de cultivo escolhido, assim sendo, a admissão de um ou demais sistema diferenciará a época de início e fim da irrigação, manejo e uso da água e preparação do solo (NUNES, 2016). A predominância do sistema de cultivo com taipas em nível, onde a irrigação realiza-se por sistematização da lavoura (CONAB, 2015).

A importância socioeconômica da cultura do arroz para o Brasil vai além da região Sul que é responsável por mais de 80% do total produzido no país (CONAB, 2021). Na região tropical (regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste) a área cultivada com arroz irrigado gira em

torno de 10%, contribuindo com cerca de 11% da produção total brasileira nesse ecossistema. Na região Sul do país, merece destaque o Estado do Rio Grande do Sul, grande impulsionador do cultivo do arroz no Brasil, que aumentou em 88,97% sua produção entre as safras 1990/91 e 2012/13 e na safra 2018/19 foi responsável sozinho por 70% de toda a produção do grão no Brasil (CONAB, 2021).

A área cultivada com arroz irrigado em todo país na safra 2021/2022 deverá crescer 0,1% com uma queda de 2,6% na produtividade, com produção total de 11,46 milhões de toneladas. O arroz irrigado é produzido principalmente no Sul do Brasil, com destaque para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Para a safra de 2022, o cenário projetado de preços mais desvalorizados, na comparação com 2021, será limitado pelo significativo aumento no custo de produção de arroz e pela estimativa de real desvalorizado, o que pode contribuir para o crescimento das exportações brasileiras.

Nos últimos anos a produtividade da cultura do arroz foi alavancada por novas tecnologias e estratégias de manejo, porém inúmeros fatores estão diretamente ligados a produtividade de grãos na cultura do arroz irrigado, dentre estes a presença de plantas daninhas, em que na ausência de controle pode ocasionar perdas de produtividade de até 85% (FLECK et al., 2004). As principais espécies de plantas daninhas na cultura do arroz irrigado são: arroz-daninho (*Oryza sativa*) e capim-arroz (*Echinochloa* spp.) (SOSBAI, 2018). As espécies do gênero *Cyperus* predominam em sistema de cultivo com plantio direto e rotação de culturas (ULGUIM et al., 2018). Além disso, outras espécies da família Poaceae são considerados muito representativas em áreas de cultivo de arroz (SILVA et al., 2007; NUNES et al., 2018).

2.2 CARACTERÍSTICAS DO CAPIM-ARROZ E INTERFERÊNCIA

Um dos fatores responsáveis pela redução de produtividade das lavouras orizícolas é o controle insatisfatório de plantas daninhas, dentre as espécies infestantes da cultura do arroz irrigado no Estado de Santa Catarina, destacam-se as pertencentes ao gênero *Echinochloa*. O capim-arroz (*Echinochloa* spp.) pertencente à família Poaceae, é uma planta amplamente disseminada pelo mundo, sendo relatada na Europa, África, Ásia, Austrália, Pacífico, América do Norte e América do Sul, sendo considerada a terceira planta daninha com maior relevância a nível mundial (HEAP, 2021).

No Brasil ocorre com frequência nas principais regiões orizícolas da região Sul (LORENZI, 2000) e sua importância se deve a alguns fatores, como alta capacidade

germinativa e plasticidade com relação à temperatura de germinação (GUILLEMIN et al., 2012), podendo germinar a temperaturas inferiores a 10°C, ampla distribuição, é uma planta C4 e segundo Taiz e Zeiger (2017) plantas C4 são altamente eficientes no aproveitamento dos recursos naturais. Além disso, sua fase vegetativa é muito semelhante à da planta de arroz (AGOSTINETTO; VARGAS, 2009).

Segundo Andres e Machado (2004) o capim-arroz é a gramínea de maior relevância na cultura do arroz irrigado, possuindo a capacidade de competir com a cultura do arroz durante todo o ciclo. Além disso, é considerada uma planta daninha de difícil controle no arroz irrigado, devido as semelhanças morfofisiológicas, causando sérios problemas na colheita e reduzindo a produtividade de grãos (ANDRES et al., 2007). As perdas geradas pela infestação de capim-arroz em lavouras de arroz irrigado podem chegar à 90%, levando em consideração diversos fatores como a densidade da planta daninha, a densidade de semeadura do arroz, a época de semeadura, a cultivar utilizada e o momento do início da irrigação da lavoura (PINTO et al., 2002). Em outro estudo Galon et al. (2007) relataram que a presença de uma única planta de capim-arroz por m² teve a capacidade de reduzir a produtividade da cultura do arroz entre 5 a 22%. Enquanto que Mennan et al. (2012) identificaram que em densidade de duas plantas de *E. crus-galli* por m² reduziu em 10% a produtividade de grãos da cultura.

O gênero *Echinochloa* inclui aproximadamente 250 espécies anuais e perenes (BAJWA et al, 2015) originadas de diferentes países e distribuídos em regiões tropicais e temperadas quentes do mundo, é uma planta poliploide (OSUNA et al., 2011). Existem espécies anuais com 18, 27 ou 54 pares de cromossomos e espécies perenes com 18, 27 e 63 pares de cromossomos. As espécies de capim-arroz são autógamas e apresentam uma elevada produção de sementes, segundo Norris (2003) pode ultrapassar 1.000.000 sementes por planta. A identificação precisa das espécies de capim-arroz é difícil, pois há um grande polimorfismo dentro da mesma espécie (KISSMANN; GROTH, 1999). Além disso, pode ocorrer o cruzamento natural, originando híbridos sem identificação definida. Detalhes muito importantes de diferenciação se encontram nas características foliares, porém para uma maior precisão faz-se necessário o uso de microscopia. No Brasil, existem cinco variedades descritas para *E. crus-galli* e entre estas podem ocorrer pequenas diferenças morfológicas. Dentre as espécies de maior importância e ocorrência se destacam *E. colonum* e *E. crus-galli* (GALON et al., 2007).

2.2.1 Características de *E. colonum*

A espécie é originária da Tanzânia (RUIZ-SANTAELLA et al., 2006) e com ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais (VALVERDE et al. 2001). No Brasil, tem ocorrência frequente principalmente em locais com alta umidade. É uma planta anual com reprodução via sementes, germinando em qualquer época do ano, possui uma panícula compacta em relação as demais espécies do gênero. As espiguetas são inseridas alternadamente sendo opostas e verticiladas em um mesmo eixo (EMBRAPA, 2011). As sementes são arredondadas e de menor tamanho, quando comparada as demais espécies do gênero (VALVERDE et al., 2001). Apresenta um ciclo de aproximadamente 120 dias e na fase inicial apresentam colmos decumbentes, ocorrendo o enraizamento a partir dos nós que entram em contato com o solo.

E. colonum é uma planta ereta, seu porte varia de 20 a 40 cm (LORENZI, 2000), possui caules aproximados formando touceiras bem compactadas. Os colmos são delgados com diâmetro variável geralmente com seis nós. Os rizomas são ausentes e as raízes podem ser fasciculadas e pouco lignificadas em ambiente seco; em ambientes úmidos são mais longas e lisas. As folhas possuem bainhas compridas, glabras e às vezes podem apresentar pilosidade na altura dos nós, lígula e aurícula ausente, lâminas lanceoladas, agudas e com comprimento de até 25 cm, apresentando manchas transversais de coloração purpúrea (KISSMANN, 1997). As panículas possuem de 5 a 15 cm de comprimento e espiguetas múticas e apiculadas (KISSMANN, 1997). A espécie apresenta atualmente 26 casos de resistência, o caso mais grave envolve a resistência múltipla à até três mecanismos de ação, como por exemplo o relatado na Colômbia no ano de 2016 envolvendo a resistência a inibidores da acetil-CoA carboxilase, inibidores da acetolactatato sintase e inibidores da síntese de celulose (HEAP, 2021).

2.2.2 Características de *E. crus-galli*

É originária da Alemanha (RUIZ-SANTAELLA et al., 2006). É uma espécie cosmopolita e no Brasil está distribuída por praticamente todo o território, sendo uma planta daninha preocupante em áreas destinadas ao cultivo de arroz irrigado. Possui um crescimento inicial rápido e quando se encontra em um nível de infestação elevado pode reduzir drasticamente a produtividade do arroz, além de suas sementes não serem permitidas em lotes de sementes de arroz, impedindo sua comercialização.

Echinochloa crus-galli é uma planta anual com reprodução via sementes, adaptada a condição de anaerobiose (KIM, 1994), desenvolvendo-se bem em solos ácidos com pH a partir

de 4,5. As sementes apresentam longa viabilidade, tendo viabilidade de 100%, mesmo após sete anos de armazenamento (KISSMANN, 1997), e germinam em condições de elevada umidade e temperatura moderada. Dawson e Bruns (1975) após realizarem um ensaio com diferentes profundidades de semeadura com *Echinochloa crus-galli* constataram que conforme o aumento da profundidade em que a semente foi enterrada maior foi a longevidade das sementes

De acordo com Kissmann (1997) plantas dessa espécie possuem colmos arredondados ou achatados, com ramificações basais, além disso não apresentam rizomas e as raízes são fasciculadas. As folhas apresentam bainhas abertas, pouco sobrepostas, com ausência de lígula podendo atingir até 30 cm de comprimento. Suas panículas são eretas e as espiguetas ovaladas. Algumas variedades dessa espécie se distinguem brevemente e apresentam características que facilitam essa diferenciação (Tabela 1).

Tabela 1 – Caracterização de espiguetas e panícula de duas variedades de *Echinochloa crus-galli* (*E. crus-galli* var. *crus-galli* e *E. crus-galli* var. *crus-pavonis*).

Espécie	Espiguetas		Panícula	
	Forma	Tamanho (mm)	Forma	Tamanho (cm)
<i>E. crus-galli</i> var. <i>crus-galli</i>	Ovaladas	2,8-3,7	Ereta	10-15
<i>E. crus-galli</i> var. <i>crus-pavonis</i>	Espinulosas	1,0-9,0	Pendente	10-25

Fonte: Kissmann (1991)

No Brasil há a predominância das espécies *E. crus-galli* e *E. colonum*. A espécie *E. colonum* se diferencia das demais por apresentar a panícula compacta, espiguetas inseridas alternadamente, enquanto que a espécie *E. crus-galli* não apresenta características discriminatórias, mas de maneira geral apresenta as panículas mais curtas e eretas. No Brasil os principais diferenciadores de chaves de identificação são a presença ou ausência de lígula e arista, comprimento da planta e da folha bandeira.

2.3 MANEJO DE PLANTAS DANINHAS NA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO

Inúmeros elementos influenciam na produtividade de grãos da cultura do arroz, com grande destaque para a interferência de plantas daninhas. O grau de interferência entre a planta daninha e a cultura está diretamente relacionada às variações meteorológicas, práticas de manejo (AGOSTINETTO et al., 2007), está relacionado também às características da comunidade infestante como a composição específica, densidade de plantas, distribuição das

populações, espaçamento, densidade de semeadura e duração do período de convivência (CAVALCANTE et al., 2017). O período crítico de competição com plantas daninhas na cultura do arroz é compreendido entre o 15º ao 45º dia após a emergência, durante esse período é imprescindível que o arroz permaneça livre da convivência com qualquer planta daninha (SILVA; DURIGAN, 2006). Porém ao considerar o manejo irrigado para a cultura pode haver uma modificação desse período, que é encerrado ao mesmo momento em que se inunda a área. Desse modo, determinar o período de controle das plantas daninhas é imprescindível para manutenção do potencial produtivo e para a escolha do método de controle (BRIGHENTI; OLIVEIRA, 2011).

Nesse sentido, conhecer a forma de propagação de espécies daninhas é um dos fatores determinantes para a escolha do método de controle, pois algumas espécies podem ser mais difíceis de controlar (VASCONCELOS et al., 2012). Além do controle químico existem diversas possibilidades de controlar ou até mesmo reduzir a população de plantas daninhas da área. O manejo integrado de plantas daninhas (MACIEL, 2014) consiste em realizar o uso de combinações de diferentes manejos para atingir sucesso no controle de plantas daninhas, tais como: controle preventivo, controle cultural, controle físico, controle mecânico, controle biológico e controle químico. O controle preventivo consiste em impedir a entrada de propágulos de espécies daninhas, pode ser realizado através da limpeza dos implementos e equipamentos, no controle da qualidade sanitária e fisiológica das sementes e adubos orgânicos utilizados (FONTES; GONÇALVES, 2009).

Segundo Carvalho (2013) o controle cultural consiste no aproveitamento das características das plantas cultivadas como o uso de cultivares mais competitivas e dos sistemas de cultivo além da rotação de culturas, aumentando assim a capacidade competitiva da cultura. Dessa forma, uma cultura bem estabelecida e vigorosa possui alto poder competitivo dificultando o desenvolvimento de espécies indesejadas (OLIVEIRA JÚNIOR; CONSTANTIN; INOUE, 2011). Segundo Galon et al. (2007) o uso de cultivares de arroz competitivas que se desenvolvam mais rápido que a planta daninha, é uma opção promissora para diminuir o uso de herbicidas para o controle de capim-arroz.

O controle mecânico pode ser feito desde antes do preparo do solo até a fase produtiva das culturas, as principais práticas deste tipo de controle são o arranquio, a capina, a roçada e o revolvimento do solo (CARVALHO, 2013). O controle físico baseia-se em plantas que fazem a cobertura do solo e a supressão das plantas daninhas (FONTES; GONÇALVES, 2009), ou o uso de outras técnicas específicas como: inundação, fogo, solarização, controle térmico e

choque elétrico (CARVALHO, 2013). Segundo Gomes et al. (2004), em áreas de arroz inundadas o uso de lâminas maiores que 10 cm podem causar acamamento de plantas, maior percolação lateral, porém do ponto de vista de controle de plantas daninhas, lâminas com alturas superiores são mais eficientes na supressão das mesmas. O início da irrigação está associado ao controle de plantas daninhas, portanto comumente se utiliza herbicidas com alto poder residual, possibilitando um retardo na entrada da água de irrigação, o que pode ser uma prática um tanto arriscada, pois o efeito residual da maioria dos herbicidas é dependente da umidade no solo (ANDRES et al., 2005). Além disso, a água para plantas daninhas não aquáticas, possui um efeito supressor, pelo fato de reduzir o fluxo gasoso da atmosfera para o solo impedindo que as plantas se estabeleçam por falta de oxigênio (GOMES & PAULETTO, 1999).

O controle biológico clássico se baseia na ideia de que o controle resulta justamente da pressão constante dos inimigos naturais sobre os seus hospedeiros, parte-se do princípio de que tais plantas se tornaram daninhas nos novos ambientes em razão, em grande parte, da ausência de pressão dos inimigos naturais nas novas áreas colonizadas (TESSMANN, 2011). Consiste na utilização de parasitas, predadores, patógenos (SILVA et al., 2005) ou até mesmo os herbicidas naturais (KLAIC et al., 2015) capazes de reduzir a população de plantas daninhas e conseqüentemente sua capacidade de competir, por meio do equilíbrio populacional entre o inimigo natural e a planta hospedeira. Na cultura do arroz irrigado, existe uma alternativa de controle biológico na entressafra com o uso de marrecos-de-pequim e a rizipiscicultura, em que as aves e peixes alimentam-se das sementes das espécies de plantas daninhas, reduzindo a infestação (SOSBAI, 2014).

O controle químico é um dos métodos mais utilizados no controle de plantas daninhas, devido a sua alta eficiência, pouca necessidade de mão de obra, economia de tempo e a seletividade a determinadas culturas. É importante conhecer as características do herbicida a ser utilizado como: tempo de meia vida, período de carência e toxicidade (MACIEL, 2014), além da época de aplicação. O controle químico pode ser realizado em aplicações de pré ou pós-emergência (CARVALHO, 2013). A aplicação em pré-emergência ocorre antes da emergência das plantas daninhas. Já a aplicação em pós-emergência ocorre após a emergência da cultura e visa atuar no desenvolvimento da planta daninha. No período de desenvolvimento da planta daninha, a probabilidade de ocorrer prejuízos por competição é maior (AGOSTINETO et al., 2015). De acordo com Noldin (1999), uma estratégia a ser adotada é o controle químico realizado precocemente possibilitando a redução de doses de herbicidas reduzindo as injúrias à cultura do arroz.

2.4 RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS: DEFINIÇÕES, EVOLUÇÃO E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Existem atualmente 509 casos de plantas daninhas resistentes a herbicidas em todo o mundo. As plantas daninhas desenvolveram resistência a 21 dos 31 locais de ação dos herbicidas conhecidos e a 164 herbicidas diferentes (HEAP, 2021). Segundo Heap (2021) atualmente 50 espécies de gramíneas apresentam resistência comprovada aos herbicidas inibidores da ACCase, ficando atrás somente dos inibidores da ALS, inibidores de fotossistema II e inibidores da EPSPs. No Brasil, até o momento, foram confirmadas resistência em 7 espécies, sendo o caso de maior destaque o de *Echinochloa crus-galli* relatado no ano de 2015, na cidade de Tubarão-SC, com resistência múltipla a três diferentes mecanismos de ação (EBERHARDT, et al., 2016).

De acordo com Inoue e Oliveira Junior (2011) as plantas resistentes são aquelas que herdaram a capacidade de sobreviver e se reproduzir após a exposição a uma dose de herbicida normalmente letal para a população natural. Já a tolerância relaciona-se à habilidade da espécie em sobreviver à aplicação do herbicida, sendo, portanto, a resposta inerente à espécie e não exclusiva a algumas populações ou biótipos. Um grupo de indivíduos dentro de uma espécie, com carga genética semelhante, porém pouco diferenciado da maioria dos indivíduos da população, que no caso de plantas daninhas resistente a herbicidas é caracterizado, normalmente, apenas pela característica genética que confere a resistência a herbicidas (KISSMANN, 1996).

A seleção de biótipos resistentes é comum em populações de plantas daninhas devido à ampla variabilidade genética que estas apresentam, permitindo que ocorra a adaptação e consequentemente a sobrevivência em diferentes condições ambientais (CHRISTOFFOLETI, 2009). Segundo Heap (2014) uma planta pode apresentar resistência simples, cruzada ou múltipla. Denomina-se resistência cruzada quando um único mecanismo de resistência confere resistência a mais de um herbicida. A resistência cruzada do local alvo é o tipo mais comum, e é o resultado de um local de ação alterado promovendo a resistência a outros herbicidas que inibem a mesma enzima. A resistência múltipla, por sua vez, ocorre quando mais de um mecanismo de resistência ocorre dentro de um mesmo indivíduo, geralmente é resultante da seleção sequencial de mecanismos de resistência por herbicidas com diferentes locais de ação ou através do acúmulo de genes de resistência através do fluxo de pólen. A ocorrência de resistência múltipla acaba sendo mais preocupante porque impossibilita o controle por dois ou

mais mecanismos de ação reduzindo drasticamente as alternativas de controle dessas populações.

O tempo necessário para que um biótipo resistente seja selecionado está relacionado a uma série de fatores, que segundo Sandri et al. (2003) são: as características do herbicida (frequência de aplicação, dose, eficiência e persistência no solo) e as características da espécie (frequência gênica, viabilidade do banco de sementes e capacidade dispersiva das sementes). Um exemplo a ser citado é o caso de as plantas daninhas de ciclo anual serem propensas a desenvolverem resistência mais rapidamente do que as espécies bianuais ou perenes, pois um maior número de gerações é submetido ao agente selecionador (MONQUEIRO et al. 2000).

A genética das plantas daninhas tem também uma grande influência na resistência dessas a herbicidas, sendo a variabilidade genética da população, um fator indispensável numa espécie suscetível para que seja possível ocorrer evolução de biótipos resistentes a herbicidas (VIDAL; FLECK, 1997). A frequência inicial de plantas resistentes na população é fator importante a ser considerado.

A resistência devido aos mecanismos de metabolização ou desintoxicação do herbicida ocorre quando a planta degrada o herbicida antes que este cause danos irreversíveis a ela. Neste caso, duas enzimas estão envolvidas, sendo elas, a monooxigenases do citocromo P450 e a glutationa-S-transferase, (VIDAL; MEROTTO JR., 2001) que são as principais enzimas responsáveis pelo início da degradação de herbicidas (HAN et al., 2014). Nesses casos em que a resistência aos herbicidas é ocasionada por mecanismos que envolvem a metabolização de herbicidas, a chance de ocorrência de resistência cruzada é elevada pelo fato de a espécie possuir a capacidade de metabolizar diferentes herbicidas, ou seja, por não apresentar especificidade (COMONT et al., 2020).

Outra forma de resistência de plantas daninhas é a compartimentalização de herbicidas, em que os herbicidas são removidos das partes metabolicamente ativas da célula ou tecidos localizados distantes dos sítios de ação do herbicida (CHRISTOFFOLETI et al., 1994). Ge et al. (2010) identificaram um biótipo de *Conyza canadensis* com capacidade de compartimentalizar o herbicida glyphosate no vacúolo reduzindo a sua ação sobre as enzimas alvo EPSPS.

Além disso a resistência pode estar relacionada a redução na absorção e translocação do herbicida. A diminuição na absorção está relacionada com a quantidade de herbicida que é capaz de chegar ao local de ação (CHRISTOFFOLETI; NICOLAI, 2016). Acredita-se que plantas com esse tipo de resistência apresentam diferenças físicas e/ou propriedades químicas

que causam alteração da absorção do herbicida na cutícula. Como exemplo, o herbicida glyphosate é retido nas folhas de biótipos resistentes das espécies *L. multiflorum* (MICHITTE et al., 2007; NANDULA et al., 2008) e *S. halepense* (VILA-AIUB et al., 2012), porém esse mecanismo costuma causar baixos níveis de resistência em plantas daninhas. Quanto a redução na translocação até ao local de ação pode ocorrer o sequestro do herbicida no vacúolo, acredita-se que esse processo seja regulado por transportadores de membrana, como os transportadores do tipo ABC (ATP-binding cassette) e transportadores de fosfato modificados (GE et al., 2010). A resistência causada por processos de sequestro vacuolar é normalmente dependente da oscilação de temperatura. As plantas podem apresentar, também, resistência a herbicidas por exsudação radicular; sendo pouco comum (GHANIZADEH; HARRINGTON, 2017), assim, as plantas resistentes excluem rapidamente o herbicida, de forma a não ficarem em doses letais dentro da planta. Em *Raphanus raphanistrum*, relatou-se que a resistência a MCPA ocorre devido às altas taxas de exsudação do herbicida pelas raízes do biótipo resistente (JUGULAM et al., 2013).

O mecanismo de resistência por rápida necrose reduz a translocação da molécula do herbicida em plantas resistentes, no entanto, esse processo não ocorre por sequestro no vacúolo. O primeiro relato referente ao mecanismo de rápida necrose ocorreu em 2017 com a espécie de planta daninha ambrósia gigante (*Ambrosia trifida*), nos Estados Unidos (GANIE et al., 2017). O conhecimento e identificação desse mecanismo de resistência é muito importante, pois já que as plantas isolam o herbicida pela queda das folhas, outros herbicidas, aplicados em mistura com o glyphosate, podem também perder sua eficácia de controle (MORETTI et al., 2017; HARRE et al., 2018).

