

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

VARIABILIDADE DA TOLERÂNCIA À SUBMERSÃO EM *Echinochloa crus-galli*
E IMPLICAÇÕES PARA O SEU CONTROLE

Guilherme Menegol Turra
Engenheiro Agrônomo/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Área de concentração de sistemas de produção vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Fevereiro de 2022

CIP - Catalogação na Publicação

Menegol Turra, Guilherme
VARIABILIDADE DA TOLERÂNCIA À SUBMERSÃO EM
Echinochloa crus-galli E IMPLICAÇÕES PARA O SEU
CONTROLE / Guilherme Menegol Turra. -- 2022.
69 f.
Orientador: Aldo Merotto Junior.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2022.

1. Capim-arroz. 2. Tolerância à submersão. 3.
Resistência a herbicidas. 4. Expressão gênica. 5.
Irrigação. I. Merotto Junior, Aldo, orient. II.
Titulo.

GUILHERME MENEGOL TURRA
Engenheiro Agrônomo - UFRGS

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 24 de fevereiro de 2022
Pela Banca Examinadora

Aldo Merotto Jr.
Orientador
UFRGS

CARLA ANDRÉA DELATORRE
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

Catarine Markus
UFRGS

Carla Andréa Delatorre
UFRGS

Marcos André Nohatto
IFC-SRS

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de
Agronomia

Este trabalho é dedicado
aos meus pais José Antônio Turra e Rejane Menegol Turra e
a minha irmã Victoria Menegol Turra

AGRADECIMENTOS

Ao professor Aldo Merotto Junior, pela orientação, conselhos e ensinamentos e principalmente pela amizade. Tu és um exemplo pessoal e profissional.

À professora Catarine Markus por todos ensinamentos e amizade, e por aceitar prontamente fazer parte da banca avaliadora.

Aos meus pais José Antônio Turra e Rejane Menegol Turra e minha irmã Victoria Menegol Turra pelo apoio incondicional durante toda a minha trajetória. Obrigado por todo amor, incentivo e confiança em mim depositada.

Aos meus padrinhos Roberto e Cristiane por todo incentivo e carinho durante minha formação.

Aos amigos e colegas da pós-graduação do GUIHE Luan Cutti, Paula Angonese e Estéfani Sulzbach pelo companheirismo, auxílio e paciência.

Aos amigos da iniciação científica Filipi, Gabriel, Liana, Pedro e Vinícius pela amizade e ajuda nas atividades.

Aos amigos de faculdade Artur, Bruno, Filipe, Guilherme, Lucas, Miguel, Nelson, Mariá, Polyana, Rosiane e, em especial, Augusto Sassi, e Felipe Krause, por todos os aprendizados e momentos de amizade.

Aos amigos de vida Caio, Eduardo, Felipe, Fernando, Filipe, Frederico, Giulio, Guilherme, Gustavo, Henry, Leonardo, Brenda, Luciane, Tamires, Vitória e, em especial, Gabriel e Mateus pelos anos de amizade e boa convivência, e Carolina pelas sugestões e revisões.

Aos servidores técnico-administrativos do Departamento Plantas de Lavoura e do PPG Fitotecnia pelo auxílio. E aos funcionários da Universidade Federal do Rio Grande do Sul por fornecerem as condições de trabalho. Um abraço especial ao Sr. Valtemir.

Ao Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), em nome do Me. Carlos Mariot, pela parceria e cedência de espaço e material.

Aos professores Carla Delatorre e Marcos Nohatto por aceitarem compor a banca de avaliação e contribuir com o trabalho.

À sociedade brasileira e ao CNPQ pela bolsa de estudos durante o período do Mestrado.

"Research is to see what everybody has seen and think what nobody has thought."

(Albert Szent-Györgyi)

VARIABILIDADE DA TOLERÂNCIA À SUBMERSÃO EM *Echinochloa crus-galli* E IMPLICAÇÕES PARA O SEU CONTROLE¹

Autor: Guilherme Menegol Turra

Orientador: Prof. Aldo Merotto Jr.

RESUMO

O capim-arroz (*Echinochloa crus-galli*) é uma das principais espécies de plantas daninhas na lavoura de arroz. A evolução da resistência a herbicidas e da tolerância à submersão torna seu controle mais complexo. Os objetivos deste estudo são determinar o efeito da altura e do momento da entrada da lâmina de água, em interação com herbicidas pré-emergentes, no controle de capim-arroz com diferentes níveis de tolerância à submersão e padrões de resistência a herbicidas, e identificar genes potencialmente envolvidos na regulação da tolerância à submersão. Biótipos de capim-arroz tolerantes, moderadamente tolerantes e sensíveis à submersão foram selecionados com base em experimentos de curva lâmina-resposta conduzidos em casa de vegetação. Após, foi avaliada a expressão relativa de genes envolvidos nos processos de respiração anaeróbica e metabolismo de carboidratos, potencialmente ligados com a tolerância à submersão. Finalmente, foi realizado um experimento de campo para avaliar a interação de altura de lâmina, época de entrada de água e aplicação de herbicidas sobre biótipos com diferentes tolerâncias à submersão e mecanismos de resistência a herbicidas. As lâminas de água de 0, 7,5 e 12,5 cm foram selecionadas para o diagnóstico da tolerância à submersão e a variável altura de plantas como indicadora. A lâmina de 7,5 cm reduz, em média, 26,82% da altura de plantas após 28 dias sob condição de submersão. A partir do efeito dessas lâminas de água foram selecionados os biótipos com diferentes níveis de tolerâncias à submersão. Dos 45 biótipos avaliados, 43 superaram a lâmina de 7,5 cm e quatro tiveram a capacidade de superar a lâmina de 12,5 cm. A expressão relativa dos genes *ADH1*, *ADH2*, *PDC1*, *ALDH* e *SUS3* foi de 8 a 16 vezes maior para o biótipo tolerante MOST-51 em relação ao sensível, indicando similar importância destes genes em relação a cultura do arroz. No estudo de campo, a antecipação da irrigação para o estágio V2 resultou em aumentos de eficiência de controle que variaram de 0,6 a 55,6% para todos os biótipos avaliados, incluindo os que apresentavam resistência a herbicidas. Além disso, sem aplicação de herbicidas, a entrada de água em V2 reduziu o número de plantas do biótipo sensível de 14,4 para 1,25. A altura de plantas pode ser utilizada para discriminar biótipos em relação à tolerância à submersão e à expressão de genes responsáveis pelo metabolismo anaeróbico durante o crescimento inicial. O momento de entrada de água é mais importante que a altura da lâmina de água para o controle de capim-arroz. A antecipação da entrada de água na lavoura de arroz complementa o efeito dos herbicidas para o controle de biótipos de capim-arroz.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (69f.). Fevereiro, 2022.

SUBMERSION TOLERANCE VARIABILITY IN *Echinochloa crus-galli* AND IMPLICATIONS FOR WEED CONTROL¹

Author: Guilherme Menegol Turra

Adviser: Prof. Aldo Merotto Jr.

ABSTRACT

Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) is one of the most problematic weed species in paddy fields. The evolution of herbicide resistance and tolerance to submersion increases the difficulties for controlling this specie. The objectives of this study are to determine the effect of water depth and irrigation regime in interaction with pre-emergent herbicides on barnyardgrass control with different levels of submersion tolerance and herbicide resistance patterns, and to identify putative genes involved in the regulation of submersion tolerance. Tolerant, moderately tolerant and submersion-sensitive barnyardgrass biotypes were identified based on water depth-response curve experiments conducted twice in greenhouse. Afterwards, the relative expression of genes related with the processes of anaerobic respiration and carbohydrate metabolism, linked to submersion tolerance, was evaluated. A field experiment was carried out to evaluate the interaction of water depth, irrigation regime and herbicide application on biotypes with different submersion tolerances and herbicide resistance mechanisms. Water depths of 0, 7.5 and 12.5 cm were selected for the diagnosis of submersion tolerance and plant height as an indicator. The 7.5 cm depth reduces an average of 26.82% of plant height after 28 days under submersion condition. Based on the effect of these water depths, biotypes with different levels of flooding tolerance were selected. Out of the 45 biotypes evaluated, 43 and four overcame the water depths of 7.5 and 12.5 cm, respectively. The relative expression of *ADH1*, *ADH2*, *PDC1*, *ALDH* and *SUS3* genes was 8 to 16 times higher for the tolerant MOST-51 biotype than for the sensitive one, indicating a similar importance of these genes in relation to the rice crop. In the field study, the anticipation of irrigation to the V2 stage resulted in an increase up to 55.6% in the control of all biotypes evaluated, in comparison with irrigation at V4, including those that were resistant to herbicides. In addition, without herbicide application, the irrigation starting at V2 reduced the number of barnyardgrass plants of the susceptible biotype from 14.4 to 1.25. Plant height can be used to discriminate biotypes in relation to submersion tolerance and expression of genes responsible for anaerobic metabolism during early plant growth. The irrigation regime is more important than the height of the water depth for barnyardgrass control. The anticipation of the entry of water in the rice crop complements the effect of herbicides for the control of barnyardgrass biotypes.

