

LEANDRO BIANCHI

**AÇÃO DE MEFENPYR COMO "SAFENER" E ESTIMULANTE DE CRESCIMENTO
DE MILHO**

Botucatu

2021

LEANDRO BIANCHI

**AÇÃO DE MEFENPYR COMO “SAFENER” E ESTIMULANTE DE CRESCIMENTO
DE MILHO**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de e Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini

Coorientador: Prof Dr. Leandro Tropaldi

Botucatu

2021

B577a Bianchi, Leandro
 Ação de mefenpyr como “safener” e estimulante de
 crescimento de milho / Leandro Bianchi. -- Botucatu, 2021
 82 p. : tabs., fotos

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
 (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu
 Orientador: Edivaldo Domingues Velini
 Coorientador: Leandro Tropaldi

 1. Herbologia. 2. Protetores. 3. Seletividade. 4. Efeitos
 secundários. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AÇÃO DE MEFENPYR COMO "SAFENER" E ESTIMULANTE DE CRESCIMENTO DE MILHO

AUTOR: LEANDRO BIANCHI

ORIENTADOR: EDIVALDO DOMINGUES VELINI

COORIENTADOR: LEANDRO TROPALDI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. EDIVALDO DOMINGUES VELINI (Participação Virtual)
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias de Botucatu - UNESP

Edivaldo D. Velini

✓ Prof. Dr. CAIO ANTONIO CARBONARI (Participação Virtual)
FCA/UNESP / Botucatu/SP

Edivaldo D. Velini

✓ Prof. Dr. ALFREDO JUNIOR PAICLA ALBRECHT (Participação Virtual)
Setor Palotina / Universidade Federal do Paraná

Edivaldo D. Velini

✓ Prof. Dr. ARTHUR ARROBAS MARTINS BARROSO (Participação Virtual)
Fitotecnia e Fitossanidade / Universidade Federal do Paraná-UFPR

Edivaldo D. Velini

✓ Prof. Dr. LUIS ANTONIO DE AVILA (Participação Virtual)
Fitossanidade / Universidade Federal de Pelotas

Edivaldo D. Velini

Botucatu, 10 de dezembro de 2021

*À minha mulher Samara, e todos os meus
familiares,*

dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar e proteger em toda minha caminhada;

A mulher que amo Samara Moreira Perissato, que me deu carinho e suporte ao longo de todo meu doutorado, e será a mãe dos meus filhos;

Aos meus queridos pais, Edna Gatto Bianchi e Jean Piero Bianchi por não pouparem esforço para me dar uma excelente qualidade de vida. A minha parceira e irmã Rafaela Bianchi, por estar em todos os momentos especiais em minha vida;

Ao meu sogro e cunhado, Jair Perissato e Matheus Perissato, por me receberem de abraços abertos em vossa família. E em especial a minha sogra Suley Perissato (*In Memoriam*) por ser a mulher mais forte que já conheci, sempre colocando a família em primeiro lugar, a senhora mora em nossos corações;

A Kessie, nossa cachorrinha que amamos e nos proporciona alegria no dia a dia;

Ao Prof. Dr. Edivaldo Domingues Velini, por todos os conselhos, direcionamentos e oportunidade que já me propôs. Hoje inserido no mercado profissional todos seus ensinamentos são importantes para mim;

Ao Prof. Dr. Caio Antonio Carbonari, que considero meu segundo orientador, e agradeço pelo auxílio em toda minha formação;

Ao meu coorientador Prof. Dr. Leandro Tropaldi, por todas as dicas e parceiras que foram de extrema importância para meu crescimento profissional.

Aos meus amigos Roque Dias, Vitor Muller, Diego Gomes, Raphael Negrisolli, Victor Cesco pelo companheirismo e pelos diversos trabalhos desenvolvidos.

Aos meus amigos de universidade Gabriel Germino, Murilo Giffu, Lucas Miranda, Ramos Rizzieri, Olavo Candolo e Daniel Martins por todas as histórias e parcerias em nossa República “Pomba Loka”;

A todos meus familiares, avós, tios e primos por estarem presentes em minha vida. Em especial a meus Tios Luiz Antônio Gatto e Luiz Antônio Bianchi pelos conselhos em momentos fundamentais de minha vida.

A UNESP, minha casa, minha base profissional, a qual nunca vou esquecer dos momentos vividos em Botucatu.

Ao meu chefe Juliano Ribeiro, pela oportunidade do meu primeiro emprego.

A equipe CropSolutions, em especial ao Alex Rangel, Beatriz Queiroz e Adir Saggin por formarmos um time unido e contribuirmos para a agricultura de São Gabriel do Oeste e região.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Safeners são substâncias que atuam como protetores de injúrias causadas por herbicidas, como exemplo o mefenpyr-diethyl, cuja ação protetora se dá principalmente em cereais de inverno ao uso de herbicidas inibidores da Acetil Coenzima A carboxilase (ACCase) e Acetolactato sintetase (ALS). Seu mecanismo de ação está atrelado a enzimas que metabolizam herbicidas, ativado por processos fisiológicos e bioquímicos. Contudo, ainda não está claro todas as respostas da utilização de *safeners* em plantas. Assim, neste trabalho foi realizado um compilado de informações sobre *safeners*, trazendo uma revisão de literatura abordando os avanços e descobertas sobre a temática (Capítulo 1) e investigado os efeitos protetores da aplicação de mefenpyr-diethyl aos danos por herbicidas na cultura do milho, explorando seus efeitos secundários (Capítulos 2 e 3). Uma série de experimentos foram desenvolvidos para avaliar esses efeitos, realizados no Núcleo de Pesquisa avançada em Matologia (NUPAM). O primeiro experimento (capítulo 2) objetivou avaliar a ação protetora do mefenpyr-diethyl à aplicação de herbicidas inibidores da ACCase, em casa-de-vegetação, combinando o mefenpyr-diethyl (50 g ia ha⁻¹) com herbicidas, sendo: controle, mefenpyr-diethyl, mefenpyr-diethyl + fenoxaprop-p-ethyl (110 g ia ha⁻¹), mefenpyr-diethyl + haloxyfop-p-methyl (62,35 g ia ha⁻¹), mefenpyr-diethyl + clethodim (108 g ia ha⁻¹), mefenpyr-diethyl 5 dias antes da aplicação de fenoxaprop-p-ethyl (110 g ia ha⁻¹), mefenpyr-diethyl 5 dias antes da aplicação de haloxyfop-p-methyl (62,35 g ia ha⁻¹), e mefenpyr-diethyl 5 dias antes da aplicação de clethodim. Realizaram-se avaliações de fitotoxicidade, altura, massa seca, conteúdo total de lipídeos e acúmulo de parte aérea e de massa. Verificou-se que a aplicação de mefenpyr-diethyl não proporcionou proteção suficiente aos herbicidas inibidores de ACCase, entretanto o uso de mefenpyr-diethyl de maneira isolada levou a aspectos estimulantes para a planta de milho, com incremento de massa seca. Para investigar melhor este efeito secundário, foi realizado um segundo conjunto de estudos (Capítulo 3) através da curva dose-resposta, objetivando estabelecer a melhor dose estimulante e o estágio de aplicação, e posteriormente aplicando esses resultados as condições de campo. A primeira parte do experimento foi desenvolvido em casa-de-vegetação com 5 doses do produto: 0; 12,5; 25; 50 e 100 g ia ha⁻¹. O mefenpyr-diethyl foi aplicado em dois estádios fenológicos e o experimento repetido em duas épocas. Foram realizadas avaliações de crescimento diário de

altura, área foliar e o acúmulo de massa seca ao longo de 21 dias após a aplicação. A partir da seleção da melhor dose estimulante, foram validados os resultados à campo em relação ao desempenho da cultura, aos componentes produtivos e sistema fotossintético. Neste caso, o experimento continha a testemunha e 3 estádios de aplicação (tratamento de semente (TS), V4 e V6), com 4 repetições e realizados em duas safras. A melhor dose encontrada foi de 50 g ia ha⁻¹ quando aplicado no estádio V3 e V4, proporcionando além de maior altura e área foliar, um acúmulo de 2 e 1,3 vezes maior de massa seca em relação à testemunha, respectivamente. À campo, os estímulos foram evidentes na aplicação foliar em v4 e em TS, proporcionando respostas estimulantes na altura, área foliar e na massa seca. Além disso, houve resultados positivos para componentes produtivos com o uso de mefenpyr-diethyl.

Palavras-chave: efeito secundário; estímulo; *Zea mays*; seletividade.

ABSTRACT

Safeners are substances that act as protectors against injuries caused by herbicides, such as mefenpyr-diethyl, whose protective action occurs mainly in winter cereals when using herbicides that inhibit Acetyl Coenzyme A Carboxylase (ACCase) and Acetolactate synthetase (ALS). Its mechanism of action is linked to enzymes that metabolize herbicides, activated by physiological and biochemical processes. However, it is still not clear all the answers of the use of safeners in plants. Thus, in this work, a compilation of information about safeners was carried out, bringing a literature review addressing the advances and discoveries about the topic (Chapter 1) and investigating the protective effects of the mefenpyr-diethyl application to the damages by herbicides in maize, exploring its secondary effects (Chapters 2 and 3). A series of experiments were developed to evaluate these effects, carried out at the Nucleus for Advanced Research in Matology (NUPAM). The first experiment (Chapter 2) aimed to evaluate the protective action of mefenpyr-diethyl to the application of ACCase inhibitor herbicides, in a greenhouse, combining mefenpyr-diethyl (50 g ai ha⁻¹) with herbicides, as follows: control, mefenpyr-diethyl, mefenpyr-diethyl + fenoxaprop-p-ethyl (110 g ai ha⁻¹), mefenpyr-diethyl + haloxyfop-p-methyl (62.35 g ai ha⁻¹), mefenpyr-diethyl + clethodim (108 g ai ha⁻¹), mefenpyr-diethyl 5 days before application of fenoxaprop-p-ethyl (110 g ai ha⁻¹), mefenpyr-diethyl 5 days before application of haloxyfop-p-methyl (62.35 g ai ha⁻¹), and mefenpyr-diethyl 5 days before clethodim application. Phytotoxicity, height, dry mass, total lipid content and shoot and mass accumulation were carried out. It was found that the application of mefenpyr-diethyl did not provide sufficient protection to ACCase inhibitor herbicides, however the use of mefenpyr-diethyl alone led to stimulating aspects for the maize plant, with an increase in dry mass. To better investigate this secondary effect, a second set of studies was carried out (Chapter 3) through the dose-response curve, aiming to establish the best stimulant dose and the stage of application, and later applying these results to field conditions. The first part of the experiment was carried out in a greenhouse with 5 doses of the product: 0; 12.5; 25; 50 and 100 g ai ha⁻¹. Mefenpyr-diethyl was applied at two phenological stages and the experiment was repeated at two times. Daily growth assessments of height, leaf area and dry mass accumulation were carried out over 21 days after application. From the selection of the best stimulant dose, the results were validated in the field in relation to crop performance, productive

components and photosynthetic system. In this case, the experiment contained the control and 3 application stages (seed treatment (TS), V4 and V6), with 4 replications and carried out in two seasons. The best dose found was 50 g ai ha⁻¹ when applied at the V3 and V4 stages, providing, in addition to greater height and leaf area, an accumulation of 2 and 1.3 times greater dry mass in relation to the control, respectively. In the field, the stimuli were evident in the foliar application in v4 and in TS, providing stimulating responses in height, leaf area, and in the dry mass. In addition, there were positive results for productive components with the use of mefenpyr-diethyl.

Keywords: secondary effect; stimulation; *Zea mays*; selectivity.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	15
CAPÍTULO 1 - SAFENERS E SEUS USOS NA AGRICULTURA	17
1.1 INTRODUÇÃO	18
1.2 FORMAS DE APLICAÇÃO	19
1.3 SAFENERS UTILIZADOS NO BRASIL.....	20
1.4 MECANISMOS DE AÇÃO	21
1.4.1 Efeito do <i>safener</i> no sítio de ação do herbicida	22
1.4.2 Efeitos dos <i>safeners</i> na metabolização de herbicidas.....	22
1.4.3 Competição de <i>safeners</i> pelo sítio de ação do herbicida	24
1.4.4 Inibição de enzimas	24
1.5 EFEITOS SECUNDÁRIOS E OUTROS USOS DOS SAFENERS	25
1.5.1 <i>Safeners</i> como agentes de defesa contra estresse	25
1.5.2 Ação estimulante de <i>safeners</i>	26
1.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
REFERÊNCIAS	28
CAPÍTULO 2 - EFEITO DE MEFENPYR-DIETHYL COMO SAFENER E PROMOTOR DE CRESCIMENTO EM MILHO	33
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	36
2.2.1 Injúria de herbicida	37
2.2.2 Comprimento da parte aérea.....	38
2.2.3 Massa seca de parte aérea	38
2.2.4 Conteúdo total de lipídios	38
2.2.5 Acúmulo de parte aérea	38
2.2.6 Acúmulo de massa seca.....	39
2.2.7 Análise estatística.....	39
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	39
2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
REFERÊNCIAS	46
CAPÍTULO 3 - EFEITO ESTIMULANTE DE MEFENPYR-DIETHYL EM MILHO	49
3.1 INTRODUÇÃO	51
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	52

3.2.1	Experimento em casa-de-vegetação.....	52
3.2.2	Experimento à campo	53
3.2.3	Análise estatística	54
3.3	RESULTADOS.....	55
3.3.1	Experimento na casa-de-vegetação.....	55
3.3.2	Experimento à campo	59
3.4	DISCUSSÃO.....	67
3.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
	REFERÊNCIAS	69
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71
	REFERÊNCIAS	73
	APÊNDICE A – Aplicação de mefenpyr-diethyl em pulverizador automatizado em condições controladas.	74
	APÊNDICE B – Registro fotográfico aos 21 dias após aplicação do experimento de mefenpyr-diethyl como safener. A: 1ª época do experimento; B: 2ª época	75
	APÊNDICE C – Registro fotográfico aos 21 dias após aplicação do experimento de mefenpyr-diethyl como estimulante. A: 1ª repetição V2; B: 1ª repetição V3; C: 2ª repetição V3; D: 2ª repetição V4.....	76
	APÊNDICE D – Condições climáticas presentes na safra e safrinha do experimento à campo. A- temperatura; B- umidade e precipitação	77
	APÊNDICE E – Espigas de milho safra 19/20. A: testemunha; B: aplicação em V4; C: aplicação em V6; D: tratamento de sementes	78
	APÊNDICE F – Parâmetros da curva dos-resposta referentes a Figura 1 (Capítulo 2).....	79
	APÊNDICE G – Parâmetros da curva dos-resposta referentes a Figura 2 (Capítulo 2).....	80
	APÊNDICE H – Parâmetros da curva dose-resposta referentes a Figura 3 (Capítulo 2).....	81
	APÊNDICE I – Parâmetros da curva dose-resposta referentes a Figura 4 (Capítulo 2).....	82

INTRODUÇÃO GERAL

A busca por soluções no controle de plantas daninhas de maneira eficiente e sustentável tem exigido inovações de técnicas e manejos diferenciados envolvendo a aplicação de herbicidas, em especial os que apresentam elevada eficiência de controle das plantas daninhas, sem causar fitointoxicação às culturas (GALON et al., 2015). A exemplo disso, substâncias conhecidas como *Safeners*, inicialmente ganharam importância por atribuírem seletividade de plantas a herbicidas e, na maioria dos casos, sua ação específica, permitiu o posicionamento de herbicidas poucos seletivos, ampliando o manejo de plantas daninhas sem haver prejuízos a cultura de interesse.

As vantagens da utilização dos *safeners* englobam a possibilidade de elevar a rotação do ingrediente ativo, baseado no manejo sustentável, e permitem a proteção a herbicidas que controlam plantas daninhas morfológicamente semelhantes à cultura principal (HATZIOS; BURGOS, 2004).

A importância agronômica destes protetores tem fomentado pesquisas consideráveis e está sendo amplamente discutido no que diz respeito a seu modo de ação fisiológico e bioquímico (DAVIES et al., 1999; RIECHERS et al., 2010). Os trabalhos têm enfatizado a ação protetora de diferentes moléculas, seus mecanismos de ação e as consequências das aplicações nas plantas (DIAS et al., 2020; RIECHERS et al. 2010; ZHANG et al., 2020). Contudo, ainda há limitações sobre a abrangência da resposta em variadas culturas. Além disso, muito pouco se sabe sobre os efeitos secundários dos protetores, especificamente do mefenpyr-diethyl, revelando que ainda há uma lacuna no entendimento do papel desses produtos em plantas (BIANCHI et al., 2021).

Embora a ação protetora à herbicidas tenham sido enfatizada em publicações nas últimas décadas envolvendo os *safeners*, há diversas sugestões de respostas acima da proteção em plantas. A ação estimulante com aplicação de algum *safener* já foi observada para dichlormid na cultura do milho, com incrementos na parte aérea e radicular quando utilizado no tratamento de sementes (BUBNOV; SPIRIDONOV; KUZNETSOV, 2018), enquanto o uso de cloquintocet levou ao efeito promotor de crescimento em plântulas de trigo (CUMMINS et al., 2006).

As informações envolvendo a utilização de mefenpyr-diethyl para o efeito promotor também vem sendo destacados. Na cultura do trigo, Taylor et al (2013) observou o

incremento no comprimento da parte aérea, com uso deste produto e ainda, elevação de 20% de massa seca comparada a testemunha. Estudos recentes mostram que o efeito pode se estender a uma maior gama de culturas, mostrando efeitos de incremento em trigo e em soja. Neste último caso o aumento na matéria seca ocorreu em duas safras, apresentando 24 e 14% de incremento, respectivamente, comparando com o tratamento controle (BIANCHI et al., 2021)

Na tentativa de elucidar esta discussão, este trabalho irá abordar diferentes vertentes envolvendo o uso de *safeners* na agricultura, através de uma revisão sobre a temática (Capítulo 1), estudando especificamente a ação de mefenpyr-diethyl na cultura do milho (Capítulo 2), e trazendo informações inovadoras sobre sua resposta fisiológica e estimulante validadas à campo (Capítulo 3).

CAPÍTULO 1

SAFENERS E SEUS USOS NA AGRICULTURA

RESUMO

Os *safeners* ou protetores químicos são substâncias que podem ser utilizadas para aumentar a tolerância de culturas a herbicidas, sem prejudicar o controle de plantas daninhas. Estes produtos apresentam uma grande importância no manejo de plantas daninhas, permitindo maior rotação de ingredientes ativos através do aumento da flexibilidade na escolha dos herbicidas, a proteção de culturas morfologicamente semelhantes a espécie alvo para controle, além de aumentar as alternativas de manejo. Compreender suas modalidades de aplicação, bem como seus mecanismos de ação em plantas são fundamentais para o correto posicionamento destas moléculas. Embora sua principal importância esteja relacionada ao manejo de plantas daninhas, nos últimos anos, estudos tem demonstrado efeitos secundários com a utilização destes produtos, trazendo vantagens que vão além do efeito protetivo para a cultura de interesse, promovendo o crescimento de plantas e atuando como agentes de defesa contra estresse. Neste contexto, esta revisão irá abordar o cenário dos principais *safeners* presentes na agricultura, incluindo as diferentes vertentes envolvendo o uso de *safeners*, bem como sua aplicabilidade em efeitos secundários em plantas.

Palavras-chave: *safeners*; tolerância; efeito secundário.

ABSTRACT

Safeners or chemical protectors are substances whose can be used to increase the tolerance of crops to herbicides, without harming weed control. These products are important in weed management, allowing more rotation of active ingredients by increasing flexibility in the choice of herbicides, protecting crops morphologically similar to the target species for control, in addition to increasing management alternatives. To understand their application modalities, as well as their mechanisms of action in plants are fundamental for the correct positioning of these molecules. Although its main importance is related to weed management, currently studies have

shown secondary effects with the use of these products, bringing other advantages besides protective effect for the crop of interest, promoting plant growth and acting as agents defense against stress. Therefore, this review will address the scenario of the main safeners present in agriculture, including different aspects involving the use of safeners, as well as their applicability in secondary effects in plants.

Keywords: safeners; tolerance; secondary effects.

1.1 INTRODUÇÃO

Dentro do manejo integrado de plantas daninhas, o uso de herbicidas é indispensável para alcançar o controle eficaz das espécies. Contudo, nos últimos anos o registro de novos ativos está cada vez mais escasso. Isso atrelado a ocorrência de plantas daninhas resistentes a herbicidas, limita ainda mais as opções de manejo. Portanto, métodos que auxiliem na seletividade de culturas a herbicidas e sejam eficazes no controle, são alternativas que devem ser exploradas na agricultura.

Uma das maneiras de alcançar seletividade em culturas é através do uso de substâncias químicas que protegem contra o efeito tóxico causado por herbicidas. Essas substâncias são denominadas *safeners*, possuem alto grau de especificidade botânica e, em combinação com herbicidas, são capazes de controlar plantas daninhas sem causar injúrias ou danos na cultura. Vale a pena ressaltar que esses produtos previnem, mas não revertem danos de herbicidas (CATANEO, 2001; FERREIRA E CATANEO, 2002; GALON *et al.*, 2011)

Os *safeners* foram descobertos no final da década de 40 através da interação antagônica de 2,4-D após a exposição com 2,4,6-T em plantas de tomate (HOFFMAN, 1953). Em 1971 o anidrido naftálico proporcionou proteção contra o grupo dos tiocarbamatos na cultura do milho (DAVIES; CASELEY, 1999), sendo que 15 anos mais tarde foram lançados diversos outros *safeners*, como Mefenpyr-diethyl, fenclorim, flurazole, benoxacor, entre outros.