Nos casos de resistência por alteração do local de ação, a molécula do herbicida pode perder a capacidade de exercer sua atividade sobre o local de ação, tal alteração pode ocorrer por mutação da enzima alvo (CHRISTOFFOLETI et al., 1994). Segundo Inoue e Oliveira Júnior (2011) a mutação natural possui baixa probabilidade de ocorrência, enquanto que a mutação induzida ocorre por ação de fontes externas (luz, oxigênio e radiação ultravioleta). As alterações no local de ação, tornando os biótipos resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase, é o mecanismo mais comum de resistência aos herbicidas “FOPS e DIMS” (SEEFELDT et al., 1996; SANKULA et al., 1997). Estudos indicam que em alguns casos de plantas do gênero *Echinochloa* spp. a origem da resistência é a alteração do local de ação, como em *Echinochloa crus-galli* (PANOZZO et al., 2013; RIAR et al., 2013) e *Echinochloa oryzicola* (KALOUMENOS et al., 2013).

No decorrer dos anos as plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase têm-se tornado um problema crescente a nível mundial, apresentando como agravante a resistência múltipla, comprometendo e dificultando o manejo nessas áreas. O primeiro registro de *Echinochloa crus-galli* foi em 1978, nos Estados Unidos e logo em seguida ocorreu o registro em vários outros países (HEAP, 2021), e o primeiro caso de *Echinochloa crus-galli* resistente aos inibidores da ACCase foi relatado nos anos 2000 nos Estados Unidos, a evolução desses casos de resistência é preocupante.

2.5 MECANISMOS QUE CONFEREM RESISTÊNCIA A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACCase

A enzima ACCase caracteriza-se por apresentar três centros de reação: a enzima biotina carboxilase, a proteína carreadora de biotina (PCB) e a enzima carboxiltransferase. Além disso a enzima apresenta duas isoformas sendo uma homodimérica e outra heteromérica. Os herbicidas inibidores dessa enzima atuam na forma homodimérica da ACCase e são agrupados estruturalmente em três classes de compostos: ariloxifenoxipropionatos (FOPS); ciclohexanodionas (DIMS), e fenilpirazolinonas (DENS) (DÉLYE, 2005; MUEHLEBACH, et al, 2011). Na região de absorção (foliar), há uma elevada demanda por malonil-CoA oriunda da carboxilação da Acetil-CoA para biossíntese de ácidos graxos e lipídeos (KAUNDUN, 2014). Segundo Oliveira Júnior et al. (2011) esses herbicidas são caracterizados pela inibição da síntese de ácidos graxos, dessa forma não ocorre a síntese de ácidos graxos por não ocorrer a conversão do Acetil-Coa para Malonil-CoA pela adição de CO₂ e conseqüentemente a inibição da síntese de lipídios é bloqueada pela ação do herbicida comprometendo a integridade das membranas celulares com o extravasamento de metabólitos intracelulares e morte celular.

A diversidade genética é de fundamental importância no desenvolvimento da resistência, conferindo resistência a uma classe de herbicidas antes mesmo de sua aplicação a campo. Isso é possível porque essas mutações gênicas estão presentes aleatoriamente nas populações de plantas (CHRISTOFFOLETI; OVEJERO, 2008). A tolerância de espécies dicotiledôneas aos herbicidas inibidores da ACCase está relacionada à genética, isso porque a enzima presente no cloroplasto de plantas dessa espécie é do tipo heteromérica, e a localizada no citoplasma é homodimérica, enquanto que espécies sensíveis aos herbicidas inibidores de ACCase caracterizam-se por apresentarem a forma homodimérica da enzima tanto no citosol quanto no plastídio (SASAKI et al, 1995).

Os inibidores da enzima ACCase são utilizados exclusivamente para o controle de gramíneas em condição de pós-emergência. Esses herbicidas são divididos em dois grupos químicos, as ciclohexanodionas (DIMS) e os ariloxifenoxipropionatos (FOPS), que possuem diferenças em suas estruturas químicas, porém apresentam afinidade pelo mesmo sítio de ação da enzima ACCase (CHRISTOFFOLETI; NICOLAI, 2016). Segundo Roman et al. (2007), os herbicidas inibidores de ACCase não são voláteis, entretanto a maioria degrada-se rapidamente na presença de luz quando ficam na superfície da folha, o que reduz sua eficácia. Além disso, são herbicidas de ação sistêmica, são absorvidos pelas folhas das gramíneas e translocados até partes meristemáticas das plantas onde ocorre a intensa divisão celular.

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores de ACCase pode ser ocasionada principalmente por: aletrações no local de ação, metabolização, detoxificação (AGOSTINETTO et al, 2002) e superexpressão do gene ACCase (LAFOREST et al, 2017). Esses mecanismos podem estar relacionados ao sítio de ação em que ocorre uma única mutação em um ponto chave no gene alvo, ou não estar relacionado ao sítio de ação podendo envolver vários genes e famílias de genes, ou seja, nesse caso o metabolismo do herbicida parece ser controlado por vários genes que codificam sistemas enzimáticos de detoxificação. O sítio-alvo é o mecanismo responsável pela resistência para a maioria dos herbicidas, principalmente para os inibidores da ACCase (AMARO BLANCO et al, 2021). O mecanismo de resistência não relacionado ao sítio de ação é obtido com a redução da concentração de herbicida que atinge o local alvo, que incluiu mecanismos de aumento da degradação do herbicida em determinadas plantas (AGOSTINETTO et al, 2002) e sequestro de herbicidas, absorção reduzida e translocação limitada (POWLES; YU, 2010). O aumento da metabolização de herbicidas tem sido relacionado à resistência em várias espécies de plantas daninhas, principalmente nas gramíneas, como *L. rigidum* (BUSI et al., 2011), *A. myosuroides* (DÉLYE et al., 2011), *Echinochloa phyllopogon* (YASUOR et al., 2009). Há relatos de resistência de capim-arroz por metabolização a bispyribac-sodium (YUN et al., 2005), cyhalofop-p-butyl (RUIZ-SANTAELLA et al., 2006), penoxsulam (YASUOR et al., 2009) e clomazone (YASUOR et al., 2010).

A maioria dos casos de resistência não relacionado ao sítio de ação que envolve a resistência metabólica é ocasionada por três principais formas: citocromo P450 monooxigenases (P450) como por exemplo o relatado em *Lolium rigidum* (HAN et al., 2014), *Descurainia sophia* (YANG et al. 2018) e *Capsella bursa-pastoris* (ZHANG et al., 2021); glutationa s-transferases (GSTs) relatada em biótipo com origem no Sul do Brasil em

Echinochloa crus-galli (DALAZEN, MARKUS; MEROTTO JR., 2018) e também em biótipos de *E. crus-galli* resistentes ao herbicida quinclorac (LI et al., 2013); e glicosiltransferases (GTs), que são as enzimas responsáveis pela alteração da molécula herbicida (MAROLI et al., 2018).

A resistência a herbicidas em plantas também pode ocorrer em função de mutações no sítio de ação (relacionado ao sítio de ação), com alteração de aminoácidos no centro de reação da enzima alvo dos herbicidas, impedindo a ligação eficaz do herbicida com a enzima (POWLES; YU, 2010). A resistência diretamente relacionada à ACCase (alteração no sítio de ação) é causada por mutações (POWLES; YU, 2010), sendo que o nível de resistência varia de acordo com o herbicida, doses utilizadas, espécie de planta daninha, estágio da planta, alterações específicas de aminoácidos e número de cópias de genes e alelos mutantes (KAUNDUN, 2014).

Algumas mutações no gene que codifica a enzima ACCase foram relatadas: Ile-1781-Leu (WHITE et al., 2005; YU et al., 2007; LIU et al., 2007; PETIT et al., 2010); Trp-1999-Cys (LIU et al., 2007); Trp-2027-Cys (LIU et al., 2007; YU et al., 2007; PETIT et al., 2010); Ile-2041-Asn (ZHANG; POWLES, 2006; LIU et al., 2007; YU et al., 2007; HOCHBERG et al., 2009; PETIT et al., 2010); Ile-2041-Val (YU et al., 2007); Asp-2078-Gly (LIU et al., 2007; YU et al., 2007; HOCHBERG et al., 2009; PETIT et al., 2010), Cys-2088-Arg (YU et al., 2007); Gly-2096-Ala (PETIT et al., 2010). Há relatos de resistência cruzada a diferentes herbicidas inibidores de ACCase, e em sua grande maioria são decorrentes de mutações Ile-1781-Leu, Ile-2041-Asn e Trp-2027-Cys (CHEN et al., 2017), além disso as mutações Asp-2078-Gly e Cys-2088-Arg conferem amplo espectro de resistência em todas as classes de herbicidas inibidores de ACCase (YU et al., 2007; DÉLYE et al., 2008; KAUNDUN, 2010; SCARABEL et al., 2011; KAUNDUN et al., 2012). Segundo Fang (2020) a substituição mais comumente encontrada em plantas daninhas resistente aos inibidores da ACCase é a Ile-1781-Leu.

Ainda pode ocorrer a superexpressão da enzima alvo do herbicida, as causas que levam à superexpressão e amplificação dos genes ainda não estão completamente elucidadas. Antes atribuída a transposons ou pela modificação de promotores específicos de cada gene, considera-se atualmente que a causa mais próxima se encontra pela replicação de DNA circular extracromossômico (eccDNAs) (KOO et al., 2018; ZHANG et al., 2018); o aumento de expressão do gene ACCase foi reportado em *Sorghum halepense* (BRADLEY et al., 2001), em *Leptochloa chinensis* (PORNPROM et al., 2006) e em *D. sanguinalis* (LAFOREST et al., 2017), em contrapartida Huan et al. (2013) ao estudar a resistência de *Echinochloa crus-galli*

ao herbicida quizalofop-p-ethyl comprovaram que ela não era ocasionada por uma superexpressão do gene ACCase.

Estratégias de manejo químico para biótipos resistentes a herbicidas podem ser realizadas através do uso de herbicidas com diferentes mecanismos de ação ou através da associação de herbicidas com mecanismos distintos (POWLES; YU, 2010). O manejo integrado de plantas daninhas (MIPD) é a combinação de vários métodos de controle de plantas daninhas a fim de reduzir o grau de interferência abaixo do limiar de dano econômico (THILL et al., 1991).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINETTO, D. et al. Resistência de plantas aos herbicidas inibidores da enzima acetil coenzima A carboxilase (ACCCase). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.3, n. 2-3, p. 155-161, 2002.
- AGOSTINETTO, D. et al. Interferência de capim-arroz (*Echinochloa* spp.) na cultura do arroz irrigado (*Oryza sativa*) em função da época de irrigação. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 689-696, 2007.
- AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. **Resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil**. Passo Fundo, 2009. p. 37-74.
- AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L.; BIANCHI, M. A. Manejo e controle de plantas daninhas. In: BORÉM, A.; SCHEEREN, P. L. (Ed.). **Trigo: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2015. p. 169-184.
- AMARO-BLANCO, I. et al. Different mutations providing target site resistance to ALS- and ACCase-inhibiting herbicides in *Echinochloa* spp. from rice fields. **Agriculture**, v. 11, n. 5, p. 382, 2021.
- ANDRES A.; MACHADO, S. L. de O. Plantas daninhas em arroz irrigado. In MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; GOMES, A da S. **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 457-546.
- ANDRES, A. et al. Efeito do herbicida penoxsulam sobre o desenvolvimento inicial do arroz cv. BRS Pelota submetido a diferentes momentos de início de irrigação. IV Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado e XXVI Reunião da Cultura do Arroz Irrigado. Santa Maria. 2005. 206-207p.
- ANDRES, A. et al. Detecção da resistência de capim-arroz (*Echinochloa* spp.) ao herbicida quinclorac em regiões orizícolas do sul do Brasil. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 221-226, 2007.
- BAJWA, A. A. et al. Eco-biology and management of *Echinochloa crus-galli*. **Crop Protection**, v. 75, p. 151-162, 2015.
- BORTOLY, E. D. et al. Identificação de espécies do gênero *Echinochloa* através de descritores morfológicos e moleculares. Pelotas, RS. **Anais...** Pelotas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, p.856-859. 2015.
- BOUMAN, B. A. M. et al. Rice and Water. **Advances in Agronomy**, v. 92, p. 187– 237, 2007.
- BRADLEY, K. W. et al. The mechanism of resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione herbicides in a *Johnsongrass* biotype. **Weed Science**, v. 49, n. 4, p. 477-484, 2001.

BRIGHENTI, A. M.; OLIVEIRA, M. F. Biologia de plantas daninhas. In: OLIVEIRA JUNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 1-362.

BUSI, R.; VILA-AIUB, M.M.; POWLES, S.B. Genetic control of a cytochrome P450 metabolism-based herbicide resistance mechanism in *Lolium rigidum*. **Heredity**, v.106, n.5, p.817-824, 2011.

CARVALHO, L. B. **Plantas daninhas**. Lages: Edição do Autor, 2013. p. 1-92.

CAVALCANTE, J. T. et al. Períodos de interferência de plantas daninhas em genótipos de batata-doce. **Cultura Agrônômica**, v. 26, n. 4, p. 640-656, 2017.

CHEN, G. et al. Cross-resistance patterns to acetyl-CoA carboxylase inhibitors associated with different mutations in Japanese foxtail (*Alopecurus japonicus*). **Weed Science**, v. 65, n. 4, p. 444-451, 2017

CHRISTOFFOLETI P.J. et al. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da EPSPs. In: VELINI, E. D. et al. **Glyphosate**. Botucatu: FEPAF, 2009. p. 1-493.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; VICTÓRIA FILHO, R.; SILVA, C. B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v. 12, n. 1, p. 13-20, 1994.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M. **Aspectos da resistência de planta daninha a herbicidas**. 4 ed. Piracicaba. 2016.

CHRISTOFFOLETI, P.J.; OVEJERO, R.F. Resistência das plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situação no Brasil e no mundo. In: CHRISTOFFOLETI, P.J. **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. Piracicaba: HRAC-BR, 2008. p.9-34.

COMONT, D. et al. Evolution of generalist resistance to herbicide mixtures reveals a trade-off in resistance management. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2020.

CONAB. **A cultura do arroz**. Brasília: Superintendência de Marketing e Comunicação – Sumac / Gerência de Eventos e Promoção Institucional - Gepin, 2015. 185 p.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira, Grãos: primeiro levantamento – safra 2021/2022, outubro de 2021, Brasília: Conab, 2021. Disponível em: www.conab.gov.br. Acesso em 02 nov. 2021.

DALAZEN, G.; MARKUS, C.; MEROTTO JUNIOR, A. Differential expression of genes associated with degradation enhancement of imazethapyr in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 9, p. 389-401. 2018.

DAWSON, J. H.; BRUNS, V. F. Longevity of barnyard grass, green foxtail and yellow foxtail seeds in soil. **Weed Science**, v.23, n. 5 p. 437-440, 1975.

DÉLYE, C. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: An update. **Weed Science**, v. 53, n. 5, p. 728-746, 2005.

- DÉLYE, C., et al. Non-target-site-based resistance should be the centre of attention 357 for herbicide resistance research: *Alopecurus myosuroides* as an illustration. **Weed Research**, v. 51, n. 5, p. 433-437, 2011.
- DÉLYE, C.; MATÉJICEK, A.; MICHEL, S. Cross-resistance patterns to ACCase-inhibiting herbicides conferred by mutant ACCase isoforms in *Alopecurus myosuroides* Huds. (blackgrass), re-examined at the recommended herbicide field rate. **Pest Management Science**, v. 64, n. 11, p. 1179-1186, 2008.
- EBERHARDT, D.S. et al. Barnyardgrass with multiple resistance to synthetic auxin, ALS and ACCase inhibitors. **Planta Daninha**, v. 34, n. 4, p. 823-832, 2016.
- FANG, J. et al. A novel mutation Asp-2078-Glu in ACCase confers resistance to ACCase herbicides in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 168, p. 104634, 2020.
- FLECK, N. G. et al. Interferência de plantas concorrentes em arroz irrigado modificada por métodos culturais. **Planta daninha**, v. 22, n. 1, p. 19-28, 2004.
- FONTES, J. R. A.; GONÇALVES, J. R. P. Manejo integrado de plantas daninhas. In: I Simpósio sobre Manejo de Pragas, 2009, Belém – Pará. **Resumo**: Belém-PA. Embrapa Amazônia Oriental, p. 18, 2009.
- GANIE, Z. A. et al. Investigating the mechanism of glyphosate resistance in a common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) biotype from Nebraska. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 97, n. 6, p. 1140-1151, 2017.
- GALON, L. et al. Estimativa das perdas de produtividade de grãos em cultivares de arroz (*Oryza sativa*) pela interferência do capim-arroz (*Echinochloa* spp.). **Planta Daninha**, v. 25, n. 3, p. 697-707, 2007.
- 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.
- GE, X. et al. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. **Pest Management Science**, v. 66, n. 4, p. 345-348, 2010.
- GOMES, A. da S. **Arroz Irrigado**: no sul do Brasil. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília-DF. 2004. 899p.
- GOMES, A. da S; PAULETTO, E. A. **Manejo do solo e da água em áreas de várzea**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. 201p.
- GUILLEMIN, J. P. et al. Assessing potential germination period of weeds with base temperatures and base water potentials. **Weed Research**, v. 53, n. 1, p. 76-87, 2012.
- HAN, H. et al. Genetic inheritance of cytochrome P450-mediated metabolic resistance to chlorsulfuron in a multiple herbicide resistant *Lolium rigidum* population. **Crop Protection**, v. 65, n. 11, p. 57-63, 2014.

HARRE, N. T.; YOUNG, J. M.; YOUNG, B. G. Glyphosate-induced antagonism in rapid response giant ragweed (*Ambrosia trifida*). **Weed Technology**, v. 32, n. 1, p. 52-59, 2018.

HEAP, I. Global perspective of herbicide-resistant weeds. **Pest Management Science**, v. 70, n. 9, p. 1306-1315, 2014.

HEAP, I. **International survey of herbicide resistant weeds. 2020**. Disponível em: <http://weedsociety.com/Pages/Case.aspx?ResistID=15069> . Acesso em: 13 nov. 2021.

HEINEMANN, A. B. et al. Evaluation of physiological traits in upland rice for adaptation to no-tillage system. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 21, n. 2, p. 113–122, 2009.

HOCHBERG O., SIBONY M., RUBIM B. The response of ACCase-resistant *Phalaris paradoxa* populations involves two different target site mutations. **Weed Research**, v. 49, n. 1, p. 37–46, 2009.

HRAC. **Comitê de ação a resistência aos herbicidas. 2020**. Disponível em: <https://www.hrac-br.org/>. Acesso em: 18 jan. 2022.

HUAN Z. et al. Determination of ACCase sensitivity and gene expression in quizalofop–ethyl resistant and -susceptible barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) biotypes. **Weed Science**, v. 61, p. 537-542, 2013.

INOUE M.H., OLIVEIRA JR. R.S. Mecanismo de ação de herbicidas. In: OLIVEIRA JR. R.S., CONSTANTIN J., INOUE M.H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Ominipax. 2011. p.193-214.

JUGULAM, M. et al. Investigation of MCPA (4-chloro-2-ethylphenoxyacetate) resistance in wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.). **J. Agricultural Food Chemistry**, v.61, n.1, p.12516–12521, 2013

KALOUMENOS, N. S. et al. Target-site mutation associated with cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides in late watergrass (*Echinochloa oryzicola* Vasing.). **Pest Management Science**, v. 69, n. 7, p. 865-873, 2013.

KAUNDUN, S. Resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides. **Pest Management Science**, v. 70, n. 9, p. 1405-1417, 2014.

KAUNDUN, S. et al. Broad resistance to ACCase inhibiting herbicides in a ryegrass population is due only to a cysteine to arginine mutation in the target enzyme. **Plos One**, v. 7, n. 6, p. e39759, 2012.

KAUNDUN, S.S. An aspartate to glycine change in the carboxyl transferase domain of acetyl CoA carboxylase and non-target-site mechanism(s) confer resistance to ACCase inhibitor herbicides in a *Lolium multiflorum* population. **Pest Management Science**, v. 66, n.11, p. 1249-1256, 2010.

KIM, K. U. Echophysiology of *Echinochloa* species and their management. In: SASTROUTOMO, S. S.; AULD, B. A (Eds.). **Appropriate Weed Control in Southeast Asia**, v. 1, n. 4, p. 18-26, 1994.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. São Paulo: Basf, 1991. p. 390-404.

KISSMANN, K. G. **Resistência de plantas a herbicidas**. São Paulo: Basf, 1996. 33 p.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: BASF, Tomo I. 1997. 825 p.

KISSMANN, K.G; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. Ed. São Paulo: BASF, 1999. 978 p.

KLAIC, R; et al. Overview regarding bioherbicide and their production methods by fermentation. **Fungal Management Science**, v. 70, n. 1, p. 1405-1417, 2014.

KOO, D. H. et al. Extrachromosomal circular DNA-based amplification and transmission of herbicide resistance in crop weed *Amaranthus palmeri*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 13, p. 3332-3337, 2018.

KUKORELLI, G. et al. ACCase inhibitor herbicides selectivity weed resistance and fitness cost, a review. **International Journal of Pest Management**, v. 59, p. 165-173, 2013.

LAFORST, M. et al. Acetyl-CoA carboxylase overexpression in herbicide-resistant large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). **Pest Management Science**, v. 73, n. 11, p. 2227-2235, 2017.

LI, G. et al. Identification and expression pattern of a glutathione S-transferase in *Echinochloa crus-galli*. **Weed Research**, v. 53, n. 5, p. 314-321, 2013.

LIU W.J. et al. Single-site mutations in the carboxyltransferase domain of plastid acetyl-CoA carboxylase confer resistance to grass-specific herbicides. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 9, p. 3627-32, 2007.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 608 p.

MACIEL, C. D. de G. Métodos de controles de plantas daninhas. In: MONQUEIRO, P. A, **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**, São Carlos: Rimas, 2014. p.15-28.

MAROLI, A. S. et al. A Perspective from Genomics, Transcriptomics, and Metabolomics Approaches. **Weed Science**, v. 66, n. 6, p. 681-695, 2018.

MALIK, M. S. et al. Confirmation and control of propanil-resistant and quinclorac-resistant and susceptible barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in rice. **Weed Technology**, v. 24, n. 3, p. 226-233, 2010.

MENNAN, H. et al. Competitiveness of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars against *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. in water-seeded production systems. **Crop Protection**, v. 41, p. 1-9, 2012.

