

USO DE IMAGENS DIGITAIS PARA DETECÇÃO DE RESISTÊNCIA CRUZADA A GRUPOS QUÍMICOS DE INIBIDORES DA PROTOX EM BIÓTIPOS DE *Euphorbia heterophylla* L. COM RESISTÊNCIA AOS INIBIDORES DA ALS/PROTOX

XAVIER, E. (UTFPR, Pato Branco/PR - elo231@hotmail.com), TREZZI, M.M. (UTFPR, Pato Branco/PR - trezzim@gmail.com), VIDAL, R.A. (UFRGS, Porto Alegre/RS - ribas.vidal@gmail.com), DIESEL, F. (UTFPR, Pato Branco/PR - francielli_diesel@hotmail.com), GALLON, M. (UTFPR, Pato Branco/PR - mtgallon90@yahoo.com.br), BARANCELLI, M. V. J. (UTFPR, Pato Branco/PR - marcos.v.jb@hotmail.com), BATISTEL, S. C. (UTFPR, Pato Branco/PR - sc.batistel@hotmail.com)

RESUMO: Este trabalho teve por objetivo determinar a existência de resistência cruzada aos herbicidas dos grupos químicos difeniléteres, ftalamidas, triazolinonas, oxadiazol e pirimidinedione (inibidores da PROTOX) em dois biótipos de EPHHL com resistência aos inibidores da ALS/PROTOX, provenientes da região Sudoeste do Paraná, pelo método de avaliação de imagens digitais. Foram realizados dois ensaios simultaneamente, em casa-de-vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, o primeiro de resposta a doses para o biótipo suscetível (S) e o segundo para os biótipos resistentes (R) provenientes de Vitorino e Bom Sucesso do Sul. Foram determinados a % de pixels em relação à testemunha aos 7 e 21 DAA, através do método de imagens digitais e calculados a dose que produz 50% de redução de pixels (C_{50}) e o fator de resistência (FR). Para o biótipo de Vitorino a resistência cruzada foi confirmada aos grupos químicos dos difeniléteres, ftalamidas e pirimidinedione. E para o Bom Sucesso do Sul foi confirmada a resistência cruzada aos grupos químicos dos difeniléteres, ftalamidas, triazolinonas, e pirimidinedione.

Palavras-chave: Curva dose resposta, pixels, efeito herbicida

INTRODUÇÃO

A resistência das plantas aos herbicidas é influenciada por fatores ligados aos produtos químicos ou ligados a biologia das plantas, que podem influenciar a taxa na qual a resistência se desenvolve (MONQUERO & CHRISTOFFOLETI, 2001). A aplicação de herbicidas recorrente, de mesmo mecanismo de ação e espécies de plantas daninhas anuais que ocorrem em altas densidades populacionais são fatores de risco para a evolução da resistência aos herbicidas em plantas daninhas (FRISVOLD et al., 2009).

Populações de *Euphorbia heterophylla* (EPHHL) apresentam ampla variabilidade genética, mesmo em biótipos que pertencem a municípios com pequena distância geográfica entre si, o que pode refletir em sua resposta à ação herbicida (WINKLER et al., 2003).

Curvas de resposta à dose são utilizadas para determinar a resistência ou suscetibilidade de plantas daninhas aos herbicidas (LACERDA & VICTORIA FILHO, 2004). Em experimentos de resposta de plantas daninhas aos herbicidas pode-se adotar diversas metodologias para avaliar alterações nas plantas. A adoção de novas metodologias para avaliar o efeito herbicida é interessante, visto que algumas técnicas são destrutivas, imprecisas e contêm níveis de subjetividade variáveis (WHALLEYA & SHANMUGANATHAN, 2013). Neste contexto, foi desenvolvida a análise de imagens digitais para quantificar as alterações na cor das folhas causadas por ação de herbicidas, que se constitui alternativa útil e precisa para avaliação visual e de bioensaios de planta inteira (ALI et al., 2013).

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar se existe resistência cruzada aos herbicidas dos grupos químicos difeniléteres, ftalamidas, triazolinonas, oxadiazol e pirimidinedione (inibidores da PROTOX) em biótipos de EPHHL com resistência múltipla aos inibidores da ALS/PROTOX, pelo método de avaliação de imagens digitais.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos de resposta à dose foram conduzidos em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Câmpus Pato Branco.

