

CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA DO GIRASSOL AOS HERBICIDAS DO GRUPO QUÍMICO DAS IMIDAZOLINONAS

GENETIC CONTROL OF IMIDAZOLINONE-HERBICIDE RESISTANCE IN SUNFLOWER

F.S. Adegas¹; M.F. Oliveira¹; A.M. Brighenti²; C.E.C. Prete³; O.V. Vieira⁴

¹Embrapa Soja, Londrina, PR; ²Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG; ³Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR; ⁴Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS

Resumo

A obtenção de um girassol resistente a herbicidas latifoliadidas seria uma das soluções para o controle das plantas daninhas dicotiledôneas que infestam as áreas com a cultura. Dentro desta linha de pesquisa, o presente trabalho teve o objetivo de estudar a introdução do gene de resistência aos herbicidas do grupo das imidazolinonas, na cultura do girassol. Foram semeados, no campo, três genótipos americanos resistentes as imidazolinonas, denominados de IMI Early (multi capitulado de ciclo precoce), de IMI Late (multi capitulado de ciclo semi precoce) e de IMI B (uni capitulado), que foram cruzados com dois genótipos da Embrapa Soja, o HA 30379NW22 (IMI B) e RHA 89V2396/5321 (IMI's Early e Late). Pelo teste do qui-quadrado a 5%, foi aceito a frequência de segregação de 3:9:4, para a população F₂, indicando que a resistência é controlada por dois genes, sendo um maior dominante (A) e outro secundário (B), com dois pares de alelo cada. A resistência só foi expressa quando o gene dominante estava em homozigose e o gene secundário em homozigose ou heterozigose, representado pela classe AAB-. Sintomas intermediários de fitotoxicidade, como cloroses, diminuição de altura das plantas e deformação foliar foram observados nas classes Aa--. A morte das plantas aconteceu quando o gene maior era recessivo, portanto aa--. Portanto, para a obtenção de uma linhagem, ou um híbrido de girassol, resistente as imidazolinonas é necessário que ambos os parentais possuam o fator de resistência, tanto no gene dominante como no gene secundário.

Abstract

The achievement of a sunflower genotype resistant to broad leaf weed herbicides would be one of the solutions in controlling dicotyledonous weed plants that infest areas with this crop. Within this research line, this study had the objective of studying the introduction of the resistance gene to herbicides of the imidazolinone group in the sunflower plant. Under field conditions, three American genotypes, which are resistant to the imidazolinones were sown: 1) IMI R Early (multi-flower headed and with early cycle); 2) IMI R Late (multi-flower headed and with semi-early cycle); and 3) IMI B (uni-flower headed). These genotypes were crossed with two Embrapa soybean genotypes: 1) HA 30379NW22 (x IMI B); and 2) RHA 89V2396/5321 (x IMI's Early and Late). By the Chi-square test at 5% probability the segregation frequency of 3:9:4 was accepted for the F₂ population, indicating that the resistance is controlled by two genes: a main dominant (A) and a secondary one (B), with two alleles each. The resistance was only expressed when the main gene was homozygotic and the secondary gene was in homozygosis or in heterosis, represented by the class AAB-. Intermediary symptoms of phytotoxicity such as chlorosis, decrease in plant height and foliar deformation were observed in the classes Aa--. Plant death occurred when the larger gene was recessive (aa--). Therefore, to obtain a sunflower line or a hybrid resistant to the imidazolinone it is necessary that both parental possesses the resistance factor, either in the main gene as in the secondary gene.

Introdução

No Brasil, a cultura do girassol vem ganhando destaque nos últimos anos, principalmente na região do cerrado, mas tem apresentado no controle das plantas daninhas uma das suas limitações, devido principalmente a inexistência de herbicidas específicos para espécies dicotiledôneas, que são as principais infestantes das áreas de exploração (Brighenti et al., 2003). Uma opção interessante para a solução deste problema seria a obtenção de um cultivar de girassol resistente a um herbicida latifoliadida, pois neste caso seria possível controlar as principais infestantes dicotiledôneas, sem causar injúrias à cultura.