- MICHITTE, P., et al. Mechanisms of resistance to glyphosate in a ryegrass (*Lolium multiflorum*) biotype from Chile. **Weed Science**, v.55, n.5, p.435-440, 2007.
- MONQUEIRO, P.A. et. al. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ALS na cultura da soja (*Glycine max*). **Planta Daninha**, v. 18, n. 3, p. 419-425, 2000.
- MORETTI, M. L. et al. Glyphosate resistance in *Ambrosia trifida*: Part 2. Rapid response physiology and non-target-site resistance. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1079-1088, 2017.
- MUEHLEBACH, M. et al. Aryldiones incorporating a [1,4,5] oxadiazepane ring. Part I: Discovery of the novel cereal herbicide pinoxaden. **Pesticide Management Science**, v. 67, n. 12, p. 1499-1521, 2011.
- NANDULA, V. K. et al. Glyphosate tolerance mechanism in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) from Mississippi. **Weed Science**, v.56, n.3, p.344-349, 2008.
- NOLDIN, J. A. Doses, épocas e formulações de 2,4-D em arroz irrigado. In: Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 1.; Reunião Da Cultura Do Arroz Irrigado, 23., 1999, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 562-565.
- NORRIS, R. F. *Echinochloa crus-galli* (barnyardgrass) seed rain under irrigated conditions. In BEKKER, R. M. et al. (Ed.). **Aspects of Applied Biology**, Wellesbourne: Association of Applied Biologists, 2003. p. 163-170.
- NUNES, F. S. et al. Weed phytosociological survey in irrigated rice. **Planta Daninha**, v. 36, n.1, p. 1-9, 2018.
- OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba, PR: Omnipax. 2011. 348p.
- OSUNA, M. D. et al. Genetic diversity and spread of thiobencarb resistant early watergrass (*Echinochloa oryzoides*) in California. **Weed Science**, v. 59, n. 2, p. 195-201, 2011.
- PANOZZO, S. et al. Target-site resistance to ALS inhibitors in the polyploid species *Echinochloa crus-galli*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 105, n. 2, p. 93-101, 2013.
- PETIT C. et al. Prevalence of cross or multiple resistance to the acetylcoenzyme A carboxylase inhibitors fenoxaprop, clodinafop and pinoxaden in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) in France. **Pest Management Science**, v. 66, n. 2, p. 168–77, 2010.
- PINHEIRO, B. D. S. et al. Sustainability and profitability of aerobic rice production in Brazil. **Field Crops Research**, v. 97, n. 1, p. 34–42, 2006
- PINTO, J.J.O. et al. Controle de plantas daninhas Poaceas na cultura do arroz irrigado, linhagem Irga 5-4-16. In: XXIII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, 2002, Gramado – RS. **Anais...** Londrina – PR: SBCPD. v.1, p.238. 2002.

- PORNPROM, T. et al. The role of altered acetyl-CoA carboxylase in conferring resistance to fenoxaprop-P-ethyl in Chinese sprangletop [*Leptochloa chinensis* (L.) Nees]. **Pest Management Science**, v. 62, n. 11, p. 1109-1115, 2006.
- POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. 1, p. 317-347, 2010.
- PRASAD, R. Aerobic Rice Systems. **Advances in Agronomy**, v. 111, p. 207–247, 2011.
- RIAR, D. S. et al. Physiological and molecular basis of acetolactate synthase-inhibiting herbicide resistance in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 61, n. 2, p. 278-289, 2013.
- ROMAN, E.S. et al. **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação**. Passo Fundo: Berthier, 2007. p. 1-158p
- RUIZ-SANTAELLA, J. P. et al. Resistance mechanisms to cyhalofop-butyl in a biotype of *Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss. from California. **Journal of Plant Disease Protection**, v. 121, n. 20, p.95-100, 2006.
- SAITO, K. et al. Progress in varietal improvement for increasing upland rice productivity in the tropics. **Plant Production Science**, v. 21, n. 3, p. 145–158, 2018.
- SANDRI, M. A. et al. Effect of shading on tomato plants grow under greenhouse. **Horticultura Brasileira**, v. 21, p. 642-645, 2003.
- SANKULA, A. et al. Resistance to ACCase-inhibitor herbicides in wild oat: evidence for target site-based resistance in two biotypes from Canada. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 57, n. 1, p. 147-155, 1997.
- SASAKI, Y. et al. The compartmentation of acetyl-coenzyme A carboxylase in plants. **Plant Physiology**, v. 108, n. 2, p. 445-449, 1995.
- SCARABEL, L. et al. Allelic variation of the ACCase gene and response to ACCase inhibiting herbicides in pinoxaden-resistant *Lolium* spp. **Pest Management Science**, v. 67, n. 8, p. 932-941, 2011.
- SEEFELDT.S.S. et al. Mechanisms of resistance to diclofop of two wild oat (*Avena fatua*) biotypes from the Willamette Valley of Oregon. **Weed Science**, v.44, n.4, p.776-781, 1996
- SILVA, M. R. M.; DURIGAN, J. C. Períodos de interferência das plantas daninhas na cultura do arroz de terras altas. I – Cultivar IAC 202. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 685-694, 2006.
- SILVA, M. R. M. et al. Floristic and phytosociology of weeds in upland rice in the humid tropics. **Planta Daninha**, v. 35, p. 1-11, 2007a.
- SILVA, A. A. et al. Métodos de controle de plantas daninhas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Universidade Federal de Viçosa, 2007b. 367 p.

SOSBAI (Sociedade Sul Brasileira de Arroz Irrigado). **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Bento Gonçalves, 2016. 200p

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed. 2017. 719 p.

THILL, D.C. et al. Integrated weed management: a component of integrated pest management; a critical review. **Weed Technology**, v. 5, n.3, p. 648-656, 1991.

ULGUIM, A. R. et al. Weed phytosociological in irrigated rice under different cultivation systems and crop rotation intensity. **Ciência Rural**, v. 48, n. 11, p. 1-7, 2018.

VALVERDE, B. E. et al. **Prevención y manejo de malezas resistentes a herbicidas em arroz**. Experiences en Central America con *Echinochloa colona*. Costa Rica: Cámara de Insumos Agropecuarios, 2001. 136 p.

VASCONCELOS, M. C. C. A. et al. Interferência de plantas daninhas sobre plantas cultivadas. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 8, n. 1, p. 01-06, 2012.

VIDAL, R. A.; FLECK, N. G. Three weed species with confirmed resistance to herbicides in Brazil. In: MEETING OF THE WSSA, 42 Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente, Curitiba, v. 12, jan./dez. 2002 1997, Orlando. **Abstracts ...** Champaign: WSSA, 1997. p. 100

VIDAL, R.A.; MEROTTO JR, A. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. In: VIDAL, R.A.; MEROTTO JR., A. (Eds.). **Herbicidologia**. Porto Alegre: 2001. p.138-148.

VILA-AIUB, M. M. et al. Glyphosate resistance in perennial *Sorghum halepense* (Johnsongrass), endowed by reduced glyphosate translocation and leaf uptake. **Pest Management Science**, v. 68, n. 3, p. 430-436, 2012.

WHITE G. M. et al. Differences in the molecular basis of resistance to the cyclohexanedione herbicide sethoxydim in *Lolium multiflorum*. **Weed Research**, v. 45, n. 6, p. 440-448, 2005.

YANG, Q. et al. Metabolic Resistance to Acetolactate Synthase Inhibiting Herbicide Tribenuron-Methyl in *Descurainia sophia* L. Mediated by Cytochrome P450 Enzymes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 17, p. 4319-4327, 2018

YASUOR, H. et al. Differential oxidative metabolismo and 5-Ketoclozomazone accumulation are involved in *Echinochloa phyllopogon* resistance to clomazone. **Plant Physiology**, Rockville, v. 153, n. 1, p. 319-326, 2010.

YASUOR, H. et al. Mechanism of resistance to penoxsulam in later watergrass *Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 57, n. 9, p. 3653-3660, 2009.

YU, Q. et al. Diversity of acetyl-coenzyme a carboxylase mutations in resistant *Lolium populations*: Evaluation using clethodim. **Plant Physiology.**, v. 145, n. 2, p. 547-558, 2007.

YUN, M. S. et al. Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 83, n. 2-3, p. 107-114, 2005.

ZHANG X.Q., POWLES S.B. The molecular bases for resistance to acetyl coenzyme A carboxylase (ACCase) inhibiting herbicides in two target-based resistant biotypes of annual ryegrass (*Lolium rigidum*). **Planta**, v. 223, n. 3, p. 550–557, 2006.

ZHANG, C. et al. Alterations in the 5' untranslated region of the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) gene influence EPSPS overexpression in glyphosate-resistant *Eleusine indica*. **Pest Management Science**, v. 74, n. 11, p. 2561-2568, 2018.

ZHANG, X. et al. Investigating the mechanism of metabolic resistance to tribenuron-methyl in *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. by full-length transcriptome assembly combined with RNA-Seq. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 12, p. 3692-3701, 2021.

4 RESISTÊNCIA DE CAPIM-ARROZ (*Echinochloa crus-galli*) A INIBIDORES DA ACCASE: CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA E ALTERNATIVAS DE CONTROLE

4.1 RESUMO

Plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da enzima ACCase apresentam grande impacto a nível mundial, tanto pela área infestada quanto pelo limitado número de herbicidas alternativos disponíveis para o controle dos biótipos resistentes. O objetivo desse trabalho foi identificar os biótipos de capim-arroz resistentes a inibidores de acetil-CoA carboxilase (ACCase) proveniente das principais regiões orizícolas do Estado de Santa Catarina, comprovar a resistência cruzada por meio de ensaios de dose resposta conduzidos em duas gerações e avaliar alternativas para o controle químico de um biótipo resistente. A pesquisa foi desenvolvida no CAV/UDESC em casa de vegetação. Um ensaio preliminar foi realizado com vinte e um biótipos provenientes das principais regiões orizícolas do Estado de Santa Catarina para determinar a sensibilidade desses ao herbicida cyhalofop-p-butyl (Clincher®), avaliando a sobrevivência e o controle. A partir do ensaio preliminar foram selecionados biótipos de capim-arroz com suspeita de resistência e suscetível a cyhalofop-p-butyl para caracterização da resistência por meio de estudos de dose resposta. Neste ensaio, foram testados três herbicidas inibidores de ACCase: cyhalofop-p-butyl (Clincher®); quizalofop-p-ethyl (Targa®) e profoxydim (Aura®) em doses crescentes, representando 0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 D (onde D refere-se à dose recomendada). Os experimentos de curva de dose-resposta foram conduzidos com quatro biótipos na geração F1 e com dois biótipos na geração F2. Foi avaliada a porcentagem de controle aos 21 dias após a aplicação em F1 e aos 28 dias após a aplicação em F2. Após a condução dos ensaios de dose resposta avaliou-se o controle alternativo com dois biótipos e dez tratamentos herbicidas, avaliou-se o controle e a massa seca da parte aérea aos 28 dias após a aplicação. Para o biótipo resistente na geração F1, foram obtidos fator de resistência (FR) de 5,7; 30,5 e 16,05 para cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl e profoxydim, respectivamente. Em F2, o FR foi de 7,89; 7,72 e 4,24 para cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl e profoxydim, respectivamente. No ensaio com as alternativas para o controle químico apenas os herbicidas aplicados em pré-emergência, pendimethalin e clomazone, proporcionaram um controle de 100%.

Palavras-chave: Controle alternativo, *Echinochloa* spp., dose resposta, pré-emergência.

4.2 ABSTRACT

Weeds resistant to herbicides that inhibit the ACCase enzyme have great impact worldwide, both by the infested area and by the limited number of alternative herbicides available for the control of resistant biotypes. The objective of this work was to identify the biotypes of barnyardgrass resistant to ACCase inhibitors from the main rice growing regions of Santa Catarina state, to prove the cross-resistance by means of dose response trials conducted in two generations and to evaluate alternatives for the chemical control of the resistant biotype. The research was developed at CAV/UDESC in a greenhouse. A preliminary trial was conducted with twenty one biotypes from the main rice growing regions of Santa Catarina State to determine their sensitivity to cyhalofop-p-butyl herbicide, evaluating survival and control. From the preliminary trial, barnyardgrass biotypes with suspected resistance and susceptible to cyhalofop-p-butyl were selected for resistance characterization through dose-response studies. In this trial, three ACCase inhibitor herbicides were tested: cyhalofop-p-butyl; quizalofop-p-ethyl and profoxydim at increasing rates, representing 0; 0.25; 0.5; 1; 2; 4; 8 and 16 D (where D refers to the recommended dose). The rate-response curve experiments were conducted with four biotypes in the F1 generation and with two biotypes in the F2 generation. The percentage of control was evaluated at 21 days after application in F1 and at 28 days after application in F2. After conducting the dose response trials, the alternative control was evaluated with two biotypes and ten herbicide treatments, and the control and dry mass of the aerial part were evaluated at 28 days after the application. For the resistant biotype in F1 generation, resistance factor (RF) of 5.7; 30.5 and 16.05 were obtained for cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl and profoxydim, respectively. In F2, the RF was 7.89; 7.72 and 4.24 for cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl and profoxydim, respectively. In the trial with the alternatives for chemical control only the herbicides applied pre-emergence, pendimethalin and clomazone, provided 100% control.

Keywords: Alternative control, *Echinochloa* spp., dose response, pre-emergence.

4.3 INTRODUÇÃO

As plantas daninhas que infestam as plantações afetam a qualidade e à produtividade da cultura do arroz irrigado. Dentre as espécies que mais infestam e causam danos à cultura do arroz irrigado destacam-se as do gênero *Echinochloa* (KISSMANN, 1997). O capim-arroz tem ciclo anual, se reproduz por sementes, é de rápido crescimento inicial e apresenta alta capacidade competitiva (BASTIANI et al., 2015), além de possuir uma ampla distribuição é morfológicamente semelhante às plantas de arroz (ANDRES et al., 2007). Sua capacidade de interferência é muito alta mesmo em baixas populações, segundo Galon et al. (2007) uma planta de capim-arroz por m² pode provocar até 22% de redução na produtividade no arroz irrigado.

O uso intensivo de herbicidas como forma de controlar as infestações das lavouras tem ocasionado ao longo dos anos um aumento na frequência de indivíduos resistentes. A resistência de plantas daninhas a herbicidas é o principal problema atual no controle de plantas daninhas, diversos casos foram reportados e os mecanismos de resistência estão sendo elucidados. A evolução da resistência de capim-arroz compromete o manejo das lavouras pois está diretamente relacionada a redução das opções de herbicidas, bem como o aumento dos custos de produção. Segundo Beltran et al. (2012) o impacto econômico por hectare referente a presença de plantas de capim-arroz resistente é de U\$ 100,00/ha.

Os inibidores da acetil-coenzima A carboxilase (ACCCase) têm sido amplamente utilizados em arroz irrigado para controlar espécies do gênero *Echinochloa* (FANG et al., 2020). De acordo com Silva et al. (2007) as principais características dos herbicidas inibidores da ACCCase são: o uso para controle em pós-emergência de gramíneas anuais e perenes; seletividade a todas as culturas não gramíneas; a translocação via floema e xilema; rapidamente absorvido pelas folhas; tem atividade potencializada com o uso de adjuvantes; não apresenta atividade suficiente para o controle de gramíneas em pré-emergência e a mistura de tanque com herbicidas latifolicidas pode ocasionar antagonismo.

A aplicação intensiva desses herbicidas tem gerado uma preocupação crescente devido à redução dos ingredientes ativos disponíveis (PANOZZO et al., 2013). Segundo Heap (2021) casos de resistência a inibidores da ACCCase em *Echinochloa* já foram relatados em todo o mundo, uma vez que populações deste gênero já foram descritas como resistentes. Recentemente Hwang et al (2021) relataram uma população de *Echinochloa crus-galli* resistente a cyhalofop-p-butyl, além de relatos de populações com resistência múltipla a

herbicidas (BAGAVATHIANNAN et al., 2014; MATZENBACHER et al., 2015; EBERHARDT et al., 2016; ROUSE et al., 2019; HAGHNAMA; MENNAN, 2020).

Huan et al. (2013) encontraram biótipos de *Echinochloa crus-galli* com um fator de resistência de 106 à quizalofop-ethyl. Hamza et al. (2012) em estudo sobre a resistência de *E. crus-galli* ao herbicida fenoxaprop-p-ethyl ocorre devido ao metabolismo mais rápido de fenoxaprop-p-ethyl, abaixo da concentração fisiologicamente ativa ou à insensibilidade de sua enzima alvo (acetil-CoA carboxilase). Motior e Rahman (2010) identificaram um biótipo de *Echinochloa crus-galli* com fator de resistência de 17 ao cyhalofop-butyl. Won et al. (2012) avaliaram 155 acessos de capim-arroz de 15 locais na Coreia do Sul e encontraram 25% da população resistente a inibidores de ACCase, 22% resistente a inibidores de ALS e 8,2% com resistência múltipla (ACCase + ALS). Eberhardt et al. (2016) detectaram um biótipo de *Echinochloa crus-galli* com resistência múltipla aos herbicidas quinclorac (inibidor da biossíntese de celulose), penoxsulam (inibidor da ALS) e cyhalofop-butyl (inibidor de ACCase).

Um dos métodos normalmente empregados para compreender a dinâmica entre as plantas daninhas e os herbicidas utilizados para controlá-las é a curva de dose-resposta, a partir desse método é possível determinar a suscetibilidade ou a resistência de determinado biótipo (MEROTTO et al. 2009). As diferenças entre biótipos resistentes e sensíveis de uma espécie podem ser quantitativamente expressas, comparando-se as doses de herbicida necessárias para reduzir 50% da população (DL_{50}), da biomassa (GR_{50}) ou da atividade da enzima (I_{50}) das plantas após a aplicação do herbicida, comparadas as plantas em que não houve a aplicação (MAXWELL; MORTIMER, 1994).

De acordo com Vargas e Roman (2006) após a detecção da resistência, a comunidade científica, as empresas, técnicos e agricultores devem ser informados e as medidas de manejo da população resistente devem ser amplamente difundidas. O acompanhamento e a avaliação da eficiência das medidas adotadas para combate à resistência são indispensáveis para se garantir o sucesso da prática. As plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase assumem um papel relevante por conta do número restrito de herbicidas com sítios de ação alternativos para seu manejo (LÓPEZ-OVEJERO et al., 2016).

Esse estudo teve como objetivo identificar biótipos suscetíveis e resistentes proveniente das principais regiões orizícolas do Estado de Santa Catarina e comprovar a resistência cruzada a inibidores da ACCase em um biótipo de *Echinochloa* spp. por meio de ensaios de curvas de

dose resposta conduzidos em duas gerações e propor alternativas para o controle químico do biótipo resistente.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Coleta das sementes e biótipos

As sementes de capim-arroz foram coletadas na safra 2019/2020, nas regiões Litoral Norte, Litoral Sul e Vale do Itajaí no Estado de Santa Catarina, em áreas comerciais de produção de arroz irrigado onde havia indícios da falha de controle de *Echinochloa* spp. após a aplicação de herbicidas inibidores de ACCase.

Foram coletadas panículas viáveis (bem formadas e após a maturação) de 30 a 50 plantas em reboleiras com maior infestação de capim-arroz. Após a coleta as sementes foram acondicionadas em sacos de papel identificados com o nome do coletor (Tabela 2), o município (Tabela 2) e a localidade de coleta (coordenadas geográficas), a área infestada (Tabela 2), a densidade de infestação (Tabela 2) e o manejo químico utilizado nas últimas safras (herbicidas e doses utilizadas). As sementes foram encaminhadas ao CAV/UDESC, onde então realizou-se a limpeza e padronização das amostras para o armazenamento.

Tabela 2 – Representação da identificação (nomenclatura atribuída a cada um dos biótipos), município de coleta, densidade de plantas infestantes e área total infestada no momento da coleta das sementes.

Amostra	Município	Localização	Densidade de plantas infestantes (plantas m ⁻²)	Área infestada (ha)
CA 01	Paulo Lopes- SC	27° 55' 15,68" S; 48° 39' 22,53" O	15	50
CA 02	Içara-SC	28° 43' 21,64" S; 49° 13' 12,46" O	20	50
CA 03	Turvo-SC	28° 57' 15,09" S; 49° 45' 13,58" O	5	22
CA 04	Paulo Lopes- SC	27° 55' 13,30" S; 48° 39' 21,12" O	20	50
CA 05	Palhoça- SC	27° 53' 55,46" S; 48° 41' 14,38" O	10	130
CA 06	Imaruí-SC	28° 07' 59,50" S; 48° 45' 13,52" O	5	184
CA 07	Tubarão-SC	28° 30' 06" S; 49° 01' 42" O	2	4
CA 08	Tubarão-SC	28° 30' 55,91" S; 49° 00' 25,58" O	30	160
CA 09	Ermo-SC	29° 00' 56,66" S; 49° 38' 19,77" O	5	55
CA 10	Praia Grande-SC	29° 14' 09,9" S; 49° 54' 05,6" O	2	15
CA 11	Tubarão-SC	28° 33' 56,36" S; 48° 57' 34,19" O	5	325
CA 12	Tubarão-SC	28° 27' 08,97" S; 48° 59' 41,84" O	10	120
CA 13	Rio do Campo-SC	26° 55' 53,11" S; 50° 07' 47,95" O	30	100
CA 14	Taió-SC	24° 03' 41,20" S; 50° 14' 49,44" O	10	30
CA 15	Rio do Oeste-SC	27° 11' 37,85" S; 49° 54' 17,62" O	10	26
CA 16	Pouso Redondo-SC	27° 12' 14,63" S; 49° 53' 06,51" O	20	15
CA 17	Litoral Norte-SC	Verde Expositor	-	-
CA1B	Pouso Redondo-SC	Sítio perens	15	8
CA2B	Rio do Campo-SC	Taiozinho	15	24
CA3B	Rio do Oeste-SC	Angico	10	2
CA4B	Taió-SC	Palera	8	2

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

4.4.2 Quebra de dormência

Inicialmente as sementes foram secas em estufa, a 35°C por quatro dias, de acordo com a recomendação das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Posteriormente seguiu-se a metodologia apresentada por Bernardo (2000), em que para que ocorra a quebra de dormência das sementes de capim-arroz as sementes foram imergidas em hipoclorito de sódio comercial por 24 horas e lavou-se as sementes em água corrente para remoção de eventuais resíduos, em seguida as sementes foram dispostas sobre papel filtro em caixas acrílicas do tipo gerbox, umedecido com água destilada, as caixas de gerbox com sementes foram mantidas em câmara do tipo B.O.D. regulada à temperatura de 30°C.

4.4.3 Ensaio preliminar

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) em Lages-SC. As plântulas foram transplantadas em bandejas de 12 dm³ preenchidas com substrato comercial, para cada repetição estabeleceu-se uma população de 50 plantas por linha. Após as plantas atingirem o estágio de 2 a 3 folhas totalmente desenvolvidas foi realizada a aplicação de cyhalofop-p-butyl (Clincher®) na dose de 360 g i.a. ha⁻¹ e óleo mineral como adjuvante na dose de 1,5 L ha⁻¹. A aplicação foi realizada com pulverizador costal de precisão, pressurizado a CO₂, munido de pontas jato plano AD 110 02, com pressão de trabalho de 220 kPa, na altura de 0,5 m acima do alvo, com uma taxa de aplicação de 200 L ha⁻¹. As condições climáticas no momento da aplicação foram averiguadas e indicaram temperatura de 27 °C, umidade relativa de 67% e velocidade do vento de 1,2 km h⁻¹. As bandejas foram alagadas 24h após a aplicação do herbicida.