Por aumentar a flexibilidade na escolha do herbicida, os *safeners* são importantes ferramentas no manejo de plantas daninhas, trazendo diversos benefícios, como a rotação de ativos, a proteção de culturas morfologicamente semelhantes a estas espécies, além de aumentar as alternativas para culturas com poucas opções de manejos, como o caso do sorgo, onde s-metolachlor pode ser utilizado com segurança

através do uso de fluxofenim nas sementes (SILVA et al., 2014). Em cereais, diversos *safeners* protegem contra efeitos fitotóxicos de herbicidas inibidores de ACCase, proporcionando eficácia no controle das plantas daninhas pertencente à família Poacea.

O efeito que promove sua ação protetora é similar aos mecanismos de resistência de plantas daninhas a herbicidas (DÉLYE et al., 2013). Podendo atuar através da competição pelo sítio de ação, pela metabolização destes compostos ou por inibição enzimática (DAVIES; CASELEY 1999). A maioria dos protetores induzem a expressão de genes que codificam enzimas envolvidas na desintoxicação de herbicidas (RIECHERS; GREEN, 2017), como citocromo P450 monoxigenase (P450) ou a glutathione S-transferase (GST) (ALLA; HASSAN 2008).

Esclarecer seu posicionamento, sua forma de ação e suas perspectivas na agricultura é fundamental para compreender como suas características podem auxiliar no manejo de plantas daninhas. Outras linhas de estudo, como mitigação de estresse em plantas e agentes promotores de estímulos, vem sendo exploradas na literatura. Portanto essa revisão tem como objetivo expor os principais aspectos envolvendo *safeners* na agricultura.

1.2 FORMAS DE APLICAÇÃO

Os *safeners* podem ser aplicados de duas maneiras, no tratamento de sementes (TS) ou via pulverização aérea em pré ou pós-emergência (anteriormente à aplicação de herbicida ou em mistura) (HATZIOS; HOAGLAND, 1989; OLIVEIRA JR.; CONSTANTIN, 2001). Sua modalidade de aplicação depende de três fatores, tipo de *safener*, estágio fenológico da cultura e do levantamento fitossociológico de plantas daninhas. Esses fatores auxiliam na tomada de decisão do posicionamento do *safener*, de modo que a partir das espécies de plantas daninhas presentes na área de interesse, determina-se qual a melhor opção de herbicida para controlá-las. Posteriormente, o protetor é definido em função de sua seletividade, dependendo de sua atividade fisiológica, que pode ser ativada em sementes ou parte aérea, variando em função da cultura e do produto (GALON *et al.*, 2011)

O anidrido naftálico considerado o primeiro *safener* comercial, possui especificidade limitada. Quando aplicado em mistura com herbicidas do grupo dos tiocarbamatos pode reduzir o controle de plantas daninhas, sendo mais indicado seu uso em TS (DAVIES; CASELEY, 1999). Outro produto, muito comum em sementes

de arroz e algodão, o dietholate, é fundamental para a proteção contra clomazone (SANCHOTENE *et al.*, 2010; INOUE *et al.*, 2014). Uma série de outros safeners ainda podem ser posicionados nesta modalidade de aplicação, a exemplo de flurazole, benoxacor, fenclorim e dichlormid.

A aplicação via pulverização, geralmente é realizada em mistura com o herbicida. Os *safeners* são comercializados em embalagens separadas ou em misturas. Diversos ingredientes ativos se encaixam nesta classificação, como isoxadifen, Mefenpyr-diethyl, cloquintocete e benoxacor.

Vale ressaltar que a deposição dos *safeners* na aplicação em pré ou pós-emergência também ocorre nas plantas daninhas, podendo ativar complexos enzimáticos ou processos de proteção nestas espécies. Em *Alopecurus myosuroides*, uma planta daninha pertencente à família das Poaceae, problemática em cereais na Europa (MARÉCHAL *et al.*, 2011), já foi reportado ação protetora de mefenpyr-diethyl e fechlorazole-ethyl quando aplicados em parte aérea (CUMMINS, BRYANT, EDWARDS, 2009). Portanto, compreender os efeitos dos *safeners* em plantas daninhas também é fundamental para uma maior segurança no momento da aplicação.

1.3 SAFENERS UTILIZADOS NO BRASIL

No Brasil, os *safeners* são regulamentados como agrotóxicos, entretanto são classificados como produtos atípicos, mesma classificação de adjuvantes, óleo vegetal, espalhantes adesivos etc. Esses produtos dispensam alguns itens para seu registro, o que facilitam sua entrada no mercado (MAPA, 2021). A Tabela 1 demonstra os principais *safeners* presentes no mundo, suas recomendações e quais possuem registro no Brasil.

Tabela 1. Principais *safeners* descritos com ação protetora em função do ingrediente ativo do herbicida, da espécie, e sua forma de aplicação presente no mercado mundial de defensivos agrícolas.

Nome	Herbicida	Culturas indicadas	Forma de aplicação	Nome comercial	Registro - MAPA
dietholate	clomazone	Arroz; Algodão; Trigo	Tratamento de sementes	Permit / Permit Star	Sim
fluxofenim	s-metolachlor	Sorgo; Trigo	Tratamento de sementes	Benefic	Sim
anidrido naftálico	isoxaflutole; alachlor; fluazifop; atrazina	Milho; Feijão	Tratamento de sementes	-	-
flurazole	Cloroacetanilidas	Sorgo	Tratamento de sementes	-	-
mefenpyr-diethyl	Inibidores de ACCase e Sulfoniluréias	Cereais	Pós-emergência	-	-
fenclorim	pretilachlor; linurom	Arroz; Tomate	Pré-emergência	-	-
cloquintocet	clodinafop	Cereais; Milho	Pós-emergência	-	-
benoxacor	s-metholachlor	Milho; Arroz	Pós-emergência	-	-
isoxadifen	Inibidores de ACCase e Sulfoniluréias	Cereais	Pós-emergência	-	-

Porém, no mercado nacional, não existem muitos produtos comercializados como *safener*. Em pós-emergência não há nenhum produto comercializado isoladamente, sendo geralmente formulados com herbicidas ou aplicados no tratamento industrial de sementes. Algumas empresas comercializam sementes de trigo e sorgo tratadas com fluxofenim, o qual confere seletividade ao s-metolachlor (AGROFIT, 2021).

O produto Permit®, é atualmente o mais comercializado no Brasil, sendo considerado o único *safener* que possui uma formulação sem mistura com herbicida podendo ser utilizado nas sementes de algodão e arroz em sequeiro ou irrigado. Já o anidrido naftálico, apesar de não possuir uma formulação comercial, possui resultados positivos para seletividade de milho na aplicação de isoxaflutole (MACIEL *et al.*, 2012), de feijão contra fomesafem + fluazifop, alachlor e atrazine em milho (ALLA; HASSAN, 2020; KRENCHINSKI *et al.*, 2019).

1.4 MECANISMOS DE AÇÃO

Com o avanço de novas técnicas e metodologias, foi possível expandir os conhecimentos de como os *safeners* atuam bioquimicamente nas plantas. Abu-Qare, Ducan (2002) citam 3 mecanismos de ação dos *safeners*, efeito na absorção e translocação dos herbicidas, metabolização e competição pelo sítio de ação. Contudo

todos os estudos que demonstram efeito na absorção e translocação estão atrelados a metabolização de herbicidas (DAVIES *et al.*, 1998; JABLONKAI, DUTKA, 1995), dificultando a compreensão deste mecanismo. Portanto dentro da literatura ainda não há um consenso sobre a classificação dos mecanismos de ação, mas de maneira geral são encontrados quatro principais: efeito de *safeners* no sítio de ação do herbicida; o efeito na metabolização de herbicidas; a competição pelo sítio de ação e inibição de enzimas.

1.4.1 Efeito do *safener* no sítio de ação do herbicida

Uma das formas dos *safeners* atuarem nas plantas é através do aumento da atividade da enzima/proteína alvo. Basicamente a quantidade de herbicida na planta não é suficiente para inibir ou bloquear a alta demanda de enzimas produzidas. Embora esse efeito seja pouco explorado na literatura, o uso de dichlormid em milho proporcionou aumento na atividade da acetolactato sintase (ALS) em tecidos de folha e raiz. Efeito semelhante foi observado através do uso de anidrido naftálico e ocabetrinim em sorgo e milho (RUBIM; CASIDA, 1985; BARRET, 1989).

1.4.2 Efeitos dos *safeners* na metabolização de herbicidas

Considerado o principal mecanismo de ação dos protetores, a metabolização de herbicidas é dividida em quatro fases. Entretanto para os *safeners* a etapa deposição do metabólito final não está presente, portanto, existem apenas a participação em três etapas (YUAN *et al.*, 2007): i) conversão ou degradação de herbicidas; ii) conjugação e, iii) conversão secundária/transporte para o vacúolo.

A primeira fase é caracterizada por ocorrer reações de hidrólise, oxigenação, redução ou oxidação, sendo esta última a mais frequente neste processo, através de desalquilação, hidroxilação ou sulfoxidação (HATZIO, 1991).

Classificada como uma hemo-proteína, a citocromo P450 monoxigenase é um complexo enzimático que se caracteriza como as principais enzimas presente nessa fase. Associada ao retículo endoplasmático liso é responsável por catalisar reações de oxidação e redução de compostos xenobióticos. A maneira pela qual as enzimas P450 inibem a ação dos herbicidas ocorre através da inserção de um átomo de oxigênio em moléculas hidrofóbicas, transformando-as em moléculas solúveis em água e, portanto, facilitando sua degradação. *Safeners* como anidrido naftálico e

Mefenpyr-diethyl aumentam a atividade desta enzima (PERSANS *et al.*, 1995; ZONGJUN *et al.*, 2005).

Outra enzima presente nesta fase é a aryl acylamidase, responsável pela hidrólise de herbicidas (POWLES; SHANER, 2001). Em arroz essa enzima degrada o herbicida propanil em compostos não tóxicos, como 3,4-dichloroanilina e ácido propiônico (FREAR; STILL 1968), porém ainda não foi relatado nenhum *safener* que aumente a atividade desta enzima.

A segunda fase é caracterizada pela conjugação, um processo onde as moléculas de herbicidas ou seus metabólitos interagem com um substrato, formando substâncias mais complexas sem a capacidade de causarem intoxicação em plantas. Nesta fase, os substratos mais comuns são a glicose, aminoácidos ou a glutathione, os quais são catalisados principalmente por duas enzimas, a glutathione-S-transferase (GST) ou glicosiltransferases (GTs) (YUAN *et al.*, 2007; READE *et al.*, 2004).

O principal substrato utilizado é a glutathione (GSH), responsável pela conjugação de herbicidas dos grupos das sulfoniluréias, imidazolinonas, aryloxyphenoxypropionatos, triazinas e chlorocetanilinas (ABU-QARE; DUNCAN, 2002; HATZIOS; BURGOS, 2004; BRAZIER-HICKS *et al.*, 2008). A conjugação da GSH é catalisada pela enzima GST, a qual atua na proteção contra radicais livres e evita danos oxidativos (DIXON, LAPTHORN, EDWARDS, 2002), sendo induzidas por estresses abióticos e bióticos, como temperaturas elevadas, estresse osmótico, espécies reativas de oxigênio (EROs), bem como por aplicação de *safeners*.

Existem múltiplas formas de GSTs, denominadas isoenzimas, e estão presentes em todo tipo de tecido das plantas (MCGONIGLE *et al.*, 2000). Alguns *safeners* tem a função de aumentar sua atividade, entretanto geralmente são específicos a uma isoenzima, por isso muitas vezes um *safener* deixa uma cultura seletiva a um herbicida ao invés de várias (HATZIOS; BURGOS 2004). *Safeners* como flurazone, dichlormid, benoxacor, fenclorim e anidrido naftálico aumentam a atividade de GST e consequentemente a conjugação de herbicidas pela GSH, tornando os metabólitos mais polares e incapazes de se difundirem através de compartimentos celulares ou translocarem pelo simplasto.

Em alguns casos o metabolismo oxidativo de herbicidas podem ser submetidos à rápida conjugação por glicose. Embora não seja comum para *safeners*, as GTs podem metabolizar os herbicidas por reação de glicosilação entre um açúcar e um aceptor (LAMOUREUX; RUSNESS, 1991; GLOSTER, 2014).

Na terceira fase os conjugados decorrentes da fase II são removidos do citoplasma e transportados para locais onde esses metabólitos permaneçam inativos. Essa etapa é importante porque, a conjugação de alguns herbicidas na fase II pode não alcançar a desintoxicação completa (VAN BLADEREN, 2000). Dessa forma, por meio de transportadores ABC (ATP-binding cassette) os metabólitos da fase II são transportados para outras organelas, onde eventualmente pode ocorrer conjugações secundárias (YUAN *et al.*, 2007, HATZIOS, 1991).

Estes transportadores estão localizados na maioria das membranas da célula vegetal, como a membrana plasmática, o tonoplasto, os cloroplastos, as mitocôndrias e os peroxissomos. Além de atuarem na desintoxicação de herbicidas, cumprem uma infinidade de funções, como crescimento de órgãos, nutrição de plantas, desenvolvimento de plantas, resposta a estresses abióticos, resistência a patógenos e interação da planta com seu ambiente (KANG, 2011).

Embora nenhum estudo correlacione diretamente o uso de safeners a este mecanismo na inativação de herbicidas, a atividade do gene ZmMRP1, responsável por codificar os transportadores ABC, foi aumentada após a aplicação de dichlormid em milho (PANG *et al.*, 2012). Deste modo ainda há uma grande lacuna na elucidação do processo molecular que envolve esta ação e proteção.

1.4.3 Competição de safeners pelo sítio de ação do herbicida

A semelhança estrutural entre herbicidas e *safeners* levaram a sugestões de que os protetores competem por sítio de ação de herbicidas. Estudos que comprovem esse mecanismo são incipientes, contudo, relações de antagonismo foram relatadas após aplicação de dichlormid e EPTC, por conta de sua similaridade físico-química (STEPHENSON; CHANG, 1978).

1.4.4 Inibição de enzimas

Ao contrário da maioria dos *safeners*, algumas moléculas ao invés de estimular a produção de enzimas para metabolizar herbicidas, podem inibir sua produção. Isso ocorre em pró-herbicidas, os quais são ativados a partir de sua degradação.

Clomazone é classificado como um pró-herbicida, não possuindo efeito se não houver sua degradação. A ativação desta molécula ocorre pela degradação à 5-keto-clomazone através do citocromo P450 monoxigenase. Estudos demonstram que o uso de dietholate em arroz e algodão proporciona efeito protetor contra clomazone

(INOUE et al., 2014; SANCHOTENE et al., 2010). Embora na literatura não haja evidências de que dietholate inibe a enzima citocromo P450, acredita-se que seu mecanismo de ação seja semelhante ao encontrado com a aplicação de Phorate e outros inibidores de P450 como relatado por Ferhatoglu *et al.* (2005).

1.5 EFEITOS SECUNDÁRIOS E OUTROS USOS DOS SAFENERS

1.5.1 Safeners como agentes de defesa contra estresse

Estresses biótico e abióticos, como aqueles causados por insetos, fungos, hormônios, metais pesados, deficiência hídrica, entre outros, podem ser moduladores para codificar genes de defesa em plantas (STICHER *et al.*, 1997; DURRANT *et al.*, 2004). Devido a ampla natureza desses moduladores, parece provável que estas respostas podem ser induzidas pelos *safeners*, tendo em vista sua capacidade de atuar na defesa de xenobióticos.

Embora a maioria das informações estejam relacionadas a atividade de enzimas desintoxicantes a herbicidas, pesquisas demonstram que os *safeners* podem utilizar vias de sinalização medidas por oxilipinas ou ciclopentenonas, responsáveis por promover a expressão de GSTs e outras proteínas relacionadas a metabolização e defesa em plantas (MOSBLECH *et al.*, 2009; WEBER, 2002; LOEFFLER *et al.*, 2005; MUELLER *et al.*, 2008; MUELLER; BERGER, 2009).

Oxilipinas são produtos de oxidação de ácido graxos e agentes de sinalização, que tem como papel o desenvolvimento e crescimento de plantas e indução de repostas ao estresse (SAVCHENKO *et al.*, 2014). Geralmente estão relacionadas a resultados de infecção por patógenos, ferimentos e herbivoria por insetos (MUELLER; BERGER, 2009). Recentemente a oxilipina já demonstrou induzir a expressão de GST em plantas de arroz, entretanto não conferiu proteção contra a intoxicação do herbicida pretilachlor; mas a resposta indicou que esse composto pode ser realmente via de sinalização para a metabolização de herbicidas (BRAZIER-HICKS *et al.*, 2018).

De maneira semelhante, as ciclopentanonas são formadas no cloroplasto a partir do 13-hidroperóxido-octadecatrienóico (13-HPOT), substância comumente encontrada em plantas, produzida a partir do ácido linolênico (ESTELL *et al.*, 2020). A 13-HPOT é convertida em ácido oxo-fitodienoico (OPDA), catalisada pela aleno óxido sintase (AOS). O OPDA deixa o cloroplasto e atua como sinalizador no citosol ou podem se converterem a oxo-pentenil-ciclopentanonas (OPC), o qual entrar no peroxissomo e produz

ácido jasmônico. A partir de uma metilação esse hormônio forma o metil jasmonato, que também pode atuar como molécula sinalizadoras de defesa nas plantas (FARMER; RYAN, 1992; WEBER, 2002).

1.5.2 Ação estimulante de safeners

Atualmente os *safeners* além de sua atividade protetora contra ação de herbicidas, estão sendo associados a ações estimulantes em plantas. Devido a sua ação fisiológica, alguns produtos podem atuar no metabolismo secundário, na síntese de lipídeos, hormônios e esteróis (SIMINSZKY, 2006; POWLES; YU, 2010), que são discutidos por estarem ligados a respostas estimulantes.

Embora essa linha de estudo ainda seja inicial, alguns resultados consistentes já foram reportados. Em trigo já foi observado aumento no comprimento da parte aérea, com incremento de 20% de massa seca, bem como aumento no conteúdo total de lipídeos, após a aplicação de mefenpyr-diethyl (TAYLOR *et al.*, 2013; CATANEO *et al.*, 2013). Já dichlormid na cultura do milho apresentou efeito estimulante para parte aérea e radicular quando utilizado no tratamento de sementes (BUBNOV; SPIRIDONOV; KUZNETSOV, 2018).

Além de alterar a capacidade de metabolizar herbicidas e outros xenobióticos, cloquintocet causou mudança seletiva no metabolismo fenólicos e efeito promotor de crescimento em plântulas de trigo (CUMMINS *et al.*, 2006). Pesquisas realizadas em nosso grupo de estudo, determinaram através de experimento de curva dose-resposta de mefenpyr-diethyl em milho, acréscimo de até 80% de massa seca quando aplicado em estágio V4.

Essas diretrizes são recentes na literatura, entretanto fica evidente que há uma nova abordagem para esses produtos. Portanto, novas pesquisas são necessárias para reforçar a capacidade estimulante dos *safeners* e estudos mais aprofundados devem ser realizados para elucidar informações a respeito de suas respostas em plantas, além de entender se estes efeitos são apenas semelhantes aos mecanismos de estímulos já conhecidos, ou se há outras vias de sinalizações e mecanismos relacionados a isso.

1.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os safeners são considerados uma ferramenta dentro do manejo integrado de plantas daninhas. Aspectos como redução ou eliminação de fitotoxicidade de herbicidas em culturas, aumento do período de aplicação de um herbicida e inserção de herbicidas não seletivos no manejo, permitem maior rotação dos ativos. Entretanto, quando usados em pós ou pré-emergência deve-se ter cautela, pois podem interferir no controle de plantas daninhas.

Novos estudos necessitam ser realizados a fim de aumentar as informações sobre tecnologia de aplicação e desenvolvimento de formulações, elucidando as vias envolvidas em sua resposta e maximizando sua visibilidade no mercado. Além disso, há indícios de que essas moléculas não possuem apenas papel de proteção nas culturas, mas também são ativadores fisiológicos, capazes de expressar genes que aumentam a produção de enzimas e proteínas, que possivelmente atuam na proteção contra outros agentes estressantes, ou ainda auxiliam no desenvolvimento das plantas, através de ação estimulante.

REFERÊNCIAS

ABU-QARE, A. W.; DUNCAN, H. J. Herbicide safeners: uses, limitations, metabolism, and mechanisms of action. **Chemosphere**, New York, v. 48, n. 9, p. 965-974, 2002.

AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **Bula Completa Dual Gold**. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 06 jun. 2021.

ALLA, M. M. N.; HASSAN, N. M. Naphthalic anhydride decreases persistence of alachlor and atrazine and elevates tolerance of maize. **Heliyon**, London, v. 6, n. 10, p. 1-8, 2020.