Para este trabalho utilizaram-se biótipos de *Euphorbia heterophylla* (EPHHL) que estavam disponíveis no banco de sementes da Instituição. Os biótipos utilizados foram denominados Bom Sucesso do Sul, Vitorino e Suscetível (S), sendo oriundos dos municípios de Bom Sucesso do Sul (PR), Vitorino (PR) e São Paulo (SP), respectivamente.

No primeiro experimento utilizou-se o biótipo S de EPHHL, oriundo de São Paulo. Para a variável controle por imagens digitais, os tratamentos foram arrançados em um fatorial 5 x 7, sendo o fator herbicidas inibidores da PROTOX [fomesafen (difeniléteres), flumiclorac (ftalamidas), carfentrazone (triazolinonas), oxadiazon (oxadiazol) e saflufenacil (pirimidinedione)], e o fator concentrações dos herbicidas, sendo estas: 0x, 0,1x, 0,16x, 0,26x 0,41x, 0,66x e 1x, correspondentes às concentrações de 0, 25, 40, 64, 102, 164, 250 g i.a.ha⁻¹ de fomesafen; 0, 6, 10, 15, 25, 39 e 60 g i.a.ha⁻¹ de flumiclorac, de 0, 3, 5, 8, 12, 20 e 30 g i.a.ha⁻¹ de carfentrazone, 0, 100, 160, 256, 410, 655 e 1000 g i.a.ha⁻¹ de oxadiazon e 0, 4, 6, 9, 14, 23 e 35 g i.a.ha⁻¹ de saflufenacil.

O segundo experimento foi realizado com os biótipos de EPHHL resistentes (R) a inibidores da ALS/PROTOX. Os tratamentos deste segundo experimento foram arranjos em fatorial 2 x 5 x 7, sendo, respectivamente, o fator biótipos (Vitorino e Bom Sucesso do Sul), herbicidas (os mesmos utilizados para o experimento do biótipo S) e concentrações dos herbicidas, sendo que para os biótipos R, as sete proporções da dose comercial utilizadas foram: 0x, 1x, 1,8x, 3,1x, 5,4x, 9,4x e 16,4x, correspondentes às concentrações de 0, 250, 438, 766, 1340, 2345 e 4103 g i.a.ha⁻¹ de fomesafen, 0, 60, 105, 184, 322, 563 e 985 g i.a.ha⁻¹ de flumiclorac, 0, 30, 53, 92, 161, 281 e 492 g i.a.ha⁻¹ de carfentrazone, de 0, 1000, 1750, 3063, 5359, 9379 e 16413 g i.a.ha⁻¹ de oxadiazon, e de 0, 35, 61, 107, 188, 328 e 574 g i.a.ha⁻¹ de saflufenacil.

Aos 7 e 21 dias após a aplicação (DAA), foram realizadas as avaliações de controle por imagens digitais, em que foram registradas imagens através de câmara digital, delimitando-se a área fotografada com um quadrado metálico de 25 cm de lado, forrado com TNT preto. No centro deste, foi cortado um círculo de mesmo diâmetro dos vasos, para evitar imagens além das plantas de interesse. As imagens digitais foram processadas com o programa "Image J", utilizando-se o separador de cores e outros procedimentos para converter a área vegetal verde em pixels. Foi computada a proporção de pixels brancos em relação à quantidade total de pixels da imagem. E os dados foram apresentados em % pixels em relação à testemunha (sem aplicação de herbicidas). Os dados foram submetidos à análise da variância, pelo teste F (P<0,05). As relações entre variáveis dependentes e as concentrações de herbicidas foram ajustadas através do modelo de regressão não linear, empregando-se o modelo logístico de três parâmetros com auxílio do programa computacional SigmaPlot 10.0. Com os valores das médias, calculou-se o erro padrão da média, através do quociente entre o desvio padrão e a raiz quadrada do tamanho da amostra. Também foram calculadas as doses necessárias para proporcionar redução de 50 % de pixels (C₅₀). Os fatores de resistência (FR) foram calculados pelo quociente entre os C₅₀ dos biótipos R e S.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o experimento com o biótipo S, houve significância da interação herbicida x dose aos 7 e 21 DAA. E para o experimento com os biótipos R, aos 7 DAA, houve interação significativa de biótipo x herbicida X dose. E aos 21 DAA houve significância da interação de herbicida x dose e biótipo x herbicida.