Avaliou-se a taxa de sobrevivência das plantas aos 21 dias após a aplicação (DAA). As plantas foram consideradas sobreviventes caso tivessem produzido novas folhas verdes após o tratamento e mantivessem o crescimento ativo (NEVE; POWLES, 2005). Após a contabilização da porcentagem de sobrevivência os biótipos que apresentaram taxa de sobrevivência $\geq 50\%$ foram selecionados para as etapas posteriores.

4.4.4 Ensaios de dose resposta na geração F1

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UEDESC) na cidade de Lages-SC. Cada unidade experimental foi composta por um vaso plástico com volume de 0,4 dm³, preenchido com substrato comercial inerte, inicialmente foram semeadas oito sementes e após o período de estabelecimento foi realizado o raleio, mantendo-se quatro plantas por unidade experimental.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4 x 3 x 8 com três repetições. O primeiro fator corresponde a quatro biótipos sendo eles CA01, CA02, CA05 e CA07 (selecionados a partir do ensaio preliminar), o segundo fator foram os três herbicidas cyhalofop-p-butyl (Clincher[®]), quizalofop-p-ethyl (Targa[®]) e profoxydim (Aura[®]) e o terceiro fator correspondem a oito doses dos herbicidas (0; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 vezes a dose recomendada para cada herbicida).

A aplicação foi realizada quando as plantas apresentavam de 2 a 4 folhas completamente desenvolvidas, utilizando-se um pulverizador de precisão CO₂, com pontas AD 110 02, altura de 50 cm do alvo, com taxa de aplicação de 200 L ha⁻¹, pressão de trabalho de 220 kPa, velocidade de 3,6 m s⁻¹. As condições climáticas no momento da aplicação foram averiguadas e indicaram uma temperatura de 23°C, umidade relativa de 72% e velocidade do vento de 1,8 km h⁻¹. Os vasos foram alagados 24h após a aplicação dos herbicidas. Avaliou-se o controle aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação por escala visual de 0 a 100%, onde 0 significa nenhum controle e 100% controle total (KUVA, et al. 2016).

4.4.5 Ensaios de dose resposta na geração F2

Após a condução do ensaio de dose resposta na geração F1 apenas um dos biótipos apresentou plantas sobreviventes. As plantas sobreviventes foram mantidas para produção de sementes. Quando as plantas de capim-arroz começaram a produzir sementes foi realizado o isolamento das panículas com tecido poroso e após as mesmas atingirem maturação foram coletadas, levadas ao laboratório onde se realizou a limpeza das sementes para armazenamento.

Na geração F2 o procedimento foi idêntico ao descrito na geração F1, sendo conduzido com dois biótipos – CA01 e CA07. As condições climáticas no momento da aplicação foram averiguadas com termo-higrômetro e indicaram uma temperatura de 25°C, umidade relativa de 77% e velocidade do vento de 2,1 km h⁻¹. As unidades experimentais foram alagadas 24h após a aplicação do herbicida. Avaliou-se o controle por escala visual (KUVA, et al. 2016) (0 a 100%,

onde 0 significa nenhum controle e 100% controle total), e massa seca da parte aérea (g) coletando-se a parte aérea e secando em estufa a 65°C por três dias.

4.4.6 Controle alternativo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Centro de Ciências Agroveterinárias da UDESC (CAV-UDESC), em Lages-SC, em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições. Cada unidade experimental foi representada por um vaso plástico com capacidade volumétrica de 0,4 dm³. Os biótipos utilizados foram o CA01 (S) e CA 07 (R), os tratamentos estudados, foram aplicados em duas modalidades, pré-emergência e pós-emergência (Tabela 3). Para a modalidade de pré-emergência, os vasos foram preenchidos com solo agrícola (Cambissolo Húmico Aluminico) e semeou-se dez sementes por unidade experimental. Para aplicação em pós-emergência os vasos foram preenchidos com substrato comercial inerte e foram deixadas, após raleio, quatro plantas por unidade experimental.

Tabela 3 – Descrição dos tratamentos herbicidas, modalidade de aplicação e dose aplicada no estudo de controle alternativo, CAV/UDESC, Lages-SC.

Tratamentos	Produto comercial	Modalidade de aplicação	Dose (g i.a. ha ⁻¹)	Dose (p.c. ha ⁻¹)
T1: pendimethalin ¹	Prowl H ₂ O	Pré-emergência	1.600	4,0 L
T2:clomazone ¹	Gamit	Pré-emergência	432	1,2 L
T3: penoxsulam ²	Ricer	Pós-emergência	60	0,25 L
T4: imazapyr + imazapic ³	Kifix	Pós-emergência	73,5+ 24,5	0,14 kg
T5: bispyribac-sodium ⁴	Nominee	Pós-emergência	50	0,125 L
T6: propanil ¹	Stam	Pós-emergência	3.600	4,5 kg
T7: quinclorac ⁵	Facet	Pós-emergência	375	0,75 kg
T8: florpyrauxifen-benzyl ¹	Loyant	Pós-emergência	30	1,2 L
T9: testemunha	-	Pós-emergência	-	-
T10: testemunha	-	Pré-emergência	-	-

¹ não será adicionado adjuvante, ² adicionou-se o adjuvante Veget'Oil® na dose de 1,0 L ha⁻¹, ³ adicionou-se o adjuvante Dash® na dose de 1,0 L ha⁻¹, ⁴ adicionou-se o adjuvante Iharagues-S® na dose de 1,0 L ha⁻¹e ⁵ adicionou-se o adjuvante Assist® na dose de 1,0 L ha⁻¹.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

A aplicação foi realizada com pulverizador costal de precisão, pontas jato plano AD 110 02, na altura de 50 cm acima do alvo, pressão de 220 kPa, com taxa de aplicação de 200 L ha⁻¹

¹. Após a aplicação dos herbicidas, os vasos foram levados para a casa de vegetação, permanecendo sem irrigação por 24 horas a fim de não interferir na absorção do herbicida. Avaliou-se o controle por escala visual (KUVA, et al. 2016) (0 a 100% em que 0 representa ausência de controle e 100% plantas completamente controladas) aos 28 dias após aplicação (DAA). A matéria seca da parte aérea (MSPA) também foi avaliada, cortando-se rente ao solo, todas as plantas do vaso aos 28 DAA e, as mesmas foram secas em estufa a 65 °C e após 72 horas realizou-se a quantificação da MSPA em balança de precisão (0,001 g).

4.4.7 Análise estatística

As variáveis do ensaio de controle alternativo foram submetidas a análise de variância e em caso de significância foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados obtidos nos ensaios dose-resposta foram submetidos à análise de variância e aplicação do teste F. Quando significativos, os dados foram ajustados aos modelos de regressão não linear do tipo log-logísticos, propostos por Seefeldt et al. (1998).

De acordo com Seefeldt et al. (1998) o modelo log-logístico é o mais apropriado na análise da maioria dos estudos de dose resposta, no qual se utilizam parâmetros que são biologicamente significativos quando aplicados à resposta da planta ao herbicida. O modelo logístico empregado foi o Sigmoidal Sigmoidal de 3 parâmetros, dado pela seguinte fórmula:

$$y = \frac{a}{1 + e^{-\left(\frac{x-DL_{50}}{b}\right)}}$$

Para confirmação da resistência deve se ter informações dos dados de dose letal 50 (DL₅₀), que é a dose necessária para controlar 50% da população. A partir da DL₅₀ é calculado o fator de resistência (FR), o qual indica a quantidade necessária a ser aplicada no biótipo resistente para que se obtenha o mesmo controle do biótipo suscetível.

De posse dos valores da DL₅₀, obteve-se o Fator de Resistência (FR), que corresponde à razão entre a DL₅₀ do biótipo resistente em relação a DL₅₀ do biótipo suscetível. O fator FR expressa o número de vezes em que a dose necessária para controlar 50% do biótipo resistente é superior à dose que controla 50% do biótipo suscetível (HALL; STROME; HORSMAN. 1998). Esse parâmetro é um indicativo do nível de resistência. Visando-se a eficácia agrônômica dos tratamentos, também foi calculado matematicamente DL₈₀, ou seja, a dose de herbicida necessária para controle de 80% da população.

Como critérios para confirmação da resistência, este trabalho seguiu as informações da HRAC (2020) e SBCPD (2018), onde o biótipo foi considerado resistente quando atendeu as

três informações constadas a seguir: o fator de resistência maior que 1, a dose recomendada do herbicida não proporcionar controle superior a 80% (Dose recomendada < DL₈₀) e a resistência for uma característica herdável, mantendo-se na geração F2.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

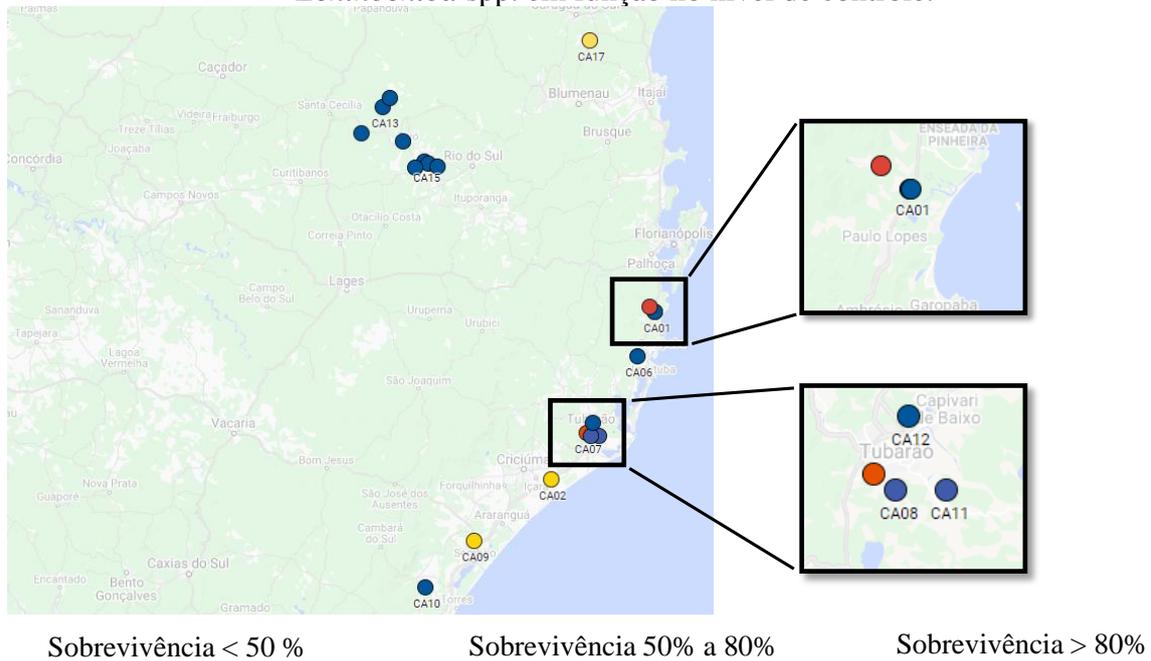
4.5.1 Ensaio Preliminar

A resistência de plantas daninhas a herbicidas deve ser confirmada por meio de experimentos científicos, comparando-se biótipos de plantas resistentes e suscetíveis da mesma espécie, em ensaios repetidos e desenvolvidos dentro de padrões científicos (HRAC, 2020). O ensaio preliminar teve como principal objetivo determinar quais biótipos possuem alta, baixa ou mediana probabilidade de serem resistentes, portanto há a necessidade em realizar um ensaio preliminar para determinar a caracterização inicial de um provável biótipo de planta daninha resistente possibilitando que os ensaios de dose resposta sejam conduzidos apenas com os biótipos de interesse.

Com os resultados do ensaio preliminar com a aplicação do herbicida quizalofop-p-butyl foi possível identificar que dois biótipos apresentaram sobrevivência variando entre 15 e 40% (CA09 e CA17) (Figura 1). Os biótipos provenientes do município de Tubarão-SC (CA 07), Palhoça-SC (CA05) e Içara-SC (CA 02) apresentaram sobrevivência $\geq 50\%$, sendo considerados com suspeita de resistência ao cyhalofop-p-butyl. Os demais biótipos apresentaram uma taxa de sobrevivência muito baixa (Figura 1), sendo assim considerados suscetíveis ao herbicida, inibidor da ACCase, cyhalofop-p-butyl.

O mapeamento da ocorrência de casos de resistência pode mostrar se os casos relatados ocorrem de forma isolada ou disseminada e ainda auxiliam na determinação e identificação do problema e o manejo que pode influenciar diretamente na expressão da resistência ou até mesmo acelerar processos de seleção de biótipos resistentes (HERNANDES et al., 2005).

Figura 1– Resultado do ensaio preliminar demonstrando a dispersão de biótipos de *Echinochloa* spp. em função no nível de controle.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

4.5.2 Curvas de Dose Resposta

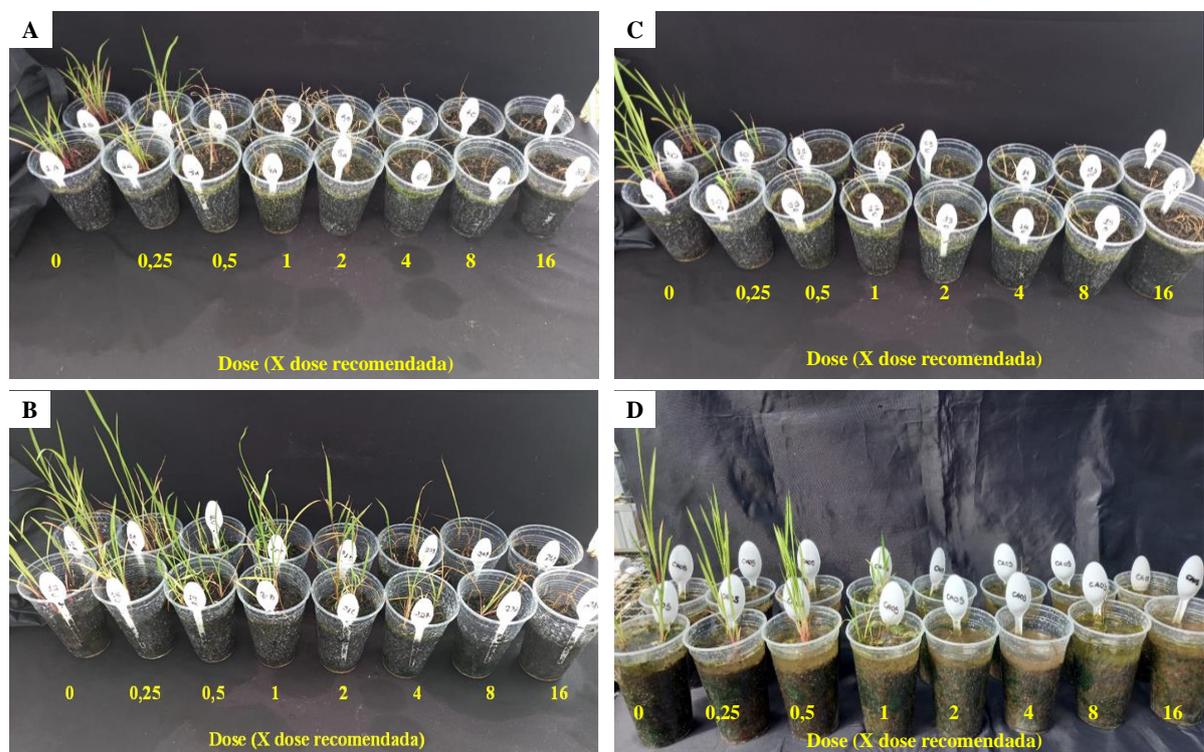
A análise de variância foi significativa para a variável controle com interação significativa dos fatores herbicidas e doses, para ambos os biótipos nas duas gerações. Desta forma, procedeu-se a análise de regressão não-linear para determinação dos parâmetros de DL_{50} , DL_{80} e FR.

4.5.2.1 *Cyhalofop-p-butyl*

O controle proporcionado pelo herbicida cyhalofop-p-butyl variou de acordo com o biótipo avaliado (Figura 2). Para o biótipo CA07 na geração F1, obteve-se um controle de 14% na dose recomendada não atingindo o controle máximo em nenhuma das doses aplicadas, enquanto que os biótipos CA01 (Figura 3B), CA02 (Figura 3D) e CA05 (Figura 3C) apresentaram um controle efetivo a partir de subdoses. Na geração F2 o controle do biótipo CA 07 foi de aproximadamente 34% com a dose recomendada (Figura 3E), enquanto que o biótipo suscetível na geração F2 apresentou controle semelhante a geração anterior (Figura 3E). Eberhardt et al (2016) reportaram resultados semelhantes em que o herbicida cyhalofop-p-butyl atingiu o nível mínimo aceitável de controle (C80) com uma dose 60% maior do que a dose

recomendada na bula do herbicida. Amaro-Blanco et al. (2021) em estudo de uma população de *Echinochloa* spp. encontraram um alto nível de resistência aos inibidores de ACCase, em que foi necessária uma dose de 817,22 g. i.a. ha⁻¹ de cyhalofop-p-butyl para o controle 50% da população resistente (DL₅₀), enquanto que para o controle do biótipo sensível com uma dose de 0,20 g. i.a. ha⁻¹ já foi possível obter o controle de 50% da população (DL₅₀).

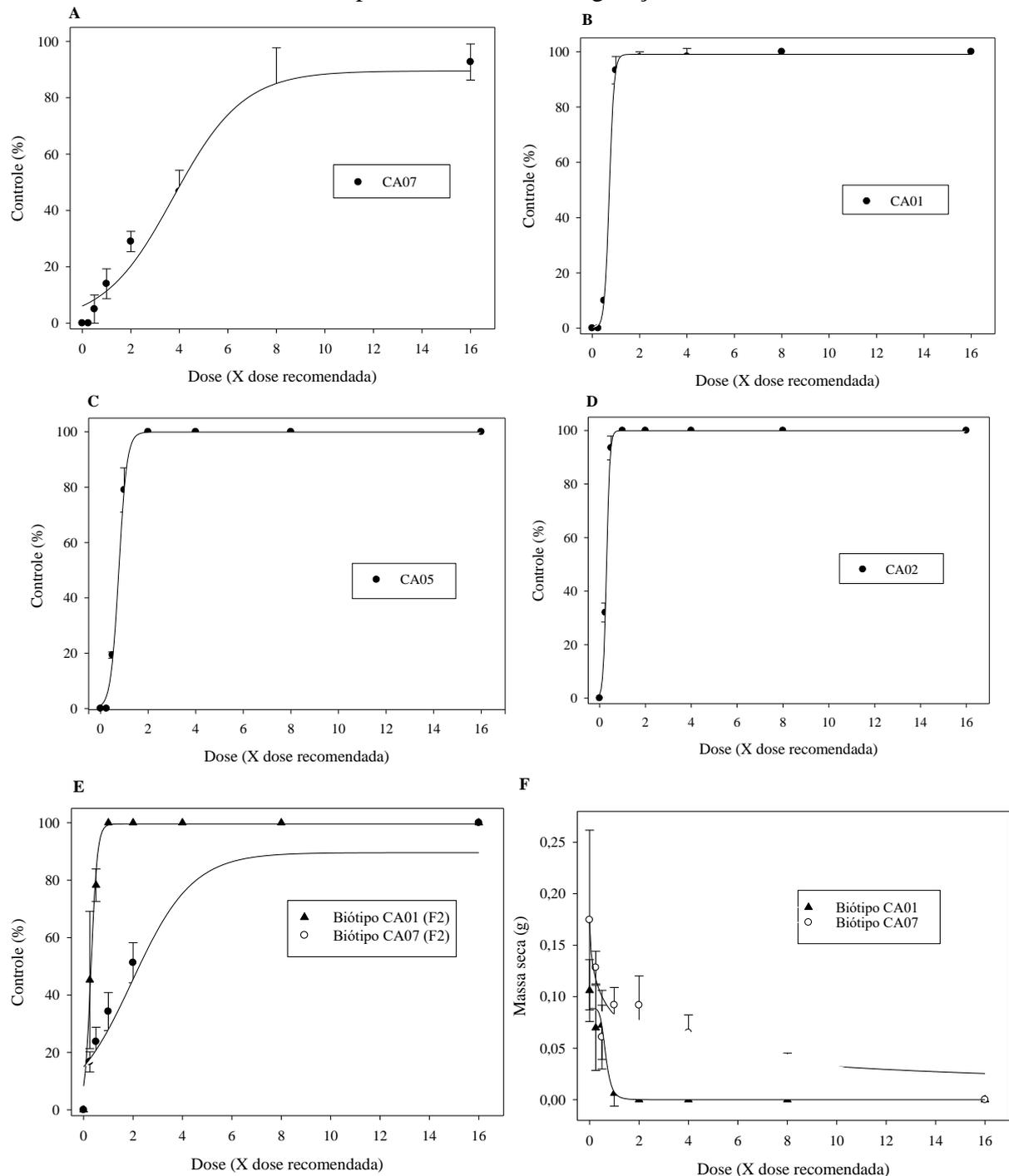
Figura 2 – Avaliação do ensaio de dose resposta realizada aos 28 dias após a aplicação do herbicida cyhalofop-p-butyl, A: biótipo CA01 na segunda geração; B: biótipo CA07 na segunda geração; C: biótipo CA02 na primeira geração; D: biótipo CA05 na primeira geração.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Corroborando com o estudo realizado Ruiz-Santaella (2006) os herbicidas cyhalofop-butyl, quinclorac e bispyribac-sodium não controlaram o biótipo resistente em mais de 40%, enquanto que o controle do biótipo sensível foi em média de 90%. Em outros estudos com espécies de *Echinochloa*, observou-se a ocorrência de diferentes níveis de suscetibilidade quanto a aplicação de cyhalofop-p-butyl em diferentes doses (VIDOTTO et al., 2007; DAMALAS et al., 2008).

Figura 3 – Curvas de dose resposta para o herbicida cyhalofop-p-butyl, A: biótipo CA07 na geração F1, B: biótipo CA01 na geração F1, C: biótipo CA05 na geração F1, D: biótipo CA02 na geração F1, E: biótipos CA01 e CA07 na geração F2 e F: massa seca da parte aérea dos biótipos CA01 e CA07 na geração F2.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

A partir dos dados das curvas de dose resposta calculou-se os parâmetros DL_{50} , DL_{80} e FR (Tabela 4). Para o biótipo CA07 na geração F1 a DL_{50} foi de 1476 g i.a. ha^{-1} enquanto que para o biótipo CA01 a DL_{50} foi de 259,2 g i.a. ha^{-1} , para o biótipo CA02 foi de 94,5 g i.a. ha^{-1} e

para o biótipo CA05 241,8 g i.a. ha⁻¹ enfatizando-se a diferença das doses letais entre esses biótipos. Para a geração F2 a DL₅₀ para o biótipo resistente foi de 864 g i.a. ha⁻¹ e a DL₅₀ do biótipo suscetível foi de 109,44 g i.a. ha⁻¹ enquanto que a DL₈₀ foi de 171,36 g i.a. ha⁻¹ para o biótipo CA01 e de 1656 g i.a. ha⁻¹ para o biótipo CA07. Obteve-se um aumento do fator de resistência de uma geração para outra, na F1 foi de 5,7 enquanto que na F2 foi de 7,89. Hamza et al. (2012) em trabalho semelhante com biótipo resistente de *E. crus-galli* a fenoxaprop-p-etil encontraram um FR de 12,07.