ALLA, M. M. N.; HASSAN, N. M. Recognition, Implication and Management of Plant Resistance to Herbicides. **Am J of Plant Physiol**, v. 3, n. 2, p. 50-66, 2008.

BARRETT M. Protection of grass crops from sulfonylurea and imidazolinone toxicity. *In*: HATZIOS K. K.; HOAGLAND R.E., **Crop Safeners for Herbicides** San Diego: Academic Press, 1989. P. 195-220.

BRAZIER-HICKS, M. et al. Catabolism of glutathione conjugates in *Arabidopsis thaliana*: role in metabolic reactivation of the herbicide safener fenclorim. **J Biol Chem**, Baltimore, v. 283, n. 30, p. 21102-21112, 2008.

BRAZIER-HICKS, M., et al. Testing a chemical series inspired by plant stress oxylipin signaling agents for herbicide safening activity. **Pest Manag Sci**, West Sussex, n. 4, v. 74, p. 828–836, 2018.

BUBNOV, Y. N.; SPIRIDONOV, Y. Y.; KUZNETSOV, N. Yu. New growth regulators of corn based on N-mono-and N, N-bis-3-butenyldichloroacetamides. **Russ Chem Bull**, v. 67, n. 2, p. 345-358, 2018.

CATANEO, A. C. et al. Mefenpyr-diethyl action on fenoxaprop-p-ethyl detoxification in wheat varieties. **Planta Daninha**, Viçosa, n. 2, v. 31, p. 387-393, 2013.

CATANEO, A.C. **Estudos fisiológicos e bioquímicos da ação do mefenpyr-diethyl na desintoxicação do herbicida fenoxaprop-pethyl em cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 2001. 88p. Tese (Livre Docência em Ciências Biológicas/Área de Bioquímica). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2001.

CUMMINS, I.; BRYANT, D. N.; EDWARDS, R. Safener responsiveness and multiple herbicide resistance in the weed black-grass (*Alopecurus myosuroides*). **Plant Biotechnol J**, v. 7, n. 8, p. 807-820, 2009.

CUMMINS, I. et al. Selective disruption of wheat secondary metabolism by herbicide safeners. **Phytochemistry**, Oxford, n. 16, v. 67, p. 1722-1730, 2006

DAVIES, J.; CASELEY, J. C. Herbicide safeners: a review. **Pestic Sci**, London, v. 55, n. 11, p. 1043-1058, 1999.

DAVIES, J. et al. Mode of action of naphthalic anhydride as a safener for the herbicide AC 263222 in maize. **Pesticide science**, v. 52, n. 1, p. 29-38, 1998.

DÉLYE, C.; JASIENIUK, M.; LE CORRE, V. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. **Trends in Genetics**, v. 29, n. 11, p. 649-658, 2013.

DIAS, R. C. e t al. Efeito do selênio como protetor químico na seletividade inicial de herbicidas aplicados em pós emergência de *Urochloa decumbens*. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Viçosa, v. 19, n. 2, p. 710-1-11, 2020.

DIAS, R. et al. Ácido salicílico e acibenzolar-S-methyl como atenuadores de fitointoxicação causada pelo chlorimuron-ethyl na cultura da soja. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 42, n. 2, p. 430-439, 2019.

DIXON, D. P.; LAPTHORN, A.; EDWARDS, R. Plant glutathione transferases. **Genome Biol**, London, v. 3, n.3, p. 1-10, 2002.

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 42, p. 185-209, 2004.

ESTELLE, D. et al. Linolenic fatty acid hydroperoxide acts as biocide on plant pathogenic bacteria: Biophysical investigation of the mode of action. **Bioorg Chem**, Amsterdam v. 100, p. 103877, 2020.

FARMER, E. E.; RYAN, C. A. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound – inducible proteinase inhibitor. **Plant Cell**, Rockville, v. 4, p. 129-134, 1992.

FERHATOGLU, Y.; AVDIUSHKO, S.; BARRETT, M. The basis for the safening of clomazone by phorate insecticide in cotton and inhibitors of cytochrome P450s. **Pestic Biochem Physiol**, New York, v. 81, n. 1, p. 59-70, 2005.

FERREIRA, L. C.; CATANEO, A. C. **Aspectos bioquímicos da ação “de safeners”**. Boletim informativo da SBCPD. São Paulo: SBCPD, v.8, n.2, p.5-6, 2001.

FREAR, D. S.; STILL, G. G. The metabolism of 3,4-dichloropropionanilide in plants. Partial purification and properties of an aryl acylamidase from rice. **Phytochemistry**, Oxford, v. 7, n. 6 p.913–920, 1968.

GALON, L et al. Seletividade de herbicidas às culturas pelo uso de protetores químicos. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Londrina, v. 10, n. 3, p. 291-304, 2011.

GLOSTER, T. M. Advances in understanding glycosyltransferases from a structural perspective. **Current Opinion in Structural Biology**, London, v. 28, n. 1, p. 131-141, 2014.

HATZIOS, K. K.; BURGOS, N. Metabolism-based herbicide resistance: regulation by safeners. **Weed Sci**, Champaign, v. 52, n. 3, p. 454-467, 2004.

HATZIOS K. K. Biotransformations of herbicides in higher plants. *In*: GROVER, R.; CESSANA, A. J. **Environmental Chemistry of Herbicides Vol II**. Boca Raton: CRC Press, 1991. P. 142-184.

HATZIOS, K. K.; HOAGLAND, R. E. Crop safeners for herbicides: Development, uses, and metabolisms of action. **Academic Press**: San Diego, 1989, 404p.

HOFFMANN, O. L. Inhibition of auxin effects by 2, 4, 6-trichlorophenoxyacetic acid. **Plant physiology**, Iowa, v. 28, n. 4, p. 622, 1953.

INOUE, M. H. et al. Seletividade do clomazone em sementes de algodão tratadas com dietholate e acetato de zinco. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 2905-2917, 2014.

JABLONKAI, I.; DUTKA, F. Uptake, translocation, and metabolism of MG-191 safener in corn (*Zea mays* L.). **Weed Sci**, Champaign, v. 43, n. 2, p. 169-174, 1995.

KANG, J. et al. Plant ABC transporters. **The Arabidopsis book**, Rockville, v. 9, p. 1-25, 2011.

KRENCHINSKI, F. H. et al. Naphthalic anhydride increases tolerance of common bean to herbicides. **J Plant Prot Res**, Poznań, p. 383-391-383-391, 2019.

LAMOUREUX, G. L.; RUSNESS, D. G. The effect of BAS-145138, safener on chlorimuron ethyl metabolism and toxicity in corn. **Z Naturforsch C J Biosci**, Tübingen, v.46, n.8, p.882-886, 1991.

LOEFFLER C. et al. B1-phytoprostanes trigger plant defense and detoxification responses. **Plant Physiol**, Iowa, v. 137, n. 1, p. 328–340, 2005.

MACIEL, C. D. G. et al. Corn seed treatment with naphthalic anhydride against isoxaflutole phytotoxication action. **J Food Agric Environ**, Helsinki, v. 10, n. 1 part 2, p. 612-616, 2012.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Manual de **Procedimentos para Registro de Agrotóxicos**. Brasília/DF, 2012. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/arquivos/manual-de-procedimentos-para-registro-de-agrotoxicos.pdf>. Acesso em: 06 jun. 2021.

MARÉCHAL, P. et al. Ecological review of black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) propagation abilities in relationship with herbicide resistance. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, v. 16, n. 1, 2012.

MCGONIGLE, B. et al. A genomics approach to the comprehensive analysis of the glutathione S-transferase gene family in soybean and maize. **Plant Physiology**, Iowa, v. 124, n. 3, p. 1105-1120, 2000.

MOSBLECH A.; FEUSSNER I.; HEILMANN I. Oxylipins: structurally diverse metabolites from fatty acid oxidation. **Plant Physiol Biochem**, Paris, v. 47, n. 6, p. 511–517, 2009.

MUELLER M. J.; BERGER S. Reactive electrophilic oxylipins: pattern recognition and signaling. **Phytochemistry**, Oxford, n. 13-14, v. 70, p. 1511–1521, 2009.

MUELLER S. et al. General detoxification and stress responses are mediated by oxidized lipids through TGA transcription factors in Arabidopsis. **Plant Cell**, Rockville, n. 3, v. 20, p. 768–785, 2008.

OLIVEIRA JR, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas Daninhas e seu Manejo**. Guaíba: Editora Agropecuária, 2001. 362p.

PANG, S. et al. Co-induction of a glutathione-S-transferase, a glutathione transporter and an ABC transporter in maize by xenobiotics. **PloS one**, San Francisco, v. 7, n. 7, p. 1-5, 2012.

PERSANS, M. W.; SCHULER, M. A. Differential induction of cytochrome P450-mediated triasulfuron metabolism by naphthalic anhydride and triasulfuron. **Plant physiology**, Iowa, v. 109, n. 4, p. 1483-1490, 1995.

POWLES, S. B.; SHANER, D. L. **Herbicide resistance and world grains**. 1. Ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 301p.

POWLES, S.B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annu Rev Plant Biol**, Palo Alto, v. 61, p. 317-347, 2010.

READE, J. P. H.; MILNER, L. J.; COBB, A. H. A role for glutathione S-transferases in resistance to herbicides in grasses. **Weed Sci**, Champaign, v. 52, n. 3, p. 468-474, 2004.

RIECHERS D. E.; GREEN M. G. Crop Selectivity and Herbicide Safeners: Historical Perspectives and Development, Safener-Regulated Gene Expression, Signaling, and New Research Directions. *In*: JUGULAM, M. **Biology, Physiology and Molecular Biology of Weeds**. Boca Raton: CRC Press, 2017. P 123-143.

RIECHERS, D. E.; KREUZ, κ.; ZHANG, Q. Detoxification without intoxication: herbicide safeners activate plant defense gene expression. **Plant Physiology**, Iowa, v. 153, n. 1, p. 3-13, 2010.

RUBIN B.; CASIDA J. E. R-25788 effects on chlorsulfuron injury and acetohydroxy acid synthase activity. **Weed Sci**, Champaign, v. 33, n. 4, p.462-468, 1985.

SANCHOTENE, D. M. et al. Phorate and dietholate act as safeners for rice against clomazone at high doses. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 4, p. 909-912, 2010.

SAVCHENKO, T. V.; ZASTRIJNAJA, O. M.; KLIMOV, V. V. Oxylipins and plant abiotic stress resistance. **Biochemistry**, Moscow, v. 79, n. 4, p. 362-375, 2014.

- SIMINSZKY, B. Plant cytochrome P450-mediated herbicide metabolism. **Phytochemistry Reviews**, Dordrecht, v. 5, n. 2, p. 445-458, 2006.
- SILVA, J. R. V. et al. Fluxofenim used as a safener on sorghum seed for S-metolachlor herbicide. **Bioscience journal**, v. 30, p. 158-167, 2014.
- STEPHENSON, G. R.; CHANG F. Y. Comparative activity and selectivity of herbicide antidotes. *In*: PALLOS F. M.; CASIDA J. E. **Chemistry and Action of Herbicide Antidotes**, New York: Academic Press, 1978. P. 35-61.
- STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annu Rev Phytopathol**, v. 35, n. 1, p. 235-270, 1997.
- TAYLOR, V. L. et al. Protective responses induced by herbicide safeners in wheat. **Environ Exp Bot**, New York, Elmsford, v. 88, p. 93-99. 2013.
- VAN BLADEREN, P. J. Glutathione conjugation as a bioactivation reaction. **Chemico-biological interactions**, Amsterdam, n. 1-2, v. 129, n. 1-2, p. 61-76, 2000.
- WEBER H. Fatty-acid derived signals in plants. **Trends Plant Sci**, Kidlington, v. 7, p. 217–224, 2002.
- YUAN, J. S.; TRANEL, P. J.; NEAL, S. J. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 6-13, 2007.
- ZHANG, Y. Y. et al. Design, synthesis, and biological activity of novel diazabicyclo derivatives as safeners. **J Agric Food Chem**, Washington, v. 68, n. 11, p. 3403-3414, 2020.
- ZONGJUN, G. et al. Studies on the induction of wheat cytochrome P450 by mefenpyr—diethyl and the spectrum characteristics. **Plant Protection**, Victoria, v. 31, n. 4, p. 40-44, 2005.

CAPÍTULO 2

EFEITO DE MEFENPYR-DIETHYL COMO *SAFENER* E PROMOTOR DE CRESCIMENTO EM MILHO

Leandro Bianchi; Samara Moreira Perissato; Roque de Carvalho Dias; Vitor Muller Anunciato; Leandro Tropaldi; Diego Munhoz Gomes; Raphael Mereb Negrisoni; Caio Antonio Carbonari; Edivaldo Domingues Velini

RESUMO

Muito comum em cultura de cereais, tais como trigo e cevada, o *safener* mefenpyr-diethyl pode ser usado como protetor da ação dos herbicidas fenoxaprop-p-ethyl, um inibidor da acetil Coenzima-A carboxilase. Por atuar em diversas rotas enzimáticas e compostos fisiológicos, acredita-se também que essa molécula seja capaz de estimular o crescimento de plantas. Na cultura do milho, este efeito ainda não foi muito explorado. Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar a resposta protetora de mefenpyr-diethyl em relação aos efeitos dos herbicidas fenoxaprop-p-ethyl, haloxyfop-p-methyl e clethodim em milho, assim como investigar seus efeitos secundários. O experimento foi realizado em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, composto por 5 repetições e realizado em duas épocas. Os tratamentos utilizados foram combinações do mefenpyr-diethyl (50 g ia ha⁻¹) com herbicidas, aplicados quando o milho se apresentava em estágio V4, sendo: controle, mefenpyr-diethyl, mefenpyr-diethyl + fenoxaprop-p-ethyl (110 g ia ha⁻¹), mefenpyr-diethyl + haloxyfop-p-methyl (62,35 g ia ha⁻¹), mefenpyr-diethyl + clethodim (108 g ia ha⁻¹), mefenpyr-diethyl 5 dias antes da aplicação de fenoxaprop-p-ethyl (110 g ia ha⁻¹), mefenpyr-diethyl 5 dias antes da aplicação de haloxyfop-p-methyl (62,35 g ia ha⁻¹), e mefenpyr-diethyl 5 dias antes da aplicação de clethodim. Aos 7, 14 e 21 dias após aplicação foram avaliadas fitotoxicidade da cultura, altura, massa seca, e ao final do experimento avaliado o conteúdo total de lipídios e calculado o acúmulo de massa e de altura da parte aérea. Os dados foram submetidos a análise de variância e, quando significativo, as médias foram comparadas pelo teste t de Student ($p \leq 0.05$). Verificou-se que a aplicação de mefenpyr-diethyl não proporcionou proteção suficiente aos herbicidas inibidores de ACCase, entretanto seu uso de maneira isolada levou a aspectos estimulantes para a planta de milho. Este efeito ocorreu nas duas épocas avaliadas

sendo 41,6% superior em relação a altura e acumulou mais de 50% de massa seca na primeira época avaliada.

Palavras-chave: protetor; estímulo; inibidores da ACCase; *Zea mays*.

ABSTRACT

Very common in cereal crops, such as wheat and barley, the safener mefenpyr-diethyl can be used to protect the action of the herbicides fenoxaprop-p-ethyl, an inhibitor of acetyl Coenzyme-A carboxylase. By acting in several enzymatic routes and physiological compounds, it is also believed that this molecule is capable of stimulating plant growth. In maize, this effect has not yet been much explored. Therefore, the aim of the study was to evaluate the protective response of mefenpyr-diethyl in relation to the effects of the herbicides fenoxaprop-p-ethyl, haloxyfop-p-methyl and clethodim in maize, as well as to investigate their secondary effects. The experiment was carried out in a greenhouse, in a completely randomized design, consisting of 5 replications and repeated in two seasons. The treatments were combinations of mefenpyr-diethyl (50 g ai ha⁻¹) with herbicides, applied when the maize was in the V4 stage, as follows: control, mefenpyr-diethyl, mefenpyr-diethyl + fenoxaprop-p-ethyl (110 g ai ha⁻¹), mefenpyr-diethyl + haloxyfop-p-methyl (62.35 g ai ha⁻¹), mefenpyr-diethyl + clethodim (108 g ai ha⁻¹), mefenpyr-diethyl 5 days before application of fenoxaprop -p-ethyl (110 g ai ha⁻¹), mefenpyr-diethyl 5 days before application of haloxyfop-p-methyl (62.35 g ai ha⁻¹), and mefenpyr-diethyl 5 days before application of clethodim. At 7, 14 and 21 days after application, the phytotoxicity of the crop, height, dry mass were evaluated, and at the end of the experiment, the total lipid content was evaluated and the accumulation of mass and shoot length was calculated. Data were submitted to analysis of variance and, when significant, the means were compared using Student's t test ($p \leq 0.05$). It was found that the application of mefenpyr-diethyl did not provide sufficient protection to ACCase inhibitor herbicides, however its use alone led to stimulating aspects for the corn plant. This effect occurred in the two evaluated periods, being 41.6% higher in relation to height and accumulated more than 50% of dry mass in the first evaluated period.

Keywords: protector; stimulus; ACCase inhibitors; *Zea mays*.

2.1 INTRODUÇÃO

Classificado como *safener* de herbicidas, mefenpyr-diethyl é uma molécula pertencente ao grupo químico das pirazolinas que atenua os efeitos fitotóxicos de herbicidas inibidores de Acetyl-CoA carboxylase - ACCase (fenoxaprop) e Acetolactate synthase - ALS (iodosulfuron e mesosulfuron-methyl), principalmente em cereais de inverno como triticale, cevada, aveia e trigo (DERYCKE, HAESAERT, LATRÉ, 2013; SCALLA, ROULET, 2002).

Plantas daninhas pertencente à família Poaceae, principalmente aquelas com resistência a glyphosate, são consideradas as mais problemáticas em diversos cultivos agrícolas. De maneira geral, os herbicidas inibidores da ACCase apresentam alta eficácia no manejo destas plantas, em especial no controle de capim-amargoso (BARROSO, ALBRECHT, REIS, 2014), entretanto não são seletivos para o milho.

A ação protetora dos *safeners* pode ocorrer por diversos fatores, como aumento da atividade de enzima/proteica, inibição enzimática, ou metabolização de ativos (RUBIN, CASIDA, 1985; HATZIOS, BURGOS, 2004). Sua alta especificidade botânica, pode ativar enzimas específicas, como a citocromo P450 monooxigenase (P450), glutathione S-transferase (GST) ou glicosiltransferase (GT) (SIMINSZKY, 2006; READE, MILNER, COBB, 2004; YUAN, TRANEL, NEAL, 2007), podendo conferir seletividade para plantas. Estudos já demonstraram ação protetora de Mefenpyr-diethyl em cereais de inverno após aplicação de fenoxaprop (HACKER *et al.*, 2000).

Além do efeito protetor, por apresentar capacidade de aumentar a atividade de diversas enzimas e aturem no metabolismo bioquímico das plantas, pesquisas atuais estão abordando *safeners* como ativadores fisiológicos, podendo interferir tanto na defesa das plantas contra outros tipos de estresses (DEL BUONO *et al.*, 2020), e estimular o desenvolvimento (CUMMINS *et al.*, 2006).

Embora essa linha de estudo ainda seja incipiente, alguns resultados consistentes já foram reportados. Em trigo já foi observado aumento no comprimento da parte aérea e incremento de massa seca após a aplicação de mefenpyr-diethyl.^[12] Outros estudos mostram que além do aumento no número de perfilhos em trigo, o mefenpyr-diethyl incrementou a altura de plantas e a matéria seca de soja (BIANCHI *et al.* 2021). Em milho, não há estudos demonstrando efeito estimulante, contudo, já foi relatado que o *safener* dichlormid, aplicado em sementes, proporcionou aumento tanto em parte aérea quanto em raiz (BUBNOV, SPIRIDONOV, KUZNETSOV, *et al.* 2018).

Na tentativa de observar os efeitos positivos da aplicação de mefenpyr-diethyl em milho, o objetivo deste estudo foi verificar a capacidade protetora de mefenpyr-diethyl a três herbicidas inibidores da ACCase (fenoxaprop, haloxyfop e clethodim) aplicados em pós-emergência em mistura ou em sequencial e investigar o efeito estimulante e de crescimento da parte aérea de milho pelo uso de mefenpyr-diethyl.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em casa-de-vegetação, no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA/UNESP campus de Botucatu-SP, repetido em duas épocas, entre outubro de 2018 a dezembro de 2018 e dezembro de 2018 a fevereiro de 2019.

O híbrido de milho “PY 32R48” foi semeado em vasos de 1,7 L, preenchidos com substrato organomineral (Carolina II®), com as seguintes características físico/químicas: turfa de *sphagnum*, vermiculita expandida, casca de arroz torrefado, calcário dolomítico, gesso agrícola e traços de NPK; com condutividade elétrica (CE) = $0,7 \text{ mS cm}^{-1} \pm 0,3$; pH 5,5; densidade 155 kg m^{-3} e capacidade de retenção de água de 55%.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizados, contendo 11 tratamentos com 5 repetições. Foi realizada a aplicação de 50 g ia ha^{-1} mefenpyr-diethyl (Bianchi et al., 2021) aos 5 dias antes da aplicação de herbicidas e a aplicação de mefenpyr-diethyl em mistura com herbicidas quando as plantas de milho se encontravam em estágio fenológico V4, conforme encontrada na Tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos aplicados na pós-emergência do milho, híbrido PY 32R48, Botucatu – São Paulo.