SP 3810
P. 133

SP 3810
P. 133

AL-Khatib et al. (1998) relatam que os primeiros trabalhos para obtenção de um girassol resistente a herbicidas latifoliácidas foram iniciados a partir da coleta de sementes de biótipos espontâneos de girassol, suspeitos de resistência, que infestavam uma lavoura comercial de soja, em Rossville, no Estado do Kansas. Esses biótipos receberam a aplicação de até trinta e duas vezes a dose normal de Imazethapyr, comprovando a resistência. Genes de resistência a ALS, a partir dos biótipos de girassol selvagem, têm sido introduzidos em genótipos comerciais de girassol, resultando em variedades e híbridos também resistentes aos inibidores da ALS (Miller e Al-Khatib, 2002). Atualmente cultivares de girassol resistente as imidazolinonas estão sendo comercializados em países como Estados Unidos, Argentina, Espanha, Itália, Hungria, Romênia e Bulgária (Doley, 2001).

No Brasil esta tecnologia ainda não foi desenvolvida, sendo o principal objetivo deste trabalho estudar a introdução do gene de resistência aos herbicidas inibidores da ALS em genótipo de girassol, do banco de germoplasma da Embrapa Soja.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado em condições de campo, na Embrapa Soja, Londrina-PR. As semeaduras foram realizadas nos meses de agosto/setembro (denominada safra primavera/verão) e no mês de março (denominada safra outono/inverno), em áreas diferentes em cada safra, no espaçamento de 0,70 m entre linhas, com 3,2 plantas por metro linear.

Na safra outono/inverno de 2001 foi instalado um experimento preliminar, composto por três linhagens de girassol resistente aos herbicidas Imazamox e Imazethapyr, do grupo químico das imidazolinonas, adquiridas do banco de germoplasma do USDA-ARS, Fargo (ND) e do North Dakota Agricultural Experiment Station, Fargo (ND), registrados por Al-Khatib e Miller (2000). Estes genótipos foram denominados de IMI Early (multi capitulado de ciclo precoce), IMI Late (multi capitulado de ciclo semi precoce) e IMI B (uni capitulado). Na mesma área foi semeado o híbrido BRS-191, da Embrapa Soja. A semeadura foi realizada em três linhas de 10 metros e quando as plantas atingiram o estágio V6, com três pares de folhas verdadeiras (Castiglioni et al., 1997), foi aplicado o herbicida Imazamox, na dose de 98 g i.a./ha, que representa duas vezes a dose recomendada pelo fabricante, seguindo o mesmo procedimento de Miller e Al-Khatib (2002). A seletividade dos tratamentos para a cultura foi avaliada visualmente aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação (DAA), utilizando-se a escala percentual, onde zero (0%) representa nenhuma injúria e 100% representa morte das plantas. Antes do início do florescimento foram selecionadas dez plantas de cada linhagem resistente e cruzadas com as linhagens HA 30379NW22 (IMI B) e RHA 89V2396/5321 (IMI's Early e Late), pertencentes ao banco de germoplasma da Embrapa Soja. Estas plantas foram colhidas e os F₁ denominados de F₁ IMI B (uni capitulado), F₁ IMI EARLY (multi capitulado de ciclo precoce) e F₁ IMI LATE (multi capitulado de ciclo semi-precoce).

Os F₁ foram semeados na safra primavera/verão de 2001, sendo realizado a auto fecundação de 30 plantas de cada genótipo, resultando na geração F₂.