Em contrapartida Eberhardt et al. (2016) obtiveram um fator de resistência para cyhalofop-p-butyl de 61,9. De acordo com Lopez-Ovejero et al. (2005), altos valores de FR podem estar relacionados à alta suscetibilidade do biótipo sensível. A dose recomendada de aplicação do herbicida cyhalofop-p-butyl é de 360 g i.a. ha⁻¹. Os valores encontrados para a DL₈₀ na geração F1 foram de 414,7 g i.a. ha⁻¹ para o biótipo CA01, 151,2 g i.a. ha⁻¹ para o biótipo CA02, 386,9 g i.a. ha⁻¹ para o biótipo CA05 e 2361,6 g i.a. ha⁻¹ para o biótipo CA07. Essa discrepância de valores evidenciam que a dose necessária para controlar 80% da população do biótipo CA07 é superior quando comparada aos demais biótipos, conforme apresentado por Frans et al. (1986), o controle de 80% obtido após a aplicação de um herbicida sobre determinada planta daninha é o mínimo necessário para que esta cultura não interfira sobre a cultura de interesse. Na geração seguinte o biótipo CA01 apresentou uma DL₈₀ de 171,36 g i.a. ha⁻¹ e o biótipo CA07 1656 g i.a. ha⁻¹.

Tabela 4–. Parâmetros da equação logística e fator de resistência (FR) para a variável controle aos 28 DAA dos biótipos CA01(S) e CA07 (R) para o herbicida cyhalofop-p-butyl.

Biótipos	Parâmetros geração F1					
	a	b	DL ₅₀ (g ia. ha ⁻¹)	DL ₈₀ (g ia. ha ⁻¹)	R ²	FR
CA01	99,0589	0,0999	259,2	414,7	0,9997	-
CA02	99,9453	0,0716	94,5	151,2	0,9998	0,36
CA05	99,9244	0,1696	241,8	386,9	0,9983	0,93
CA07	89,5227	1,4366	1476	2361,6	0,9782	5,7
Biótipos	Parâmetros geração F2					
	a	b	DL ₅₀ (g ia. ha ⁻¹)	DL ₈₀ (g ia. ha ⁻¹)	R ²	FR
CA01	99,5976	0,0207	109,44	171,36	0,9876	-
CA07	89,5885	1,2236	864	1656	0,9373	7,89

Fonte: Elaborada pelo autor (2021).

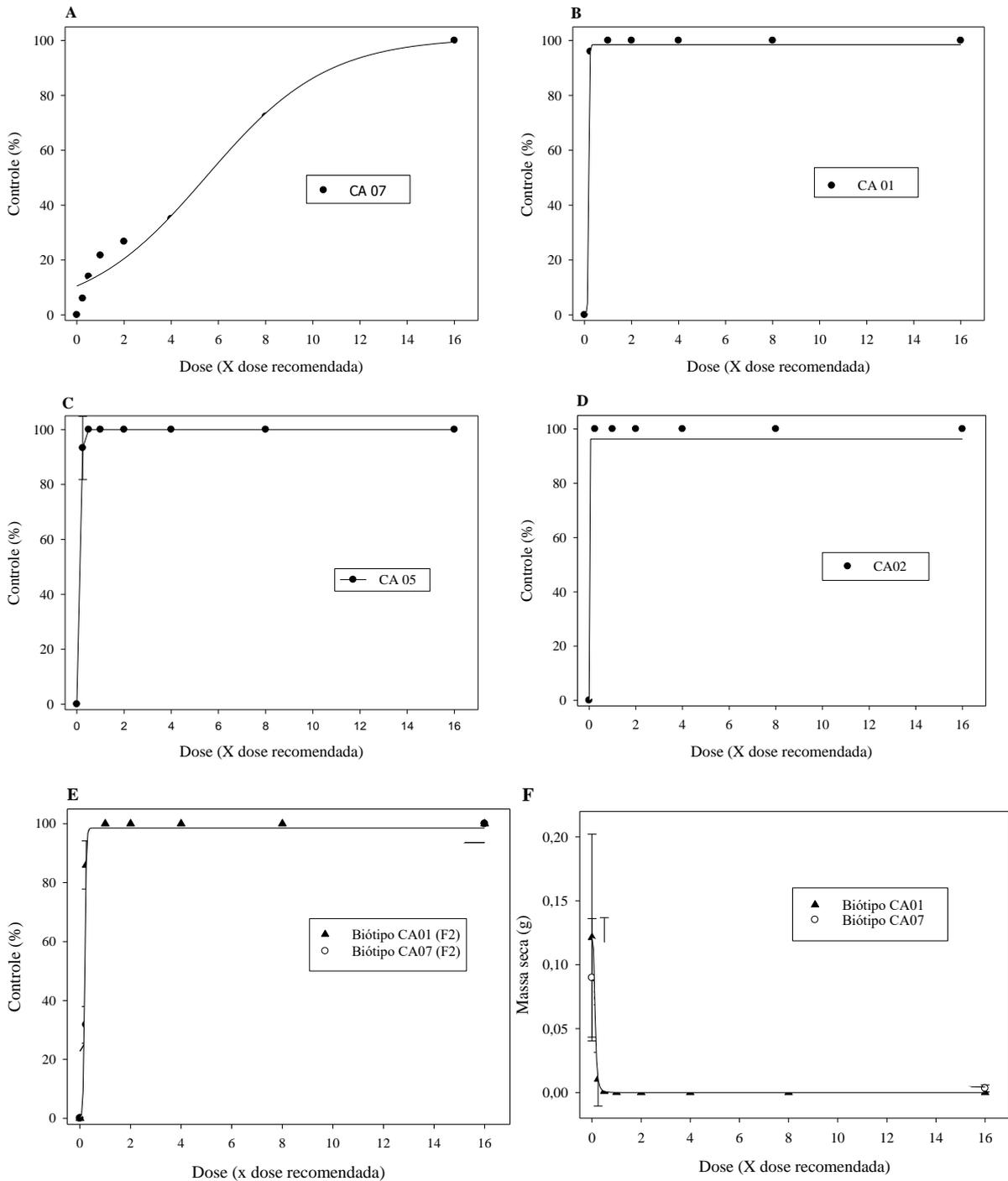
Um dos métodos mais precisos para a identificação da resistência é através de testes com a aplicação do herbicida sobre a planta inteira (HERNANDES et al., 2005), assim como os realizados neste estudo. Isso pode ser explicado pelo fato de que trabalhos como este permitem a caracterização quantitativa da resistência, como a DL_{50} , DL_{80} e FR, contribuindo diretamente para a determinação do desempenho dessas plantas (EBERHARDT; NOLDIN, 2002; CONCENÇO et al., 2007).

4.5.2.2 *Quizalofop-p-ethyl*

As curvas de dose resposta para o herbicida quizalofop-p-ethyl (Figura 4A, 4B, 4C, 4D) seguiram a mesma tendência dos resultados obtidos no herbicida cyhalofop-p-butyl, sendo que na geração F1, para o biótipo CA07 o controle máximo foi obtido em apenas com 16 vezes a dose recomendada, enquanto que o controle na dose recomendada do herbicida o controle foi de 21%, para os biótipos CA01, CA02 e CA05 o controle foi de 100% na dose recomendada. Na geração F2, o controle do biótipo CA07 na dose recomendada foi de 46,25% e o máximo controle foi obtido com 16 vezes a dose recomendada, enquanto que o biótipo CA01 foi totalmente controlado (100%) com a dose recomendada ($120 \text{ g ia. ha}^{-1}$) do herbicida (Figura 4E). Em trabalhos com dose resposta em *Digitaria sanguinalis*, Laforest et al. (2017) relataram ser necessário a aplicação de pelo menos 143, 119, 64 e 14 vezes a dose recomendada de fluazifop-p-butyl, sethoxydim, fenoxaprop-p-ethyl e quizalofop-p-ethyl, respectivamente para o controle do biótipo.

No biótipo CA01 na geração F1 mesmo na menor dose com $30 \text{ g i.a. ha}^{-1}$, já se obteve controle muito próximo a 100%. Na geração F2 obteve-se o controle total do biótipo CA01 com a dose recomendada.

Figura 4 – Curvas de dose resposta para o herbicida quizalofop-p-ethyl, A: biótipo CA07 na geração F1, B: biótipo CA01 na geração F1, C: biótipo CA05 na geração F1, D: biótipo CA02 na geração F1, E: biótipos CA01 e CA07 na geração F2 e F: massa seca da parte aérea dos biótipos CA01 e CA07 na geração F2.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Quanto aos parâmetros DL_{50} , DL_{80} e FR (Tabela 5), pode-se ressaltar grandes diferenças entre o biótipo suscetível e o resistente. Observa-se que a DL_{50} para o biótipo CA07

na geração F1 foi de 660 g ia. ha⁻¹ enquanto que para o biótipo CA01 foi de 21,6 g ia. ha⁻¹, para o biótipo CA02 foi de 18,06 g ia. ha⁻¹ e para o biótipo CA05 foi de 22,94 g ia. ha⁻¹, esses valores discrepantes geraram um fator de resistência alto (30,5). Os valores de DL₅₀ encontrados na geração F2 foram de 176 g i.a. ha⁻¹ e 22,8 g i.a. ha⁻¹ para os biótipos R (CA07) e S (CA01) respectivamente, com um FR de 7,72. Em trabalho com duas populações de *Eleusine indica* com resistência múltipla a glifosato e a quizalofop-p-ethyl Chen et al. (2021) encontraram um fator de resistência 18,0 e 14,2 respectivamente, valores inferiores aos encontrados nesse estudo na geração F1. Christoffoleti (2001) ao realizar ensaio de dose resposta com diferentes herbicidas inibidores da ACCase no controle de *Urochloa plantaginea* determinou que a DL₅₀ do herbicida quizalofop-p-ethyl foi de 100 g ia. ha⁻¹, sendo está bem próxima da dose recomendada do herbicida.

Os valores encontrados na DL₈₀ na geração F1 foram de 34,56 g ia. ha⁻¹ para o biótipo CA01, 28,89 g ia. ha⁻¹ para o biótipo CA02, 36,70 g ia. ha⁻¹ para o biótipo CA05 e 1056 g ia. ha⁻¹ para o biótipo CA07. Na geração seguinte a DL₈₀ foi de 36,5 g ia. ha⁻¹ para o biótipo sensível (CA01) e de 281,6 g ia. ha⁻¹ para o biótipo resistente (CA07), sendo a dose recomendada do herbicida de 120 g ia. ha⁻¹. Ressalta-se a necessidade de doses mais elevadas do que a recomendada para um controle satisfatório (>80%). Essa diferença entre os valores de DL₈₀ entre os biótipos evidenciam que apenas o biótipo CA07 apresentou a confirmação de resistência em ambas as gerações.

Tabela 5 – Parâmetros da equação logística e fator de resistência (FR) para a variável controle aos 28 DAA dos biótipos CA01 (S) e CA07 (R) para o herbicida quizalofop-p-ethyl

Parâmetros geração F1						
Biótipos	a	b	DL ₅₀ (g ia. ha ⁻¹)	DL ₈₀ (g ia. ha ⁻¹)	R ²	FR ₅₀
CA01	98,5000	0,0185	21,60	34,56	0,9921	-
CA02	96,2500	0,0160	18,06	28,89	0,9321	0,83
CA05	99,0000	0,0210	22,94	36,70	0,9983	1,06
CA07	90,4809	1,2552	660	1056	0,9723	30,5
Parâmetros geração F2						
Biótipos	a	b	DL ₅₀ (g ia. ha ⁻¹)	DL ₈₀ (g ia. ha ⁻¹)	R ²	FR ₅₀
CA01	98,5429	0,0299	22,8	36,5	0,9924	-
CA07	93,5898	1,2965	176	281,6	0,8942	7,72

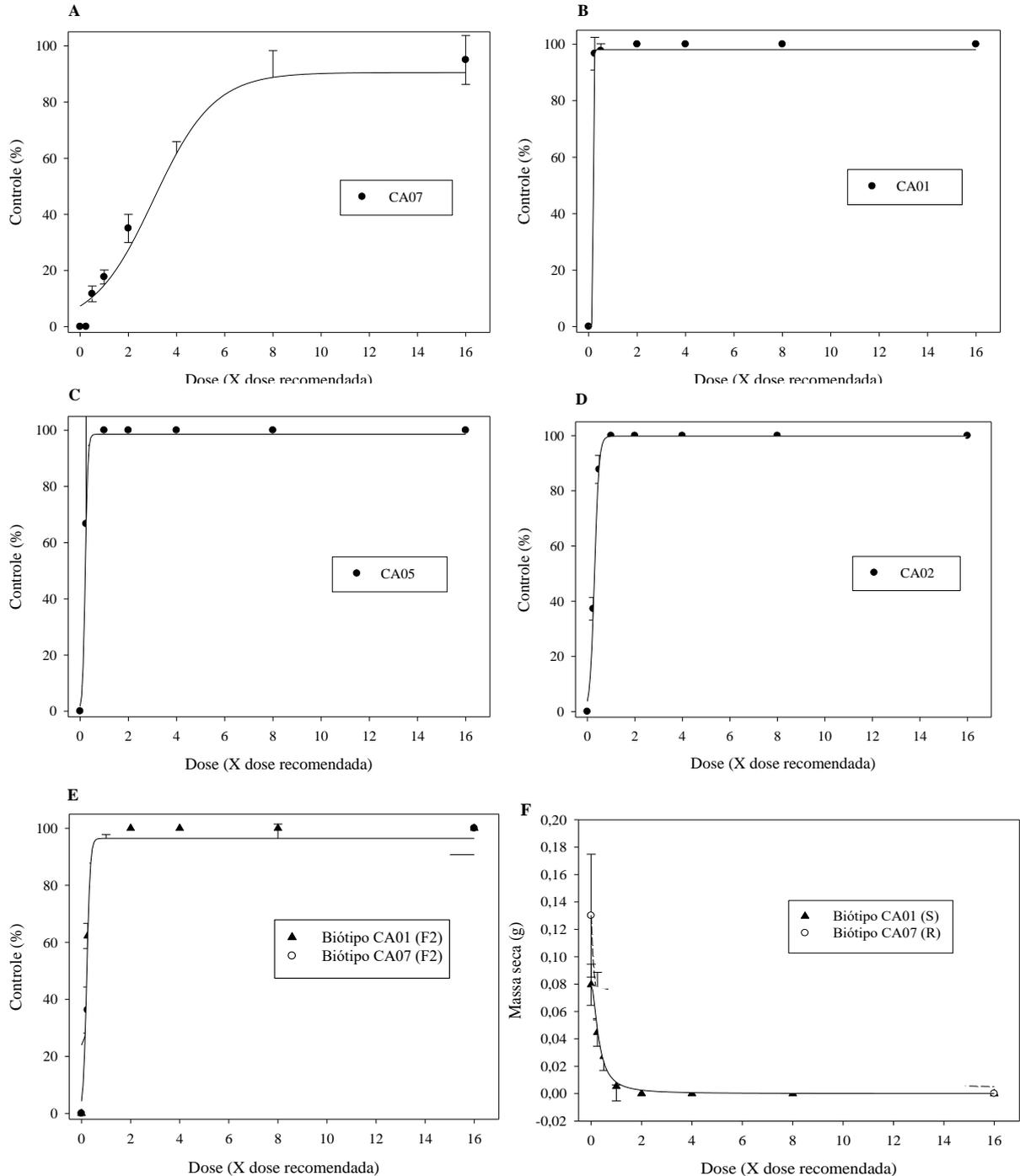
Fonte: Elaborada pelo autor (2021).

4.5.2.3 Profoxydim

O herbicida profoxydim seguiu o mesmo comportamento dos demais herbicidas, sendo mantida a diferença entre os dois biótipos pelas curvas de dose resposta (Figura 5A). No biótipo CA07, na geração F1 o controle não atingiu valores máximos (100%) nem com 16 vezes a dose recomendada, enquanto que na geração F2 o controle na dose recomendada foi de 62,75% e o controle máximo foi obtido apenas com 16 vezes a dose recomendada (Figura 5B). A DL_{50} na geração F2 foi de 35,7 g i.a. ha^{-1} e 151,3 g i.a. ha^{-1} para os biótipos CA01 e CA07 respectivamente. Ferrero et al. (2012) em estudo de 29 biótipos de *Echinochloa* spp detectaram que 7% apresentaram resistência ao herbicida profoxydim, enquanto que o restante das populações ainda apresentava suscetibilidade a este herbicida. Já Vidotto et al., (2007) e Kaloumenos et al., (2013) relataram controle superior a 95% para biótipos de *E. crus-galli* com a aplicação de profoxydim na dose de 200 g i.a. ha^{-1} confirmando a ausência de resistência.

O biótipo CA01 apresentou, na geração F1 um controle de próximo a 100% a partir da menor dose utilizada, 42,5 g i.a. ha^{-1} . Na geração F2, o controle foi total com a dose recomendada.

Figura 5 – Curvas de dose resposta para o herbicida profoxydim, A: biótipo CA07 na geração F1, B: biótipo CA01 na geração F1, C: biótipo CA05 na geração F1, D: biótipo CA02 na geração F1, E: biótipos CA01 e CA07 na geração F2 e F: massa seca da parte aérea dos biótipos CA01 e CA07 na geração F2.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Os resultados de DL_{50} , DL_{80} , FR indicam um elevado nível de resistência (Tabela 6). Com o amplo comprometimento do grupo dos inibidores da ACCase, dificultando de forma significativa o controle de plantas daninhas na cultura do arroz irrigado pois com esse cenário encontrado restringem ainda mais as opções de herbicidas capazes de controlar plantas do

gênero *Echinochloa*. Para o herbicida profoxydim a DL_{50} na geração F1 foi de 518,5 g i.a. ha^{-1} para o biótipo CA07 enquanto que para o biótipo CA01 foi de apenas 32,3 g i.a. ha^{-1} , para o biótipo CA02 foi de 51,4 g i.a. ha^{-1} e para o biótipo CA05 foi de 36 g i.a. ha^{-1} , gerando novamente um alto fator de resistência (16,05). Para a geração F2 a DL_{50} foi de 151,3 g i.a. ha^{-1} para o biótipo resistente e de apenas 35,7 g i.a. ha^{-1} para o biótipo suscetível, gerando um fator de resistência de 4,24. Ortiz et al (2015) identificaram diversos biótipos de *I. rugosum* resistentes ao profoxydim (59%), os fatores de resistência encontrados foram de 92,62 e 100,49, e ainda o fator de resistência de alguns biótipos não pode ser determinado pelo fato de a DL_{50} ter sido muito elevada (> 1280 g i.a. ha^{-1}). A dose letal para controlar 80% da população foi de 51,7 g i.a. ha^{-1} para o biótipo CA01, 82,2 g i.a. ha^{-1} para o biótipo CA02, 57,6 g i.a. ha^{-1} para o biótipo CA05 e 829,6 g i.a. ha^{-1} para o biótipo CA07, sendo a dose recomenda para esse herbicida é de 170 g i.a. ha^{-1} , demonstrando novamente que apenas o biótipo CA07 apresentou fatores determinantes para se comprovar a resistência.

Tabela 6 – Parâmetros da equação logística e fator de resistência (FR) para a variável controle aos 28 DAA dos biótipos CA01 (S) e CA07 (R) para o herbicida profoxydim.

Biótipos	Parâmetros geração F1					
	a	b	DL_{50} (g ia. ha^{-1})	DL_{80} (g ia. ha^{-1})	R^2	FR ₅₀
CA01	98,1111	0,0141	32,3	51,7	0,9923	-
CA02	99,8190	0,0930	51,4	82,2	0,9983	1,54
CA05	98,5991	0,0526	36	57,6	0,9925	1,11
CA07	101,0696	2,5536	518,5	829,6	0,9752	16,05
Biótipos	Parâmetros geração F2					
	a	b	DL_{50} (g ia. ha^{-1})	DL_{80} (g ia. ha^{-1})	R^2	FR ₅₀
CA01	96,4637	0,0696	35,7	54,4	0,9742	-
CA07	90,7344	0,8387	151,3	242	0,8397	4,24

Fonte: Elaborada pelo autor (2021).

De acordo com Fischer et al. (2000), a seleção de biótipos de capim-arroz com múltiplas resistências na Califórnia (EUA) ocorreu devido à aplicação repetida de poucos herbicidas associados à monocultura. Esta situação também foi registrada em áreas de arroz irrigado em Santa Catarina, Brasil. O uso de herbicidas integrados com outras medidas de controle é essencial para controlar plantas daninhas resistentes a herbicidas (TALBERT; BURGOS, 2007).

Os ensaios de dose resposta em ambas as gerações (F1 e F2) confirmam a resistência cruzada do biótipo CA07 para ambos os herbicidas. Na geração F1 o biótipo CA07 apresentou valores de DL_{50} de 1476 g i.a. ha^{-1} , 660 g i.a. ha^{-1} e 518,5 g i.a. ha^{-1} para os herbicidas cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl e profoxydim respectivamente. Na geração seguinte a dose necessária para controlar 50% da população continuou elevada para ambos os herbicidas, com valores de 864 g i.a. ha^{-1} para o herbicida cyhalofop-p-butyl, 176 g i.a. ha^{-1} para o herbicida quizalofop-p-ethyl e de 151,3 g. i.a. ha^{-1} para o profoxydim.

Os fatores de resistência descritos nesse trabalho são considerados altos para o biótipo resistente (CA07) em ambas as gerações e herbicidas estudados. Os fatores de resistência encontrados para a geração F1 foram de 0,36 para o CA02, para o CA05 foi de 0,93 e para o CA07 de 5,7 enquanto que em F2 o biótipo CA07 apresentou um FR de 7,89 para o herbicida cyhalofop-p-butyl. Para o herbicida quizalofop-p-ethyl os valores encontrados em F1 foram de 0,83 para o biótipo CA02, para o CA05 foi de 1,06 e para o CA07 foi de 30,5 e na segunda geração (F2) o FR observado foi de 7,73 para o biótipo CA07. Para o herbicida profoxydim os valores observados em F1 foram de 1,54 (CA02), 1,11 (CA05) e 16,05 (CA07) e para a F2 foi de 4,24 (CA07). O fator de resistência acima de 2,0 pode ser considerado alto enquanto que os valores de FR menores que 2,0 podem representar apenas uma variabilidade natural da população, não caracterizando resistência (LAMEGO; VIDAL, 2008).

Os valores de DL_{80} se mostraram superiores as doses recomendadas em bula para os herbicidas estudados (cyhalofop-p-butyl dose indicada em bula de 360 g. i.a. ha^{-1} , quizalofop-p-ethyl com dose indicada em bula de 120 g. i.a. ha^{-1} e profoxydim com dose indicada em bula de 170 g. i.a. ha^{-1}), na primeira geração os valores de DL_{80} foram de 2361,6 g i.a. ha^{-1} para o herbicida cyhalofop-p-butyl, 1056 g i.a. ha^{-1} para o herbicida quizalofop-p-ethyl e 242 g i.a. ha^{-1} para o herbicida profoxydim, na segunda geração os valores foram 1656 g. i.a. ha^{-1} , 281,6 g. i.a. ha^{-1} e 242 g. i.a. ha^{-1} para os herbicidas cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl e profoxydim respectivamente. Esses resultados evidenciam que a hereditariedade da capacidade de resistir a aplicação dos herbicidas confirmando que há resistência cruzada no biótipo CA07, com maior comprometimento dos herbicidas do grupo químico das ariloxifenoxipropionatos, proveniente do município de Tubarão-SC.