Tratamentos	Doses (g ia ha⁻¹)
Controle	-
Mefenpyr-diethyl ^a	50
Haloxypop ^b	62,35
Clethodim ^c	108
Fenoxaprop ^d	110
Mefenpyr-diethyl 5 DBA ^e + Haloxypop	50 + 62,35
Mefenpyr-diethyl 5 DBA + Cletodim	50 + 108
Mefenpyr-diethyl 5 DBA + Fenoxaprop	50 + 110
Mefenpyr-diethyl + Haloxypop	50 + 62,35
Mefenpyr-diethyl + Cletodim	50 + 108
Mefenpyr-diethyl + Fenoxaprop	50 + 110

a- Para diluição de menfepyr, utilizou-se 2% de metanol; b- Verdict®, 124.70 g ai Dow Agrosience; c-240 EC ® Select, 240, Arysta Lifescience do Brazil; d- Podium Ew®, Bayer Cropscience; e- Dias antes da aplicação; Foi utilizado 0.5% Agral® nas aplicações isoladas de menfepyr-diethyl e 0.5% de Lanza® para todos os tratamentos com herbicida.

Para a aplicação dos tratamentos foi utilizado um pulverizador automatizado instalado em ambiente fechado, provido de uma barra de pulverização com quatro pontas TeeJet Extended Range (XR 110.02 VS), espaçadas entre si em 0,5 m e posicionadas a 0,5 m de altura em relação à superfície dos vasos. O sistema foi operado através de um motor elétrico, que possui um modulador de frequência, sendo utilizada uma velocidade de deslocamento de 3,6 km h⁻¹, com volume de calda de 200 L ha⁻¹, pressão constante de 150 kPa, pressurizado por ar comprimido. As condições de aplicação foram ±27°C e ±72% UR (umidade relativa) e ±26°C e ±74% UR, para a primeira e segunda época, respectivamente.

Após aplicação foram realizadas as seguintes avaliações: injúria de herbicida; comprimento da parte aérea; massa seca de parte aérea; conteúdo total de lipídios; acúmulo de crescimento da parte aérea; e acúmulo de massa seca.

2.2.1 Injúria de herbicida

Para verificar o possível efeito de proteção do mefenpyr-diethyl a partir das aplicações dos herbicidas, aos 7, 14 e 21 dias após a aplicação (DAA), foram realizadas avaliações de injúria causada por herbicidas, de acordo com a Sociedade Brasileira de Plantas Daninhas (SBCPD, 1995), onde 0% corresponde a nenhum tipo de injúria e 100% significa a morte total das plantas.

2.2.2 Comprimento da parte aérea.

A parte aérea das plantas de milho foi medida a partir da base do caule até a inserção da última folha que apresentava a lígula completamente aberta, aos 7, 14 e 21 DAA.

2.2.3 Massa seca de parte aérea

Ao final do experimento a parte aérea das plantas foram cortadas, acondicionadas em sacos de papel e levadas a estufa de circulação forçada de ar, a temperatura média de 60°C. Após atingir massa constante, as amostras foram pesadas em balança analítica.

2.2.4 Conteúdo total de lipídios

A metodologia de Soxhlet foi utilizada para quantificar o conteúdo total de lipídios (SILVA, 1990). As amostras de matéria seca do controle e do tratamento com mefenpyr-diethyl (50 g ha⁻¹) foram trituradas em moinho de bola e peneiradas até atingir estado homogêneo.

Foi pesado uma alíquota de 2 a 3 gramas, conduzida à estufa a 105°C durante 3 horas. Após isso, 0,5 a 1 grama foi embrulhada em um papel filtro, sendo levada ao aparelho de extração (Soxhlet). Em um frasco de vidro, com peso de 40 mL de éter de petróleo, foi adicionado o papel filtro. O éter foi aquecido a 50°C durante 4 horas em um condensador para retirar todos os compostos apolares da amostra.

Após completar a extração, a amostra foi removida do recipiente e o éter do frasco foi mantido no condensador para ser parcialmente volatilizado. Posteriormente restou-se a gordura e uma quantidade mínima de éter no frasco, a qual foi levada para estufa de 60°C para eliminar o resto de éter. A diferença de peso do frasco com gordura com o frasco limpo é correspondente ao peso da quantidade de lipídios.

2.2.5 Acúmulo de parte aérea

A altura de todas as plantas dos tratamentos controle e mefenpyr-diethyl isolado foram medidas antes da aplicação, para descontar esses valores da altura medida ao 7, 14 e 21 DAA.

2.2.6 Acúmulo de massa seca

Antes da aplicação do mefenpyr-diethyl 20 plantas foram coletadas e acondicionadas em estufa de circulação forçada de ar a 60°C e posteriormente pesada. O peso seco referente aos tratamentos controle e mefenpyr-diethyl aos 14 e 21 DAA foi descontado do peso inicial.

2.2.7 Análise estatística

Para todas as avaliações, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e, quando o efeito foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste t de Student ($p \leq 0.05$). Os gráficos foram elaborados com auxílio do programa Sigmaplot 12.5 (Systat Software Inc., San Jose, California, USA).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A aplicação de mefenpyr-diethyl 5 dias antes da aplicação (DBA) ou em mistura com haloxyfop, clethodim ou fenoxaprop, não resultou em proteção das plantas de milho. Aos 21 dias após a aplicação (DAA), todos os tratamentos com herbicida atingiram fitotoxicidade acima de 80%, indicando que o mefenpyr-diethyl não obtiveram efeito protetor suficiente para atuarem como *safener* na cultura do milho para os herbicidas utilizados nesta pesquisa (Tabela 2).

Tabela 2. Fitotoxicidade dos herbicidas em plantas de milho, após a aplicação de mefenpyr, haloxyfop, clethodim e fenoxaprop em duas épocas.

Tratamentos	7 DAA ^a		14 DAA		21 DAA	
	1 ^o época	2 ^o época	1 ^o época	2 ^o época	1 ^o época	2 ^o época
Controle	0 d	0 e	0 d	0 g	0 d	0 e
Mef ^b	0 d	0 e	0 d	0 g	0 d	0 e
Haloxyfop	23 b	32.8 c	73.2 b	87.8 ab	95.4 a	98 a
Clethodim	29 a	38.8 b	84.4 a	79 c	95 a	98.2 a
Fenoxaprop	26.8 ab	48.2 a	82.8 a	88.6 a	94.6 a	97.8 a
Mef 5 DBA ^c + Haloxyfop	29.2 a	30.2 c	71.4 b	82.2 c	90.4 b	96.2 ab
Mef 5 DBA + Cletodim	17.6 c	28.4 c	73.4 b	62.8 e	90.2 b	95.4 ab
Mef 5 DBA + Fenoxaprop	23 b	23.4 d	72 b	78 c	89.6 b	93.4 ab
Mef + Haloxyfop	26 ab	30 c	71.8 b	82.6 bc	86 c	97.8 a
Mef + Cletodim	25.2 ab	29 c	63 c	38.6 f	89 b	81.4 d
Mef + Fenoxaprop	24.2 ab	19.2 d	74.8 d	72 d	89.2 b	88.6 c
Test F	54.46**	78.11**	241.77**	310.83**	1848,80**	862.67**
CV (%)	15.71	14.58	7.23	6.91	2.57	3.79

a- Dias após da aplicação; b- Mefenpyr; c – Dias antes da aplicação. CV (%) - Coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem pelo teste t de Student a 5% de probabilidade. ** $p \leq 0.01$ pelo teste F.

A atividade protetora contra herbicidas inibidores de ACCase é comum para cereais, como trigo, cevada ou aveia. Já foi observado que o uso de Mefenpyr-diethyl pode atenuar efeitos fitotóxicos de fenoxaprop (HACKER *et al.*, 2000; CATANEO, *et al.*, 2013), isso está relacionado com ação de enzimas específicas para essas culturas. De modo geral, *safeners* demonstram induzir a expressão de enzimas como glutationa S-transferase (GST), glicosiltransferase (GT) e citocromo P450 para metabolizar os herbicidas (SMITH *et al.*, 2004; EDWARDS *et al.*, 2005; ZONGJUN *et al.* 2005). Estudos em trigo e cevada apontam que mefenpyr-diethyl apresentou maiores acúmulos de GST (SCALLA, ROULET, *et al.*, 2002; CUMMINS, BRYANT, EDWARDS, 2009), o que está fortemente relacionado a ação protetora desta molécula. Porém em milho é provável que o mefenpyr-diethyl não atue especificamente em isoenzimas metabolizadoras de herbicidas inibidores da ACCase. Para outros ativos, a combinação do mefenpyr-diethyl também não se demonstrou eficaz, como é o caso de nicosulfuron, onde o *safener* não atenuou a injúria do herbicida (SUN, *et al.*, 2016).

O comprimento e a massa seca de parte aérea também indicaram que o mefenpyr-diethyl não obteve efeito protetor em plantas de milho. Aos 14 DAA qualquer

tratamento com herbicida apresentou diminuição significativa para essas variáveis, sendo que aos 21 DAA as reduções foram superiores a 54% comparadas ao controle (Tabela 3).

Tabela 3. Altura e massa seca da parte aérea de plantas de milho após a aplicação de mefenpyr, haloxyfop, clethodim e fenoxaprop, isolados, em mistura ou em aplicação sequencial, em duas épocas de semeadura.

Treatment	Shoot length						Dry matter			
	7 DAA ^a		14 DAA		21 DAA		14 DAA		21 DAA	
	1 ^o época	2 ^o época								
Control	22.6 ab	43.6 a	28.2 b	58.6 b	36.3 b	72.2 b	12.53 b	17.79 a	14.44 b	22.31 b
Mef ^b	24.3 a	45.8 a	34.5 a	65.6 a	46.9 a	82.2 a	13.76 a	18.05 a	21.31 a	28.65 a
Haloxyfop	21.2 bc	35.7 b	21 c	35 c	19.4 cd	21.6 de	8.76 def	5.69 b	8.74 c	4.85 d
Clethodim	24.2 a	35 b	21.1 c	34.4 c	20.6 cd	24.2 d	8.51 f	7.12 b	8.72 c	5.31 cd
Fenoxaprop	21.2 bc	32.8 bc	21 c	32.6 cd	19.9 cd	18.2 e	8.70 ef	6.74 b	9.05 c	3.72 d
Mef 5DBA ^c + Halo	20 bc	30.7 bcd	20.3 c	30.4 cd	19.56 cd	21 de	9.92 cd	5.60 b	9.17 c	4.43 d
Mef 5DBA + Cle	19.4c	27 cd	19.5 c	28 d	19.3 cd	24.6 d	10.13 c	6.63 b	9.41 c	4.05 d
Mef 5DBA + Feno	20.9 bc	26.8 d	21.2 c	28.8 d	21.2 cd	26.3 d	9.90 cd	5.95 b	9.64 c	4.83 d
Mef + Halo	19.5 c	35.3 b	19.7 c	34 c	17.7 d	24.6 d	9.0 cdef	5.59 b	9.36 c	3.96 d
Mef + Cleto	22 abc	32.8 bc	21.9 c	33.6 c	20.5 cd	32.5 c	9.80 cde	6.67 b	9.08 c	9.02 c
Mef + Feno	22 abc	31.4 bcd	21.2 c	31.2 cd	23.2 c	21.2 de	9.90 cd	6.53 b	8.78 c	5.18 cd
Test F	3.35**	8.21**	14.51**	57.06**	37.51**	115.19**	15.55**	18.49**	33.07**	85.81**
CV (%)	9.97	13.61	11.79	9.86	13.8	13.69	9.24	29.32	14.08	23.45

a- Dias após da aplicação; b- Mefenpyr; c – Dias antes da aplicação. CV (%) - Coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem pelo teste t de Student a 5% de probabilidade. ** $p \leq 0.01$ pelo teste F.

Por outro lado, nota-se que a aplicação isolada de mefenpyr-diethyl apresentou maiores valores para comprimento de parte aérea a partir de 14 DAA. Para a primeira época avaliada houve diferença entre o mefenpyr-diethyl e controle, com 22.3% de incremento em altura aos 14 DAA e 29.2% para 21 DAA. Embora na segunda época a diferença tenha sido menor, ainda foi obtido 11.9% e 13.9% de acréscimo para o comprimento de parte aérea aos 14 e 21 DAA, respectivamente. A massa seca também obteve o mesmo comportamento promotor de crescimento, alcançando uma diferença de 47.5% e 28.4% aos 21 DAA, para a primeira e segunda época, respectivamente (Tabela 3).

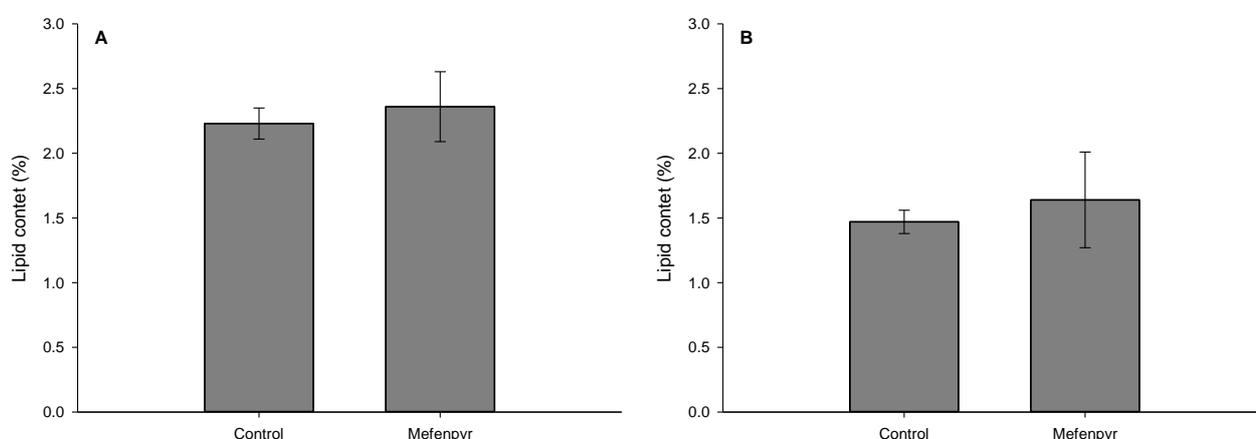
Indícios de que *safeners* aumentam o desenvolvimento de plantas já foram observados em alguns estudos. Por exemplo, além de causar mudança seletiva no metabolismo de compostos fenólicos, cloquintocet levou ao aumento no crescimento de plântulas de trigo (CUMMINS *et al.*, 2006). Embora mefenpyr-diethyl já tenha

apresentado estímulo de crescimento para outras culturas (TAYLOR et al., 2013; CATANEO et al., 2013), em milho, não há estudos anteriores demonstrando este efeito, portanto este é o primeiro relato da ação promotora de crescimento em milho pelo mefenpyr-diethyl. Outro safenes como dichlormid, promoveu o aumento no comprimento dos brotos e das raízes de milho quando aplicado via sementes (BUBNOV, SPIRIDONOV, KUZNETSOV et al., 2018).

Em busca de respostas para justificar o estímulo observado, foram realizadas análises específicas comparando este tratamento com o controle. Para isso foram realizadas avaliações referentes ao conteúdo total de lipídios, acúmulo de parte aérea e de massa seca.

Cataneo et al. (2013) observaram que mefenpyr-diethyl aplicado em trigo aumentou o conteúdo total de lipídio, e foi correlacionado com a capacidade protetora contra fenoxaprop. Na tentativa de verificar se o aumento do conteúdo de lipídio estaria também relacionado com a promoção de crescimento em milho após o uso de mefenpyr-diethyl, nosso estudo apontou que embora a quantidade total de lipídio tenha ligeiramente aumentado, isso não foi significativo quando comparado com o controle (Figura 1).

Figura 1. Conteúdo total de lipídeos em milho 21 dias após a aplicação de mefenpyr-diethyl em milho em duas épocas (A- 1ª época; B- 2ª época).

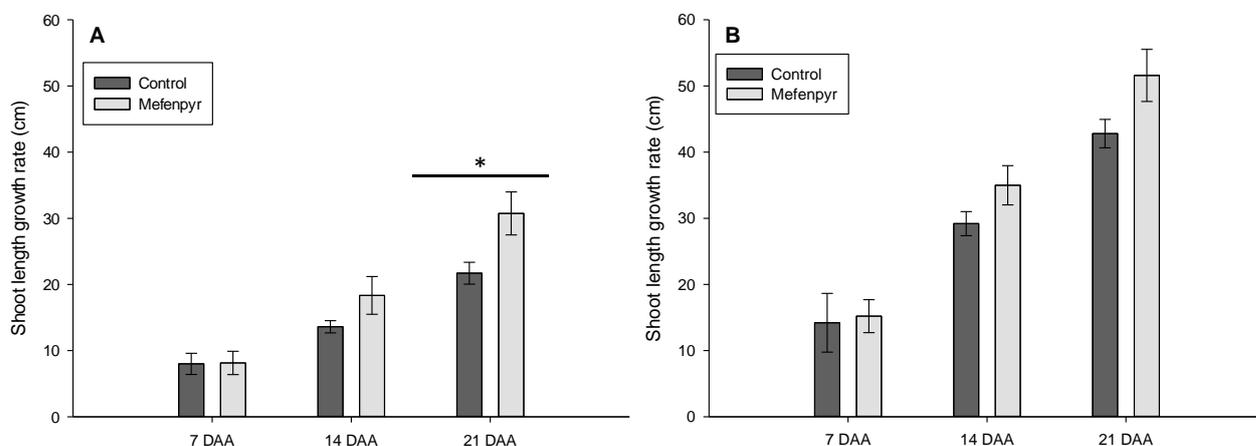


*Diferença entre os tratamentos pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

O acúmulo de parte aérea indica o quanto as plantas de milho cresceram após a aplicação. Aos 7 DAA os valores do controle e mefenpyr-diethyl foram semelhantes, aos 14 DAA houve aumento na altura de plantas tratadas com Mefenpyr-diethyl e

somente aos 21 DAA os tratamentos diferiram, com no mínimo 6 cm a mais de crescimento. Embora a diferença seja notória, apenas na primeira época aos 21 DAA houve diferença significativa (Figura 2).

Figura 2. Acúmulo de parte aérea de milho aos 7, 14 e 21 dias após a aplicação (DAA) de mefenpyr-diethyl em duas épocas (A- 1^a época; B- 2^a época).



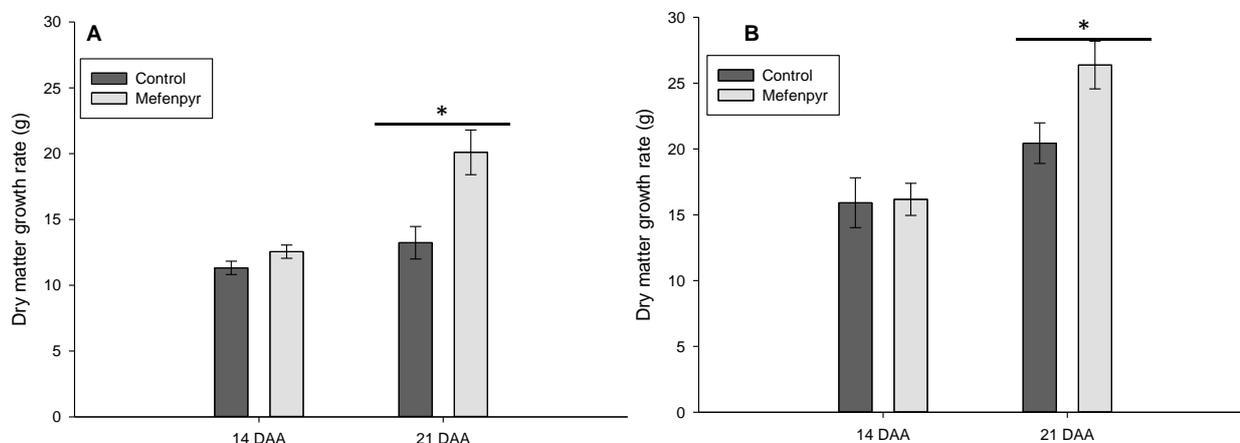
*Diferença entre os tratamentos pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

No estudo visando o efeito protetor em feijão, mefenpyr-diethyl além de se demonstrar efetivo para atenuar efeitos do herbicida, também levou a promoção de crescimento, alcançando estímulo de 25.9% da altura, quando aplicado em tratamento de sementes (TS), e mais de 10% da massa seca, quando utilizado em TS e pós-emergência (BRUSAMARELLO, 2019). Para haver efeito protetor, os *safeners* recrutam múltiplas vias de sinalização, que induz a expressão de genes específicos, responsáveis pelo mecanismo de desintoxicação de xenobióticos (HATZIOS, BURGOS, 2004; DAVIES, CASELEY, 1999) e possivelmente essas alterações moleculares e fisiológicas podem também atuar na promoção de crescimento de plantas.