Em ambos os experimentos observou-se reduções de pixels em relação à testemunha com o decorrer do tempo e com a elevação das doses dos herbicidas (Figuras 1 e 2). Para o biótipo S, as maiores reduções de pixels em relação à testemunha aos 7 DAA foram obtidas com o herbicida saflufenacil, enquanto os herbicidas flumiclorac e oxadiazon

apresentaram as menores reduções de pixels em relação à testemunha (Figura 1 A). Para os biótipos R, o flumiclorac e o oxadiazon apresentaram as maiores reduções de pixels em relação à testemunha. Já, o fomesafen e o saflufenacil apresentaram as menores reduções de pixels em relação à testemunha para estes biótipos (Figura 1 B e C).

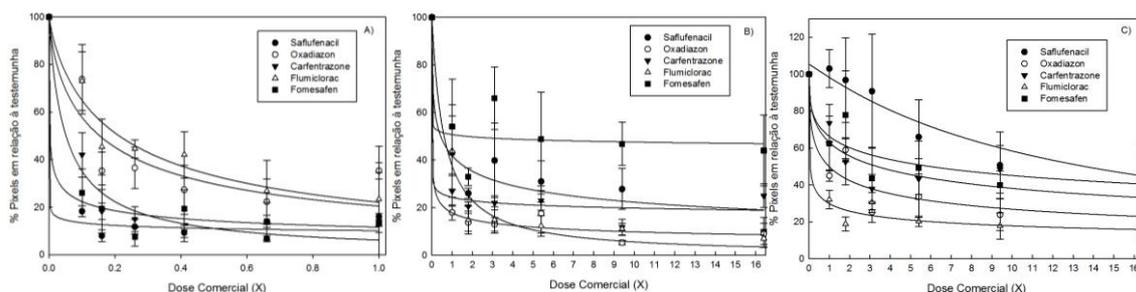


Figura 1 - % de pixels em relação à testemunha dos biótipos A) Suscetível, B) Vitorino e C) Bom Sucesso do Sul de *Euphorbia heterophylla* em resposta a aplicação dos herbicidas aos 7 dias após aplicação. Barras verticais representam o erro padrão da média de cada tratamento. UTFPR, Pato Branco - PR, 2014.

Aos 21 DAA (Figura 2), os herbicidas saflufenacil e carfentrazone apresentaram para o biótipo S as maiores reduções de pixels em relação à testemunha. Enquanto, o herbicida fomesafen apresentou as menores reduções de pixels em relação à testemunha, para os biótipos S e os R (Figura 2 A, B e C). Para os biótipos R, maiores reduções de pixels em relação à testemunha foram obtidas com o oxadiazon. (Figura 2 B e C).

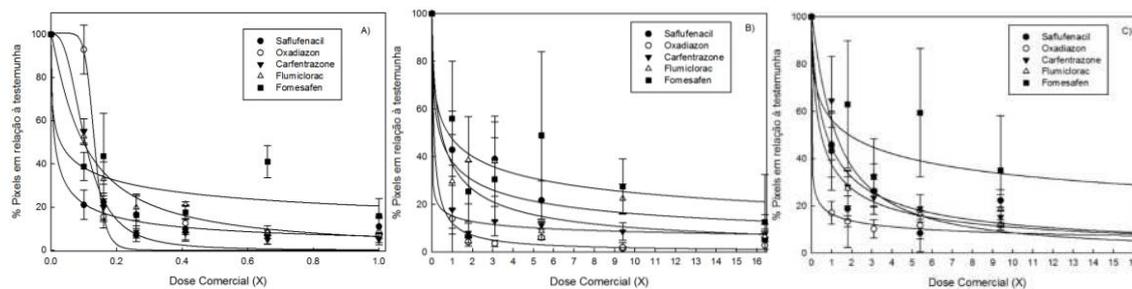


Figura 2 - % de pixels em relação à testemunha dos biótipos A) Suscetível, B) Vitorino e C) Bom Sucesso do Sul de *Euphorbia heterophylla* em resposta a aplicação dos herbicidas aos 21 dias após aplicação. Barras verticais representam o erro padrão da média de cada tratamento. UTFPR, Pato Branco - PR, 2014.