Na safra seguinte, outono/inverno de 2002 foram semeados 400 m² de cada um dos genótipos F₂ (IMI B, EARLY e LATE). Quando as plantas atingiram o estágio V6, foi aplicado o Imazamox na dose de 98 g i.a./ha. Aos 7, 14, 21 e 28 dias após a aplicação foi realizada a avaliação visual de seletividade, com quatro níveis de fitotoxicidade: sem injúria, injúria leve (pequena clorose), injúria moderada (clorose moderada, diminuição da altura e redução/deformação da área foliar) e injúria elevada (morte das plantas). Foram selecionadas 30 plantas de cada genótipo e retrocruzadas com os mesmos HA 30379NW22 (IMI B) e RHA 89V2396/5321 (IMI's Early e Late), resultando na geração F₃RC₁ de cada genótipo. Na mesma safra foi semeada mais duas parcelas de 50 m² de cada genótipo, que quando atingiram o mesmo estágio V6 receberam a aplicação de Chlorimuron, em uma parcela, e de Metsulfuron na outra, nas doses de 20,0 e 3,0 g i.a./ha, respectivamente.

Na primavera/verão de 2002 os genótipos foram semeados, as plantas foram selecionadas e submetidas a auto fecundação, resultando na geração F₄RC₁, cujos genótipos foram semeados no outono/inverno de 2003, novamente submetidos a aplicação de Imazamox, sendo selecionadas as melhores plantas para serem novamente retrocruzadas com o HA 30379NW22 (IMI B) e RHA 89V2396/5321 (IMI's Early e Late), resultando na geração F₅RC₂.

O experimento foi finalizado na safra primavera/verão de 2003, com a semeadura dos genótipos, seleção de plantas e auto fecundação, resultando nas linhagens da geração F₆RC₂.

As aplicações foram realizadas com pulverizador costal pressurizado com CO₂, equipado com barra de 1,5 m, contendo 4 bicos DG 11002, com pressão de trabalho de 2,15 kg.cm⁻² e consumo de calda de 190 l.ha⁻¹, sempre dentro de condições climáticas favoráveis.

A herança genética foi avaliada através dos dados obtidos na avaliação da aplicação do Imazamox na geração F₂ dos cruzamento entre os IMI e as linhagens HA 30379NW22 (IMI B) e RHA 89V2396/5321 (IMI's Early e Late), sendo submetidos a análise estatística pelo teste do qui-quadrado, a nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

O experimento preliminar, realizado na safra outono/inverno de 2001, resultou na morte de todas as plantas do BRS 191, enquanto que as linhagens americanas de girassol foram totalmente seletivas ao dobro da dose de Imazamox, demonstrando que os genótipos são realmente resistentes a este herbicida do grupo das imidazolinonas, conforme já havia comprovado Al-Khatib e Miller (2000).

Na avaliação de fitotoxicidade da geração F₂, realizada na safra outono/inverno de 2002, os sintomas de injúria já estavam presentes aos 7 DAA e a toda a mortalidade de plantas ocorreu até o 14 DAA, resultados que comprovam o mecanismo de ação do Imazamox (Leite et al., 1998). Nas plantas com injúria leve os sintomas praticamente desapareceram aos 28 DAA, enquanto que as injúrias moderadas, mesmo diminuindo no geral, ainda estavam presentes nas plantas quando da última avaliação. Os resultados estão exposto na tabela 1, sendo os genótipos classificados como resistente (serr. sintomas de fitotoxicidade), intermediário (sintomas leves e moderados) e susceptível (morte das plantas).

Tabela 1. Teste do qui-quadrado, para população F₂ de girassol resistente aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas. Londrina-PR, 2005.

Genótipo	Número de plantas ^{1 2}						Total	Razão de 3:9:4	
	Resistente		Intermediário		Susceptível			χ^2	P
	Obs	Esp	Obs	Esp	Obs	Esp			
Late	266	270,0	819	810,0	355	366,0	1440	0,2287	0,89
Early	284	275,4	823	826,3	362	367,3	1469	0,3550	0,84
Imi B	204	198,2	585	594,6	268	264,3	1057	0,3779	0,83
Total	754	743,6	2227	2230,9	985	991,5	3966	0,1941	0,91