Outro efeito positivo do mefenpyr-diethyl em milho ocorreu no acúmulo de massa seca da parte aérea. Assim como no acúmulo, o efeito estimulante foi observado apenas aos 21 DAA, apresentando diferença nas duas épocas avaliadas, correspondentes a 51.9% e 29% de incremento de massa seca. Contudo, observa-se que aos 14 DAA para o acúmulo de parte aérea (Figura 3) e de massa seca, valores apenas ligeiramente superiores em ambas as épocas, o que pode significar que a

ação deste produto pode-se iniciar aos 14 DAA, entretanto seu maior efeito é observado aos 21 DAA (Figura 3).

Figura 3. Acúmulo de massa seca de milho aos 14 e 21 dias após a aplicação (DAA) de mefenpyr-diethyl em duas épocas (A- 1^a época; B- 2^a época).



*Diferença entre os tratamentos pelo teste t de Student a 5% de probabilidade.

Esse período de efeito, pode caracterizar uma ação de “pro-safener” ao mefenpyr-diethyl, tendo em vista que outros trabalhos já relataram a conversão de protetores a outros compostos para ativar seu efeito protetivo (RUBIM, KIRINO, CASIDA, 1985). Isso explicaria o fato das repostas tanto de parte aérea quanto de massa seca terem ocorrido apenas aos 21 DAA, ou seja, é muito provável que o tempo de translocação e degradação deste *safener* ocorra entre 14 e 21 DAA.

Outra característica importante para obter efeito estimulante em plantas, está ligada a dose. Em cevada Bartucca *et al.* (2017) foi utilizada 0.2 g ha⁻¹ de mefenpyr-diethyl, e não observaram incremento em parte aérea e peso seco de plantas. Em nosso estudo, o efeito promotor de crescimento ocorreu com 50 g ha⁻¹ de mefenpyr-diethyl, estando compreendido entre 20 a 100 g ha⁻¹, dose recomendada à campo (ROSINGER, SCHULTE, 2019). Taylor *et al.* (2013) obtiveram 4.2% e 9% de aumento na altura da parte aérea e no peso seco em trigo, utilizando a concentração de 15 g ha⁻¹, portanto estudos futuros indicando qual a melhor dose que causa o melhor efeito estimulante, são fundamentais para elucidar melhor o efeito de mefenpyr-diethyl para milho.

Em resumo, a utilização de mefenpyr-diethyl assim como outros *safeners*, para a promoção de crescimento em plantas, apresentam evidências e indicam uma

promissora vertente de estudo, contudo existem poucas informações de como funciona o mecanismo fisiológico e molecular para o efeito estimulante. Investigar esses efeitos e especificar a utilização correta referente a dose, estágio fenológico e espécie alvo, deverão contribuir para a expansão da utilização de *safeners* com esse objetivo.

2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo demonstrou que mefenpyr-diethyl não atuou como *safener* de fenoxaprop, clethodim ou haloxyfop na cultura do milho. Foi observado efeito estimulante tanto para comprimento de parte aérea quanto para massa seca da parte aérea de plantas. O efeito estimulante iniciou-se aos 14 dias após a aplicação de mefenpyr-diethyl.

REFERÊNCIAS

- BARROSO, A. A. M. et al. Accase and glyphosate different formulations herbicides association interactions on sourgrass control. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 32, n. 3, p. 619-627, 2014.
- BARTUCCA, M. Luce et al. Effect of three safeners on sulfur assimilation and iron deficiency response in barley (*Hordeum vulgare*) plants. **Pest Manag Sci**, West Sussex, v. 73, n. 1, p. 240-245, 2017.
- BIANCHI, L et al. Stimulation action of mefenpyr-diethyl on soybean, wheat, and signal grass plants. **J Environ Sci Health B**, New York, v. 56, n. 2, p. 163-167, 2021.
- BRUSAMARELLO, A. P. **Tolerância de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*) aos herbicidas inibidores da enzima protoporfirinogênio oxidase**. 2019. 181p. Tese (Doutor em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal) PósGraduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, 2019.
- BUBNOV, Yu N.; SPIRIDONOV, Yu Ya; KUZNETSOV, N. Yu. New growth regulators of corn based on N-mono-and N, N-bis-3-butenyldichloroacetamides. **Russ Chem Bull**, New York, v. 67, n. 2, p. 345-358, 2018.
- CATANEO, A. C. et al. Mefenpyr-diethyl action on fenoxaprop-p-ethyl detoxification in wheat varieties. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 31, p. 387-393, 2013.
- CUMMINS, I. et al. Selective disruption of wheat secondary metabolism by herbicide safeners. **Phytochemistry**, London, v. 67, n. 16, p. 1722-1730, 2006.
- CUMMINS, I.; BRYANT, David N.; EDWARDS, Robert. Safener responsiveness and multiple herbicide resistance in the weed black-grass (*Alopecurus myosuroides*). **Plant Biotechnol J**, Oxford, v. 7, n. 8, p. 807-820, 2009.
- DAVIES, J.; CASELEY, J. C. Herbicide safeners: a review. **Pestic Sci**, London, v. 55, n. 11, p. 1043-1058, 1999.
- DEL BUONO, D. et al. Phytoremediation and detoxification of xenobiotics in plants: herbicide-safeners as a tool to improve plant efficiency in the remediation of polluted environments. A mini-review. **Int J Phytoremediation**, Boca Raton v. 22, n. 8, p. 789-803, 2020.
- DERYCKE, V.; HAESAERT, G.; LATRÉ, J. Chemical weed control in triticale (x *Triticosecale* Wittmack): review of five years of field experiments. In: **65th International symposium on Crop Protection**, v. 78, n. 3, p. 671-680. 2013.
- EDWARDS, Robert et al. Differential induction of glutathione transferases and glucosyltransferases in wheat, maize and *Arabidopsis thaliana* by herbicide safeners. **Z Naturforsch C J Biosci**, Tübingen, v. 60, n. 3-4, p. 307-316, 2005.

- HACKER, E. et al. Mefenpyr-diethyl: a safener for fenoxaprop-P-ethyl and iodosulfuron in cereals. **Z Pflanzenkr Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 17, p. 493-500, 2000.
- HATZIOS, K. K.; BURGOS, N. Metabolism-based herbicide resistance: regulation by safeners. **Weed Science**, Champaign, v. 52, n. 3, p. 454-467, 2004.
- READE, J. P. H.; MILNER, L. J.; COBB, A. H. A role for glutathione S-transferases in resistance to herbicides in grasses. **Weed science**, Champaign, v. 52, n. 3, p. 468-474, 2004.
- ROSINGER, C.; KÖCHER, H. Safener for herbicides. **Modern Crop Protection Compounds**, 2007. 281p.
- RUBIN, B.; CASIDA, J. E. R-25788 effects on chlorsulfuron injury and acetohydroxyacid synthase activity. **Weed Science**, Champaign, v. 33, n. 4, p. 462-468, 1985.
- RUBIN, B.; KIRINO, O.; CASIDA, J. E. Chemistry and action of N-phenylmaleamic acids and their progenitors as selective herbicide antidotes. **J Assoc Off Anal Chem**, Washington, v. 33, n. 3, p. 489-494, 1985.
- SCALLA, R.; ROULET, A. Cloning and characterization of a glutathione S-transferase induced by a herbicide safener in barley (*Hordeum vulgare*). **Physiol. Plant.**, Lund, v. 116, n. 3, p. 336-344, 2002.
- SILVA, D. J. Determinação da gordura bruta ou extrato etéreo. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, p. 12-15, 1981.
- SIMINSZKY, Balazs. Plant cytochrome P450-mediated herbicide metabolism. **Phytochem Rev**, Dordrecht, v. 5, n. 2, p. 445-458, 2006.
- SMITH, A. P. et al. Proteomic analysis of Arabidopsis glutathione S-transferases from benoxacor-and copper-treated seedlings. **J Biol Chem**, Baltimore, v. 279, n. 25, p. 26098-26104, 2004.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS (1995) **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos com herbicidas**. 1st ed Londrina, PR: SBCPD. 42 p
- SUN, Lanlan et al. Herbicide safeners increase waxy maize tolerance to nicosulfuron and affect weed control. **J. Agric. Sci. Technol. A**, Libertyville, v. 6, p. 386-393, 2016.
- TAYLOR, V. L. et al. Protective responses induced by herbicide safeners in wheat. **Environ Exp Bot**, Oxford, v. 88, p. 93-99, 2013.
- YUAN, J. S.; TRANEL, P. J.; STEWART J. R., NEAL C. Non-target-site herbicide resistance: a family business. **Trends Plant Sci**, Kidlington, v. 12, n. 1, p. 6-13, 2007.

ZONGJUN, Gao et al. Studies on the induction of wheat cytochrome P450 by mefenpyr--diethyl and the spectrum characteristics. **Plant Protection**, v. 31, n. 4, p. 40-44, 2005.

CAPÍTULO 3

EFEITO ESTIMULANTE DE MEFENPYR-DIETHYL EM MILHO

Leandro Bianchi; Samara Moreira Perissato; Roque de Carvalho Dias; Raphael Mereb Negrisoli; Vitor Muller Anunciato; Leandro Tropaldi; Diego Munhoz Gomes; Caio Antonio Carbonari; Edivaldo Domingues Velini.

RESUMO

Os *safeners* são explorados na agricultura como produtos que proporcionam proteção às plantas ao uso de herbicidas. Contudo, estas moléculas também podem promover efeitos estimulantes. Apesar desta temática ser pouco explorado, o Mefenpyr-diethyl é um *safener* que já apresentou ação estimulante em culturas como milho, soja e trigo. Portanto, nosso objeto foi determinar a melhor dose e estágio de aplicação de mfenfepyr-diethyl em milho para visualização do efeito estimulante, através de um estudo dose-resposta e posteriormente, por uma validação em condições de campo. Deste modo, foram desenvolvidos dois grupos de experimentos um em casa-de-vegetação e outro à campo, ambos repetidos em duas épocas. Os tratamentos do experimento em casa-de-vegetação constituíram-se de 5 doses de mfenfepyr-diethyl: 0, 12.5, 25, 50 e 100 g ia ha⁻¹, aplicadas em dois estádios fenológicos do milho (V3 e V4). Ao longo de 21 dias, foram avaliados o crescimento diário de altura, área foliar e ao final, calculado o acúmulo desses parâmetros assim como de massa seca. A partir desses resultados foi selecionado a melhor dose para validação a campo, que foi aplicada em dois estádios fenológicos (V4 e V6), no tratamento de sementes e comparados com a testemunha. Aos 35, 42, 49, 56 e 63 dias após a emergência foram avaliadas a altura, área foliar e diâmetro de colmos, calculando ao final seu crescimento acumulado. Ao final, foram determinadas a massa seca de parte aérea, os parâmetros fotossintéticos e os componentes produtivos da cultura. Para os resultados de altura e área foliar em ambos os experimentos, utilizou-se a análise de regressão ajustado através do modelo de Gompertz. Para as demais variáveis os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e quando significativos, comparados pelo teste de média t de Student, No caso do experimento à campo utilizou-se de análise conjunta para expressar os resultados. De maneira geral, a dose

de 50 g ia ha⁻¹ no experimento em casa-de-vegetação apresentou os maiores incrementos, acumulando até 2 vezes mais massa seca do que a testemunha. Esta dose quando utilizada a campo, no tratamento de sementes ou no estágio V4 do milho, proporcionou também maior crescimento acumulado em altura, área foliar e maior taxa de assimilação de CO₂ e uso eficiente de água. Para componentes produtivos, estes mesmos tratamentos, obtiveram 8,2% e 11,2% de incremento de produtividade quando comparados a testemunha.

Palavras-chave: safeners; *Zea mays*; componentes produtivos; componentes fotossintéticos.

ABSTRACT

Safeners are used in agriculture as products that provide plant protection from the use of herbicides. However, these molecules can also promote stimulant effects. Despite this theme being little explored, mefenpyr-diethyl is a safener that has already presented stimulating action in crops such as corn, soybeans and wheat. Therefore, our objective was to determine the best dose and stage of application of mefenpyr-diethyl in maize to visualize the stimulant effect, through a dose-response study and later, by validation under field conditions. In this way, two groups of experiments were developed, one in a greenhouse and the other in the field, both repeated in two seasons. The treatments of the experiment in a greenhouse consisted of 5 doses of mefenpyr-diethyl: 0, 12.5, 25, 50 and 100 g ai ha⁻¹, applied at two maize phenological stages (V3 and V4). Over 21 days, the daily growth in height and leaf area were evaluated and, at the end, the accumulation of these parameters as well as dry mass were calculated. From these results, the best dose was selected for validation in the field, which was applied in two phenological stages (V4 and V6), in the seed treatment and compared with the control. At 35, 42, 49, 56 and 63 days after emergence, height, leaf area and stem diameter were evaluated, calculating at the end their accumulated growth. At the end, the shoot dry mass, the photosynthetic parameters and the productive components of the crop were determined. For the results of height and leaf area in both experiments, regression analysis adjusted through the Gompertz model was used. For the other variables, the data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and, when significant, were compared by means of Student's t test. In the

case of the field experiment, joint analysis was used to express the results. In general, the dose of 50 g ai ha⁻¹ in the greenhouse experiment showed the greatest increments, accumulating up to 2 times more dry mass than the control. This dose, when used in the field, in seed treatment or in the V4 stage of maize, also provided greater accumulated growth in height, leaf area and greater CO₂ assimilation rate and efficient use of water. For productive components, these same treatments obtained 8.2% and 11.2% increase in productivity when compared to the control.

Keywords: safeners; *Zea mays*; productive components; photosynthetic components.

3.1 INTRODUÇÃO

O efeito secundário de produtos é uma nova abordagem que vem ganhando destaque na literatura científica. Os totais benefícios de um produto muitas vezes não são explorados. Neste contexto, pela capacidade dos *safeners* em atuar em processos bioquímicos e fisiológicos que ativam enzimas, sua resposta envolvendo efeito estimulantes em plantas tem despertado interesse (DAVIES, CASSIE 1999).

Embora os estudos nesta linha de pesquisa sejam incipientes, a ação estimulante em diversas características das plantas já foi relatada através do uso destes produtos (BUBNOV *et al.*, 2018; CUMMINS *et al.*, 2006), incluindo incrementos produtivos (MACIEL *et al.*, 2012).

Mefenpyr-diethyl é um safener utilizado na proteção contra injúrias de herbicidas inibidores da Acetolactato sintase (ALS) ou da Acetil Coenzima A Carboxilase (ACCase) (DERYCKE *et al.*, 2013; SCALLA; ROULET, 2002). Entretanto, já foi observada sua ação estimulante na massa seca e conteúdo de lipídeos para soja e maior quantidade de perfilhos no trigo (BIANCHI *et al.*, 2021).

Estudos elaborados em nosso centro de pesquisa, demonstraram que o uso de mefenpyr-diethyl no milho também promoveu incrementos em massa seca, altura e área foliar (dados não publicados). Contudo verificar qual a melhor dose e fase fenológica, bem como avaliar se estes efeitos ocorrem em ambientes não controlados, é fundamental para compreender seu comportamento no milho.

Portanto, o objeto deste trabalho foi determinar a melhor dose e estágio de aplicação de mefenpyr-diethyl em milho para visualização do efeito estimulante,

através de um estudo dose-resposta e posteriormente, validando estes resultados em condições de campo.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Experimento em casa-de-vegetação

O estudo foi conduzido em casa-de-vegetação, no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Matologia (NUPAM), pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA/UNESP campus de Botucatu-SP, repetido em duas épocas, fevereiro de 2019 a março de 2019 e abril de 2019 a maio de 2019.

O híbrido “PY 32R48” foi semeado em vasos de 1,7 L, preenchidos com substrato organomineral (Carolina II®), com as seguintes características físico/químicas: turfa de *sphagnum*, vermiculita expandida, casca de arroz torrefado, calcário dolomítico, gesso agrícola e traços de NPK; condutividade elétrica (CE) = $0,7 \text{ mS cm}^{-1} \pm 0,3$; pH 5,5; densidade 155 kg m^{-3} ; capacidade de retenção de água 55%.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, contendo 5 doses de mefenpyr-diethyl (0, 12.5, 25, 50, 100 g ia ha⁻¹) com 5 repetições, aplicado em dois estádios fenológicos do milho e repetido em duas épocas, sendo avaliados de maneira isolada. Na primeira época do experimento a aplicação ocorreu no estágio V2 e V3 do milho e na segunda época no estágio V3 e V4.

Para preparar a calda de pulverização (50 mL), o mefenpyr-diethyl foi pré-diluído em 2% de metanol, posteriormente misturado com a água e acrescentado 0.5% de Agral® em todos os tratamentos. A aplicação dos tratamentos foi realizada em pulverizador automatizado instalado em ambiente fechado, provido de uma barra de pulverização com quatro pontas TeeJet Extended Range (XR 110.02 VS), espaçadas entre si em 0,5 m e posicionadas a 0,5 m de altura em relação à superfície das unidades experimentais. O sistema foi operado através de um motor elétrico, que possui um modulador de frequência, sendo utilizada uma velocidade de deslocamento de $3,6 \text{ km h}^{-1}$, com volume de calda de 200 L ha^{-1} , pressão constante de 150 kPa, pressurizado por ar comprimido. As condições de aplicação foram 27°C e $\pm 72\%$ UR (umidade relativa) e $\pm 26^{\circ}\text{C}$ e $\pm 74\%$ UR, para a primeira e segunda época, respectivamente.

O crescimento diário das plantas de milho foi determinado pela altura e área foliar das plantas medidas antes da aplicação e somado os valores diários para determinar o crescimento acumulado até 21 dias após aplicação (DAA).

A altura do milho foi mensurada a partir da base do caule até a inserção da última folha que apresentava a lígula completamente aberta. Para a área foliar foi medido o comprimento e largura de todas as folhas e multiplicado pelo fator 0.75 de acordo com a metodologia descrita por Elings (2000).

No dia da aplicação de mefenpyr-diethyl, 20 plantas foram coletadas e acondicionadas em estufa de circulação e renovação forçada de ar, a temperatura média de 60°C, para determinar sua massa (g). Como em cada tratamento foram semeadas 3 plantas de milho por vaso, determinou-se o acúmulo de massa seca através da remoção de 1 planta em cada período de avaliação (7, 14 e 21 DAA).

3.2.2 Experimento à campo

O experimento a campo foi instalado na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Ciências Agrônomicas – FCA/UNESP, campus de Botucatu-SP, repetido em duas safras, no período de outubro/2019 a março/2020 (safra de verão) e março/2020 a agosto/2020 (segunda safra). A localização dos experimentos ocorreu na latitude 22°84'33"S e longitude 48°42'39"O na safra de verão e na latitude 22°84'33"S e longitude 48°42'38"O na safrinha, ambas a 789 m de altitude em área com irrigação, com temperatura e umidade registradas no apêndice D.

O híbrido PY 32R48 VYHR, foi semeado em plantio convencional o dia 20/10/2019 na safra e 04/03/2020 na safrinha com densidade populacional 62.200 sementes espaçadas a 0,45 m entrelinhas, sendo utilizado 250 Kg ha⁻¹ do adubo de base 08-28-18 e cobertura com 130 kg ha⁻¹ de ureia quando o milho estava no estágio fenológico V4.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, contendo 4 tratamentos e 4 repetições, sendo as parcelas constituídas de 7 linhas e 6 m de comprimento. A dose utilizada de mefenpyr-diethyl foi de 50 g ia ha⁻¹ aplicado no estágio V4, V6 e o tratamento de sementes e uma testemunha.

Antes do preparo da calda de aplicação (2 L) o mefenpyr-diethyl foi diluído em 2% de metanol e posteriormente misturado com água e acrescentado 0,5% de Agral® na calda de pulverização. Para o tratamento de sementes foi feito uma calda de 100 mL

com concentração de 50 g ha⁻¹ de mefenpyr-diethyl, diluído em 2% de metanol e acrescentado 500 µL do adjuvante Silwet® e aplicado 20 µL sobre cada semente.

Os tratamentos com pulverização foliar (aplicados em estádios V4 e V6), foi utilizado um pulverizador costal de barras, pressurizado por CO₂, composto por seis pontas de pulverização tipo jato leque TeeJet Extended Range (XR 110.02 VS) espaçadas a 0,5 m, à uma pressão de trabalho de 200 Kpa, obtendo-se um volume de calda de 200 L ha⁻¹.

A mesma metodologia do experimento de casa-de-vegetação foi utilizada para mensurar a altura, área foliar e diâmetro de colmos, as quais foram avaliadas aos 35, 42, 49, 56 e 63 dias após a emergência (DAE). Para a determinação do acúmulo de altura, área foliar e diâmetro de colmo, os valores coletados aos 35 DAE foram descontados da última coleta (63 DAE). Apenas para altura e área foliar foram elaborados gráficos de análise de regressão para verificar o desenvolvimento de milho ao longo do experimento. Aos 50 DAE também foram coletadas 8 plantas de cada parcela e determinada a massa seca conforme descrito no estudo em casa-de-vegetação.