¹ Master Dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (69p.). February, 2022.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objetivos gerais.....	2
1.2 Objetivos específicos.....	2
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Uso de lâmina de água para controle de plantas daninhas em arroz irrigado.....	3
2.2 Mecanismos de tolerância à submersão em plantas.....	5
2.3 Tolerância à submersão em capim-arroz.....	8
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Determinação do método de diagnóstico de biótipos de capim-arroz tolerantes à submersão durante a germinação e fases iniciais de crescimento.....	10
3.2 Seleção de fenótipos contrastantes quanto à tolerância à submersão.....	11
3.2.1 Confirmação de resultados.....	12
3.3 Expressão relativa de genes potencialmente envolvidos na tolerância à submersão em plantas de capim-arroz durante o crescimento inicial.....	12
3.3.1 Identificação dos genes candidatos e desenho dos primers.....	12
3.3.2 Condução, coleta do material vegetal e extração de RNA.....	15
3.3.3 Análise da expressão relativa dos genes potencialmente envolvidos na tolerância à submersão durante o crescimento inicial.....	15
3.4 Avaliação do efeito de alturas de lâmina e do momento de início de entrada de água no controle de capim-arroz após aplicação de herbicidas em pré-emergência em condições de campo.....	16
3.4.1 Local de execução e descrição dos tratamentos.....	16
3.4.2 Avaliações, coletas e análise de dados.....	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1 Determinação do método de diagnóstico de biótipos de capim-arroz tolerantes à submersão durante a germinação e fases iniciais de crescimento.....	20
4.2 Seleção de fenótipos contrastantes quanto à tolerância à submersão.....	25
4.2.1 Confirmação de resultados.....	32
4.3 Genes potencialmente envolvidos na tolerância à submersão em plantas de capim-arroz durante o crescimento inicial.....	34

	Página
4.3.1 Genes de referência.....	34
4.3.2 Genes alvo.....	34
4.4 Avaliação do efeito de momentos de entrada de água e alturas de lâmina de água no controle de capim-arroz após aplicação de herbicidas em pré-emergência em condições de campo.....	39
4.4.1 Avaliações aos 10 dias após a semeadura.....	39
4.4.2 Avaliações aos 50 dias após a semeadura.....	41
5 CONCLUSÕES.....	50
6 REFERÊNCIAS.....	51

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Área do experimento (A) e representação esquemática da parcela, subparcela e subsubparcela (B). IRGA, Cachoeirinha, RS, 2021.....	17
2. Porcentagem de germinação aos 28 dias após a semeadura dos biótipos de capim-arroz 398, ARRGR-01 e PALMS-01 submetidos a oito alturas de lâmina de água (cm). Barras verticais representam o intervalo de confiança ($\alpha = 0,05$).....	21
3. Altura (A), massa fresca (B) e massa seca (C) da parte aérea aos 28 dias após a semeadura dos biótipos de capim-arroz 398, ARRGR-01 e PALMS-01 sob oito alturas de lâmina de água (cm). Os pontos representam a média e as barras verticais o intervalo de confiança ($\alpha = 0,05$).....	22
4. Desenvolvimento dos biótipos de capim-arroz ARRGR-01 (A), 398 (B) e PALMS-01 (C) sob oito alturas distintas de lâminas de água (cm), aos 28 dias após a semeadura.....	23
5. Germinação (A), altura (B), massa fresca (C) e massa seca (D) da parte aérea de biótipos selecionados de capim-arroz 28 dias após a semeadura sob alturas 0; 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água. Letras minúsculas comparam cada biótipo entre as diferentes lâminas e letras maiúsculas comparam os biótipo dentro de cada lâmina de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As barras verticais representam o intervalo de confiança ($\alpha = 0,05$).....	33
6. Biótipos selecionados MOST-51, PALMS-01, SANTPAT-01, BAGE-01 e SAOJER-01, aos 28 dias após a semeadura sob alturas 0, 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água.....	33
7. Estabilidade dos genes endógenos (A) e expressão relativa dos genes <i>ADH1</i> (B), <i>ADH2</i> (C), <i>PDC1</i> (D), <i>ALDH</i> (E) e <i>SUS3</i> (F) de cinco biótipos selecionados de capim-arroz 24 horas após a germinação sob lâmina de 7,5 cm. Médias acompanhadas de * diferem estatisticamente do biótipo sensível SAOJER-01 de acordo com o teste-t ($p \leq 0,05$).....	35
8. Desenvolvimento de nove biótipos de capim-arroz aos 51 dias após a semeadura e entrada de água em estágio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm, em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2021/22.....	48
9. Rendimento de grãos de arroz resultante da entrada de água em estágio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm em condições de campo. Rendimento de grãos com letras iguais não diferente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Cachoeirinha, RS, 2020/21.....	49

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Identificação, nome e município de origem dos biótipos utilizados.....	11
2. Informações dos genes candidatos para avaliação da expressão relativa de genes envolvidos na tolerância à submersão em plantas de capim-arroz.....	13
3. <i>Primers</i> utilizados para análise da expressão relativa de genes potencialmente relacionados a tolerância à submersão.....	14
4. Ingrediente ativo, produto comercial e dose dos cinco herbicidas utilizados em dois anos do experimento em condições de campo.....	17
5. Descrição do ano de utilização, tolerância à submersão e padrão de resistência a herbicidas dos nove biótipos de capim-arroz utilizados no experimento de campo.....	18
6. Parâmetros da equação log-logística para as variáveis altura, massa fresca e massa seca da parte aérea 28 dias após a semeadura de três biótipos submetidos a diferentes alturas de lâmina de água.....	24
7. Germinação em relação à lâmina de 0 cm (%) de 45 biótipos de capim-arroz 28 dias após a semeadura sob alturas 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água em duas repetições de experimento.....	26
8. Altura da parte aérea (cm) de 45 biótipos de capim-arroz aos 28 dias após a semeadura sob alturas de 0, 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água em duas repetições de experimento.....	28
9. Massa fresca da parte aérea (g) de 45 biótipos de capim-arroz aos 28 dias após a semeadura sob alturas de 0; 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água em duas repetições de experimento.....	30
10. Massa seca da parte aérea (g) de 45 biótipos de capim-arroz 28 dias após a semeadura sob alturas 0; 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água em duas repetições de experimento.....	31
11. Eficiência de controle (%) de nove biótipos de capim-arroz aos 10 dias após a aplicação de cinco herbicidas em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.....	40
12. Número de plantas de nove biótipos de capim-arroz aos 10 dias após a aplicação de cinco herbicidas em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.....	41
13. Eficiência de controle (%) de nove biótipos de capim-arroz aos 50 dias após a aplicação de cinco herbicidas e entrada de água em estádio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.....	42

	Página
14. Número de plantas de nove biótipos de capim-arroz aos 50 dias após a aplicação de cinco herbicidas e entrada de água em estágio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.....	46
15 Massa seca da parte aérea (g) de nove biótipos de capim-arroz aos 50 dias após a semeadura e entrada de água em estágio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.....	48

1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de plantas daninhas é um dos principais fatores responsáveis pela redução da produtividade dos cultivos agrícolas. O capim-arroz (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) é uma das mais nocivas plantas daninhas da lavoura arrozeira. O controle dessa espécie é realizado majoritariamente através do método químico, com emprego de herbicidas. Outra técnica de controle que se destaca é a utilização de lâmina de água associada ao cultivo de arroz irrigado por inundação.

O uso continuado da lâmina de água favorece a seleção de plantas tolerantes ao alagamento. Plantas de capim-arroz naturalmente apresentam capacidade de suportar condições de baixa disponibilidade de oxigênio. Alterações no metabolismo e na morfologia são responsáveis pela adaptação de capim-arroz ao ambiente alagado. Enzimas relacionadas com rotas da respiração anaeróbia, como aldeído desidrogenase (ALDH), álcool desidrogenase (ADH) e piruvato descarboxilase (PDC), podem estar envolvidas no processo de tolerância à submersão em capim-arroz.

A evolução da tolerância à submersão dificulta o controle de *E. crus-galli*. Além disso, atualmente, está ocorrendo aumento da complexidade dos casos de resistência a herbicidas em plantas daninhas em relação a variações associadas à forma de aplicação e misturas dos herbicidas, além das suas interações com as práticas de manejo da lavoura, principalmente associadas ao início, altura e variabilidade da inundação. O conhecimento dos mecanismos envolvidos na tolerância à submersão e na resistência de capim-arroz a herbicidas é importante para entender essas variações e definir estratégias apropriadas para a prevenção e controle deste problema.

A variabilidade existente em populações de *Echinochloa crus-galli* e a consequente resposta diferencial à aplicação de herbicidas também é importante para o entendimento dos diferentes padrões de resistência e respostas a práticas de manejo da cultura do arroz. Desta forma, a definição de metodologia específica para o diagnóstico da tolerância à submersão,

bem como a determinação do efeito da inundação da lavoura de arroz, os mecanismos de tolerância à submersão, os mecanismos de resistência e a variabilidade associada a estes processos são etapas importantes para evolução do conhecimento científico e prático. A junção de estudos sobre essas interações podem permitir diagnósticos mais precisos sobre a evolução da ocorrência de tolerância à submersão e resistência a herbicidas em capim-arroz e aumento do número de casos de controle insatisfatório.

Com base nas informações e na problemática descritas acima, as hipóteses do presente estudo são de que existe variabilidade de capim-arroz quanto à tolerância à submersão e que este fator possui interação com a ocorrência de resistência a herbicidas e dificulta o controle desta planta daninha na lavoura de arroz.

1.1 Objetivos gerais

Determinar o efeito da altura e do momento da entrada da lâmina de água, em interação com herbicidas pré-emergentes, no controle de capim-arroz com diferentes níveis de tolerância à submersão e padrões de resistência a herbicidas, e identificar genes potencialmente envolvidos na regulação da tolerância à submersão.

1.2 Objetivos específicos

- i. Determinar o método de diagnóstico da tolerância à submersão em capim-arroz;
- ii. Avaliar o efeito de alturas de lâmina de água sobre a germinação e crescimento de biótipos de capim-arroz;
- iii. Analisar a variabilidade fenotípica e da expressão de genes potencialmente envolvidos na tolerância à submersão durante o crescimento inicial;
- iv. Determinar o efeito da altura de lâmina, época de entrada de água e aplicação de herbicidas no controle de biótipos de capim-arroz com diferentes níveis de tolerância à submersão e padrões de resistência a herbicidas em condições de campo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Uso de lâmina de água para controle de plantas daninhas em arroz irrigado

O cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) ocupa mais de 160 milhões de hectares em mais de 100 países (FAO, 2020). O uso de lâmina de água nesse cultivo se caracteriza como o método cultural e físico de controle de plantas daninhas mais eficiente e é utilizado nos sistemas de semeadura direta, pré-germinado e transplante (Rao *et al.*, 2007). Essa estratégia tem sido utilizada de forma eficiente no controle de plantas daninhas como *E. crus-galli*, *E. colona*, *Cyperus difformis*, *Cyperus iria* e *Fimbristylis miliacea* (Chauhan and Johnson, 2009; Estioko *et al.*, 2014) desde a domesticação da cultura do arroz. Em condições controladas, alturas de lâmina de água de 5 cm são capazes de controlar biótipos de arroz-daninho (Kaspary, 2018). A tolerância à submersão pela cultura do arroz caracteriza uma grande vantagem em relação às culturas de sequeiro, devido à facilidade de suprimento de água e também como forma de controle de plantas daninhas.