O biótipo S apresentou em geral, aos 7 e 21 DAA valores de C_{50} inferiores aos biótipos R (Tabela 1). No entanto em alguns casos os C_{50} do S foram superiores aos dos biótipos R. Os FR's obtidos pela análise de imagens para todos os biótipos foram inferiores aos obtidos com a variável controle visual (dados não apresentados). Os valores de FR da variável controle por imagens para os diferentes herbicidas inibidores da PROTOX variaram entre os biótipos analisados, e os maiores FR's para o biótipo Vitorino aos 7 e 21 DAA foram de 4760 (saflufenacil) e 40,1 (saflufenacil), respectivamente (Tabela 1). Para o biótipo Bom Sucesso do Sul, os maiores FR's aos 7 e 21 DAA foram de 639,3 (fomesafen) e 65 (fomesafen), respectivamente.

Tabela 1 - Dose dos herbicidas (g i.a. ha⁻¹), necessária para obter uma redução de 50% de pixels (C₅₀) e fatores de resistência (FR) aos 7 e 21 dias após a aplicação dos tratamentos (DAA). UTFPR, Pato Branco - PR, 2014.

Biótipos	Herbicida	7 DAA		21 DAA	
		C ₅₀ *	FR**	C ₅₀ *	FR**
Suscetível	Saflufenacil	<0,1	-	0,4	-
	Oxadiazon	154	-	132,3	-
	Carfentrazone	1,5	-	3,1	-
	Flumiclorac	12,6	-	5,9	-
	Fomesafen	0,7	-	7,2	-
Vitorino	Saflufenacil	476	4760	16,4	40,1
	Oxadiazon	982,2	6,4	106,9	<1
	Carfentrazone	100,8	65,6	0,1	<1
	Flumiclorac	3,3	<1	22,8	3,9
	Fomesafen	1487,5	2288,5	199,5	27,9
Bom Sucesso do Sul	Saflufenacil	15,4	154	16,8	41
	Oxadiazon	5,9	<1	7,5	<1
	Carfentrazone	<0,1	<1	36,9	11,8
	Flumiclorac	36	2,9	45,4	7,7
	Fomesafen	415,6	639,3	467,5	65,4

*C₅₀= Dose para obter uma redução de 50% dos pixels. **FR = C₅₀ resistente/ C₅₀ suscetível.

CONCLUSÕES

A utilização de imagens digitais foi eficiente na detecção da resistência cruzada aos grupos químicos dos difeniléteres, ftalamidas, triazolinonas e pirimidinedione para o biótipo Bom Sucesso do Sul e para o biótipo Vitorino na detecção da resistência aos grupos químicos dos difeniléteres, ftalamidas e pirimidinedione.

AGRADECIMENTO

Ao CNPq, a CAPES e a UTFPR pela concessão de bolsas e auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, A. Use of image analysis to assess color response on plants caused by herbicide application. **Weed Technology**. v. 27, p.604–611, 2013.
- FRISVOLD, G. B. Adoption of best management practices to control weed resistance by corn, cotton, and soybean growers. **AgBioForum**, v. 12, p. 370-381, 2009.
- LACERDA, A. L. S.; VICTORIA FILHO, R. Curvas dose-resposta em espécies de plantas daninhas com o uso do herbicida glifosato. **Bragantia**. v.63, p.73-79, 2004.
- MONQUERO, P. A.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Manejo de populações de plantas daninhas resistentes aos herbicidas inibidores da acetolactato sintase. **Planta Daninha**, v. 19, p. 67-74, 2001.
- WINKLER, L. M. et al. Caracterização genética de *Euphorbia heterophylla* resistente a herbicidas inibidores da acetolactato sintase. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1067-1072, 2003.
- WHALLEY J.; SHANMUGANATHAN S. Applications of image processing in viticulture: A review. In: **20th International Congress on Modelling and Simulation**, Adelaide, Australia, 2013.