¹ Níveis de seletividade: sem sintomas (resistente), sintomas leve/moderado (intermediário), morte (susceptível)

² Obs=observada e Esp= esperada na razão de 3:9:4

χ^2 valor do qui-quadrado, P valor da probabilidade

Foram obtidas e avaliadas 3966 no total, sendo 1440 plantas do genótipo IMI Late, 1469 plantas do IMI Early e 1057 plantas do IMI B. A segregação para os três genótipos foi muito semelhante e dentre os modelos de frequência, testados pelo teste do qui-quadrado, o que melhor se adaptou foi a segregação de 3:9:4, para resistente, intermediário e susceptível, respectivamente. Dentro desta proporção, os valores da probabilidade do qui-quadrado foram de 0,89 para o IMI Late, de 0,84 para o IMI Early, de 0,83 para o IMI B e de 0,91 para a média geral dos genótipos, mostrando a consistência dos resultados obtidos. Bruniard e Miller (2001) analisando a herança do cruzamento entre os genótipos de girassol HA 425, resistente ao Imazamox e o HA 89, susceptível, em casa-de-vegetação nos Estados Unidos e em condições de campo na Argentina, também obtiveram o mesmo modelo de segregação, de 3:9:4, obtendo intervalos de probabilidade do qui-quadrado de 0,75 a 0,95 para o experimento em casa-de-vegetação e de 0,50 a 0,75 para o experimento de campo.

O modelo obtido indica que a resistência para o Imazamox é controlada por dois genes de distribuição independente com dois alelos cada. O controle genético pode ser explicado pela ação de um gene principal dominante, denominado A, e outro gene secundário, denominado B. A resistência se expressa quando o gene maior está em homozigose e o gene secundário sob a ação do alelo dominante para resistência, seja em homozigose ou em heterozigose, portando a sequência seria AABB ou AABb

Quando o gene principal se encontra em heterozigose o resultado de resistência é sempre intermediário, seja qual for a condição do gene secundário, portanto dentro da estrutura $Aa--$. A avaliação visual mostrou que houve variação nos sintomas de fitotoxicidade da classe intermediária, com diferentes níveis de clorose, com alteração na altura das plantas e deformações diversificadas nas folhas, que são sintomas típicos dos herbicidas do grupo das imidazolinonas (Shaner, 1991). Estas classes de resistência foram estudadas por Bruniard e Miller (2001), através do retrocruzamento da geração F_2 (resistente x susceptível) com o genótipo susceptível, obtendo quatro classes de fitotoxicidade: intermediário mais, apresentando clorose leve; intermediário menos, apresentando clorose moderada; susceptível menos, apresentando clorose extrema e susceptível mais, apresentando morte das plantas, na frequência de segregação de 1:1:1:1, confirmando a estrutura genética para resistência e susceptibilidade ao Imazamox.

Para que ocorra a susceptibilidade do girassol e portanto a morte das plantas, o gene principal deve estar recessivo, com o gene secundário em qualquer conformação, tendo a estrutura $aa--$, portanto o alelo a é o único epistático presente, por impedir a expressão de B e b , caracterizando esta situação como epistasia recessiva.

No outro experimento realizado nesta safra, as plantas tratadas com o Chlorimuron e com o Metsulfuron não mostraram seletividade aos herbicidas, estando 72% mortas aos 7 DAA e 100% mortas aos 14 DAA, comprovando que os genótipos não possuem resistência cruzada ao grupo químico das sulfoniluréias. Isto ocorreu devido aos genótipos resistentes, introduzidos dos Estados Unidos da América, terem sofrido uma mutação na alanina₂₀₅ por valina (White et al., 2003) sendo que esta modificação na cadeia de aminoácidos confere ao girassol alta resistência a imidazolinonas e baixa resistência a sulfoniluréias (Kolkman et al., 2004).