No sistema de semeadura direta o arroz é semeado em solo seco e a entrada de água ocorre, geralmente, no estágio vegetativo de quatro folhas completamente expandidas (V4). Esse sistema é caracterizado pela economia de água, trabalho e energia (Shekhawat, Rathore and Chauhan, 2020). Uma das grandes limitações do sistema de semeadura direta, em comparação aos demais, é a competição com plantas daninhas, principalmente gramíneas do complexo *Echinochloa* (Silva *et al.*, 2021). As perdas podem variar de 5 a 98%, dependendo do nível de infestação, cultivar e manejo adotados (Singh *et al.*, 2011; Mennan *et al.*, 2012). Cultivos sucessivos de arroz e a ausência de água no estabelecimento da lavoura agravam a problemática das plantas daninhas no sistema de semeadura direta (Chauhan and Johnson, 2010).

A livre difusão das moléculas de oxigênio (O₂) do ar até os órgãos das plantas e o solo é reduzida na água, fato que faz com que a condição de submersão completa reduza a

quantidade de O₂ nos tecidos vegetais (Rijnders *et al.*, 2000). A limitação das quantidades de O₂ (hipóxia) ou sua ausência completa (anóxia) interfere no processo de respiração e fotossíntese, e desencadeia uma série de alterações no metabolismo e anatomia das plantas (Perata and Alpi, 1993). Ocorre o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio como consequência do processo de inibição da cadeia de transporte de elétrons, onde o oxigênio é usado como aceptor final em concentrações normais de oxigênio (Santosa *et al.*, 2007). Após o estabelecimento da lâmina de água são relatadas alterações diferenciais em sementes em germinação, raízes e parte aérea (Pedersen; Perata; Voesenek, 2017), além de modificações no solo.

A condição de submersão causa alterações eletroquímicas no solo, aumentando a concentração de íons tóxicos, como ferro (Fe²⁺) e manganês (Mn²⁺) e gases, como sulfeto de hidrogênio (H₂S) (Voesenek and Bailey-Serres, 2015). Além disso, o alagamento pode aumentar as emissões de metano (CH₄) e óxido nitroso (N₂O) de plantas e do solo (Schindler *et al.*, 2020).

A expressão de genes envolvidos na mobilização de carboidratos e fermentação ocorre de forma mais acentuada nas raízes de *Arabidopsis thaliana*. Já genes envolvidos com o metabolismo de etileno são mais expressos na parte aérea (Hwang *et al.*, 2011). A razão de biomassa entre raiz e parte aérea é reduzida durante o estresse de alagamento. O maior investimento de energia no crescimento da parte aérea se deve ao alongamento (Chauhan and Johnson, 2011), com o objetivo de atingir a superfície da água e retomar os processos aeróbicos.

Nas raízes a depleção de oxigênio ocorre de forma mais rápida, pois há competição por O₂ com os microrganismos do solo. Em condição de hipóxia, rapidamente as reservas de carboidratos presentes nas raízes são utilizadas, e os processos alternativos de geração de energia (glicólise e fermentação) são ativados (Sauter, 2013). A condição de *déficit* de oxigênio também atrapalha o transporte de íons através das raízes, o que pode causar deficiências nutricionais (Colmer and Greenway, 2011).

Na parte aérea, a fina camada de ar mantida entre as folhas submersas e a água se torna uma barreira para as trocas gasosas, pela diminuição do gradiente de concentração entre planta e ambiente, dificultando e reduzindo a fotossíntese (Pedersen, Colmer and Sand-Jensen, 2013). Além disso, a quantidade de energia luminosa que chega até as folhas de plantas submersas é reduzida de forma exponencial à medida que se aumenta a altura de

lâmina de água (Colmer, Winkel and Pedersen, 2011), sendo afetada também por partículas em suspensão e matéria orgânica. Plantas não adaptadas a essas alterações são facilmente controladas.

O uso da água como ferramenta de controle de plantas daninhas está associado à domesticação do arroz, e isso caracteriza a importância dessa estratégia para a cultura. Porém, a coevolução com o estresse e o uso sucessivo de lâmina de água possibilitaram o surgimento de mecanismos de tolerância em algumas espécies de plantas daninhas, dificultando o seu controle. No Rio Grande do Sul, e em diversos outros locais de cultivo de arroz, a menor evolução da tolerância à submersão ocorreu de forma indireta associada ao pousio. A necessidade de controle de arroz-daninho através desta prática resultava no efeito também em outras plantas daninhas e na diminuição da pressão de seleção da tolerância à submersão. A recente disponibilização de cultivares de arroz tolerantes a herbicidas proporcionou o aumento dos cultivos contínuos (Avila *et al.*, 2021), resultando, assim, em retomada do efeito da água na evolução de características associadas à submersão nas plantas daninhas, principalmente em capim-arroz.

2.2 Mecanismos de tolerância à submersão em plantas

De maneira geral, durante a condição de submersão, genes envolvidos com a modificação da parede celular, fermentação e síntese de hormônios têm sua expressão aumentada, enquanto os genes envolvidos com degradação da parede celular, transporte de elétrons, fotossíntese e metabolismo secundário são menos expressos (Hsu and Tung, 2017). A capacidade de sobreviver às condições geradas pela submersão garante uma estratégia adaptativa para plantas, sendo que os mecanismos de tolerância à submersão atuam em diferentes fases de desenvolvimento.

O processo de germinação requer uma grande quantidade de energia, que, em condições normais (normóxia, $O_2 > 21\%$), advém da cadeia de transporte de elétrons e fotossíntese. Já em situação de hipóxia ou anóxia, essa energia é obtida por vias alternativas, como a respiração anaeróbica (Ray, Vijayan and Sarkar, 2016). A capacidade de germinação em condições de ausência de oxigênio ocorre em arroz através da manutenção da via glicolítica (Magneschi and Perata, 2009). O gene *RAmy3D*, responsável pela codificação da enzima α -amilase, tem sua expressão aumentada durante a germinação de cultivares de arroz tolerantes à submersão (Hsu and Tung, 2017). Essa enzima catalisa a mobilização de

carboidratos. Aliado a isso, a maior expressão do gene *SUS3* (*sucrose synthase-3*), que codifica a enzima responsável por catalisar a formação de UDP-glucose e frutose, favorece diversas rotas de síntese de carboidratos nas plantas (Fukao *et al.*, 2006).

A manutenção de rotas fermentativas para geração de ATP, em condições de baixa disponibilidade de O₂, também desempenha papel fundamental na tolerância ao estresse por alagamento (Ismail *et al.*, 2012). As enzimas envolvidas na eficiência de rotas metabólicas anaeróbias são álcool desidrogenase (ADH), lactato desidrogenase (LDH), piruvato descarboxilase (PDC) e aldeído desidrogenase (ALDH) (Magneschi and Perata, 2009). A última atua na detoxificação de acetaldeído gerado na via de síntese do etanol. Acessos de arroz cultivado capazes de germinar sob lâmina de água de 10 cm e atingir a superfície apresentaram maior conteúdo e atividade das enzimas ADH1, ALDH2a e ALDH2b em comparação com acessos sensíveis (Miro *et al.*, 2017). Em um processo complementar, o gene *OsBI2D1*, cuja proteína tem localização mitocondrial e é responsável por permitir o funcionamento da cadeia de transporte de elétrons mesmo em condições de hipóxia, demonstrou aumento de expressão quando avaliado em arroz tolerante à submersão (He, Zhang and Yang, 2014).

Durante o crescimento inicial, a manutenção energética via mobilização de reservas e utilização de rotas anaeróbias continua exercendo papel fundamental no desenvolvimento das plantas (Ismail *et al.*, 2012). Respostas dependentes da sinalização do etileno atuam na tolerância à submersão. A síntese de etileno promove a expansão celular e o crescimento através de processos mediados por giberelinas (Fukao *et al.*, 2006), induzindo também a maior utilização de carboidratos. O gene *OsTPP7*, que codifica para a enzima trealose-6-fosfato fosfatase (TPP), somente é expresso em cultivares de arroz tolerantes ao ambiente de hipóxia (Kretschmar *et al.*, 2015). Essa enzima é relacionada com a manutenção de açúcares para formação de energia e também com o maior alongamento do coleótilo (Loreti, van Veen and Perata, 2016). Mudanças estruturais, como o alongamento do coleótilo, tem o objetivo de alcançar a superfície da água e ativar as rotas aeróbias. Os genes *TUBA1* (*Tubulin alpha-1*) e *ADF4* (*Actin-depolymerizing factor 4*) podem estar relacionados com o alongamento do coleótilo de forma mais rápida e foram identificados atuando em arroz tolerante à submersão, sendo superexpressos em condição de anóxia (Sadiq *et al.*, 2011).

Os mecanismos que atuam durante as fases mais avançadas do desenvolvimento são muito variáveis. A formação de aerênquima, induzida por etileno e espécies reativas de oxigênio, possibilita a difusão de O₂ da parte aérea para as raízes (Yamauchi *et al.*, 2014). De forma concomitante, genes que codificam a hemoglobina não simbiótica *NSHBI* e auxiliam na difusão do oxigênio da parte aérea para as raízes, por meio da facilitação de rotas de respiração alternativa, também foram identificados em plantas expostas ao estresse de alagamento (Dordas, 2009). Outras estratégias envolvem a ação de genes responsivos ao etileno. O locus *SNORKEL* (*SK*) codifica dois fatores de transcrição induzidos por etileno, *SK1* e *SK2*, cuja expressão causa alongamento dos entrenós de forma constitutiva e sob condições de alagamento tem sua expressão aumentada (Hattori *et al.*, 2009). Porém, essa estratégia de escape somente é vantajosa se a planta consegue atingir a superfície da água rapidamente, porque o gasto energético atrelado a ela é alto (Voeselek and Bailey-Serres, 2015). Em contrapartida, linhagens de arroz foram identificadas com a superexpressão do gene *SUB1A* (*Submergence 1A*), que inibe o alongamento (Fukao *et al.*, 2006) e reduz o uso de reservas durante o período de submersão (Sasidharan and Voeselek, 2015), uma vez que a planta de arroz paralisa o crescimento, ou seja, torna-se quiescente, quando submergida (Perata, 2018).