Foram também avaliados parâmetros fisiológicos nas plantas de milho, como: taxa de assimilação de CO₂ (A, em µmol CO₂ m⁻² s⁻¹), a transpiração (T, em mmol H₂O m⁻² s⁻¹) e a eficiência do uso de água (EUA, mmol CO₂ H₂O m⁻² s⁻¹), que foram determinados por meio do uso do analisador de gases a infravermelho IRGA LCpro-SD (ADC BioScientific Ltd, UK) a os 56 e 63 DAE. Durante as avaliações (21 e 28 DAA) foi utilizado um compensador de luz, configurado a 1000 µmol m⁻² s⁻¹ e ajustado a concentração de CO₂ do ambiente. Todas as medições foram realizadas entre o período de 9:30 h a 11:30 h na folha +1 das plantas de milho.

A colheita da área útil da unidade experimental foi realizada ao final do ciclo da cultura de forma manual, sendo composta por duas linhas de 5 metros. Após a colheita determinou-se o teor de água dos grãos (%), o comprimento de espigas, diâmetro de espigas, número total de grãos, peso de mil grãos (PMG) e produtividade corrigida a 13% de umidade.

3.2.3 Análise estatística

Os dados de altura e área foliar para os experimentos de casa-de-vegetação e de campo, foram ajustados pelo modelo de Gompertz (GOMPertz, 1825), adaptados

por Velini (1995) para verificar o comportamento destas variáveis ao longo do tempo, de acordo com a seguinte equação:

$$Y = e^{[a - e^{(-b - c * x)}]}$$

Onde “e” é a constante 2,718282; “a” é a assíntota máxima do modelo; “b” o deslocamento da curva ao longo do eixo x, “c” a inclinação ou concavidade da curva em relação ao número de dias; e “x” representa a altura ou área foliar medida nos dias das avaliações.

Para as avaliações de massa seca, acúmulo de altura, área foliar e diâmetro, taxa de assimilação de CO₂, transpiração e eficiência do uso da água (EUA), os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e, quando o efeito foi significativo, as médias foram comparadas pelo teste t de Student ($p \leq 0.05$). No caso do experimento à campo, foi realizada uma análise conjunta das duas épocas do experimento, justificando a resposta similar dos dados e permitindo sua união, ou seja, os resultados apresentados representam a média para as duas repetições dos experimentos.

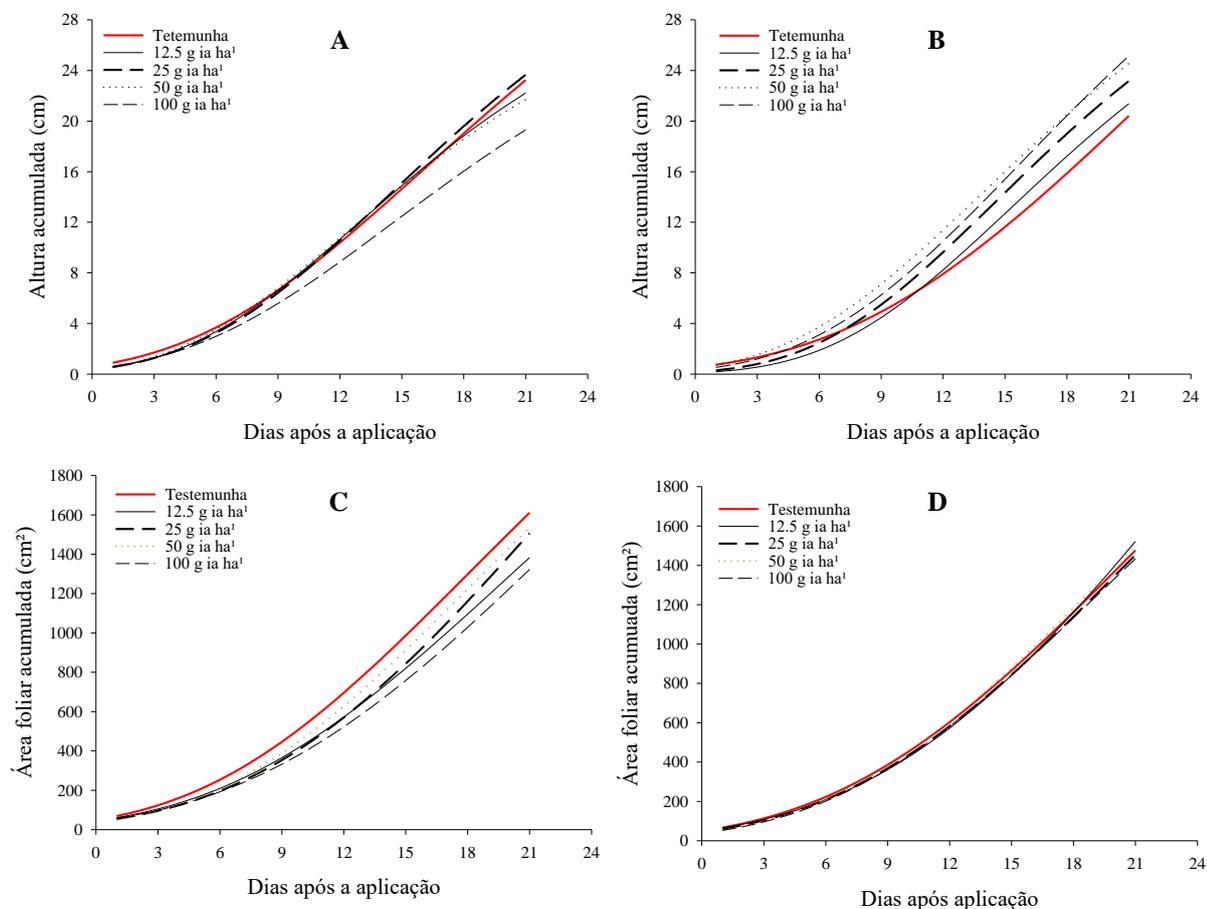
Para análise de regressão, os parâmetros foram mensurados através do programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute, version 9.1.3., Carry, North Carolina, USA), e todos os gráficos elaborados pelo programa Sigmaplot 14 (Systat Software Inc., San Jose, California, USA).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Experimento na casa-de-vegetação

O uso de mefenpyr-diethyl apresentou diferentes respostas em função do estágio de aplicação. Em V2 sua aplicação não afetou a altura acumulada das plantas, exceto na dose de 100 g ia ha⁻¹, que reduziu o desenvolvimento de plantas. Em contrapartida, quando aplicado em estágio V3 todas as doses de mefenpyr-diethyl promoveram o crescimento de plantas comparadas ao controle, destacando-se a dose de 50 e 100 g ia ha⁻¹ (Figura 1 A e B).

Figura 1. Crescimento acumulado da altura da parte aérea e da área foliar de plantas de milho, que receberam a aplicação de doses crescentes de Mefenpyr-diethyl nos estádios fenológicos V2 (A e C) e V3 (B e D) na 1ª época de avaliação do experimento, desenvolvido em condições controladas.



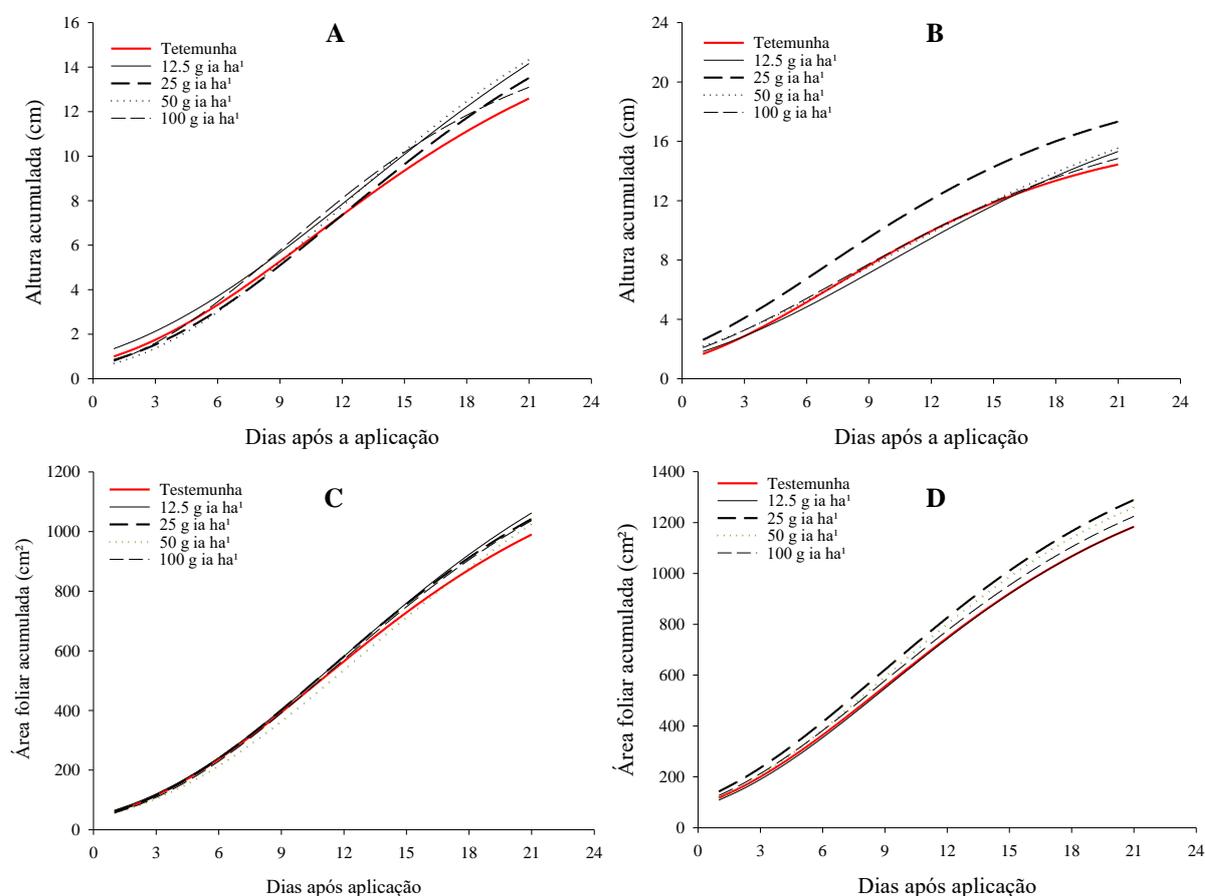
De acordo com o comportamento da curva de crescimento acumulado da altura no estágio V3, nota-se que a resposta à aplicação do produto é mais tardia, com diferenças mais evidentes a partir dos 9 DAA, com incremento nesta data de 4%, 13%, 20% e 23%, respectivamente para as doses 12,5; 25; 50 e 100 g ia ha⁻¹ (Figura 1 B).

No estágio V2 a aplicação de mefenpyr-diethyl reduziu a área foliar em todas as doses testadas, levando a reduções de 18% na maior dose (Figura 1 C). Apesar da aplicação no estágio V3 ter apresentado estímulo para altura, isso não foi observado para a área foliar, onde o comportamento da curva se apresentou semelhante em todos os tratamentos (Figura 1 D).

Como a aplicação de mefenpyr-diethyl em V2 não foi estimulante, o experimento foi repetido no estágio V3 e V4 do milho, na tentativa de obter uma resposta em

estádios mais avançados. Quando o mefenpyr-diethyl foi aplicado nos estádios V3 e V4 do milho foi observado o estímulo em ambos, sendo a resposta variável em função da dose e do parâmetro avaliado (Figura 2). Para o crescimento acumulado da altura da parte aérea, as doses que obtiveram maiores estímulos foram 50 e 25 g ia ha⁻¹, com 12% e 18% de incremento, respectivamente para o estágio V3 e V4 (Figura 2 A e B).

Figura 2. Crescimento acumulado da altura da parte aérea e da área foliar de plantas de milho, que receberam a aplicação de doses crescentes de Mefenpyr-diethyl no estágio fenológico V2 (A e C) e V3 (B e D) na 1ª época de avaliação do experimento em condições controladas.



Assim como na primeira repetição, o uso de mefenpyr-diethyl no crescimento acumulado da área foliar em estágio V3 não apresentou diferenças contrastantes ao controle. Em V4 novamente a dose 25 g ia ha⁻¹ obteve a maior diferença, seguido da dose 50 g ia ha⁻¹, com incremento de 8% e 7%, respectivamente (Figura 2 C e D).

Na avaliação de massa seca, o estágio V2 também não apresentou diferença ao controle em nenhuma dose testada em todas as épocas de coleta de plantas. Os maiores estímulos foram alcançados aos 21 DAA na primeira época no estágio V3 e na segunda época no estágio V4 com a dose de 50 g ia ha⁻¹, alcançando um ganho de 2 e 1,3 vezes de massa quando comparado ao controle, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Acúmulo de massa seca após a aplicação doses de mefenpyr-diethyl em diferentes épocas e estádios fenológicos do milho em ambiente controlado.

Época	Estádio Fenológico	Dias após a aplicação	Doses de mefenpyr-diethyl (g ia ha ⁻¹)				
			0	12.5	25	50	100
1ª época Massa seca (g)	V2	7	0,85	0,91	0,85	0,82	0,73
		14	4,07 ab	3,82 ab	2,90 b	4,85 a	3,84 ab
		21	8,93	7,94	9,75	9,98	7,85
	V3	7	1,21 ab	0,88 b	1,12 ab	1,12 ab	1,44 a
		14	3,69	3,44	3,26	3,24	3,61
		21	9,55 c	11,09 c	18,60 ab	19,14 a	12,73 bc
2ª época Massa seca (g)	V3	7	0,92	0,83	0,87	0,78	0,88
		14	3,18 ab	3,74 a	2,93 ab	2,38 b	3,54 a
		21	5,42	6,43	6,28	5,94	6,17
	V4	7	2,04 a	0,54 c	1,32 b	1,37 ab	1,67 ab
		14	3,34	3,06	3,27	3,31	3,52
		21	6,33 b	6,93 ab	7,63 ab	8,25 a	7,50 ab

Médias seguidas por diferentes letras na mesma linha, diferem entre si pelo Teste t de Student, todas a nível de 5% de significância.

De maneira geral, pode-se observar um comportamento estimulante somente após 14 DAA, apresentando as diferenças mais contrastantes apenas aos 21 DAA (Tabela 1). Isso também ocorre em algumas curvas de regressão (Figura 1 B; Figura 2 A e D), onde até os 14 DAA a distância entre as curvas é baixa e após este período pode-se notar maior distanciamento entre os tratamentos, reforçando que a ação estimulante ocorre entre 14 e 21 DAA.

Esse período de ação de mefenpyr-diethyl em milho, supõem que essa molécula necessite de algum processo degradativo ou reação para atuar nas plantas, o que a caracterizaria como um pro-safener, fato que já foi relatado em outras substâncias por Rubin *et al.* (1985). Indicando que a ação do mefenpyr-diethyl em processos metabólicos/enzimáticos aconteça após sua transformação, o que leva 14 dias para ocorrer.

Conforme todas as variáveis avaliadas ao longo do experimento em casa-de-vegetação, os melhores resultados de mefenpyr-diethyl sempre ocorreram na dose 25 ou 50 g ia ha⁻¹. Para altura e área foliar o estímulo foi variável em função do estágio e da época avaliada. Já para a massa seca do milho, a dose de 50 g ia ha⁻¹ foi mais consistente. Portanto optou-se pela utilização de 50 g ia ha⁻¹ para a realização do experimento à campo.

3.3.2 Experimento à campo

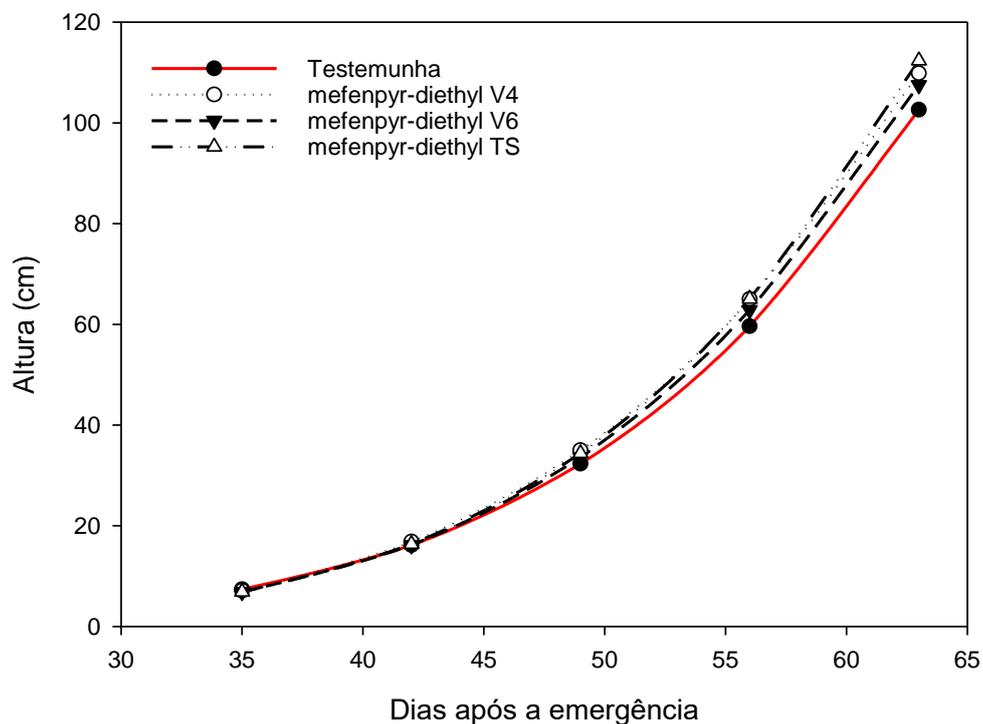
A análise conjunta do experimento à campo mostrou que interação dos tratamentos e da época não foi significativa para todas as variáveis (Tabela 2), ressaltando que os dados são similares independente das condições ambientais da safra. Assim, os resultados puderam ser apresentados pelas médias das duas safras, já que não há diferença entre elas.

Tabela 2. Resultado da análise conjunta para variáveis do experimento à campo. (Botucatu – SP safra 2019/2020 e 2020/2020).

Avaliação	Valor de F da interação
Ácumulo de altura	0,31 ns
Ácumulo do diâmetro de plantas	0,81 ns
Ácumulo da área foliar	0,92 ns
Ácumulo da massa seca	1,43 ns
Diâmetro da espiga	1,33 ns
Comprimento da espiga	1,02 ns
Número total de grãos	1,31 ns
Peso de 1000 grãos	2,70 ns
Produtividade	0,2 ns
Altura — 35 DAE	2,42 ns
Altura — 42 DAE	1,96 ns
Altura — 49 DAE	0,88 ns
Altura — 56 DAE	0,22 ns
Altura — 63 DAE	1,09 ns
Área foliar — 35 DAE	1,50 ns
Área foliar — 42 DAE	0,73 ns
Área foliar — 49 DAE	0,65 ns
Área foliar — 56 DAE	0,92 ns
Área foliar — 63 DAE	2,22 ns
Taxa de Assimilação — 56 DAE	0,77 ns
Transpiração — 56 DAE	1,77 ns
Eficiência do uso da água — 56 DAE	0,69 ns
Taxa de Assimilação — 63 DAE	0,65 ns
Transpiração — 63 DAE	0,20 ns
Eficiência do uso da água — 63 DAE	0,97 ns

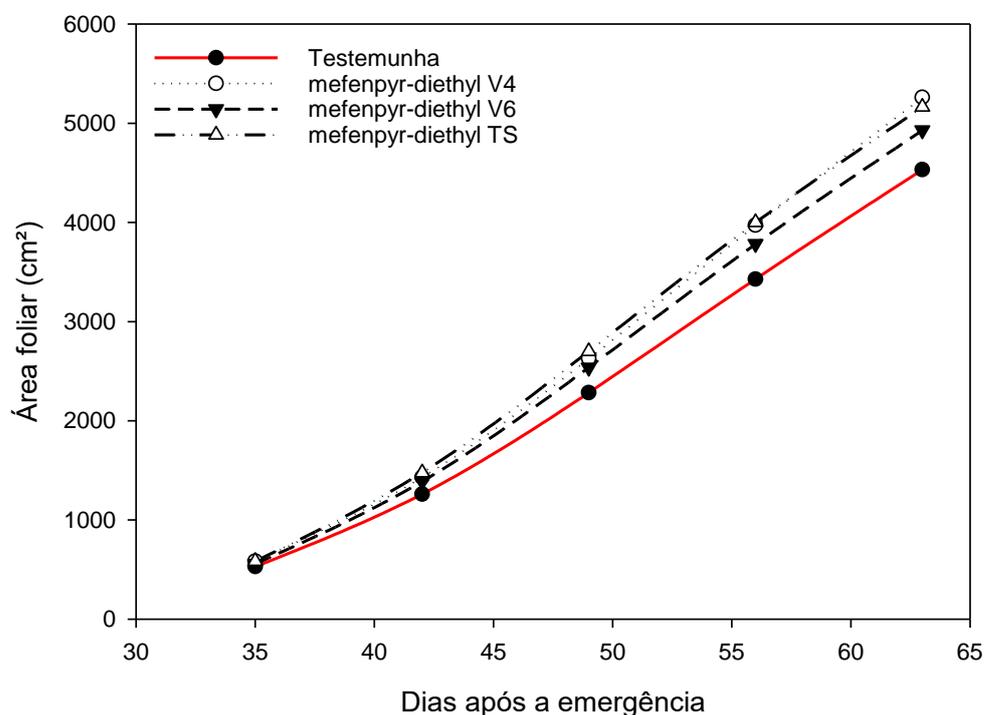
O uso de mefenpyr-diethyl proporcionou aumento na altura das plantas de milho, independente do momento da aplicação (TS — tratamento de sementes, V4 ou V6) quando comparado a testemunha. Nota-se que ao longo do desenvolvimento da cultura, a curva que representa a altura das plantas tratadas em V4, V6 e TS começam a apresentar maior distanciamento em relação a testemunha aos 50 DAE. Ao final das avaliações (63 DAE) todos os tratamentos apresentam altura superior a testemunha (Figura 3). O maior destaque ocorreu com o uso do produto no TS apresentando altura 9,8 % superior a testemunha.