4.5.3 Controle alternativo

Os herbicidas aplicados como forma de controle alternativo, em sua grande maioria, não controlaram de forma eficiente ambos os biótipos (CA01 e CA07), a análise da variância foi significativa para a variável controle de biótipos de *Echinochloa crus-galli*, com interação entre os fatores biótipos e herbicidas. Aos 7 DAA para o biótipo CA01 os herbicidas pendimethalin e clomazone apresentaram controle de 98,75% e 99,5% respectivamente, enquanto que as plantas tratadas com os demais tratamentos herbicidas apresentaram um baixo controle, não ultrapassando os 22,5% com o herbicida quinclorac. O mesmo padrão foi observado para o biótipo CA07, porém o tratamento com quinclorac foi de 0% (Tabela 7).

Na avaliação realizada aos 14 DAA os herbicidas pendimethalin e clomazone já proporcionaram um controle efetivo (100%) para ambos os biótipos. O tratamento com o herbicida bispyribac-sodium gerou um controle de 37,5% e o quinclorac 69,5% para o biótipo CA01. Para o biótipo CA07 o tratamento realizado com florpurauxifen-benzyl ocasionou um controle de 73,25% enquanto que para os demais tratamentos a porcentagem de controle atingiu a máxima de apenas 15% (Tabela 7). Schaedler et al., (2008) encontraram resultados que demonstram que o herbicida bispyribac-sodium proporcionou nível de controle superior a 90% para o biótipo sensível e para os biótipos com suspeita de resistência, no entanto, para o biótipo resistente ao quinclorac o controle ficou entre 65% e 74%.

Aos 28 DAA o controle de 100% foi mantido com os tratamentos pendimethalin e clomazone para ambos os biótipos. Para o biótipo CA01 os tratamentos com bispyribac-sodium e quinclorac geraram uma taxa de controle de 41,5% e 78% respectivamente, os demais tratamentos não apresentaram uma boa taxa de controle, ficando abaixo dos 30%. O tratamento com o herbicida florpurauxifen-benzyl proporcionou um controle de 87% para o biótipo CA07 enquanto que os demais tratamentos não ultrapassaram a taxa de 30% de controle (Tabela 7). O herbicida quinclorac apresentou uma taxa nula de controle (0%) para o biótipo CA07, biótipos com resistência ao quinclorac também foram encontrados através de escapes em lavouras do Sul do Brasil no ano de 1999 (MEROTTO JR. et al., 2004) e em 2001 em Tubarão-SC e Araranguá-SC (EBERHARDT; NOLDIN, 2001), desde então, os casos envolvendo resistência de capim-arroz a este herbicida aumentaram. Assim como o encontrado nesse trabalho, Travlos et al., (2020) o herbicida penoxsulam mostrou baixa eficácia em cinco dos seis acessos de *E. Colona*, assim como o encontrado em um estudo anterior onde três biótipos de *E. crus-galli* foram confirmados como resistentes a este herbicida.

Esse cenário demonstra que os herbicidas alternativos não são eficientes para ambos os biótipos indicando que o avanço de casos de resistência a demais herbicidas deve ser estudada

mais afundo, pois provavelmente já compromete outros mecanismos de ação. Bonow et al., (2015) encontraram em estudo que, aos 28 DAA, os herbicidas cyhalofop-p-butyl, profoxydim, clethodim, quinclorac e glyphosate foram eficientes no controle do biótipo resistente. No entanto, os herbicidas inibidores da ALS (imazethapyr+imazapic, imazapyr+imazapic, bispyribac-sodium e o penoxsulam) foram ineficientes no controle de biótipos de *Echinochloa crus-galli* resistente ao herbicida imazapir +imazapic.

Tabela 7 – Controle (%) de dois biótipos de capim-arroz (CA01 e CA07) aos 7, 14 e 28 DAA.

Tratamento	Controle (%)					
	7DAA		14DAA		28DAA	
	CA01	CA07	CA01	CA07	CA01	CA07
Testemunha (PÓS)	0,00 dA	0,00 dA	0,00 eA	0,00 dA	0,00 eA	0,00 eA
Penoxsulam	1,25 dA	0,00 dA	5,50 dB	1,25 dA	6,25 eB	4,50 eB
Imazapyr + Imazapic	1,00 dA	5,75 cB	4,50 dB	15,50 cC	5,00 eB	26,75 cC
Bispiribac-sodium	11,25 cB	0,00 dA	37,50 cC	0,00 dA	41,50 cC	0,00 eA
Propanil	8,75 cB	1,25 dA	20,00 cC	9,25 cB	27,00 dC	12,75 dB
Quinclorac	22,50 bB	0,00 dA	69,50 bC	0,00 dA	78,00 bC	0,00 eA
Florpyrauxifen-benzyl	1,25 dA	13,25 bB	7,00 dB	73,25 bC	7,5 B	87 bC
Testemunha (PRÉ)	0,00 dA	0,00 dA	0,00 eA	0,00 dA	0,00 eA	0,00 eA
Pendimethalin	98,75 aA	98,00 aA	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA
Clomazone	99,50 aA	98,50 aA	100 aA	100 aA	100 aA	100 aA

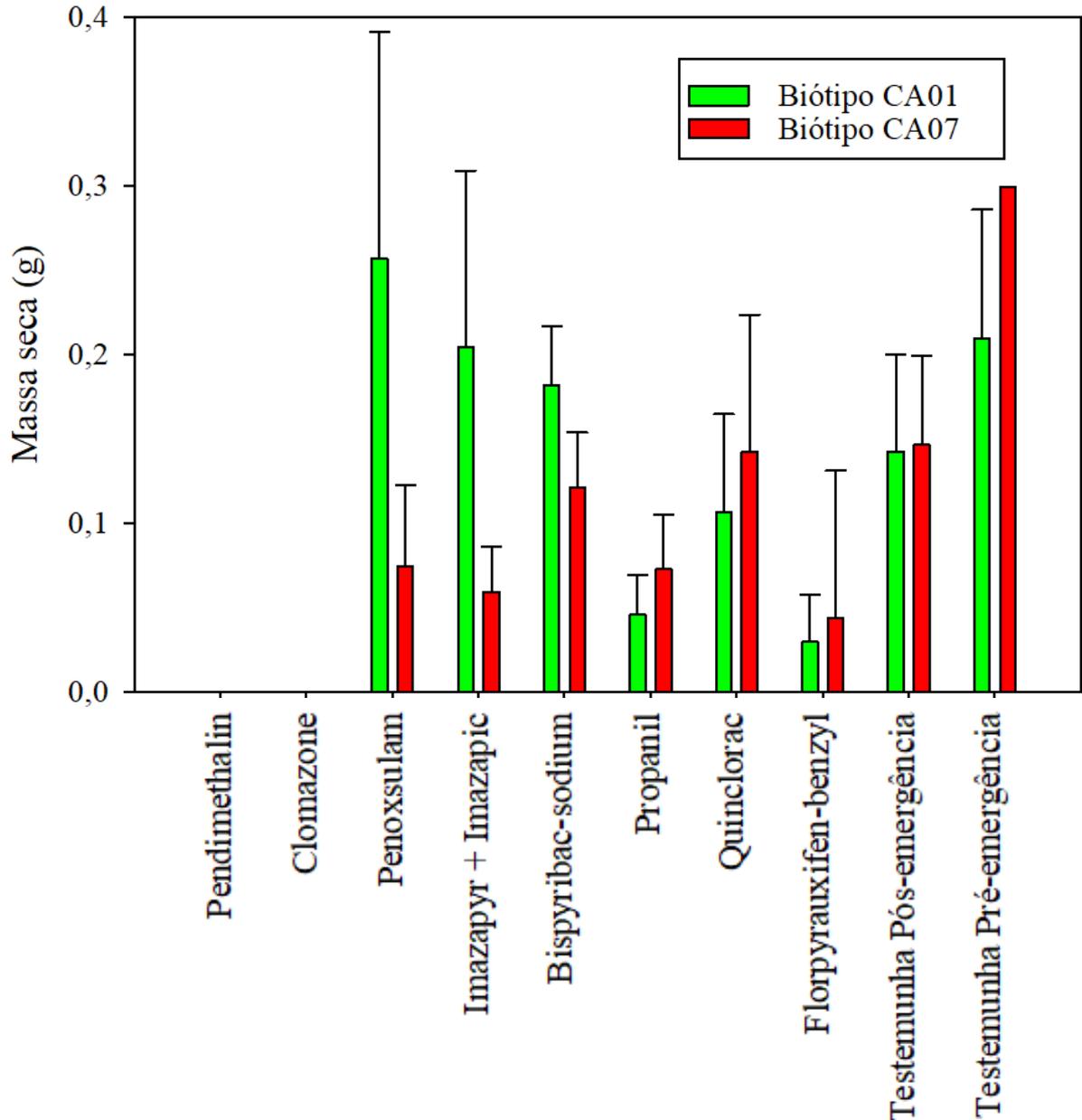
Letras minúsculas iguais na mesma coluna e maiúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Como pode ser observado na Figura 6 a massa seca da parte aérea do biótipo CA01 foi reduzida com a aplicação dos herbicidas penoxsulam, imazapyr + imazapic e florpyrauxifen-benzyl. A massa seca de ambos os biótipos (CA01 e CA07) totalmente reduzida após a aplicação com os herbicidas clomazone e pendimethalin em pré-emergência. Para o biótipo CA07 o herbicida florpyrauxifen-benzyl foi o que proporcionou um maior decréscimo da massa seca da parte aérea. Corroborando com este estudo Travlos et al. (2020) a aplicação de florpyrauxifen-benzil resultou em uma redução de 60 a 66% da massa seca da parte aérea de cinco acessos de *E. colona* aos 7 DAA e 73 a 76% na avaliação aos 21 DAA.

Segundo Pinto et al. (2008) em alguns casos, mesmo em baixas populações, medidas de controle que eliminem até 99% da infestação não evitam perdas de produtividade na cultura do arroz irrigado.

Figura 6 – Massa seca da parte aérea (g) para os biótipos CA01 e CA07 aos 28 dias após a aplicação dos tratamentos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

4.6 CONCLUSÕES

No ensaio preliminar os biótipos CA02 CA05 e CA07 apresentaram suspeita de resistência e foram selecionados para os ensaios de dose resposta. No ensaio de dose resposta apenas o biótipo CA07 teve a resistência cruzada confirmada nas duas gerações.

As alternativas de controle em pós-emergência não foram eficientes no controle dos biótipos CA01e CA07, e apenas os herbicidas clomazone e pendimethalin, aplicados em pré-emergência, proporcionaram um controle de 100% para ambos os biótipos.

4.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARO-BLANCO, I. et al. Different mutations providing target site resistance to ALS- and ACCase-inhibiting herbicides in *Echinochloa* spp. from rice fields. **Agriculture**, v. 11, n. 5, p. 382-389, 2021.
- ANDRES, A. et al. Detecção da resistência de capim-arroz (*Echinochloa* sp.) ao herbicida quinclorac em regiões orizícolas do sul do Brasil. **Planta Daninha**, v. 25, n 1, p. 221-226, 2007.
- BAGAVATHIANNAN, M.V. et al. Modeling the simultaneous evolution of resistance to ALS- and ACCase-inhibiting herbicides in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Clearfield® rice. **Weed Technology**, v. 28, n. 1, p. 89–103, 2014.
- BASTIANI, M. O. et al. Germinação de sementes de capim-arroz submetidas a condições de luz e temperatura. *Planta Daninha*, Viçosa, v.33, n.3, p. 695-404, 2015.
- BELTRAN, J. C. et al. Economic implications of herbicide resistance and high labour costs for management of annual barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Philippine rice farming systems. **Crop Protection**, v. 31, n. 1, p. 31-39, 2012.
- BONOW, J. F. L. et al. Herbicidas alternativos para controle de capim-arroz resistente ao herbicida Imazapir+Imazapic. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 9., 2015, Pelotas. **Ciência e tecnologia para otimização da orizicultura: anais**. Brasília, DF: Embrapa; Pelotas: Sosbai, 2015.
- BRASIL. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 398p.
- CHEN, J. et al. Characterization of glyphosate and quizalofop-p-ethyl multiple resistance in *Eleusine indica*. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, v. 176, n. 1, p. 104862, 2021.
- CHRISTOFFOLETI, P. J. Curvas de dose-resposta de biótipo resistente de *Brachiaria plantaginea* a herbicidas inibidores da ACCase. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 2, n. 3, p. 87-92, 2001.
- CONCENÇO, G. et al. Aspectos da resistência de *Sagittaria montevidensis* ao herbicida pirazosulfuron-ethyl inibidor da ALS. **Planta Daninha**, v. 25, n. 1, p. 187-194, 2007.
- DAMALAS, C. A. et al. Morphological and phydiological variation among species of the genus *Echinochloa* in Northern Greece. **Weed Science**, v. 56, n.3, p. 416-423, 2008.
- EBERHARDT, D. S.; NOLDIN, J. A. Competitividade de sagitária em diferentes densidades de semeadura em arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23., 2002. Gramado. **Resumos...** Londrina: SBCPD/Embrapa Clima Temperado, 2002. p. 207.

EBERHARDT, D. S.; NOLDIN, J. A. Capim-arroz resistente ao herbicida Facet em Santa Catarina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: IRGA, 2001. p. 513-515.

EBERHARDT, D. S. et al. Barnyardgrass with multiple resistance to synthetic auxin, ALS and ACCase inhibitors. **Planta Daninha**, v. 34, n. 4, p. 823-832, 2016.

FANG, J. et al. A novel mutation Asp-2078-Glu in ACCase confers resistance to ACCase herbicides in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Pesticide Biochemistry Physiology**, v. 168, p. 104634, 2020.

FERRERO, A. et al. Sensitivity to rice herbicides in *Echinochloa* spp. populations of Italian rice fields. In: **O 6º Congresso Internacional de Ciência de Ervas Daninhas. International**, Weed Science Society (IWSS), 2012. p. 80-80.

FISCHER, A. J. et al. Mechanisms of resistance to byspiribac-sodium in *Echinochloa phillipogon* accession. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.68, n. 3, p. 156-165,2000.

FRANS, R. et al. Experiment design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. In: CAMPER, N.D **Research Methods in Weed Science**. 3rd ed. Champaign: SWSS, 1986. p.29-46.

GALON, L. et al. Estimativa das perdas de produtividade de grãos em cultivares de arroz (*Oryza sativa*) pela interferência do capim-arroz (*Echinochloa* spp.). **Planta Daninha**, v. 25, n. 3, p. 697-707, 2007.

HAGHNAMA, K., MENNAN, H. Herbicide resistant barnyardgrass in Iran and Turkey. **Planta Daninha**, v. 38, n. 2, p. e020227592, 2020.

HALL, L. M. et al. Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false clover (*Gallium spurium*). **Weed Science**, v. 46, n. 4, p. 390-396, 1998.

HAMZA A. et al. Identification and mechanism of *Echinochloa crus-galli* resistance to fenoxaprop-p-ethyl with respect to physiological and anatomical differences. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 893204-893212, 2012.

HEAP, I. **The international herbicide-resistant weed database**. 2021. Disponível em: <http://www.weedscience.org/Home.aspx#:~:text=Weeds%20have%20evolved%20resistance%20to,cases%20of%20herbicide%20resistant%20weeds>. Acesso em: 18 nov. 2021.

HERNANDES, G. C. et al. Levantamento de práticas agronômicas e distribuição geográfica de *Bidens* spp. resistentes aos herbicidas inibidores de ALS nos Estados do Rio Grande do Sul e do Paraná. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 677-682, 2005.

HRAC. **Comitê de ação a resistência aos herbicidas**. 2020. Disponível em: <https://www.hrac-br.org/>. Acesso em: 18 mar. 2020.

HUAN Z. et al. Determination of ACCase sensitivity and gene expression in quizalofop–ethyl resistant and -susceptible barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) biotypes. **Weed Science**, v. 61, n. 3, p. 537-542, 2013.

JALALUDIN, A. et al. Multiple resistance across glufosinate, glyphosate, paraquat and ACCase-inhibiting herbicides in *Eleusine indica* population. **Weed Research**, v. 55, n. 1, p. 82-89, 2014.

KALOUMENOS, N. S. et al. Target-site mutation associated with cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides in late watergrass (*Echinochloa oryzicola* Vasing.). **Pest Management Science**, v. 69, n. 7, p. 865-873, 2013.

KISSMANN, K. G. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: BASF, Tomo I. 1997. 825 p.

KUVA, M.A. et al. Experimentos de eficiência e praticabilidade agronômica com herbicidas. In: MONQUERO, P.A. Org. **Experimentação com herbicidas**. São Carlos: RiMa; 2016.

LAFORREST, M. et al. Acetyl-CoA carboxylase overexpression in herbicide-resistant large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). **Pest Management Science**, v. 73, n. 11, p. 2227-2235, 2017.

LAMEGO, F. P.; VIDAL, R. A. Resistência ao glyphosate em biótipos de *Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis* no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Planta Daninha**, v. 26, n. 2, p. 467-471, 2008.

LOPEZ OVEJERO, R. F. et al. Frequency and dispersal of glyphosate-resistant sourgrass (*Digitaria insularis*) populations across Brazilian agricultural production areas. **Weed Science**, v. 65, n. 2, p.285-294, 2017.

LÓPEZ-OVEJERO R.F. et al. Resistência de populações de capim colchão (*Digitaria ciliaris*) aos herbicidas inibidores da Acetil Co-A carboxilase. **Planta Daninha**, v. 23, n.3, p. 543-49, 2005.

LÓPEZ-OVEJERO, R. F. et al. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas inibidores da ACCase (Grupo A). In: CHRISTOFFOLETI, P.J.; NICOLAI, M. (ed.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. HRAC-BR. p. 77-98, 2016.

MATZENBACHER, F.O. et al. Distribution and analysis of the mechanisms of resistance of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) to imidazolinone and quinclorac herbicides. **Journal Agriculture Science**, v. 153, n. 6, p. 1044–1058, 2015.

MAXWELL, B. D.; MORTIMER, A. M. Selection for herbicide resistance. In: POWLES, S. B.; HOLTUM, J. A. M. **Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry**. Boca Raton: CRC Press, 1994. p. 1-25.

MOTIOR RAHMAN, M. et al. Study on resistant biotypes of *Echinochloa crus-galli* in Malaysia. **Australian Journal of Crop Science**, v. 4, n. 2, p. 107-115, 2010.

MEROTTO JR. et al. Resistência de *Echinochloa* sp a quinclorac. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS DANINHAS, 24., 2004, São Pedro. **Anais...**Londrina: Sociedade Brasileira de Ciência de Plantas Daninhas, 2004. p. 1232-1236.

MEROTTO, A. J. et al. Cross-resistance to herbicides of five ALS-inhibiting groups and sequencing of the ALS gene in *Cyperus difformis* L. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 1389-1398, 2009.

NEVE, P.; POWLES, S. Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 110, n. 6, p. 1154–1166, 2005.

ORTIZ, A. et al. Current status of resistance *Ischaemum rugosum* Salisb., to herbicide profoxydim in Venezuela. **Revista de La Facultad de Agronomía**, v. 32, n. 1, p. 21-40, 2015.

PANOZZO, S. et al. Target-site resistance to ALS inhibitors in the polyploid species *Echinochloa crus-galli*. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v. 105, n. 2, p. 93–101, 2013.

PINTO, J.J.O. et al. Controle de capim-arroz (*Echinochloa* spp.) em função de métodos de manejo da cultura do arroz irrigado. **Planta Daninha**, v.26, n.4, p.767-777, 2008.

PINTO, J. J. O. et al. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. 1, p. 317-347, 2010.

ROUSE, C. E. et al. Physiological assessment of non-target site resistance in multiple-resistant junglerice (*Echinochloa colona*). **Weed Science**, v. 67, n. 6, p. 622–632, 2019.

RUIZ-SANTAELLA, J. P. et al. Resistance mechanisms to cyhalofop-butyl in a biotype of *Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss. from California. **Journal of Plant Disease Protection**, Stuttgart, v. 121, n. 20, p. 95-100, 2006.

SANDRI, M. A. et al. Effect of shading on tomato plants grow under greenhouse. **Horticultura Brasileira**, v.21, n. 4, p. 642-645, 2003.

SBCPD. **10 Passos para relatos de novos casos de resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Londrina-PR: HRAC, 2018. 2 p.

SCHAEDLER, C. E. et al. Resistência de capim-arroz ao herbicida quinclorac em lavouras de arroz irrigado em Santa Catarina. **Agropecuária Catarinense**, 2008.

SEEFELDT, S. S. et al. Production of herbicide-resistant jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) x wheat (*Triticum aestivum*) hybrids in the field by natural hybridization. **Weed Science**, v. 46, n. 6, p. 632-634, 1998.

SILVA, A. A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R. Herbicidas: classificação e mecanismos de ação. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo integrado de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. p. 58-117.

TALBERT R. E., BURGOS N.R. History and management of herbicide resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Arkansas rice. **Weed Technology**, v. 21, n.1, p. 324-31, 2007.

TRAVLOS, I. et al. Efficacy of different herbicides on *Echinochloa colona* (L.) Link control and the first case of its glyphosate resistance in Greece. **Agronomy**, v. 10, n. 7, p. 1056-1069, 2020.

VARGAS, L.; ROMAN, E. S. **Identificação e manejo de plantas daninhas resistentes a herbicidas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 19 p.

VIDOTTO, F. et al. Herbicide sensitivity of *Echinochloa* spp. Accessions in Italian rice fields. **Crop protection**, v. 26, n. 3 p. 285-293, 2007.

WON O. J. et al. Identification of herbicide-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli*) biotypes in Korea. **Weed Turfgrass Science**, v. 3, n. 2, p. 110-113, 2012.