Entre as plantas daninhas, os mecanismos de tolerância à submersão relacionados com os estágios iniciais de desenvolvimento cumprem papel importante nas características de invasibilidade e dificultam o seu controle. Estudos avaliando a tolerância à submersão em arroz-daninho (*Oryza sativa*) identificaram maior expressão dos genes *RAmy3D*, *OsTTP7*, *ADH1* e *ADH2* em biótipo tolerante à condição de alagamento (Kaspary *et al.*, 2020). A tolerância à submersão em *Cyperus rotundus* é atribuída à maior habilidade de manter altos teores de carboidratos solúveis, utilizados na geração de energia anaeróbica. O mecanismo responsável pela tolerância ao alagamento nessa espécie está associado com a atividade das enzimas ADH e PDC e através do controle do uso de carboidratos durante a germinação (Peña-Fronteras *et al.*, 2009). Para a espécie *Lepidium latifolium* a condição de submersão por apenas sete dias foi capaz de reduzir a biomassa total e alterar a razão entre raiz e parte aérea (Chen, Qualls and Miller, 2002).

Com a possibilidade de emergência, mesmo após a presença de lâmina de água, novos fluxos de plantas daninhas surgem com a cultura já estabelecida. Grande parte dos conhecimentos sobre a regulação da tolerância à submersão foram obtidos em arroz e

existem poucos estudos em outras plantas e em plantas daninhas. Trabalhos recentes baseados na técnica de associação ampla do genoma (Genome-Wide Associations – GWAS) em arroz revelaram novos genes candidatos ao processo de percepção da submersão e germinação anaeróbica. Grande parte dos genes candidatos estão relacionados com as rotas de regulação de giberelinas e ácido abscísico (Su *et al.*, 2021).

2.3 Tolerância à submersão em capim-arroz

O gênero *Echinochloa* é composto por mais de 50 espécies, sendo que *E. crus-galli*, *E. colona*, *E. phyllopogon*, *E. oryzoides*, *E. erecta* e *E. crus-pavonis* apresentam casos de resistência reportados no mundo, com maior importância para as 3 primeiras espécies (HEAP, 2022). No Rio Grande do Sul são frequentes as espécies *E. crus-galli*, *E. colona* e *E. crus-pavonis*, com destaque para a primeira espécie (Bortoly, 2013). O capim-arroz (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv) é uma espécie alohexaplóide que possui em seu genoma três cópias do gene *ALS* (Iwakami *et al.*, 2015; Guo *et al.*, 2017). Essa planta pertence à família Poaceae, da classe Liliopsida (monocotiledônea). *E. crus-galli* é classificada como planta autógama, com taxas de fecundação cruzada que podem atingir no máximo 5 % em plantas crescidas a 0,25 m de distância (Bagavathiannan and Norsworthy, 2014).

Diversas espécies do gênero *Echinochloa* já foram reportadas por apresentar capacidade de germinar em condições de submersão, embora os mecanismos não tenham sido bem elucidados (Pearce and Jackson, 1991; Zhang *et al.*, 1994; Fox *et al.*, 1995). Os métodos para determinação da tolerância à submersão foram estabelecidos para a espécie *Oryza sativa* (Kaspary, 2018), mas não foram explorados em capim-arroz. Em estudos com *E. crus-galli*, a presença de lâmina de água não foi capaz de impedir a germinação, apesar de reduzir o crescimento (Chauhan and Johnson, 2011). Nas Filipinas, plantas de capim-arroz apresentaram maior desenvolvimento e produção de sementes quando mantidas sob lâmina de água de 2 cm, em comparação com a condição aeróbia, ambas na ausência de competição (Chauhan and Abugho, 2013)

O metabolismo anaeróbico pode ser considerado a estratégia de tolerância à submersão mais eficiente em capim-arroz. Uma variedade de capim-arroz tolerante a submersão, *E. crus-galli* var. *formosensis*, apresentou maior atividade da via glicolítica e maior atividade da enzima ADH quando comparada com um genótipo sensível, indicando o

aumento da fermentação alcoólica (Morimoto and Yamasue, 2007). De forma semelhante, a condição de hipóxia foi capaz de induzir maior atividade da enzima ALDH na variedade de capim-arroz tolerante (Fukao, 2003). Essa enzima opera a detoxificação de compostos tóxicos gerados durante a fermentação alcoólica. Estudos envolvendo *E. crus-galli* e *E. colona* demonstraram que a atividade das enzimas ADH e PDC foi aumentada durante a condição de submersão em ambas as espécies, porém a enzima ALDH somente foi mais ativa em *E. crus-galli* (Estioko *et al.*, 2014).

A indução da dormência se caracteriza como uma estratégia de escape ao estresse causado pela submersão (Mollard, Insausti and Sánchez, 2007). Algumas plantas de *E. crus-galli* foram capazes de perceber sinais para a quebra de dormência mesmo em condições de hipóxia, o que permitiu sua rápida germinação após a retomada do ambiente aeróbio (Ogorek; Striker; Mollard, 2019). Mesmo percebendo a sinalização para quebra de dormência (luz no comprimento de onda vermelho e alteração da temperatura dia/noite) e recebendo escarificação, plantas de *E. crus-galli* consideradas tolerantes à submersão se mantiveram dormentes (Holguín *et al.*, 2020), indicando que a sinalização para germinação em condições de hipóxia é específica. Além disso, o processo de germinação em ambiente de submersão está sujeito a interferências ambientais, como o conteúdo de ácidos fúlvicos da matéria orgânica na água (Zhou *et al.*, 2021) ou gradiente de altitude (Liu *et al.*, 2021).

Os estudos apresentados acima foram realizados em estágios específicos de desenvolvimento, o que dificulta a inferência sobre a ocorrência e importância destes mecanismos de forma conjunta. No Brasil, existem relatos sobre a ocorrência de escapes crescentes de capim-arroz em condições de cultivos sucessivos de arroz no sistema pré-germinado. No entanto, a caracterização da tolerância à submersão em capim-arroz nestas condições não é conhecida. Essa informação é importante como forma de desenvolvimento de estratégias de prevenção e controle de capim-arroz que resultem na manutenção da eficiência da lâmina de água como ferramenta de controle de plantas daninhas na cultura do arroz.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Determinação do método de diagnóstico de biótipos de capim-arroz tolerantes à submersão durante a germinação e fases iniciais de crescimento

Os experimentos foram realizados em casa de vegetação climatizada, nas dependências da Faculdade de Agronomia da UFRGS, em delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial 3x7. O fator A foi composto por três biótipos de capim-arroz (PALMS-01, ARRGR-01 e 398) e o fator B compreendeu seis lâminas de água (2,5; 5; 7,5; 10; 12,5 e 15 cm acima do nível do solo) e uma testemunha com o solo saturado (lâmina de 0 cm). O número de repetições foi quatro e cada uma contou com 10 sementes. O experimento foi repetido duas vezes.

As sementes foram depositadas sobre a superfície do solo já umedecido, com leve pressão para proporcionar o contato solo-semente. Após a semeadura, uma tela de PVC com malha de 2 mm foi depositada sobre as sementes e fixada no solo, para evitar flutuação. A semeadura ocorreu em vaso plástico de 200 ml, perfurado na base, preenchido com solo (Planossolo, com 16% de argila, pH de 5,5 e teor de matéria orgânica de 1,3 %) oriundo de lavoura, adubado com 240 kg ha⁻¹ de N e 200 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e K₂O. Os vasos plásticos foram alocados dentro de bandejas, onde foi feito o controle da altura de lâmina de água, mantendo o nível desejado com adição diária de água. Os tratamentos com lâmina de água foram iniciados no dia da semeadura. Durante todo o experimento, as plantas foram mantidas em casa de vegetação climatizada com temperatura de 25°C ± 5.

As avaliações ocorreram aos 28 dias após a semeadura (DAS), com quantificação da germinação (%), altura da parte aérea (cm), massa fresca da parte aérea (MFPA, g) através do corte das plantas no nível do solo e pesagem e massa seca da parte aérea (MSPA, g), através da pesagem das plantas, após mantidas em estufa a 60° C até massa constante. A análise dos dados foi realizada através da análise de variância (ANOVA, p≤0,05) e quando verificada a interação entre os fatores, os dados foram submetidos à análise de regressão,

ajustados ao modelo log-logístico de três parâmetros. Os gráficos foram elaborados com auxílio do software SigmaPlot (v14.0).

3.2 Seleção de fenótipos contrastantes quanto à tolerância à submersão

Para a avaliação da variabilidade e seleção de biótipos de capim-arroz quanto à tolerância à submersão, o delineamento adotado foi completamente casualizado, em arranjo fatorial 45x3 com três repetições, cada uma composta por 10 sementes. O fator A foram 45 biótipos de capim-arroz (Tabela 1), oriundos de populações coletadas em lavouras de arroz do Rio Grande do Sul e que passaram por duas gerações de autofecundação. O fator B contou com as lâminas de 0; 7,5 e 12,5 cm acima do nível do solo. Estas alturas de lâmina de água foram escolhidas com base nas respostas discriminatórias no experimento 3.1. O experimento foi repetido duas vezes em casa de vegetação.