Conclusões

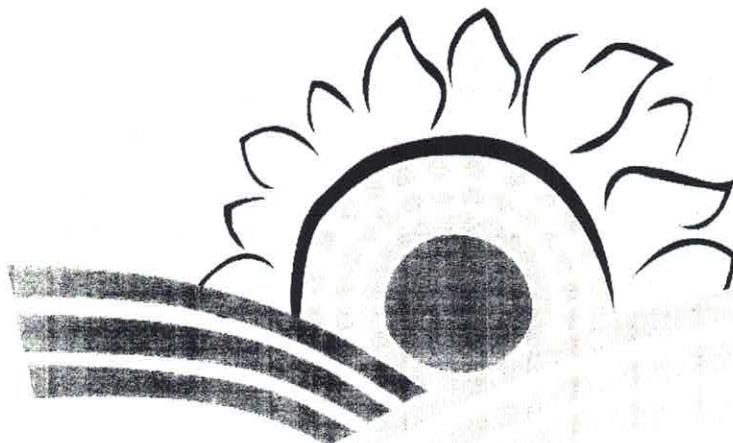
Os resultados deste trabalho permitem concluir que para a obtenção de uma linhagem ou um híbrido de girassol resistente as imidazolinonas é necessário que ambos os parentais possuam o fator de resistência, tanto no gene dominante como no gene secundário.

Para a obtenção da linhagem final resistente as imidazolinonas, seria necessário mais um retrocruzamento com o genótipo HA 30379NW22 e posteriormente mais uma auto fecundação.

Referências

- AL-KHATIB, K.; BAUMGARTNER, J. R.; PETERSON, D. E. e CURRIE, R. S. Imazethapyr resistance in common sunflower (*Helianthus annuus*). **Weed Science**, Champaign, v. 46, n. 4, p. 403-407, 1998.
- AL-KHATIB, K.; MILLER, J. F. Registration of four genetic stocks of sunflower resistant to imidazolinone herbicides. **Crop Science**, 40:869-870. 2000
- BRIGHENTI, A.M.; CASTRO, C.; GAZZIERO, D.L.P.; ADEGAS, F. S.; VOLL, E. Cadastramento fitossociológico de plantas daninhas na cultura do girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 5, p. 651-657, maio 2003.
- BRUNIARD, J. M.; MILLER, J. F. Inheritance of imidazolinone-herbicide resistance in sunflower. **Helia**, v. 24, n. 35, p. 11-16. 2001.
- CASTIGLIONI, V. B. R.; BALLA, A.; CASTRO, C.; SILVEIRA, J. M. **Fases de desenvolvimento da planta de girassol**. Londrina: Embrapa-CNPSO, 1997. 24p. (Embrapa-CNPSO. Documentos, 58).
- DOLEY, W. P. Clerfield sunflower: variety qualification system and other technical considerations. In: Sunflower Research Workshop, 23., 2001, Fargo, ND. **Proceedings**. Bismark, ND, 2001, p. 112-114.
- KOLKMAN, J. M.; SLABAUGH, M. B.; BRUNIARD, J. M.; BERRY, S.; BUSHMAN, B. S.; OLUNGU, C.; MAES, N.; ABRATTI, G.; ZAMBELLI, A.; MILLER, J. F.; LEON, A.; KNAPP, S. J. Acetohydroxyacid synthase mutations conferring resistance to imidazolinone or sulfonylurea herbicides in sunflower. **Theor Appl Genet**, 109:1147-1159, 2004.
- MILLER, J. F.; AL-KHATIB, K. Registration of imidazolinone herbicide-resistant sunflower maintainer (HA425) and fertility restorer (RHA426 and RHA427) germplasms. **Crop Science**, 42:988-989 (2002)

Anais



XVII Reunião Nacional de Pesquisa de Girassol

V Simpósio Nacional sobre a Cultura de Girassol

Uberaba, MG
03 a 05 de outubro, 2007

Organizado por:

Odilon Ferreira Saraiva
Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite
Simone Ery Grosskopf

Promoção / Realização



Embrapa Soja
Londrina, PR
2007