5. MECANISMOS QUE CONFEREM RESISTÊNCIA CRUZADA AOS HERBICIDAS INIBIDORES DE ACCASE EM CAPIM-ARROZ (*Echinochloa crus-galli*)

5.1 RESUMO

O aumento de casos de resistência de plantas do gênero *Echinochloa* spp. tem gerado preocupação por parte dos produtores de arroz irrigado, principalmente com o avanço dos casos de resistência múltipla. Além disso, os mecanismos de resistência desses biótipos pode ser ou não relacionado ao local de ação do herbicida. O objetivo desse trabalho foi identificar o mecanismo que confere resistência cruzada a inibidores de ACCase em um biótipo de capim-arroz. A pesquisa foi desenvolvida no CAV/UEDESC em casa de vegetação. Para o ensaio de metabolização de herbicidas pelo citocromo P450, utilizou-se o inseticida organofosforado malathion. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) dispostos em esquema fatorial 2 x 8, onde o fator A compreendeu dois biótipos (CA01 e CA07) e o fator B consistiu em oito tratamentos (testemunha, malathion, cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl, profoxydim, malathion + cyhalofop-p-butyl, malathion + quizalofop-p-ethyl e malathion + profoxydim). Os ensaios de sequenciamento e expressão do gene ACCase foram conduzidos no Laboratório de Virologia Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias-CAV/UEDESC, para tal foram coletadas cinco amostras de fragmentos foliares de cada um dos dois biótipos (CA01 e CA07). Fez-se a extração de DNA das amostras e após a amplificação foi realizada a eletroforese em gel de agarose 1%; todas as amostras apresentaram a qualidade necessária para a utilização na reação em cadeia da polimerase (PCR). As amostras que apresentaram amplificação com tamanho esperado foram enviadas para sequenciamento. As sequências nucleotídicas apresentaram alta compatibilidade (99,75%) com sequências de *E. crus-galli*, o sequenciamento parcial do gene ACCase com a utilização de dois pares de primers todas as cinco amostras provenientes do biótipo CA07 apresentaram uma substituição de triptofano (Trp) por uma cisteína (Cys) na posição 2027. A capacidade de metabolização por enzimas do citocromo P450 não está associado a resistência desse biótipo.

Palavras-chave: Citocromo P450, expressão gênica, sequenciamento, sítio de ação, Trp-2027-Cys.

5.2 ABSTRACT

The increase in cases of resistance of plants of the genus *Echinochloa* spp. has generated concern among producers of paddy rice, especially with the advance of cases of multiple resistance. Besides, the mechanisms of resistance of these biotypes may or may not be related to the site of action of the herbicide. The objective of this work was to identify the mechanism that confers cross-resistance to ACCase inhibitors in a biotype of barnyardgrass. The research was developed at CAV/UDESC in a greenhouse. For the assay of herbicide metabolization by cytochrome P450, the organophosphorus insecticide malathion was used. The experimental design used was entirely randomized (DIC) arranged in a 2 x 8 factorial scheme, where factor A comprised two biotypes (CA01 and CA07) and factor B consisted of eight treatments (control, malathion, cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl, profoxydim, malathion + cyhalofop-p-butyl, malathion + quizalofop-p-ethyl and malathion + profoxydim). The sequencing and expression assays of the ACCase gene were conducted in the Laboratório de Virologia Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias-CAV/UDESC, for which five samples of leaf fragments were collected from each of the two biotypes (CA01 and CA07). DNA was extracted from the samples and after amplification, electrophoresis was performed in 1% agarose gel; the amplified fragments were stained with GelRed, visualized and photographed under ultraviolet light. The samples that presented amplification with expected size were sent for sequencing using the oligonucleotides indicated above (ACTGENE Análises moleculares LTDA). The nucleotide sequences showed high compatibility (99.75%) with sequences of *E. crus-galli*, the partial sequencing of the ACCase gene with the use of two primer pairs all five samples from the CA07 biotype showed a substitution of tryptophan (W) by a cysteine (C) at position 2027. The ability of metabolization by cytochrome P450 enzymes is not associated with the resistance of this biotype.

Keywords: Cytochrome P450, gene expression, sequencing, site of action, Trp-2027-Cys.

5.3 INTRODUÇÃO

As plantas daninhas são consideradas quaisquer plantas que ocorrem em local indesejado e que ocasionem algum prejuízo a atividade humana (BRIGHENTI; OLIVEIRA, 2011). São consideradas um dos principais fatores que geram estresse biótico nas culturas agrícolas devido a competição interespecífica com a cultura de interesse por recursos do meio (AGOSTINETTO et al., 2007). As plantas daninhas pertencentes ao gênero *Echinochloa* spp. podem ser consideradas uma das mais importantes infestantes da cultura do arroz irrigado (AMINPANA et al., 2012), tanto por sua capacidade competitiva quanto por sua alta infestação em áreas de produção (ANDRES et al., 2007), os danos ocasionados pela presença de uma única planta de capim-arroz por m² podem reduzir a produtividade de grãos entre 8,4 e 11,3% (AGOSTINETTO et al., 2007).

A resistência de plantas daninhas, segundo Powles e Yu (2010) é a capacidade natural e herdável de determinado biótipo de sobreviverem e se reproduzirem após a exposição a doses que seriam letais a indivíduos suscetíveis dessa mesma espécie. Os mecanismos de resistência a herbicidas em plantas daninhas são classificados devido a sua relação ou não com o local de ação do herbicida. Nos casos em que a resistência é relacionada ao local de ação ela pode ser decorrente da diminuição de afinidade do herbicida com o local de ação da enzima e isso implica em mutações na sequência nucleotídica do DNA. Fang et al. (2020) descreveram que uma mutação Asp-2078-Glu conferiu resistência a um biótipo de *Echinochloa crus-galli* a herbicidas inibidores da ACCase. A superexpressão do gene que codifica a enzima alvo é considerado o outro mecanismo de resistência relacionado ao sítio de ação (LAFOREST et al., 2017). A resistência não relacionada ao local de ação pode ocorrer através de mecanismos que alteram as taxas de absorção, translocação, metabolização e compartimentalização do herbicida (POWLES; YU, 2010). Há relatos de plantas de capim-arroz resistentes por metabolização aos herbicidas fenoxaprop-p-ethyl (YUN et al., 2009) e a cyhalofop-butyl (RUIZ-SANTAELLA et al., 2006).

Nas últimas duas décadas, os herbicidas inibidores da enzima ACCase assumiram grande importância, por possibilitarem o controle seletivo em pós-emergência de espécies da família Poaceae (KUK et al., 2000). Esses herbicidas são utilizados em larga escala em campos de arroz para controlar plantas do gênero *Echinochloa* (FANG et al., 2020) e seu uso contínuo passou a provocar elevada pressão de seleção, favorecendo a seleção de biótipos resistentes. No

caso de herbicidas inibidores da ACCase a resistência é ocasionada, principalmente por alterações no local de ação (SANKULA et al., 1997).

O mecanismo de ação que envolve alterações relacionadas ao local de ação do herbicida é responsável pela resistência à maioria dos herbicidas e particularmente aos inibidores de ACCase (AMARO BLANCO et al. 2021). Sete posições de códon ACCase foram indicadas como sendo as responsáveis pela resistência das plantas daninhas, sendo elas: Ile1781 (LI et al. 2013), Trp1999 (KAUNDUN et al. 2013), Trp2027 (XU et al. 2013), Ile2041 (TANG et al. 2012), Asn2078 (KAUNDUN, 2010), Cys2088 (KAUNDUN et al., 2012) e Gly2096 (CRUZ-HIPOLITO et al., 2011). Dentre essas substituições de aminoácidos a que ocorre em maior frequência é em Ile-1781.

Além disso, de acordo com Heap (2014) pode ocorrer a superexpressão do gene, que é o mecanismo envolvendo o sítio de ação elucidado mais recentemente. Efetivamente ocorre um aumento no número de cópias do gene da enzima alvo, limitando assim os impactos do herbicida. Esse tipo de resistência foi relacionado à alguns casos de resistência como a de *Amaranthus palmeri* S. Wats resistente a glyphosate (GAINES et al., 2010) onde houve um aumento de 5 a 160 vezes o número de cópias do gene EPSPs. Os casos relatados de plantas daninhas resistentes a ACCase por superexpressão incluem *Sorghum halepense* nos EUA (BRADLEY et al., 2001), *Leptochloa chinensis* na Tailândia (PORNPROM et al., 2006), *Eleusine indica* na Malásia (SAN CHA et al., 2014) e *Digitaria sanguinalis* no Canadá (LAFORREST et al., 2017).

O mecanismo de resistência a herbicidas não relacionado ao sítio de ação pode ocorrer devido à diminuição da absorção do herbicida pela planta, alteração na translocação, sequestro ou compartimentalização do herbicida, incremento de metabolização do herbicida e rápida necrose (MARKUS et al., 2021). Níveis de resistência resultantes desses processos são relativamente baixos e pode levar a resistência cruzada a vários herbicidas devido a ativação da citocromo P450s que podem até metabolizar diferentes classes de herbicidas, como inibidores da ACCase e ALS (IWAKAMI et al., 2019), os padrões de resistência não relacionados ao sítio de ação são muitas vezes imprevisíveis, sendo assim as estratégias de manejo de plantas daninhas devem considerar que a rotação de mecanismo de ação de herbicidas não se adequa para mitigar essa forma de resistência (FERNÁNDEZ et al., 2016).

Alguns métodos para a elucidação do mecanismo de resistência de plantas daninhas a herbicidas podem ser empregados para definir a resistência ou não a determinado herbicida. Um dos métodos frequentemente empregados na detecção de plantas daninhas resistentes

consistem em extrair o material genético do tecido vegetal da planta daninha, e realizar avaliações do RNA ou DNA desta ou, ainda, a avaliação da atividade de enzimas que fazem parte da rota de ação da enzima-alvo da ação dos herbicidas (GERWICK et al., 1993; SINGH et al., 1998).

A identificação do mecanismo de resistência de biótipos de plantas daninhas a herbicidas é fundamental para que se desenvolvam estratégias de manejo que prezem por evitar a disseminação e a evolução desses casos de resistência. Essas estratégias de manejo são ajustadas de acordo com o mecanismo de resistência que o biótipo em questão apresenta, e é de suma importância diferenciar o mecanismo de resistência para que se tenha eficácia na prevenção e no controle de plantas daninhas resistentes.

Diante disso, este estudo teve como objetivo identificar o mecanismo de resistência de um biótipo de *Echinochloa* spp. resistente aos herbicidas inibidores da ACCase, através de ensaios que identifiquem a metabolização e o sequenciamento do gene ACCase.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

5.4.1 Ensaio com inibidor de citocromo P450

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Centro de Ciências Agroveterinárias da UDESC (CAV-UDESC) em Lages, SC. Cada unidade experimental consistiu-se de um vaso plástico com capacidade volumétrica de 3 dm³ preenchido com substrato comercial inerte, inicialmente semeou-se oito sementes e após o período de estabelecimento realizou-se o raleio, mantendo-se quatro plantas por unidade experimental. Para a verificação da metabolização de herbicidas pelo citocromo P450 utilizou-se o inseticida organofosforado malathion, responsável por bloquear essa via de detoxificação de herbicidas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) disposto em esquema fatorial 2 x 8, onde o fator A compreendeu dois biótipos (CA01 e CA07) e o fator B consistiu em oito tratamentos (testemunha, malathion, cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl, profoxydim, malathion + cyhalofop-p-butyl, malathion + quizalofop-p-ethyl e malathion + profoxydim) (Tabela 8). Duas horas antes da aplicação dos herbicidas cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl e profoxydim aplicou-se o inibidor de citocromo P450 malathion na dose de 2000 g i.a. ha⁻¹ (OSUNA et al., 2002).

Quando a maioria das plantas atingiram o estágio de desenvolvimento de três a quatro folhas verdadeiras, as unidades experimentais foram retiradas da casa de vegetação para aplicação dos herbicidas. A aplicação foi realizada com pulverizador costal de precisão pressurizado a CO₂, com quatro pontas jato plano AD 110 02 na altura de 50 cm acima do alvo com volume de aplicação de 200 L ha⁻¹, espaçamento entre bicos 50 cm, velocidade de 3,6 km h⁻¹ e pressão de trabalho 220 kPa. Após a aplicação do herbicida, os vasos foram levados para a casa de vegetação, permanecendo sem irrigação por 24 horas a fim de não interferir na absorção dos herbicidas.

Tabela 8 – Dose de aplicação dos tratamentos herbicidas cyhalofop-p-butyl, quizalofop-p-ethyl e profoxydim e do inseticida malathion.

Tratamento	Produto comercial ®	Dose (L ha ⁻¹)	Dose (g i.a. ha ⁻¹)
Testemunha	-	-	-
malathion	Malathion	2,0	2000
cyhalofop-p-butyl	Clincher	1,75	360
quizalofop-p-ethyl	Targa	0,6	120
profoxydim	Aura	1,5	170
malathion + cyhalofop-p-butyl	Malathion + Clincher	2,0 + 1,75	2000 + 360
malathion + quizalofop-p-ethyl	Malathion + Targa	2,0 + 0,6	2000 + 120
malathion + profoxydim	Malathion + Aura	2,0 L + 1,5	2000 + 170

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Avaliou-se o controle aos 7, 14 e 28 DAA (escala percentual, em que a nota 0% correspondeu a nenhum efeito do herbicida e a nota 100% significou morte total das plantas). Avaliou-se também a massa seca da parte aérea aos 28 DAA cortando-se rente ao solo todas as plantas do vaso e, posteriormente, secando-as em estufa a 65°C por 72 horas, quando foi realizada a quantificação da MSPA em balança de precisão (0,001 g).

Os dados foram submetidos a análise de variância pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5.4.2 Ensaio para identificação de mutação na enzima ACCase

5.4.2.1 Extração de DNA

Os procedimentos para a extração de DNA foram conduzidos no Laboratório de Virologia Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias-CAV/UDESC. Foram coletadas cinco amostras de fragmentos foliares de cada um dos dois biótipos (CA01e CA07). Seguiu-se a metodologia proposta por Doyle e Doyle para a extração de DNA (DOYLE; DOYLE, 1987). Após a extração do DNA, foram feitas as quantificações de qualidade através do equipamento NanoDrop 2000 (Thermo Scientific™). Todas as amostras extraídas apresentaram a qualidade necessária para a utilização na reação em cadeia da polimerase (PCR).

5.4.2.2 PCR e sequenciamento.

Com as amostras de DNA extraídas, as mesmas foram submetidas a PCR para amplificação do gene ACCase. Os oligonucleotídeos utilizados para a PCR (Tabela 9) foram descritos por Amaro-Blanco et al. (2021) e Golmohammadzadeh et al. (2020).

Tabela 9 – Primers utilizados para amplificação e sequenciamento do gene ACCase em biótipos de *Echinochloa crus-galli* sensível (S) e resistente (R) a inibidores de ACCase.

Primer	Tamanho do amplicon	Sequência 5'-3'
CRUSS F	474 pb	GATTGGCATAGCCGATGAAG
CRUSS R		TGGACAACACCATTGGTAGC
AC6 F	496 pb	TCTCCCGATACGCTCCCGACG
AC6 R		GGGTCAAGCCTACCCATACA

Fonte: Amaro-Blanco et al. (2021); Golmohammadzadeh et al. (2020).

Para a amplificação na PCR da região alvo seguiu-se a metodologia apresentada por Amaro-Blanco et al. (2021), utilizou-se oligonucleotídeos 34,75 μ L de H₂O (água isenta de nuclease), 10 μ L de tampão 5X, 1 μ L de Deoxynucleotide Triphosphates (dNTPs), 1 μ L de oligonucleotídeo homólogo (F) (3,2 μ M), 1 μ L de oligonucleotídeo reverso (R) (3,2 μ M), 0,25 μ L de Taq DNA Polymerases e 2 μ L de DNA (~10ng μ L⁻¹) de cada biótipo, totalizando volume final de 50 μ L. O programa no termociclador consistiu em: 95°C por 5 minutos; 35 ciclos a 95°C por 30 segundos, 57°C por 30 segundos e a 72°C por 1 minuto; 72°C por 5 minutos e finalizou-se com 4°C. Após a amplificação foi realizada a eletroforese em gel de agarose 1%; os fragmentos amplificados foram corados com GelRed, visualizados e fotografados sob luz ultravioleta.

Amostras que apresentaram amplificação com tamanho esperado foram enviadas para sequenciamento pelo método proposto por Sanger e Coulson (1975) utilizando os oligonucleotídeos indicados anteriormente (ACTGENE Análises moleculares LTDA).

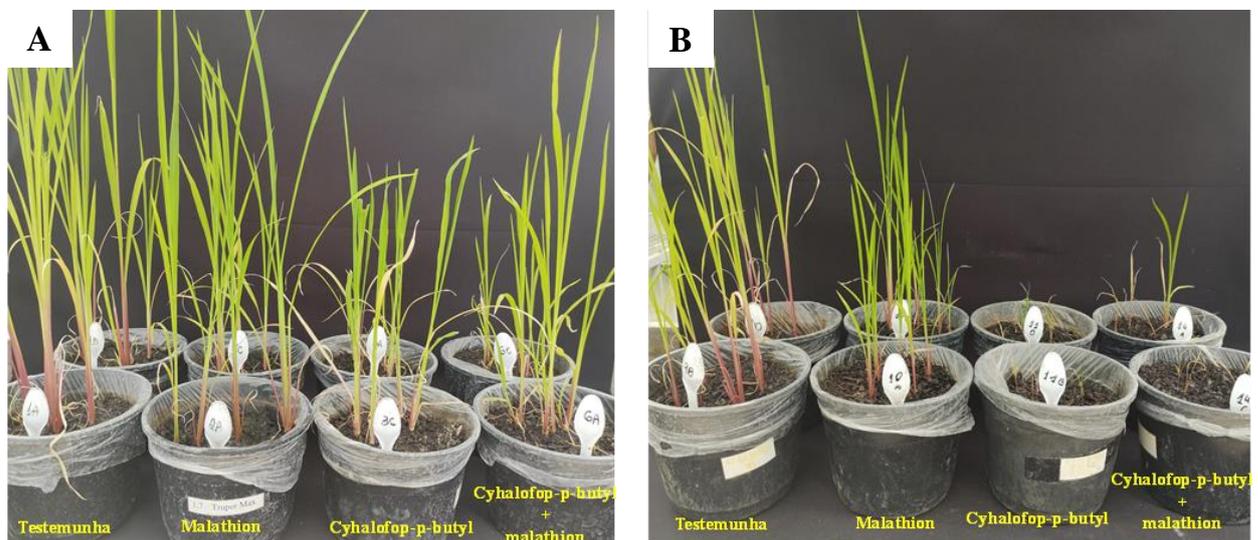
5.5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.5.2.1 Ensaio com inibidor de citocromo P450

Os resultados encontrados neste trabalho mostraram que o biótipo resistente não apresenta nenhum mecanismo envolvendo a metabolização de herbicidas, não foi observada a

paralisação do sistema de detoxificação de herbicidas envolvido com o complexo P450 (Figura 7). Aos 7 DAA o biótipo CA01 (S) apresentou um controle superior ao biótipo CA07 em todos os tratamentos, e para ambos os biótipos todos os tratamentos diferenciaram-se apenas da testemunha e do tratamento com o inseticida malathion. Na segunda avaliação realizada aos 14 DAA houve um aumento significativo no controle do biótipo CA01 e de modo geral todos os tratamentos, com exceção da testemunha e do tratamento com malathion, proporcionaram um controle >80%, diferentemente do biótipo CA07 em que a maior porcentagem de controle foi de 14% com o tratamento malathion + profoxydim. Na última avaliação, realizada aos 28 DAA para o biótipo CA01 todos os tratamentos se diferenciaram da testemunha e da aplicação somente com o malathion, promovendo um controle superior a 90%, para o biótipo CA07 as porcentagens de controle mantiveram-se baixas em que apenas o tratamento com malathion + profoxydim gerou um controle de 19,25% e todos os demais tratamentos mantiveram uma taxa de controle inferior a esse valor (Tabela 10). Assim o crescimento e o desenvolvimento do biótipo CA07 não foram prejudicados com os tratamentos (Figura 7).

Figura 7 – Avaliação do biótipo CA07 representado por A e biótipo CA01 representada por B aos 28 dias após a aplicação dos tratamentos herbicidas, na presença ou ausência do inseticida malathion



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Casos associados ao metabolismo intensificado mediado pelo citocromo P450 foram relatados (FERNÁNDEZ et al., 2016) e confirmado em diferentes espécies de plantas daninhas, como *Avena* spp. (MENENDEZ; DE PRADO, 1996), *E. phyllopogon* (DE PRADO et al., 2005) e *L. rigidum* (AHMAD-HAMDANI et al., 2012).

Tabela 10 – Avaliação de controle (%) aos 7, 14 e 28 dias após a aplicação de diferentes tratamentos com e sem a utilização de bloqueador de P450 (malathion) em dois biótipos de capim-arroz (CA01 e CA07).

Tratamento	Controle (%)					
	7DAA		14DAA		28DAA	
	CA01	CA07	CA01	CA07	CA01	CA07
Testemunha	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
Malathion	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA
Cyhalofop-p-butyl	66,00 bA	0,00 aB	78,00 bcA	0,00 aB	91,50 bA	0,00 aB
Quizalofop-p-ethyl	69,00 bA	3,25 aB	85,00 cA	4,25 aB	92,50 bA	6,25 aB
Profoxydim	46,25 bA	2,00 aB	88,75 cA	8,50 bB	95,50 bA	10,75 aB
Malathion + Cyhalofop	58,75 bA	0,00 aB	89,00 cA	0,00 aB	95,00 bA	0,00 aB
Malathion + Quizalofop	57,00 bA	4,50 aB	91,50 cA	9,50 bB	95,75 bA	12,75 aB
Malathion + Profoxydim	52,25 bA	4,25 aB	94,75 cA	14,00 bB	100,00 bA	19,25 bB

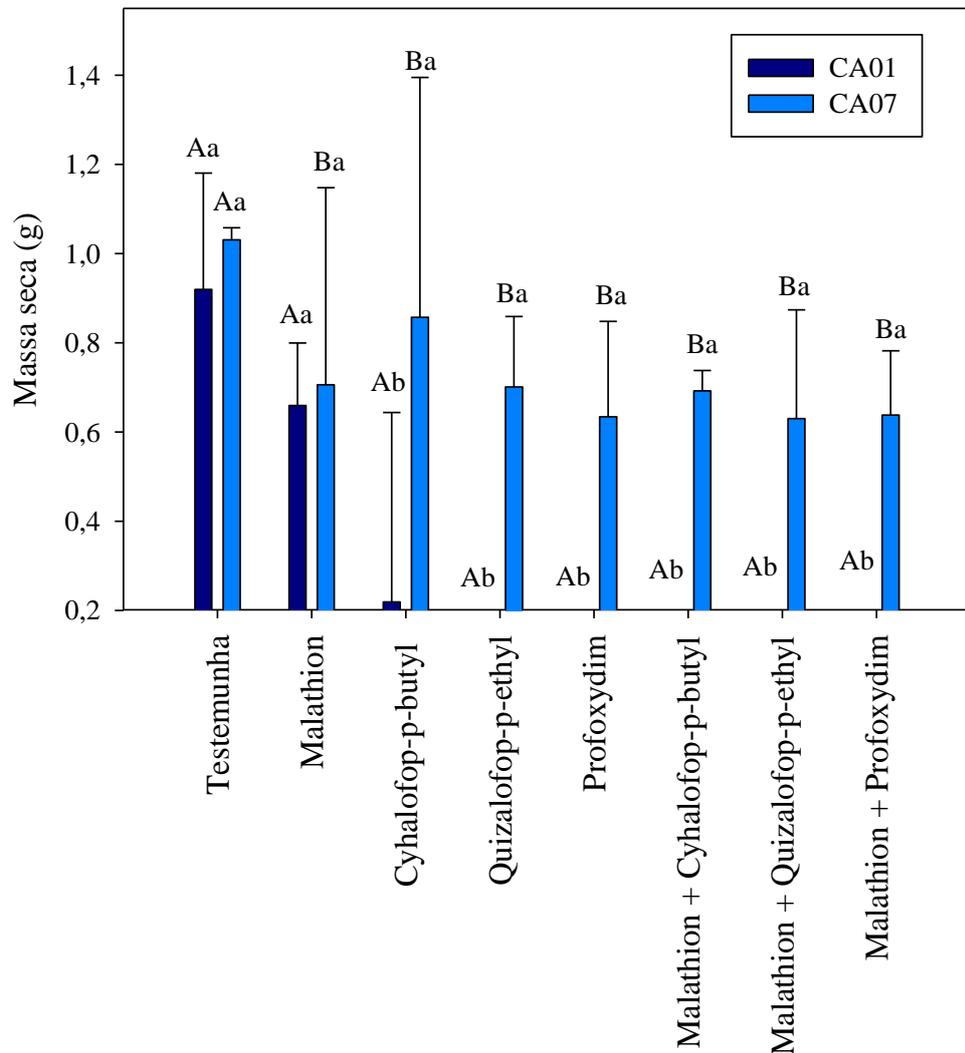
Letras minúsculas iguais na mesma coluna e maiúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Recentemente, Han et al. (2016) demonstraram que, em diferentes populações de *Lolium rigidum* coletadas na Austrália, ambos os mecanismos de resistência, aumento da metabolização e mutação na ACCase podem ocorrer.