TABELA 1. Identificação, nome e município de origem dos biótipos utilizados

Ident.	Biótipo	Município de origem	Ident.	Biótipo	Município de origem
1	354	Arroio Grande	24	6.14	Santa Maria
2	376	Arroio Grande	25	6.15	Santa Maria
3	386	Cachoeira do Sul	26	6.2	Santa Maria
4	391	Cachoeira do Sul	27	6.3	Santa Maria
5	398	Cachoeira do Sul	28	6.4	Santa Maria
6	423	Agudo	29	6.9	Santa Maria
7	424	Agudo	30	SANTPAT-01	Sant. Ant. da Patrulha
8	435	Candelária	31	ARRGR-01	Arroio Grande
9	438	Candelária	32	BAGE-01	Bagé
10	10.1	Tapes	33	CAMAQ-01	Camaquã
11	10.2	Tapes	34	CAPL-01	Capão do Leão
12	15.1	Viamão	35	CAPV-01	Capivari do Sul
13	19.2	Itaqui	36	COLSP	São Paulo/SP
14	2.1	Pelotas	37	IRGA-02	Cachoeirinha
15	2.2	Pelotas	38	IRGA-04	Cachoeirinha
16	2.3	Pelotas	39	MOST-01	Mostardas
17	3.1	Camaquã	40	MOST-51	Mostardas
18	3.3	Camaquã	41	PALMS-01	Palmares do Sul
19	30.1	Santana do Livramento	42	PALMS-02	Palmares do Sul
20	34.1	Mostardas	43	RIOGR-01	Rio Grande
21	4.1	Cachoeira do Sul	44	SAOJER-01	São Jerônimo
22	5.2	Rio Pardo	45	VALVE-01	Vale Verde
23	6.12	Santa Maria			

A semeadura, o controle da lâmina de água e as avaliações foram realizadas de forma similar ao descrito no item 3.1. A análise dos dados foi realizada pela ANOVA ($p \leq 0,05$) e teste de comparação de médias (Scott-Knott, $p \leq 0,05$). A partir dos dados obtidos os biótipos foram classificados em 3 categorias distintas: sensível à submersão – não supera a lâmina de 7,5 cm; moderadamente tolerante – supera a lâmina de 7,5 cm, mas não supera a lâmina de 12,5 cm; e tolerante – supera a lâmina de 12,5 cm.

3.2.1 Confirmação de resultados

Para confirmação dos resultados, um segundo experimento foi realizado. Foram selecionados um biótipo sensível (SAOJER-01) e dois biótipos de cada categoria (BAGE-01 e SANTPAT-01 - moderadamente tolerantes e PALMS-01 e MOST-51 - tolerantes à submersão). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x3, sendo o fator A os biótipos selecionados e o fator B as lâminas de 0; 7,5 e 12,5 cm. Foram utilizadas três repetições compostas por 10 sementes cada, e o experimento foi conduzido duas vezes. A instalação, condução e avaliações do experimento ocorreram conforme descrito no item 3.1. Os dados foram submetidos à ANOVA, e quando significativo ($p \leq 0,05$), se realizou teste de comparação de médias (Tukey, $p \leq 0,05$).

3.3 Expressão relativa de genes potencialmente envolvidos na tolerância à submersão em plantas de capim-arroz durante o crescimento inicial

O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema unifatorial e quatro repetições. O fator foi composto pelos cinco biótipos de capim-arroz selecionados, sendo dois tolerantes (MOST-51 e PALMS-01), dois moderadamente tolerantes (SANTPAT-01 e BAGE-01) e um sensível à submersão (SAOJER-01).

3.3.1 Identificação dos genes candidatos e desenho dos primers

Os genes alvo foram obtidos de estudos anteriores em *Oryza sativa* (Fukao *et al.*, 2006; Hattori *et al.*, 2009; Ismail *et al.*, 2012; Estioko *et al.*, 2014; Kretzschmar *et al.*, 2015; Hsu and Tung, 2017; Miro *et al.*, 2017; sintetizados em Kaspary;Roma-Burgos; Merotto Junior, 2020). Os genes candidatos (TABELA 2) para a tolerância à submersão em capim-arroz foram: *Rice Alpha-amilase 3D (RAmy3D)*, *Sucrose Synthase 3 (SUS3)*, *Alcohol Dehydrogenase 1 (ADH1)*, *Alcohol Dehydrogenase 2 (ADH2)*, *Aldehyde Dehydrogenase*

(*ALDH*), *Pyruvate Decarboxylase 1 (PDC1)*, *SNORKEL 1 (SNK1)*, *SNORKEL 2 (SNK2)*, *Submergence 1A (SUB1A)*. Como genes endógenos de referência, utilizados para a calibração do método de expressão relativa, foram testados *GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)*, *28S (28S ribosomal RNA)*, *NCBP (nuclear cap binding protein)* e *RUB (RUBISCO)*. A ferramenta RefFinder (Xie *et al.*, 2012) foi utilizada para comparar os genes de referência quanto à estabilidade.

TABELA 2. Informações dos genes candidatos para avaliação da expressão relativa de genes envolvidos na tolerância à submersão em plantas de capim-arroz

Gene	Código GenBank ¹	Genoma	<i>E-Value</i> ²	Primer
<i>ADH1</i>	GU798037.1	A	3,0E-111	
		B	7,0E-108	
		C	3,0E-111	
	GU798047.1	A	2,0E-109	
		B	7,0E-113	
		C	7,0E-113	
	GU798048.1	A	3,0E-52	
		B	1,0E-55	
		C	6,0E-54	
	GU798049.1	A	1,0E-46	
		B	1,0E-45	
		C	3,0E-47	
<i>ADH2</i>	AB208538.1	A	7,0E-112	
		B	2,0E-108	
		C	3,0E-110	
	M36469.1	A	4,0E-105	
		B	9,0E-102	
		C	5,0E-104	
	AB208536.1	A	3,0E-110	
		B	7,0E-107	
		C	2,0E-108	
<i>PDC1</i>	U26660.1	A	0,0E+00	
		B	0,0E+00	
		C	0,0E+00	
	U07339.1	A	0,0E+00	
		B	0,0E+00	
		C	0,0E+00	
<i>ALDH</i>	AF162665.1	A	8,0E-85	
		B	2,0E-86	
		C	4,0E-88	
<i>SUS3</i>	D10418.1	A	1,0E-39	
		B	5,0E-38	
		C	5,0E-38	
<i>RAmy3D</i>	M59351.1			Não
<i>SUB1A</i>	KT766807.1			
<i>SNK1</i>	AB510478.1	Sem similaridade		
<i>SNK2</i>	AB510479.1	Sem similaridade		

¹NCBI. ²*Expect value*: probabilidade do alinhamento ocorrer ao acaso. *Rice Alpha-amilase 3D (RAmy3D)*, *Sucrose Synthase 3 (SUS3)*, *Alcohol Dehydrogenase 1 (ADH1)*, *Alcohol Dehydrogenase 2 (ADH2)*, *Aldehyde Dehydrogenase (ALDH)*, *Pyruvate Decarboxylase 1 (PDC1)*, *SNORKEL 1 (SNK1)*, *SNORKEL 2 (SNK2)*, *Submergence 1A (SUB1A)*.

Sequências nucleotídicas dos genes de referência e dos genes candidatos disponíveis no NCBI (National Center for Biotechnology Information, Maryland, USA) (Tabela 2) para *Oryza sativa* foram alinhadas com o genoma disponível para capim-arroz (Ye *et al.*, 2020), através da ferramenta BLASTn (NCBI). Quando mais de uma sequência do gene alvo estava disponível se realizou o alinhamento e geração de uma sequência consenso, através do programa BioEdit. A sequência consenso foi utilizada para realização do alinhamento BLAST no genoma do capim-arroz. A partir do alinhamento com o genoma foram identificadas possíveis regiões conservadas que serviram de molde para o desenho dos *primers* para amplificação dos genes *ADH1*, *ADH2*, *PDC1*, *ALDH* e *SUS3*. Os demais genes alvo *RAmy3D*, *SUB1A*, *SNK1* e *SNK2* não possibilitaram desenho de *primers*. Os *primers* foram desenhados com auxílio do programa Primer3Plus (Tabela 3).

TABELA 3. *Primers* utilizados para análise da expressão relativa de genes potencialmente relacionados a tolerância à submersão

Gene	Primer	Sequencia (5'-3')	Tm (°C)	Fragmento (bp)
<i>SUS3</i>	SUS3_1	F CAGGTTTATGCTGAGCGACA	60,0	91
		R CAGCTCAACCAGACCAGTCA	60,0	
<i>ADH1</i>	ADH1_1	F ATCTGCTCCGGATCAACACT	59,7	174
		R CTTTATCAAGGGGAGCCACA	60,1	
<i>ADH2</i>	ADH2_1	F TGCCTTAGGGTTGATCTTGG	60,1	189
		R TGCAAGTCAGAGGAGAGCAA	59,9	
<i>ALDH</i>	ALDH_1	F AGTCTGGGTGAACTGCTTCG	60,4	142
		R GTTCTTGAGAGGGGTGACCA	60,2	
<i>PDC1</i>	PDC1_1	F ACCCGTACTGCATCTGGAAC	60,0	171
		R GGTTCAACTGCCAGAAGCTC	60,0	
<i>GAPDH</i>	GAPDH_1	F TGGAATTGCTTTGAACGACA	60,2	99
		R AAGATGTGGCGGATCAGGT	60,5	
<i>28S¹</i>	28S	F CTGATCTTCTGTGAAGGGT	-	250
		R TGATAGAACTGCTAATGGGC	-	
<i>CAP²</i>	CAP	F GGAGTATGAAACCAAGGATACTG	-	100
		R GTTGTCCATGTACCAGTAGAAGA	-	
<i>RUB²</i>	RUB	F CTCCAGGGAAGATGCTGAAG	-	100
		R CTTGAAAGCCCAATCAAAA	-	

Sucrose Synthase 3 (SUS3), *Alcohol dehydrogenase 1 (ADH1)*, *Alcohol Dehydrogenase 2 (ADH2)*, *Pyruvate Decarboxylase 1 (PDC1)*, *Aldehyde Dehydrogenase (ALDH)*, *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)*, *28S ribosomal RNA (28S)*, *nuclear cap binding protein (NCBP)* e *RUBISCO (RUB)*. F:forward, R: reverse. pb: pares de bases. TM: temperatura de melting. ¹(Delhaize *et al.*, 2004), ²(Duhoux and Délye, 2013).

3.3.2 Condução, coleta do material vegetal e extração de RNA

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento automatizada (ATC-40, Conviron Chambers, Canada), sob temperatura diurna de 25°C e noturna de 20°C, com fotoperíodo ajustado para 14 horas de luz e 10 de escuro, e umidade relativa média de 85%. A semeadura de 5 g de sementes de cada biótipo foi realizada em recipientes plásticos de 1000 ml, preenchidos com 200 ml de solo nas mesmas condições descritas para 3.1. Logo após a semeadura as sementes foram cobertas por lâmina de água de 7,5 cm, a mesma utilizada nos demais experimentos, para garantir a condição de hipóxia. 24 horas após o início da germinação (determinado pela emissão da radícula) foram coletadas 15 sementes contendo coleótilo e raiz que compuseram uma repetição. O número de repetições coletada foi quatro. O material coletado foi congelado imediatamente em nitrogênio líquido e armazenado a -80 °C para conservação do RNA. A extração de RNA foi realizada através de protocolo Concert[®] Plant RNA Reagent (Invitrogen, ThermoFisher Scientific). Após extração, o RNA foi quantificado através de espectrofotometria (Libra S80, Biochrom). As amostras foram purificadas através de protocolo da enzima DNase I (Invitrogen, ThermoFisher Scientific). A síntese de cDNA ocorreu através do protocolo da enzima Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (M-MLV RT, Invitrogen, ThermoFisher Scientific), visando a concentração final de 50 ng μl^{-1} de cDNA.