Figura 3. Média de duas safras (2019/2020 e 2020/2020) de altura de plantas de milho ao longo do desenvolvimento com aplicação de mefenpyr-diethyl em diferentes estádios fenológicos (Botucatu-SP).



De maneira mais expressiva, a área foliar de plantas que obtiveram os diferentes tratamentos com mefenpyr-diethyl também foram superiores quando comparadas a testemunha. Houve destaque para o tratamento de sementes e para a aplicação em V4, sendo que aos 63 DAE ambos apresentaram superioridade acima de 15% de área foliar em relação a testemunha. A diferença para a testemunha ocorreu desde o início das avaliações, com indícios do estímulo para todas as plantas tratadas desde os 42 DAE (Figura 4).

Figura 4. Média de duas safras (2019/2020 e 2020/2020) de área foliar de plantas de milho ao longo do desenvolvimento, com aplicação de mefenpyr-diethyl em diferentes estádios fenológicos (Botucatu-SP).



De modo geral, pode-se constatar efeito estimulante para as variáveis altura e área foliar através do uso de mefenpyr-diethyl, independentemente do modo de aplicação. Contudo, os resultados foram superiores para o uso no TS e quando aplicado no estágio V4. Como a aplicação em V6 é a mais tardia, a intensidade do efeito estimulante do mefenpyr-diethyl é mais visível nas últimas épocas de avaliações (Figuras 3 e 4).

Neste sentido, para mensurar o real estímulo ocorrido entre o período de 35 a 63 DAE, foi realizada o cálculo do acúmulo das variáveis biométricas (altura, diâmetro e área foliar) mostrados na Tabela 3. Nas avaliações de acúmulo de altura e de diâmetro de plantas, o uso de mefenpyr-diethyl no TS promoveu efeito estimulante comparado à testemunha, atingindo 9% e 7% a mais do que a testemunha, respectivamente. Quando se analisa o acúmulo de área foliar, apesar de não apresentar diferença estatística significativa para o teste utilizado, a aplicação em V4 obteve a melhor média, com incremento de 11,5% comparado a testemunha.

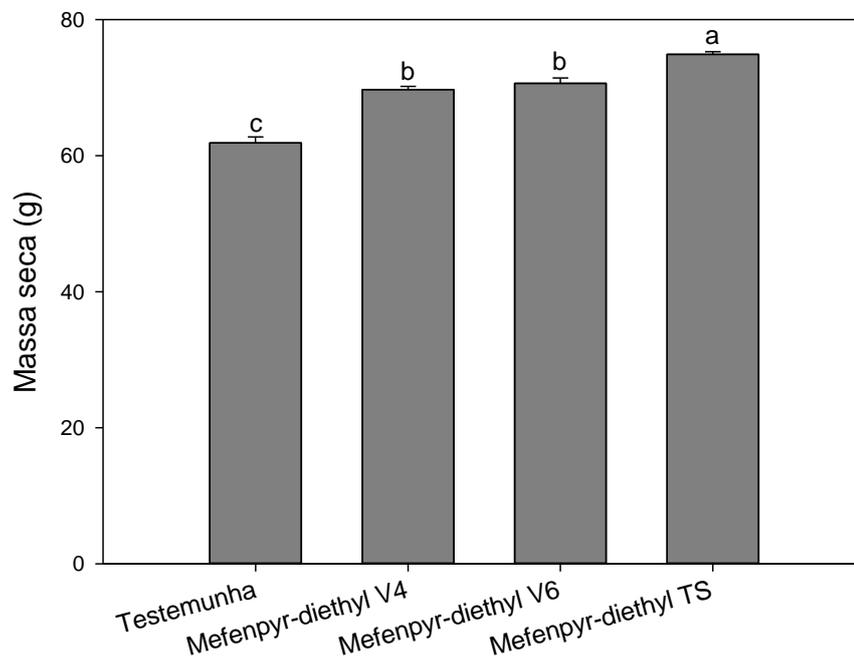
Tabela 3. Médias de duas safras (2019/2020 e 2020/2020) para o acúmulo de altura, diâmetro e área foliar aos 63 dias após a emergência, em diferentes estádios da cultura do milho em experimento à campo (Botucatu-SP).

Tratamentos	Acúmulo de Altura (cm)	Acúmulo de Diâmetro (cm)	Acúmulo de Área foliar (cm ²)
Testemunha	105,1 a	28,42 b	6129,6
Mefenpyr V4	112,9 ab	29,41 ab	6838,5
Mefenpyr V6	110,2 b	29,20 b	6274,6
Mefenpyr TS ¹	115 a	30,42 a	6826,8
<i>p</i>	0,0024	0,0236	0,14

¹TS: tratamento de sementes. Médias seguidas por diferentes letras na mesma coluna, diferem entre si pelo Teste t de Student, todas a nível de 5% ou 1% de significância

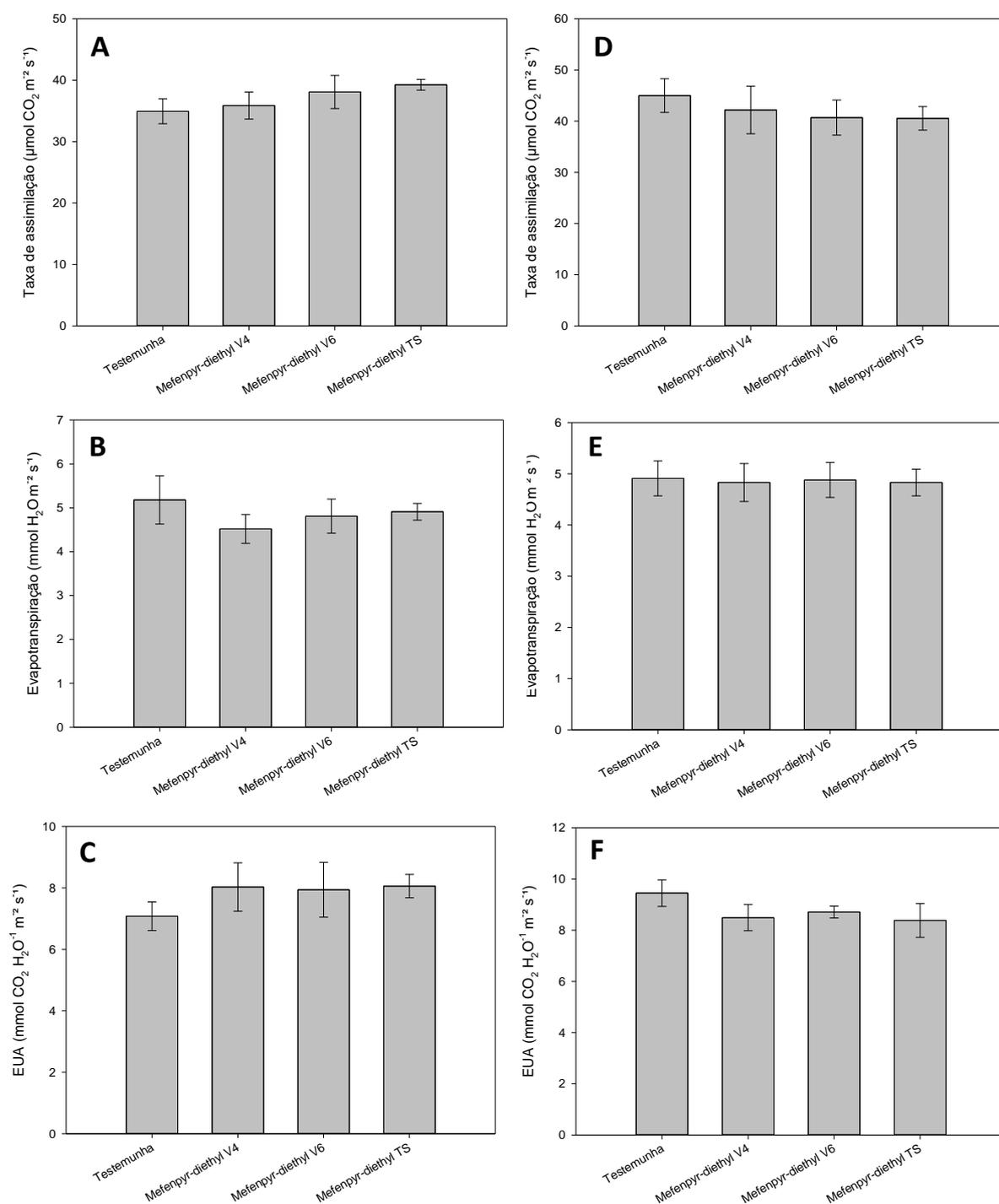
Assim como os aspectos anteriormente avaliados, o uso de mefenpyr-diethyl também aumentou a massa seca da parte aérea do milho em todos os tratamentos, diferenciando-se estatisticamente da testemunha. O estímulo ocorreu de maneira intensa quando o produto foi utilizado no tratamento de sementes com diferença de 21,1% em relação a testemunha. Para os tratamentos com aplicação em V4 e V6 o incremento foi em média 12 % superior (Figura 5).

Figura 5. Média de duas safras (2019 e 2020) de massa seca da parte aérea do milho aos 50 dias após a emergência (DAE). Médias seguidas por diferentes letras, diferem entre si pelo Teste t de Student. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. (Botucatu-SP).



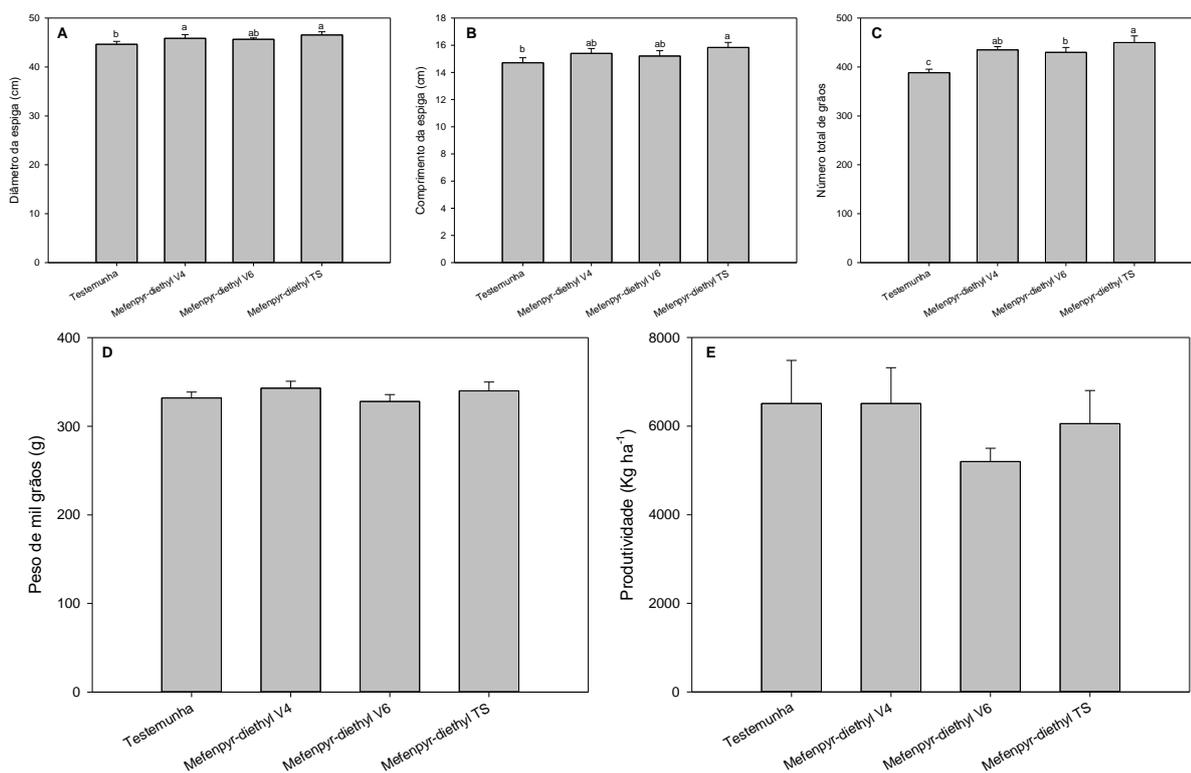
Tanto aos 35 DAE quanto aos 63 DAE o uso de mefenpyr-diethyl não afetou nenhum parâmetro fotossintético avaliado, sendo inferior ou igual a testemunha nos dois momentos de avaliação (Figura 6 B, D e F).

Figura 6. Média para duas safras (2019/2020 e 2020/2020) para a taxa de assimilação de CO₂, Transpiração e Eficiência do uso da água (EUA), aos 35 (A, C e E) e 63 (B, D e F) dias após a emergência (DAE) mensuradas na folha +1 de plantas das milho (Botucatu-SP). Médias seguidas por diferentes letras, diferem entre si pelo Teste t de Student.



Para os componentes produtivos, o número total de grãos, diâmetro e comprimento de espigas, obtiveram diferença estatística. Os melhores resultados foram observados principalmente para o tratamento com aplicação de mefenpyr-diethyl no tratamento de sementes, seguido da aplicação no estágio V4 (Figura 7 A, B e C).

Figura 7. Médias de duas safras (2019/2019 e 2020/2020) dos componentes de produção do experimento à campo. A- Diâmetro da espiga; B- Comprimento da espiga; C- Número total de grãos; D- Peso de 1000 grãos; E- Produtividade. Médias seguidas por diferentes letras, diferem entre si pelo Teste t de Student.



Embora tenha ocorrido diferença para o peso de mil grãos, pode-se notar que a aplicação de mefenpyr-diethyl em V4 e em TS obteve valor ligeiramente superior a testemunha (Figura 7 D). Para a produtividade (Figura 7 E), não houve diferença significativa entre os tratamentos, a testemunha e a aplicação de mefenpyr-diethyl apresentaram valores similares.

3.4 DISCUSSÃO

Em nosso estudo fica evidente a capacidade estimulante no milho a partir do uso de mefenpyr-diethyl. Tanto em aspectos biométricos, fotossintéticos, bem como em componentes de rendimento sempre houve incremento em alguma variável em pelo menos um dos tratamentos com mefenpyr-diethyl. Contudo, são escassos outros estudos que apontem essas características a partir do uso de *safeners*.

Como o intuito destas moléculas é verificar o efeito protetor contra a aplicação de herbicidas em plantas, a maioria dos artigos possuem o objetivo de avaliar injúria causada pelos químicos. Entretanto em diversos artigos, de maneira indireta, pode-se notar sua capacidade estimulante, principalmente em algumas características biométricas.

Em trigo o uso de mefenpyr-diethyl proporcionou incremento de 4,2% e 9% no peso fresco e seco da parte aérea em doses inferiores a utilizada em nosso estudo (TAYLOR *et al.*, 2013). Já em milho, o tratamento de sementes além do efeito estimulante em parte aérea também estimulou o desenvolvimento de raízes (BUBNOV *et al.*, 2018). Em estudo focando apenas na ação estimulante de mefenpyr-diethyl em plantas, Bianchi *et al.* (2021) observaram maior quantidade de perfilhos em trigo e alto incremento de massa seca em soja, em duas épocas avaliadas, atingindo 24% e 14% a mais do que a testemunha.

Em nosso estudo, tanto no experimento de casa-de-vegetação quanto à campo, observaram-se efeitos estimulantes em pulverização aérea após o estágio V3. Contudo, em casa-de-vegetação, o estágio V2 não apresentou esse efeito, mas à campo, o tratamento nas sementes obteve estímulo. Isso pode estar correlacionado ao ponto de crescimento do milho, que inicialmente se encontra a 2,5 e 4 cm abaixo da superfície do solo (V2) (MAGALHÃES; DURÃES, 2006; BONNETT, 1948). Como a área foliar em V2 é menor e a distância para o ponto de crescimento é maior, a translocação de mefenpyr-diethyl pode não ser suficiente para interferir nos processos de desenvolvimento do milho. Já para as sementes tratadas, é possível que o mefenpyr-diethyl atue diretamente em regiões meristemáticas presentes em sua fisiologia.

As razões para a obtenção desta resposta estimulante, ainda são pouco exploradas na literatura. Entretanto há uma alta gama de trabalhos demonstrando a atuação dos protetores na interferência enzimática de plantas, geralmente levando a uma maior atividade de enzimas responsáveis pela degradação ou conjugação de

herbicidas (DERIDDER *et al.*, 2002; PERSANS *et al.*, 2001; HOLT *et al.*, 1995). A existência da observação desses efeitos, se deve a atuação dessas substâncias em processos enzimáticos das plantas.

Essa ativação enzimática ocorre em função da expressão de genes de defesas das plantas, que são mediadas por diversos fatores envolvendo aspectos bióticos e abióticos (BERENS *et al.*, 2017; KACHROO, ROBIN, 2013). No caso de *safeners* as vias de sinalização que estão sendo discutidas recentemente envolvem as oxilipinas e as ciclopentenonas, as quais seriam responsáveis principalmente pelo aumento de enzimas detoxificantes, como a glutathione S-transferase (GSTs) e a citocromo P450 monooxigenase (RIECHERS, GREEN, 2017; RIECHERS, KREUS, ZHANG, 2010).

Não há estudos que apresentem características de expressão gênica envolvendo a aplicação de *safeners* no estímulo de plantas. Portanto avaliações cada vez mais precisas devem ser realizadas para elucidar estes gargalos. O processo fotossintético nas plantas é influenciado por diversos aspectos bióticos e abióticos, sendo o CO₂ e a água moléculas essenciais nesse contexto (TAIZ *et al.*, 2016). Uma maior taxa de assimilação de CO₂ com menor transpiração de água, significa maior acúmulo de hexoses com menor quantidade de água na planta. Em nosso estudo, o milho tratado com mefenpyr-diethyl demonstrou melhor aproveitamento de CO₂ aos 56 DAE, o que pode estar diretamente ligado as características de desenvolvimento das plantas, como altura de plantas, área foliar e massa seca.

3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de mefenpyr-diethyl afetou o crescimento das plantas de milho, estimulando parâmetros fotossintéticos, biométrico e produtivos. O efeito é variável conforme a dose, o estágio de aplicação do mefenpyr-diethyl e independente das condições ambientais.

A aplicação em sementes e no estágio V4 foram as que proporcionaram as melhores respostas em ambiente não controlado, atingindo maior massa de parte aérea, altura, área foliar, acúmulo de altura e com respostas em parâmetros produtivos.

REFERÊNCIAS

- BERENS, M. L. et al. Evolution of hormone signaling networks in plant defense. **Annu Rev Phytopathol**, Palo Alto, v. 55, p. 401-425, 2017.
- BIANCHI, L. et al. Stimulation action of mefenpyr-diethyl on soybean, wheat, and signal grass plants. **J Environ Sci Health B**, New York, v. 56, p. 163-167, 2021.
- BONNETT, O.T. Ear and tassel development in maize. **Ann Mo Bot Gard**, St. Louis, v. 35, p. 269-287, 1948.
- BUBNOV, Y.N., SPIRIDONOV, Y.Y., KUZNETSOV, N.Y. New growth regulators of corn based on N-mono-and N, N-bis-3-butenyldichloroacetamides. **Russ Chem Bull**, New York, v. 67, p. 345-358, 2018.
- CUMMINS, I. et al. Selective disruption of wheat secondary metabolism by herbicide safeners. **Phytochemistry**, London, v. 67, n. 16, p. 1722-1730, 2006.
- DAVIES, J.; CASELEY, J. C. Herbicide safeners: a review. **Pestic Sci**, London, v. 55, n. 11, p. 1043-1058, 1999.
- DERIDDER, B.P. et al. Induction of glutathione S-transferases in *Arabidopsis* by herbicide safeners. **Plant Physiol**, Lancaster, v. 130, p. 1497-1505, 2002.
- DERYCKE, V.; HAESAERT, G.; LATRÉ, J. Chemical weed control in triticale (x Triticosecale Wittmack): review of five years of field experiments. In: **65th International symposium on Crop Protection**, v. 78, n. 3, p. 671-680. 2013.
- DUARTE, A. P., CRUZ, J. **Manejo do solo e semeadura do milho safrinha**. In: Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso, Simpósio em Armazenagem de Grãos do Mercosul, Londrina p. 45-71, 2001.
- ELINGS, A. Estimation of leaf area in tropical maize. **Agron J.**, Madison, v. 92, p. 436-444, 2000.
- GOMPERTZ, B. On the Nature of the Function Expressive of the Law of Human Mortality, and on a New Mode of Determining the Value of Life Contingencies. **Phil. Trans. R. Soc.**, London, v. 115, p. 513–583, 1825.
- HOLT, D.C. et al. Characterization of the safener-induced glutathione S-transferase isoform II from maize. **Planta**. V. 196, p. 295-302, 1995.
- KACHROO, A.; ROBIN, G.P. Systemic signaling during plant defense. **Curr Opin Plant Biol.**, London, v. 16, p. 527-533, 2013.
- MACIEL, D.C. et al. Corn seed treatment with naphthalic anhydride against isoxaflutole phytotoxication action. *J. Food Agric. Environ.*, Helsinki, v. 10, p. 612-616, 2012.