Ahmad-Hamdani (2012) em estudo para avaliar a resistência de aveia daninha constataram que a taxa de absorção foliar e translocação do herbicida inibidor da ACCase-diclofop foi a mesma nas populações resistentes e suscetíveis. No entanto, o nível de ácido diclofop fitotóxico sempre foi menor nas plantas resistentes, com um nível mais alto concomitante (até 1,7 vezes) de metabólitos polares diclofop não tóxicos. Esses resultados indicam que um mecanismo não baseado no local-alvo é o responsável pela maior metabolização de diclofop e confere resistência na população de aveia daninha resistente.

Figura 8 – Massa seca (g) de dois biótipos de capim-arroz: CA01 (S) e CA07 ® submetidos a diferentes tratamentos herbicidas na presença ou ausência do inseticida malathion.



Letras minúsculas iguais indicam que não há diferença entre os tratamentos e letra maiúsculas iguais indicam não haver diferença entre os biótipos, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

A massa seca da parte aérea manteve-se constante e não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 8), porém houve diferença entre os biótipos (CA01 e CA07). As enzimas do citocromo P450 são hemeoproteínas que geralmente catalisam reações de monooxigenação dependente de oxigênio e NADPH (YUAN et al., 2007), são conhecidas como enzimas-chave na fase I do metabolismo apresentando um papel crucial na desintoxicação de herbicidas em plantas (YUN et al., 2005). Essas enzimas são envolvidas na rápida evolução da herbicida resistência em algumas plantas daninhas, como o azevém (*Lolium rigidum*), especialmente devido ao uso de subdoses de herbicidas (YU et al., 2013; BUSI et al., 2013). A degradação intensificada de herbicidas causada por enzimas do citocromo P450 pode ser

indiretamente identificados por meio de inibidores de enzima como o malathion (ELMORE et al., 2015; MATZENBACHER et al., 2015).

5.5.2.2 Ensaio para identificação de mutação na enzima ACCase

As sequências nucleotídicas apresentaram alta compatibilidade (99,75%) com sequências de *E. crus-galli* (GenBank: KY071205.1). O sequenciamento parcial do gene ACCase com a utilização de dois pares de primers descritos por Amaro-Blanco et al (2021) e Golmohammadzadeh (2020) indicaram, em todas as cinco amostras provenientes do biótipo CA07, uma substituição de triptofano (W) por uma cisteína (C) na posição 2027 (Tabela 11), sendo este o primeiro relato já descrito dessa mutação em populações de *Echinochloa* spp., não foi encontrada outra substituição nas demais regiões conhecidas por conferirem resistência aos herbicidas inibidores da ACCase (Tabela 11). Esses resultados corroboram com Chen et al. (2017) de que a resistência cruzada a diferentes herbicidas inibidores de ACCase, e em sua grande maioria são decorrentes de mutações Ile-1781-Leu, Ile-2041-Asn e Trp-2027-Cys.

Tabela 11 – Alinhamento das sequências nucleotídicas para o gene ACCase. Em negrito destaca-se os nucleotídeos que codificam a Trp-2027 no biótipo CA01 (S) e a mutação no biótipo CA07 (R).

Biótipo	Sequência nucleotídica (5' - 3')							
	2023	2024	2025	2026	2027	2028	2029	2030
CA01 (S)	ATA	TTG	TCG	AAT	TGG	CTC	GGT	TTC
	Ile	Leu	Ala	Asn	Trp	Arg	Gly	Phe
CA07 (R)	ATA	TTG	TCG	AAT	TGC	CTC	GGT	TTC
	Ile	Leu	Ala	Asn	Cys	Arg	Gly	Phe

Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

Inúmeros casos de resistência por alteração no local de ação já foram descritos na literatura, dentre eles: Ile-1781-Leu em *L. rigidum* (ZAGNITKO et al., 2001; DE'LYE et al., 2002; BROWN et al., 2002; TAL, RUBIN 2004; ZHANG; POWLES 2006); Ile-1781-Leu em *Setaria viridis* (DE'LYE et al., 2002); Ile-1781-Leu em *A. myosuroides* (DE'LYE et al., 2002; BROWN et al., 2002); Ile-1781-Leu em *A. fatua* (CHRISTOFFERS et al., 2002); Ile-1781-Leu em *L. multiflorum* (WHITE et al.; 2005); Ile-1781-Leu em *A. sterilis* (LIU et al., 2007); Ile-2041-Asn em *A. myosuroides* (DE'LYE et al., 2003); Ile-2041-Asn em *L. rigidum* (DE'LYE et

al., 2003; ZHANG; POWLES 2006); Ile-2041-Asn em *A. sterilis* (LIU et al., 2007); Ile-2041-Val em *L. rigidum* (DE'LYE et al., 2003); Gly-2096-Ala em *A. myosuroides* (DE'LYE et al., 2005); Asp-2078-Gly em *A. myosuroides* (DE'LYE et al., 2005); Asp-2078-Gly em *A. sterilis* (LIU et al., 2007); Trp-1999-Cys em *A. sterilis* (LIU et al. 2007).

O primeiro relato de substituição de Trp-2027-Cys conferindo a resistência à inibidores da ACCase foi em biótipos de *A. myosuroides* no ano de 2005 (DÉLYE et al., 2005) Esta substituição está envolvida em conferir resistência a herbicidas inibidores da ACCase em muitas espécies de plantas daninhas, como em *Lolium* spp. (YU et al., 2007), *A. sterilis* (LIU et al., 2007) e *Phalaris minor* (GHAREKHLOO et al., 2012). Xu et al. (2013) em estudo com biótipos de *Alopecurus japonicus* em determinação da resistência a ACCase avaliaram amostras de plantas individuais e, assim como os resultados encontrados nessa pesquisa, determinaram que as amostras apresentavam a substituição Trp-2027-Cys e mais nenhuma outra substituição. Yu et al., (2007) encontraram em uma população de *Lolium* spp uma resistência de 7 a 13 vezes ao herbicida inibidor da ACCase clethodim a partir das seguintes substituições: Ile-1781-Leu/Trp-2027-Cys e Ile-1781-Leu/Ile-2041-Asn, ainda segundo esses autores diferentes mutações/combinções podem resultar em diferentes níveis e padrões de resistência aos inibidores da ACCase. Amaro-Blanco et al. (2021) relataram uma substituição na posição 1781 de isoleucina por leucina em biótipos de *Echinochloa* spp. Em *E. crus-galli.*, Huan et al. (2011) também identificaram que a mutação Ile-1781-Leu foi a responsável por conferir resistência ao herbicida quizalofop-p-ethyl. Uma mutação Asp-2078-Glu, relatada por Fang et al. (2020) conferiu resistência a herbicidas inibidores da ACCase em *Echinochloa crus-galli.*

Liu et al., (2007) em estudo com *Avena sterilis*, as mutações Trp-2027-Cys e Ile-2041-Asn foram associadas à resistência aos herbicidas tralkoxidim e setoxidim, respectivamente. Yu et al. (2017) relataram que a mutação Trp-2027-Cys em ACCase era o mecanismo de resistência do local-alvo ao cyhalofop-butil em *L. chinensis*. Deng et al., (2019) determinaram que a mutação Ile-1781-Leu e Trp-2027-Cys conferiram ampla resistência cruzada a APPs, CHDs e DENs, ainda, segundo os autores a mutação Trp-2027-Cys fornece resistência a APPs e DENs, enquanto a resistência a CHDs é dependente da espécie da planta daninha e do herbicida específico. Por exemplo, a mutação Trp-2027-Cys em *Pseudosclerochloa kengiana* forneceu resistência ao setoxidim, mas sensibilidade ao clethodim (YUAN et al., 2007), enquanto que em *L. rigidum* e *B. syzigachne* forneceram resistência a clethodim (DU et al., 2016; YU et al., 2007).

5.6 CONCLUSÃO

A capacidade de metabolização por enzimas do complexo P450 não está associado a resistência desse biótipo.

A resistência cruzada aos herbicidas inibidores da ACCase do biótipo CA07 deve-se a uma substituição na posição 2027 de um triptofano por uma cisteína (Trp-2027Cys). Este foi o primeiro relato da participação da mutação Trp-2027-Cys como mecanismo de resistência a inibidores da ACCase em *Echinochloa crus-galli*. Destaca-se que esse mecanismo conferiu maior nível de resistência aos herbicidas cyhalofop-p-butyl e quizalofop-p-ethyl (ariloxifenoxipropionatos) e baixo nível de resistência ao profoxydim (ciclohexanodiona).

5. 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINETTO, D. et al. Interferência de capim-arroz (*Echinochloa* spp.) na cultura do arroz irrigado (*Oryza sativa*) em função da época de irrigação. **Planta Daninha**, v. 25, n. 4, p. 689-696, 2007.
- AHMAD-HAMDANI, M. S. et al. Herbicide resistance endowed by enhanced rates of herbicide metabolism in wild oat (*Avena* spp.). **Weed Science**, v. 61, n. 1, p. 55-62, 2012.
- AMARO-BLANCO, I. et al. Different mutations providing target site resistance to ALS- and ACCase-inhibiting herbicides in *Echinochloa* spp. from rice fields. **Agriculture**, v. 11, n. 5, p. 382-389, 2021.
- AMINPANAH, H. et al. Interference interactions of two species of *Echinochloa* genus with rice. **Chilean Journal Agriculture Research**, v. 72, n. 3, p. 364-370, 2012.
- BRADLEY, K. W. et al. The mechanism of resistance to aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione herbicides in a *Johnsongrass* biotype. **Weed Science**, v. 49, n. 4, p. 477-484, 2001.
- BRIGHENTI, A.M.; OLIVEIRA, M.F. Biologia de plantas daninhas. In: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**, PR: Omnipax, 2011, 348p.
- BROWN, A. C. et al. An isoleucine to leucine substitution in the ACCase of *Alopecurus myosuroides* (black-grass) is associated with resistance to the herbicide sethoxydim. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, v. 72, n. 3, p. 681-688, 2002.
- BUSI, R.; NEVE, P.; POWLES, S.B. 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, J. et al. Characterization of glyphosate and quizalofop-p-ethyl multiple resistance in *Eleusine indica*. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, v. 176, n. 1, p. 104862, 2021.
- CHRISTOFFERS, M. et al. An isoleucine to leucine mutation in acetyl-CoA carboxylase confers herbicide resistance in wild oat. **Genome**, v. 45, n. 6, p. 1049-1056, 2002.
- CRUZ-HIPOLITO, H. et al. Resistance mechanism to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides in *Phalaris paradoxa* collected in Mexican wheat fields. **Plant Soil**, v. 355, n. 1, p. 121-130, 2011.
- DE PRADO, J. L. et al. *Lolium rigidum*, a pool of resistance mechanisms to ACCase inhibitor herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 2185 – 2191, 2005.

- DÉLYE C. et al. An isoleucine–leucine substitution in chloroplastic acetyl-Co A carboxylase from green foxtail (*Setaria viridis* L. Beauv.) is responsible for resistance to the cyclohexanedione herbicide sethoxydim. **Planta**, v. 214, n. 3, p. 421–427, 2012.
- DÉLYE, C. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: An update. **Weed Science**, v. 53, n. 5, p. 728-746, 2005.
- DÉLYE, C. et al. An isoleucine residue within the carboxyl-transferase domain of multidomain acetyl-coenzyme A carboxylase is a major determinant of sensitivity to aryloxyphenoxypropionate but not to cyclohexanedione inhibitors. **Plant Physiology**, v. 132, n. 3, p. 1716–1723, 2003.
- DENG, W. et al. Molecular basis of resistance to ACCase-inhibiting herbicide cyhalofop-butyl in Chinese sprangletop (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees) from China. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 158, n. 4, p. 143-148, 2019.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, n. 1, p. 11-15, 1987
- DU, L. et al. Cross-resistance patterns to ACCase-inhibitors in american sloughgrass (*Beckmannia syzigachne* Steud.) homozygous for specific ACCase mutations. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 126, n. 1, p. 42-48, 2016.
- ELMORE, M.T. et al. Cytochrome P450 inhibitors reduce creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*) tolerance to topramezone. **Plos One**, v.10, n.7, p.1-10, 2015.
- FANG, J. et al. A novel mutation Asp-2078-Glu in ACCase confers resistance to ACCase herbicides in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.168, p. 104634, 2020.
- FERNÁNDEZ, P. et al. Underlying resistance mechanisms in the *Cynosurus echinatus* biotype to Acetyl CoA carboxylase-inhibiting herbicides. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1, p. 449-455, 2016.
- GAINES, T. A. et al. Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n.3, p. 1029-1034, 2010.
- GERWICH, B. C. et al. Rapid diagnosis of ALS AHAS-resistant weeds. **Weed Technology**, v. 7, n. 2, p. 519-524, 1993.
- GHEREKHLOO, J. et al. Biochemical and molecular basis of resistance to ACCase-inhibiting herbicides in Iranian *Phalaris minor* populations. **Weed Resistance**, v. 52, n. 4, p. 367–372, 2012.
- GOLMOHAMMADZADEH, S. et al. Cross-resistance mechanisms to ACCase-inhibiting herbicides in short-spike canarygrass (*Phalaris brachystachys*). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 151, p. 681–688, 2020.

- HAN, H. et al. Target-site EPSPS Pro-106 mutations: sufficient to endow glyphosate resistance in polyploid *Echinochloa colona*? **Pest Management Science**, v. 72, n. 2, p. 264–271, 2016.
- HEAP I. **Herbicide resistant weeds, in Integrated Pest Management: Pesticide Problems**, ed. by Pimentel D and Peshin R. Springer, New York, p. 281–301, 2014.
- HUAN Z. et al. Determination of ACCase sensitivity and gene expression in quizalofop–ethyl resistant and -susceptible barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) biotypes. **Weed Science**, v. 61, p. 537-542, 2013.
- IWAKAMI, S. et al. CYP 81A P450s are involved in concomitant cross-resistance to acetolactate synthase and acetyl-CoA carboxylase herbicides in *Echinochloa phyllopogon*. **New Phytologist**, v. 221, n. 4, p. 2112-2122, 2019.
- KAUNDUN, S.S. An aspartate to glycine change in the carboxyl transferase domain of acetyl CoA carboxylase and non-target-site mechanism(s) confer resistance to Accase inhibitor herbicides in a *Lolium multiflorum* population. **Pest Management Science**, v. 66, n. 11, p. 1249–1256, 2010.
- KAUNDUN, S. S. et al. A novel W1999S mutation and non-target site resistance impact on acetyl-coa carboxylase inhibiting herbicides to varying degrees in a UK *Lolium multiflorum* population. **Plos One**, v. 8, n. 2, p. 1-11, 2013.
- KUK, YI.; BURGOS, N.R.; TALBERT, R.E. Cross- and multiple resistance of diclofop-resistant *Lolium* spp. **Weed Science**, v. 48, n. 4, p. 412-419, 2000.
- KAUNDUN, S. S. et al. Broad resistance to ACCase inhibiting herbicides in a ryegrass population is due only to a cysteine to arginine mutation in the target enzyme. **Plos One**, v. 7, n. 6, p. e39759, 2012.
- LAFORREST, M. et al. Acetyl-CoA carboxylase overexpression in herbicide-resistant large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*). **Pest Management Science**, v. 73, n. 11, p. 2227-2235, 2017.
- LI, G. et al. Identification and expression pattern of a glutathione S-transferase in *Echinochloa crus-galli*. **Weed Research**, v. 53, n. 5, p. 314-321, 2013.
- LIU W.J. et al. Single-site mutations in the carboxyltransferase domain of plastid acetyl-CoA carboxylase confer resistance to grass-specific herbicides. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 9, p. 3627–32, 2007.
- MATZENBACHER, F. O. et al. Distribution and analysis of the mechanisms of resistance of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) to imidazolinone and quinclorac herbicides. **The Journal of Agricultural Science**, v. 153, n. 6, p. 1044-1058, 2015.
- MENENDEZ, J.; DE PRADO, R. Diclofop-methyl cross-resistance in a chlorotoluron-resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 56, p. 123-133, 1996.

- NEVE, P.; POWLES, S. Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 110, n. 6, p. 1154–1166, 2005.
- OSUNA, M. et al. Cross-resistance to bispyribac-sodium and bensulfuron-methyl in *Echinochloa phyllopogon* and *Cyperus difformis*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 73, n. 1, p. 9–17, 2002.
- PORNPROM, T. et al. The role of altered acetyl-CoA carboxylase in conferring resistance to fenoxaprop-P-ethyl in Chinese sprangletop [*Leptochloa chinensis* (L.) Nees]. **Pest Management Science**, v. 62, n. 11, p. 1109-1115, 2006.
- POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**, v. 61, n. 1, p. 317-347, 2010.
- SAN CHA, T. et al. Molecular basis for resistance to ACCase-inhibiting fluazifop in *Eleusine indica* from Malaysia. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 111, p. 7-13, 2014.
- RIAR, D. S. et al. Physiological and molecular basis of Acetolactate Synthase-Inhibiting herbicide resistance in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 61, n. 2, p. 278-289, 2013.
- RUIZ-SANTAELLA, J. P. et al. Resistance mechanisms to cyhalofop-butyl in a biotype of *Echinochloa phyllopogon* (Stapf) Koss. from California. **Journal of Plant Disease Protection**, v. 121, n. 20, p.95-100, 2006.
- SANGER, F.; COULSON, A.R. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase, **Journal of Molecular Biology**, v. 94, n. 3, p. 441-448, 1975.
- SANKULA, A. et al. Resistance to ACCase-inhibitor herbicides in wild oat: evidence for target site-based resistance in two biotypes from Canada. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 57, n. 1, p. 147-155, 1997.
- SINGH, S. et al. Effect of the monooxygenase inhibitor piperonyl butoxide on the herbicidal activity and metabolism of isoproturon in herbicide resistant and susceptible biotypes of *Phalaris minor* and wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 59, n.3, p. 143-153, 1998.
- TAL, A; RUBIN, B. Molecular characterization and inheritance of resistance to ACCase herbicides in *Lolium rigidum*. **Pest Management Science**, v. 60, n. 10, p. 1013–1018, 2004.
- TANG, H. et al. Molecular bases for resistance to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitor in Japanese foxtail (*Alopecurus japonicus*). **Pest Management Science**, v. 68, n. 9, p. 1241–1247, 2012.

- XU, H. et al. Mechanism of resistance to fenoxaprop in Japanese foxtail (*Alopecurus japonicus*) from China. *Pestic. Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 107, n. 1, p. 25–31, 2013.
- WHITE G.M. et al. Differences in the molecular basis of resistance to the cyclohexanedione herbicide sethoxydim in *Lolium multiflorum*. **Weed Research**, v. 45, n. 6, p. 440–448, 2005.
- YU, H. et al. Diversity of acetyl-coenzyme A carboxylase mutations in resistant *Lolium populations*: evaluation using clethodim. **Plant Physiology**, v. 145, n. 2, p. 547–558, 2007.
- YU, H. et al. Enhanced rates of herbicide metabolism in low herbicide-dose selected resistant *Lolium rigidum*. **Plant, Cell and Environment**, v.36, n.4, p.818–827, 2013.
- YU, H. et al. Mechanism of resistance to cyhalofop-butyl in Chinese sprangletop (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 143, n. 1, p. 306–311, 2017.
- YUAN, J. S. et al. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 1, p.6–13, 2007.
- YUN, M. S. et al. Cytochrome P-450 monooxygenase activity in herbicide-resistant and -susceptible late watergrass (*Echinochloa phyllopogon*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 83, n. 2–3, p.107–114, 2005.
- ZAGNITKO, O. et al. An isoleucine/leucine residue in the carboxyltransferase domain of acetyl-CoA carboxylase is critical for interaction with aryloxyphenoxypropionate and cyclohexanedione inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n.2, p. 6617–6622, 2001.
- ZHANG X.Q., POWLES S.B. The molecular bases for resistance to acetyl coenzyme A carboxylase (ACCase) inhibiting herbicides in two target-based resistant biotypes of annual ryegrass (*Lolium rigidum*). **Planta**, v. 223, n. 3, p. 550–557, 2006.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o presente trabalho conclui-se que dos 21 biótipos estudados apenas o biótipo proveniente de Tubarão-SC é resistente, apresentando resistência cruzada aos herbicidas inibidores da ACCase.

A resistência é causada pela substituição na enzima alvo de um triptofano por uma cisteína, conferindo uma mutação na posição 2027. Enquanto que a metabolização por enzimas do complexo P450 não conferiu resistência ao biótipo em questão.

Outros herbicidas, com diferentes mecanismos de ação que foram verificados neste trabalho para controle de biótipos de *Echinochloa crus-galli*, aplicados em pós-emergência demonstraram ser pouco eficientes gerando um baixo controle, além disso os herbicidas pendimethalin e clomazone aplicados em pré-emergência se mostraram eficientes e proporcionaram controle de 100% nos dois biótipos, não sendo descartada a resistência múltipla do biótipo. Ressalta-se a importância de um manejo químico bem elaborado para reduzir a incidência de novos biótipos resistentes e até mesmo diminuir o impacto de plantas já resistentes sobre o ambiente de cultivo.

Plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase têm elevada importância por conta do número restrito de herbicidas com sítios de ação alternativos para seu manejo além disso esses herbicidas são a principal opção para o manejo de plantas daninhas de folhas estreitas em inúmeras culturas. Quando há a ocorrência de uma alteração no local de ação que compromete todo o grupo para as estratégias de manejo não se inclui os herbicidas comprometidos, restringindo as possibilidades.

O biótipo foi coletado em uma das principais regiões orizícolas de Santa Catarina e, ainda que pontual, esse caso de resistência precisa ser controlado à fim de evitar a disseminação para demais áreas.