3.3.3 Análise da expressão relativa dos genes potencialmente envolvidos na tolerância à submersão durante o crescimento inicial

A amplificação do cDNA foi realizada através de RT-qPCR, com equipamento termociclador QuantStudio 3 (ThermoFisher Scientific) e placa de 96 poços. Foram utilizadas três repetições biológicas e cada uma delas contou com três replicatas técnicas. A reação foi composta por mix preparado em laboratório com concentração final de PCR buffer (1 x), MgCl_2 (3 mM), dNTP (0,2 mM), SYBR[®] Green (0,1 x), ROX[®] (0,5 μM), Taq Platinum[®] (0,5 U), *primer* F+R (0,4 μM) e volume final ajustado com água livre de RNase. O cDNA foi utilizado em diluição final de 1:10. A reação foi composta por 7,5 μL de mix e 7,5 μL de cDNA, totalizando 15 μL . Em todas as placas foi adicionado um controle negativo de 7,5 μL de mix e 7,5 μL de água livre de RNase, para comprovar a ausência de contaminação. A amplificação foi realizada com o padrão de 50 °C por 1 minuto, 95 °C por 10 minutos, seguidos por 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos, 64 °C por 30 segundos e 72°C

por 30 segundos para todos os *primers* e amostras. Ao final dos ciclos foi realizada a etapa de curva de dissociação, com 95 °C por 15 segundos, 60 °C por 1 minuto e 95 °C por 15 segundos, para verificar a especificidade do produto amplificado.

A análise de expressão relativa foi realizada através do método $\Delta\Delta C_t = (C_t \text{ alvo} - C_t \text{ endógeno}) - (\text{média do } C_t \text{ calibrador})$ (Dussault and Pouliot, 2006), sendo o $\Delta\Delta C_t$ a expressão relativa do gene, e a aplicação do resultado em $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ fornece a dimensão de variação. O gene *GAPDH* foi utilizado como endógeno de referência. O biótipo sensível (SAOJER-01) foi usado como calibrador. Os dados foram verificados quanto a normalidade de acordo com o teste de Shapiro-Wilk ($p \leq 0,05$). Os biótipos moderadamente tolerantes e tolerantes foram comparados um a um com o biótipo sensível através do teste t ($p \leq 0,05$).

3.4 Avaliação do efeito de alturas de lâmina e do momento de início de entrada de água no controle de capim-arroz após aplicação de herbicidas em pré-emergência em condições de campo

3.4.1 Local de execução e descrição dos tratamentos

O experimento foi realizado em área experimental do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), em Cachoeirinha – RS, nas safras de verão de 2020/21 e 2021/22, com irrigação por lâmina de água. O solo do local é classificado como planossolo, com 16% de argila, pH de 5,5 e teor de matéria orgânica de 1,3 %. A área do estudo estava sem utilização por no mínimo cinco anos, sendo realizada apenas roçadas eventualmente.

O estudo foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas (Figura 1A) e quatro repetições. O fator A foi denominado de irrigação e alocado na parcela principal e consistiu em quatro níveis: 1) inundação da área em estágio V2 com lâmina de água de 5 cm; 2) inundação da área em estágio V2 com lâmina de água de 15 cm; 3) inundação da área em estágio V4 com lâmina de água de 5 cm; 4) inundação da área em estágio V4 com lâmina de água de 15 cm. Na subparcela (Figura 1B) foi alocado o fator B, composto por cinco herbicidas (Tabela 4), aplicados em pré-emergência, mais uma testemunha sem aplicação. Na subdivisão foram semeados manualmente 8 biótipos de capim-arroz (Tabela 5). As unidades experimentais do fator A corresponderam a parcelas de 4 x 18 m, do fator B a subparcelas de 1,52 x 5 m e do fator C a subdivisões de 0,5 m lineares

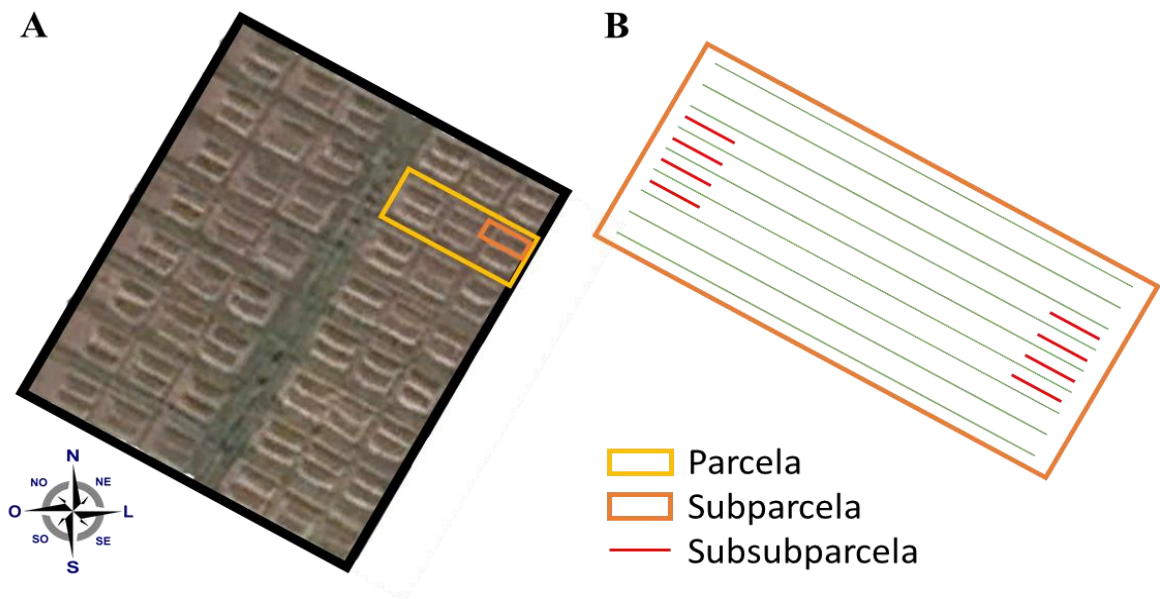


FIGURA 1. Área do experimento (A) e representação esquemática da parcela, subparcela e subsubparcela (B). IRGA, Cachoeirinha, RS, 2021.

TABELA 4. Ingrediente ativo, produto comercial e dose dos cinco herbicidas utilizados em dois anos do experimento em condições de campo.

Ingrediente ativo	Produto Comercial	Dose (g ha ⁻¹)
Imazapir + imazapic	Kifix (525 + 175 g kg ⁻¹ , WG, BASF)	73,5 + 24,5
Penoxsulam	Ricer (240 g L ⁻¹ , SC, CORTEVA)	72,0
Quincloraque	Facet (500 g kg ⁻¹ , WP, BASF)	375,0
Pendimetalina	Prowl H2O (455 g L ⁻¹ , CS, BASF)	1.365,0
Clomazone	Gamit 360 (360 g L ⁻¹ , CS, FMC)	252,0

Em ambos os anos a área foi preparada através de aração, duas gradagens e nivelamento. Nas parcelas dos tratamentos de altura de lâmina de água de 15 cm as taipas foram construídas com reforço de volume de solo para permitir o acondicionamento de água na altura desejada. A cultivar de arroz utilizada (IRGA 431 CL) foi semeada com densidade de 80 kg ha⁻¹ e espaçamento entre linhas de 0,17 m. A adubação de base foi de 400 kg ha⁻¹ de fórmula comercial 4-17-27 (N-P-K). Após a semeadura da cultura, a área recebeu a aplicação de glifosato na dose de 1080 g ha⁻¹, através de equipamento costal motorizado com pontas de pulverização TTI 110015 e largura de barra de 2 m calibrado para volume de calda de 150 L ha⁻¹. A semeadura ocorreu em 08 de dezembro em 2020 e 03 de novembro em 2021. Um dia após a semeadura (DAS) da cultura, cada biótipo foi semeado na entrelinha do arroz, em faixa de 0,5 m de comprimento no início e no fim de cada subparcela, objetivando-se a emergência de 20 plantas. A semeadura dos biótipos ocorreu apenas em

uma faixa da subparcela, possibilitando que o fluxo natural de capim-arroz também seja avaliado quanto ao tratamento herbicida e lâmina de água. No ano de 2020 a área foi irrigada até a saturação do solo (banho) aos 2 DAS da cultura, em 2021 a área recebeu precipitação natural de 8,6 mm 1 DAS da cultura.

TABELA 5. Descrição do ano de utilização, tolerância à submersão e padrão de resistência a herbicidas dos nove biótipos de capim-arroz utilizados no experimento de campo.

Biótipos	Ano de utilização	Tolerância à submersão ¹	Restistência a herbicidas ²	Mecanismo de resistência ²
ARRGR-01	20/21	Moderado	Imazapir + imazapic Quincloraque	Mutação ALS Ser653Asn
BAGE-01	20/21 e 21/22	Moderado	Imazapir + imazapic	Mutação ALS Ala122Thr
CAMAQ-01	20/21 e 21/22	Moderado	Imazapir + imazapic Penoxsulam	Mutação ALS Trp574Leu
CAPV-01	20/21 e 21/22	Moderado	Imazapir + imazapic Penoxsulam Quincloraque	Mutação ALS Trp574Leu e Ala122
MOST-01	20/21 e 21/22	Moderado	Suscetível	
MOST-51	20/21 e 21/22	Tolerante	Imazapir + imazapic Penoxsulam Quincloraque	Mutação ALS Trp574Leu
PALMS-01	20/21 e 21/22	Tolerante	Imazapir + imazapic	Mutação ALS Ser653Asn
SANTPAT-01	20/21 e 21/22	Moderado	Imazapir + imazapic Penoxsulam	Mutação ALS Ala205
SAOJER-01	21/22	Sensível	Imazapir + imazapic Penoxsulam Quincloraque	Mutação ALS Trp574Leu

¹ De acordo com os resultados obtidos no item 4.2. ² Com base em Matzenbacher *et al.*, 2014; Dalazen; Markus; Merotto Junior, 2018; Cutti *et al.*, 2021 e dados não publicados.