MAGALHAES, P.C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia da produção de milho**. Embrapa Milho e Sorgo-Circular Tcnica (INFOTECA-E), 2006.

PERSANS, M. W., WANG, J.; SCHULER, M. A. Characterization of maize cytochrome P450 monooxygenases induced in response to safeners and bacterial pathogens. *Plant Physiol*, Lancaster, v. 125, p. 1126-1138, 2001.

RIECHERS D. E., GREEN M. G. Crop Selectivity and Herbicide Safeners: Historical Perspectives and Development, Safener-Regulated Gene Expression, Signaling, and New Research Directions, in: JUGULAM, M. **Biology, Physiology and Molecular Biology of Weeds**. CRC Press, Boca Raton, pp. 1-21. 2017.

RIECHERS, D. E., KREUZ, K. I., ZHANG, Q. Detoxification without intoxication: herbicide safeners activate plant defense gene expression. *Plant Physiol*, Lancaster v. 153, p. 3-13, 2010.

RUBIN, B.; CASIDA, J. E. R-25788 effects on chlorsulfuron injury and acetohydroxyacid synthase activity. *Weed Science*, Champaign, v. 33, n. 4, p. 462-468, 1985.

SCALLA, R.; ROULET, A. Cloning and characterization of a glutathione S-transferase induced by a herbicide safener in barley (*Hordeum vulgare*). *Physiol. Plant.*, Lund, v. 116, n. 3, p. 336-344, 2002.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**, sixth ed. Artmed, Porto Alegre, 2017, p. 843.

TAYLOR, V. L. et al. Protective responses induced by herbicide safeners in wheat. *Environ Exp Bot*, Oxford, v. 88, p. 93-99, 2013.

VELINI, E. D. **Estudos e desenvolvimento de métodos experimentais e amostrais adaptados a matologia**. 1995. Doctoral thesis, Jaboticabal, SP: Faculdade de Ciências Agrarias e Veterinarias. Universidade Estadual Paulista. 250 p., 1995.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de mefenpyr-diethyl não promoveu efeito de proteção suficiente aos herbicidas inibidores da ACCase em milho. Contudo seu uso isolado proporcionou incrementos em altura, área foliar e massa seca.

Em casa-de-vegetação, a melhor dose de mefenpyr-diethyl para a promoção de efeito estimulante foi 50 g ia ha⁻¹, variando em função do estágio aplicado e da avaliação

A utilização de mefenpyr-diethyl no tratamento de semente e a aplicação no estágio V4 levaram as melhores repostas obtidas à campo, atingindo os maiores valores de altura, área foliar, massa seca e componentes produtivos.

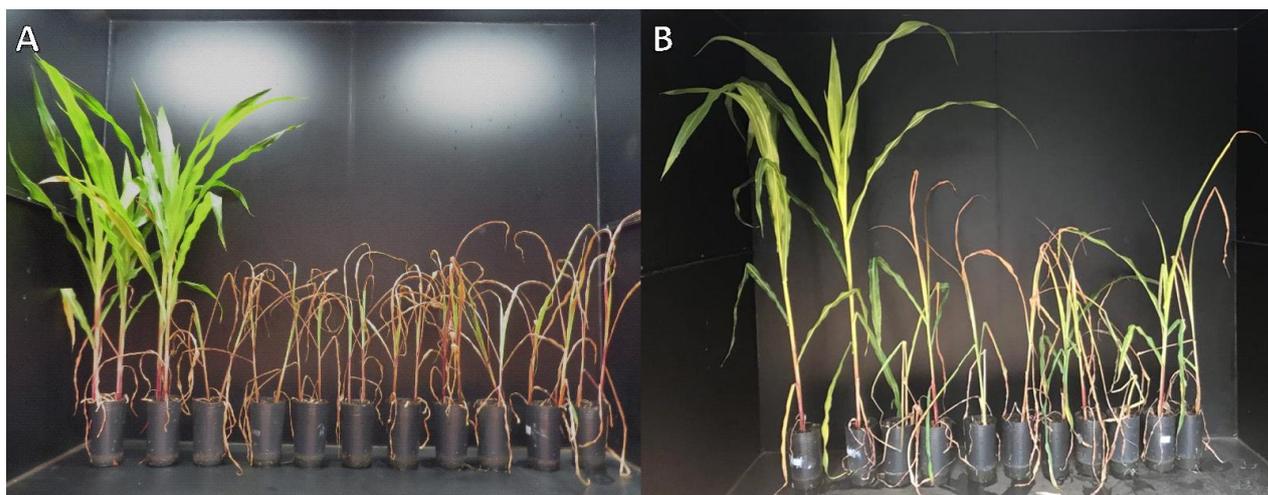
REFERÊNCIAS

- BIANCHI, L. et al. Stimulation action of mefenpyr-diethyl on soybean, wheat, and signal grass plants. **J Environ Sci Health B**, New York, v. 56, n. 2, p. 163-167, 2021.
- BUBNOV, Y. N.; SPIRIDONOV, Y. Y.; KUZNETSOV, N. Yu. New growth regulators of corn based on N-mono-and N, N-bis-3-butenyldichloroacetamides. **Russ Chem Bull**, v. 67, n. 2, p. 345-358, 2018.
- CUMMINS, I. et a. Selective disruption of wheat secondary metabolism by herbicide safeners. **Phytochemistry**, Oxford, n. 16, v. 67, p. 1722-1730, 2006
- DAVIES, J.; CASELEY, J. C. Herbicide safeners: a review. **Pestic Sci**, London, v. 55, n. 11, p. 1043-1058, 1999.
- DIAS, R. C. e t al. Efeito do selênio como protetor químico na seletividade inicial de herbicidas aplicados em pós emergência de *Urochloa decumbens*. **Revista Brasileira de Herbicidas**, Viçosa, v. 19, n. 2, p. 710-1-11, 2020.
- HATZIOS, K. K.; BURGOS, N. Metabolism-based herbicide resistance: regulation by safeners. **Weed Sci**, Champaign, v. 52, n. 3, p. 454-467, 2004.
- GALON, L. et al. Efficacy and phytotoxicity of herbicides applied for the handling of weeds that infest wheat. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 14, n. 2, p. 128-140, 2015.
- RIECHERS, D. E.; KREUZ, K.; ZHANG, Q. Detoxification without intoxication: herbicide safeners activate plant defense gene expression. **Plant Physiology**, Iowa, v. 153, n. 1, p. 3-13, 2010.
- TAYLOR, V. L. et al. Protective responses induced by herbicide safeners in wheat. **Environ Exp Bot**, New York, Elmsford, v. 88, p. 93-99. 2013.
- ZHANG, Y. Y. et al. Design, synthesis, and biological activity of novel diazabicyclo derivatives as safeners. **J Agric Food Chem**, Washington, v. 68, n. 11, p. 3403-3414, 2020.

Apêndice A – Aplicação de mefenpyr-diethyl em pulverizador automatizado em condições controladas.

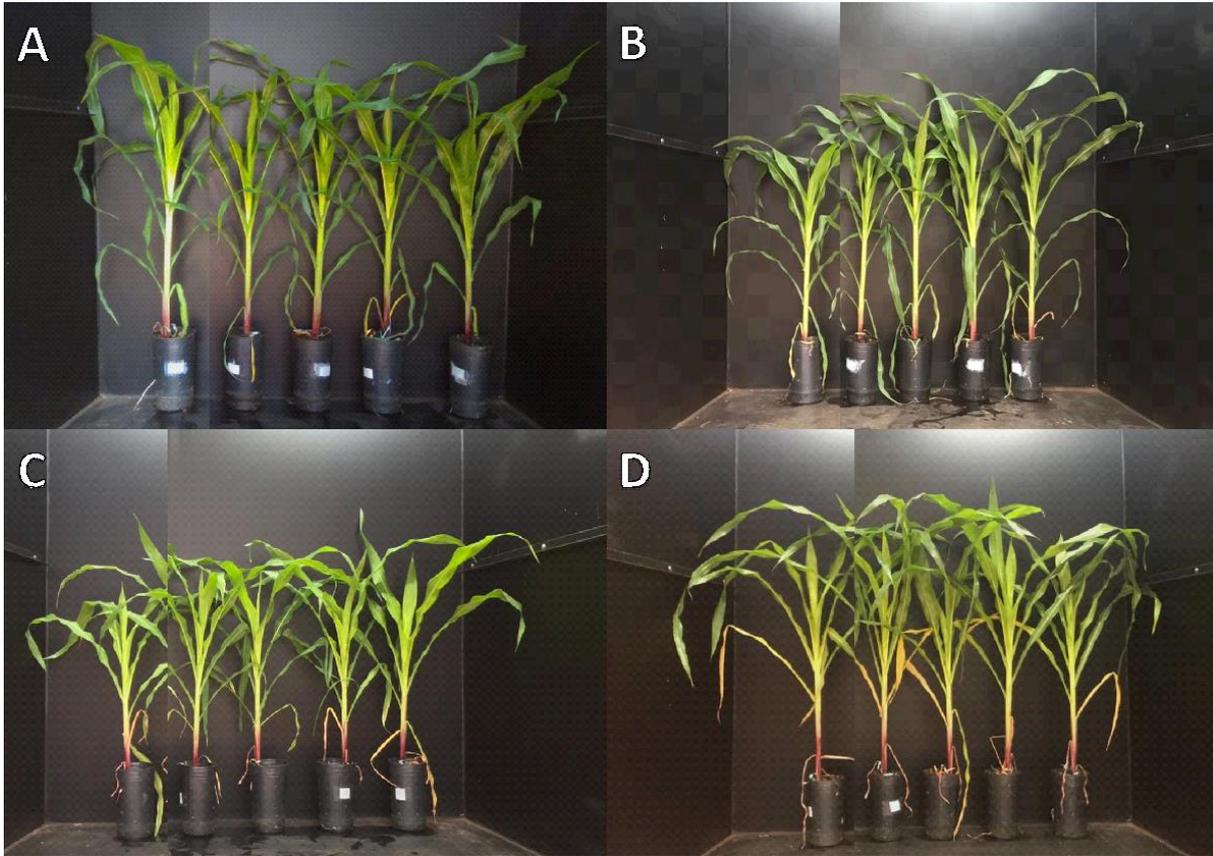


Apêndice B – Registro fotográfico aos 21 dias após aplicação do experimento de mefenpyr-diethyl como safener. A: 1ª época do experimento; B: 2ª época.



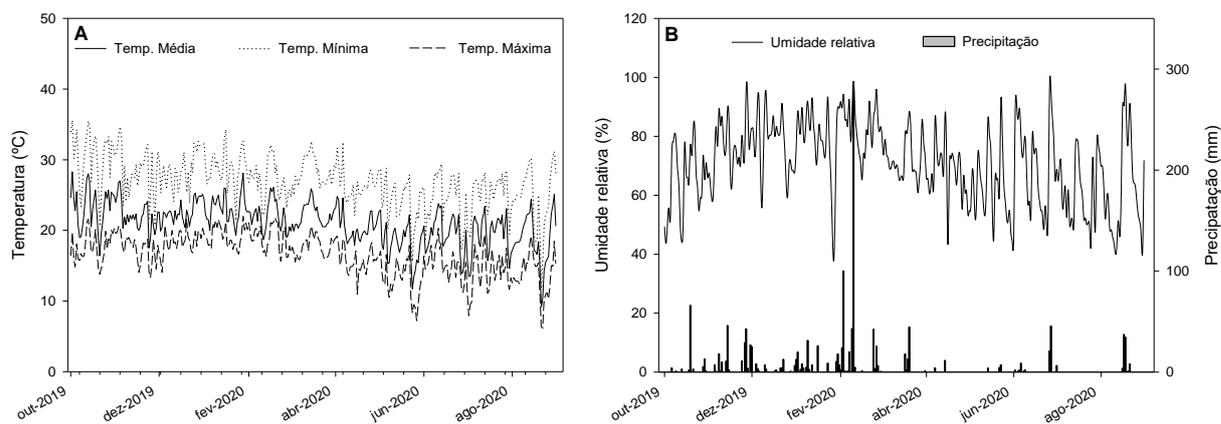
Direta para a esquerda os tratamentos são: Controle; mefenpyr-diethyl (50 g ia ha^{-1}); haloxyfop (62 g ia ha^{-1}); clethodim (108 g ia ha^{-1}); fenoxaprop (110 g ia ha^{-1}); mefenpyr-diethyl 5 DBA + haloxyfop ($50 + 62 \text{ g ia ha}^{-1}$); mefenpyr-diethyl 5 DBA + clethodim ($50 + 108 \text{ g ia ha}^{-1}$); mefenpyr-diethyl 5 DBA + fenoxaprop ($50 + 110 \text{ g ia ha}^{-1}$); mefenpyr-diethyl+ haloxyfop ($50 + 62 \text{ g ia ha}^{-1}$); mefenpyr-diethyl + clethodim ($50 + 108 \text{ g ia ha}^{-1}$); mefenpyr-diethyl + fenoxaprop ($50 + 110 \text{ g ia ha}^{-1}$).

Apêndice C – Registro fotográfico aos 21 dias após aplicação do experimento de mefenpyr-diethyl como estimulante. A: 1ª repetição V2; B: 1ª repetição V3; C: 2ª repetição V3; D: 2ª repetição V4.



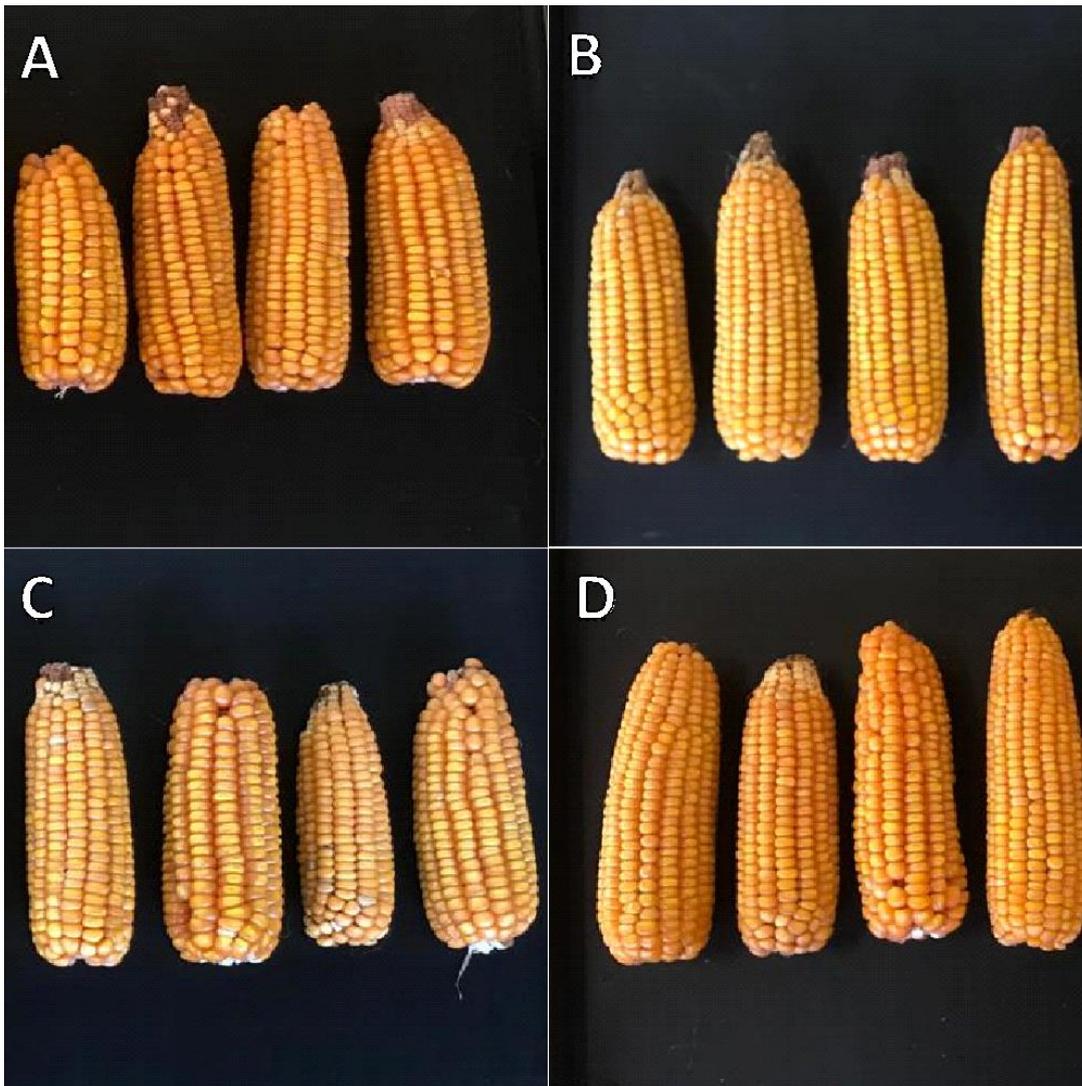
Direta para a esquerda os tratamentos são: doses crescentes de mefenpyr-diethyl: 0; 12,5; 25; 50; 100 g ia ha⁻¹.

Apêndice D – Condições climáticas presentes na safra e safrinha do experimento à campo. A- Temperatura; B- Umidade e precipitação.



B- A irrigação da área foi realizada em função da necessidade hídrica da cultura, levando em consideração a precipitação registrada.

Apêndice E – Espigas de milho safra 19/20. A: Testemunha; B: Aplicação em V4; C: aplicação em V6; D: Tratamento de sementes.



**Apêndice F – Parâmetros da curva dos-resposta referentes a Figura 1
(Capítulo 2).**

Parâmetros	Doses de mefenpyr-diethyl (g ia ha ⁻¹)				
	0	12,5	25	50	100
	Figura 1 A				
a	3,7923	3,4904	3,6615	3,4385	3,4814
b	-1,4515	-1,5305	-1,5529	-1,4989	-1,4807
c	0,0899	0,1178	0,1072	0,1200	0,1016
	Figura 1 B				
a	4,0816	3,5823	3,6199	3,6802	3,8108
b	-1,5479	-1,7777	-1,6953	-1,4990	-1,5946
c	0,0707	0,1158	0,1160	0,1065	0,1014
	Figura 1 C				
a	8,1784	8,1926	8,4775	8,1499	8,3564
b	-1,4530	-1,4817	-1,5678	-1,5265	-1,5208
c	0,0802	0,0725	0,0676	0,0826	0,0650
	Figura 1 D				
a	8,3369	8,7203	8,3122	8,2678	8,1777
b	-1,4895	-1,5722	-1,5111	-1,5142	-1,5156
c	0,0691	0,0591	0,0705	0,0744	0,0767

**Apêndice G – Parâmetros da curva dos-resposta referentes a Figura 2
(Capítulo 2).**

Parâmetros	Doses de mefenpyr-diethyl (g ia ha ⁻¹)				
	0	12,5	25	50	100
	Figura 2 A				
a	2,8549	3,1387	2,9878	3,0026	2,7747
b	-1,1593	-1,1328	-1,2574	-1,3339	-1,2400
c	0,1092	0,0881	0,1055	0,1150	0,1352
	Figura 2 B				
a	2,8302	3,0538	3,0323	3,0735	2,9201
b	-0,9760	-0,9965	-0,8511	-0,9252	-0,8945
c	0,1338	0,1010	0,1223	0,0970	0,1143
	Figura 2 C				
a	7,2029	7,3409	7,2789	7,3585	7,2780
b	-1,2480	-1,2589	-1,2701	-1,3068	-1,2940
c	0,1160	0,1070	0,1134	0,1029	0,1139
	Figura 2 D				
a	7,3235	7,3182	7,4071	7,3669	7,3608
b	-1,0559	-1,0867	-1,0106	-1,0781	-1,0400
c	0,1169	0,1194	0,1151	0,1219	0,1155

**Apêndice H – Parâmetros da curva dose-resposta referentes a Figura 3
(Capítulo 2)**

Parâmetros	Estádios do milho na aplicação de mefenpyr-diethyl			
	Testemunha	V4	V6	Tratamento de sementes
a	8,77	7,599	7,8808	7,993
b	-2,0369	-1,8966	-1,9391	-1,9577
c	0,1231	0,1664	0,155	0,1545

**Apêndice I – Parâmetros da curva dose-resposta referentes a Figura 4
(Capítulo 2).**

Parâmetros	Estádios do milho na aplicação de mefenpyr-diethyl			
	Testemunha	V4	V6	Tratamento de sementes
a	9,0261	9,1648	9,0216	9,0249
b	-1,3916	-1,414	-14053	-1,4068
c	0,3781	0,3861	0,4124	0,4301