A aplicação dos herbicidas foi realizada 3 DAS da cultura às 6:00 (BRT, UTC - 3:00), com pulverizador costal pressurizado com CO₂, ponta de aplicação DG 110015, regulado para aplicação de 150 L ha⁻¹ de volume da calda. No momento da aplicação a velocidade do vento era de 3 e 4 km h⁻¹ e temperatura de 25 e 23,6 °C em 2020 e 2021, respectivamente, e umidade relativa do ar superior a 70%.

A entrada de água, com as respectivas alturas de lâmina de água, ocorreu nos estádios de V1/V2 e V4/V5, conforme cada tratamento. O tratamento com lâmina de água de 15 cm iniciou com 7 cm e foi aumentando conforme o crescimento da cultura. A manutenção das lâminas de água foi realizada através do aporte de água com base em estacas

graduadas localizadas em cada subparcela. Durante o período de cultivo foram realizadas duas aplicações de 50 kg de N ha⁻¹ nos estádios de V4 e R1. O monitoramento de pragas e doenças não indicou a necessidade de tratamentos fitossanitários em ambos os anos do experimento.

3.4.2 Avaliações, coletas e análise de dados

As avaliações realizadas foram de eficiência de controle (%), de forma visual, utilizando escala de 0 a 100%, aos 10 e 50 dias após a aplicação (DAA), e número de plantas, através da contagem de plantas vivas aos 10 e 50 DAA. Na avaliação aos 50 DAA foi realizada coleta de uma planta de cada subsubparcela para determinação da MSPA, como descrito em 3.1, e foram obtidas imagens das plantas de capim-arroz. O rendimento de grãos (kg ha⁻¹) foi determinado para o primeiro experimento, realizado na safra de 2020/21, através da colheita de 3,5 m² de cada subparcela. O rendimento de arroz foi corrigido para umidade de 13% e extrapolado para kg ha⁻¹. Os dados foram submetidos à ANOVA, e quando significativo ($p \leq 0,05$), foi realizado teste de comparação de médias (Tukey, $p \leq 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação do método de diagnóstico de biótipos de capim-arroz tolerantes à submersão durante a germinação e fases iniciais de crescimento

De acordo com a ANOVA, não foram verificadas diferenças significativas entre as duas rodadas do experimento ($p \leq 0,05$) e os dados foram analisados de forma conjunta. A germinação dos biótipos de capim-arroz não foi afetada ($p \geq 0,05$) pelas diferentes alturas de lâmina de água (Figura 2). Mesmo a altura de lâmina de água de 20 cm não interferiu na ativação dos processos necessários para a germinação, e a mesma ocorreu de forma similar à condição de solo saturado (lâmina de 0 cm) (Figura 2). Nessas condições, *E. crus-galli* foi capaz de perceber a sinalização para a germinação, mesmo sob submersão, de forma similar ao observado em outro estudo com capim-arroz tolerante à condição de anaerobiose, que foi capaz de perceber as sinalizações de alternância de temperatura e pulsos de luz vermelha para quebra de dormência e germinação (Holguín *et al.*, 2020). Por outro lado, em experimento realizado com espécies da família Cyperaceae, foram encontradas reduções na germinação de *Cyperus difformis*, *Cyperus iria* e *Fimbristylis miliacea* devido ao aumento da altura da lâmina de água (Chauhan and Johnson, 2009), o que pode estar associado ao pequeno tamanho das sementes destas espécies em comparação com *E. crus-galli*.

A germinação de sementes é bastante variável. O número de 10 sementes utilizados para avaliar a germinação de capim-arroz sob condições de submersão pode não ser suficiente para compreender toda a variabilidade do processo, por esse motivo não foi possível determinar se a variável germinação serve como indicadora da tolerância à submersão em capim-arroz.

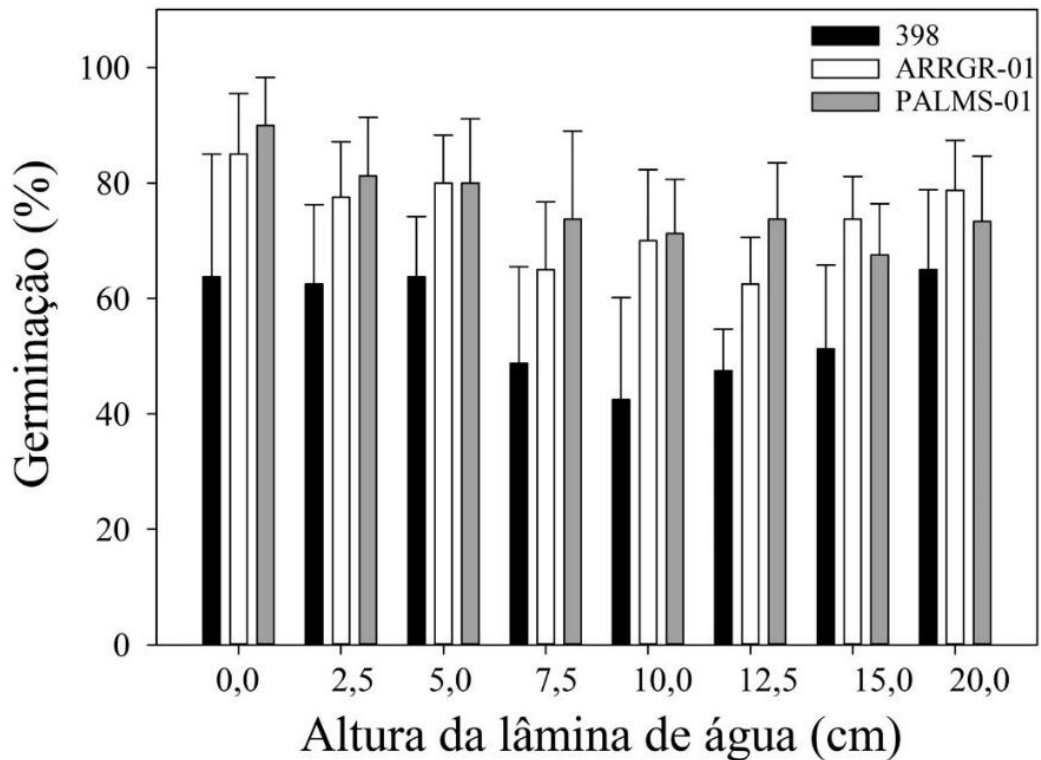


FIGURA 2. Porcentagem de germinação aos 28 dias após a semeadura dos biótipos de capim-arroz 398, ARRGR-01 e PALMS-01 submetidos a oito alturas de lâmina de água (cm). Barras verticais representam o intervalo de confiança ($\alpha = 0,05$).

As variáveis altura, massa fresca (MFPA) e massa seca (MSPA) da parte aérea apresentaram interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores alturas de lâmina de água e biótipos, e, desta forma, os resultados foram analisados através de regressões. O aumento da altura da lâmina de água causou redução da altura, MFPA e MSPA das plantas de capim-arroz (Figuras 3 e 4). Essa redução é esperada, pois, quanto maior a distância entre o solo e a superfície da água, menores os níveis de oxigênio e energia luminosa que alcançam os tecidos vegetais (Rijnders *et al.*, 2000; Colmer, Winkel and Pedersen, 2011) e a capacidade fotossintética das plantas de capim-arroz submersas é reduzida (Pedersen, Colmer and Sand-Jensen, 2013). Por consequência, a energia disponível para os processos de crescimento fica limitada.

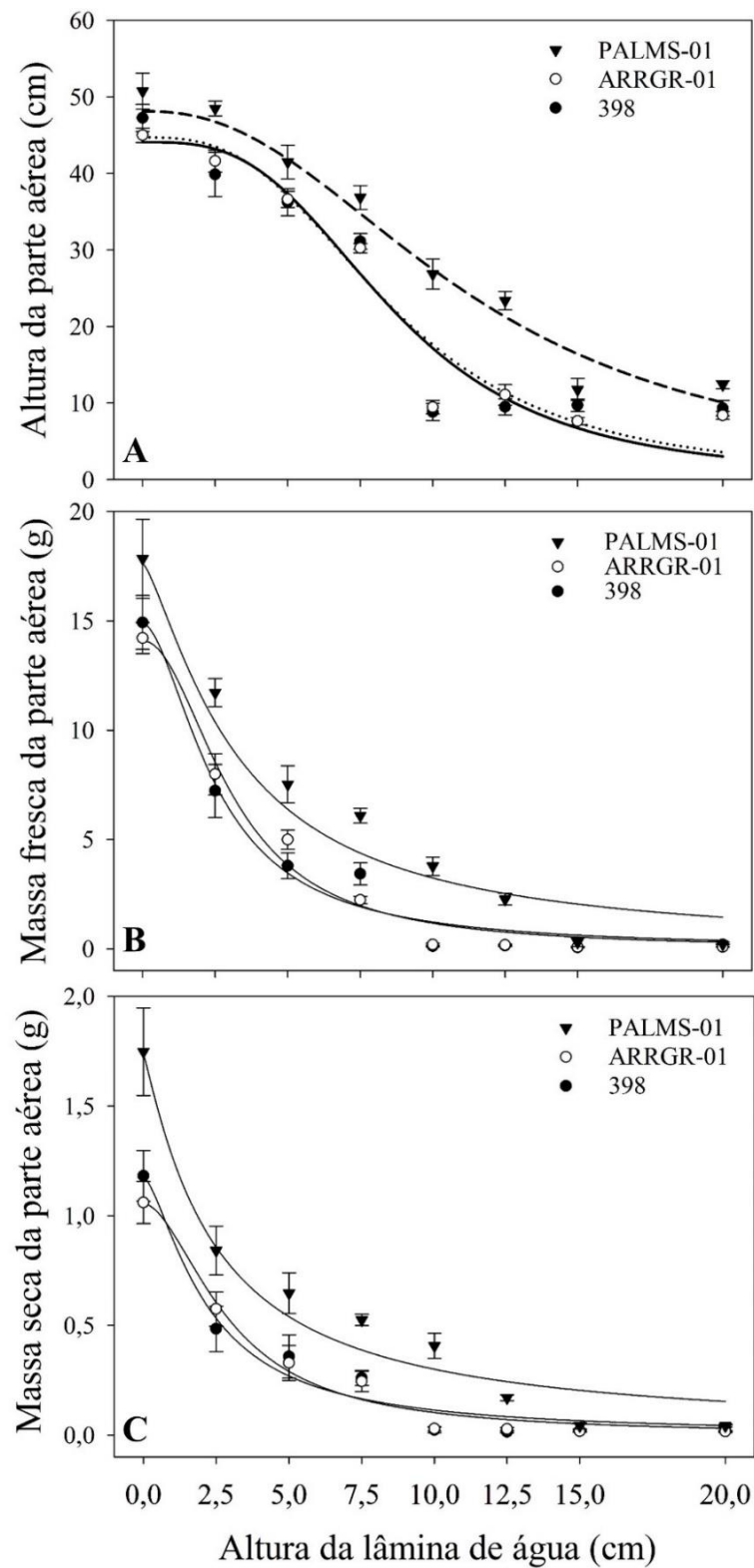


FIGURA 3. Altura (A), massa fresca (B) e massa seca (C) da parte aérea aos 28 dias após a semeadura dos biótipos de capim-arroz 398, ARRGR-01 e PALMS-01 sob oito alturas de lâmina de água (cm). Os pontos representam a média e as barras verticais o intervalo de confiança ($\alpha = 0,05$).

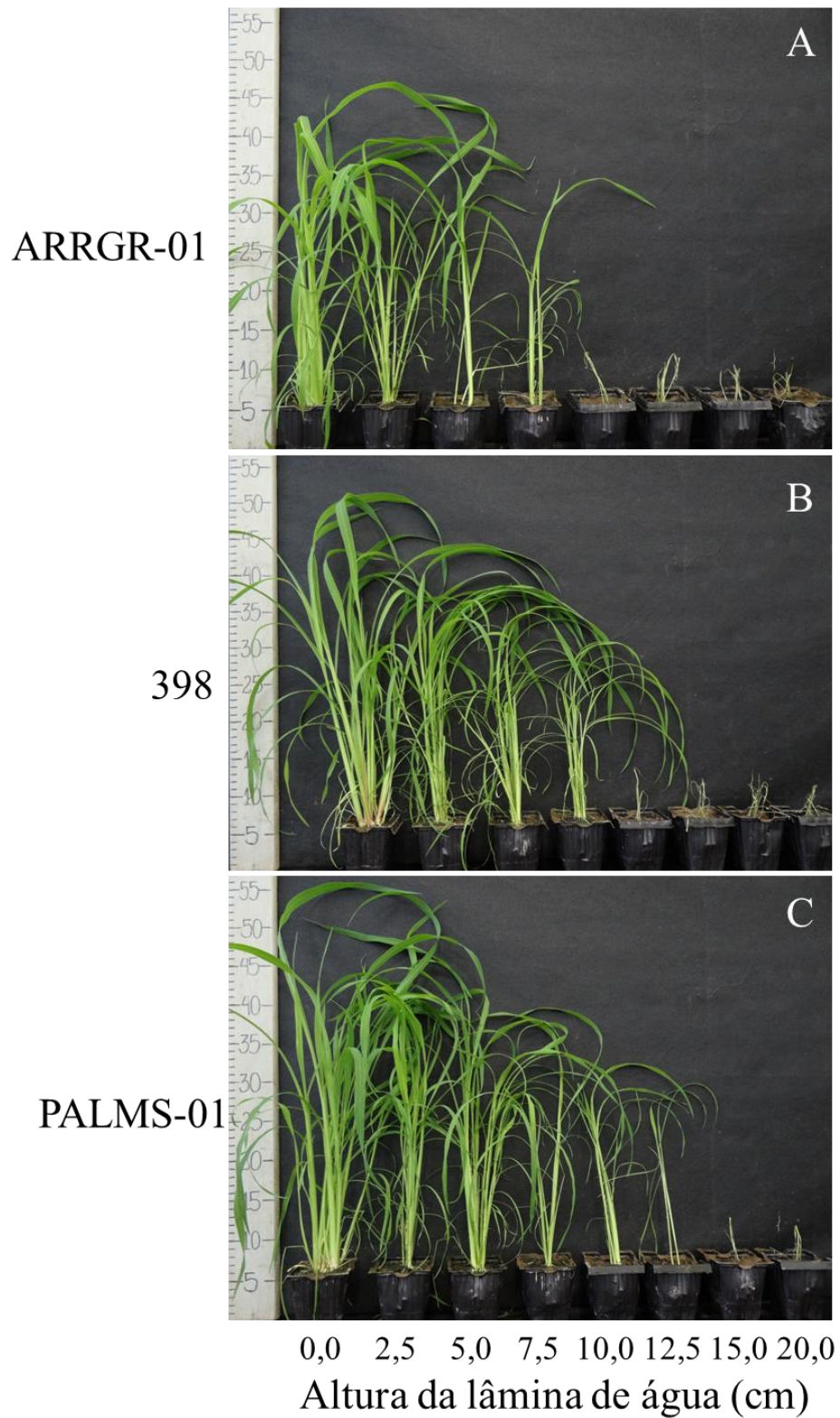


FIGURA 4. Desenvolvimento dos biótipos de capim-arroz ARRGR-01 (A), 398 (B) e PALMS-01 (C) sob oito alturas distintas de lâminas de água (cm), aos 28 dias após a semeadura.

A altura da parte aérea das plantas foi menor para os biótipos 398 e ARRGR-01 em comparação com o biótipo PALMS-01 (Figura 3 A). Houve diferença significativa (Tukey, $p \leq 0,05$) entre PALMS-01 e os demais biótipos para todas as alturas de lâmina de água analisadas, com exceção do tratamento com solo saturado (lâmina de 0 cm). Os biótipos ARRGR-01 e 398 não diferiram entre si para as lâminas avaliadas. A altura de lâmina de água capaz de reduzir 50% da altura das plantas de capim-arroz (GR_{50} , Tabela 6) foi de 8,62, 8,65 e 11,29 para os biótipos 398, ARRGR-01 e PALMS-01, respectivamente. O GR_{50} da altura da parte aérea para o biótipo PALMS-01 foi superior aos demais (Tabela 6). O efeito variável da lâmina de água entre os biótipos pode estar associado à capacidade de ativar vias alternativas de produção de energia de forma rápida e eficiente, da mesma forma que acontece com a cultivar de arroz tolerante à submersão Khao Hlan On, que tem capacidade de atingir a superfície antes do esgotamento de reservas e morte da planta, conforme estudos realizados em casa de vegetação (Estioko *et al.*, 2014). Uma das estratégias de tolerância à submersão está em investir no processo de alongamento, através da expansão celular mediada por giberelinas, até que se atinja a superfície e os processos aeróbicos sejam retomados. Esse processo pode passar pela expressão de genes relacionados com o metabolismo de carboidratos, induzidos pelo alagamento, como determinado em estudo que constatou maior atividade das enzimas ADH, PDC e ALDH em capim-arroz tolerante à submersão (Fukao, 2003), e isto pode explicar a maior altura da parte aérea do biótipo PALMS-01 em relação aos demais.

TABELA 6. Parâmetros da equação log-logística para as variáveis altura, massa fresca e massa seca da parte aérea 28 dias após a semeadura de três biótipos submetidos a diferentes alturas de lâmina de água

Biótipos	Altura da parte aérea				Massa fresca da parte aérea				Massa seca da parte aérea			
	<i>a</i>	<i>b</i>	GR_{50}	IC	<i>a</i>	<i>b</i>	GR_{50}	IC	<i>a</i>	<i>b</i>	GR_{50}	IC
398	2,90*	44,71*	8,62*	±0,87	1,76*	14,87*	2,53*	±0,58	1,47*	1,17*	2,19*	±0,86
ARRGR-01	3,11*	44,09*	8,65*	±0,80	2,04*	14,08*	3,08*	±0,62	1,81*	1,05*	2,93*	±0,90
PALMS-01	2,33*	48,14*	11,29*	±1,19	1,33*	17,62*	3,26*	±0,75	1,10*	1,73*	2,43*	±0,77

*Parâmetros significativos ($p \leq 0,05$), *a*: declividade da curva; *b*: limite superior; GR_{50} : altura de lâmina de água que causa redução de 50% das variáveis altura, massa fresca ou massa seca da parte aérea. IC: intervalo de confiança ($\alpha=0,05$). R^2 variou de 0,82 a 0,91 para altura da parte aérea, 0,82 a 0,92 para massa fresca da parte aérea e 0,78 a 0,83 para massa seca da parte aérea.

Os resultados das variáveis MFPA e MSPA foram similares ao de altura da parte aérea, com redução mais acentuada à medida que se aumentou a lâmina de água (Figura 3 B e C). A lâmina de água capaz de reduzir 50% da MFPA foi de 2,53; 3,08 e 3,26 cm para os biótipos 398, ARRGR-01 e PALMS-01, respectivamente. PALMS-01 apresentou maior acúmulo de MFPA para as lâminas de 2,5 a 12,5 cm. Para MSPA os valores de GR_{50} foram de 2,19; 2,93 e 2,43 cm (Tabela 6). Para essa variável, os biótipos 398 e ARRGR-01 não diferiram entre si em nenhuma altura de lâmina de água e foram inferiores a PALMS-01 para as alturas de lâminas de 0 a 12,5 cm.

O biótipo PALMS-01 foi capaz de superar a lâmina de 12,5 cm, ao passo que os demais alcançaram a superfície da água apenas até a lâmina de 7,5 cm. As lâminas de 15 e 20 cm foram completamente restritivas ao crescimento do capim-arroz em termos de altura e acúmulo de massa. Com base nesses resultados foram definidas as categorias de tolerância à submersão: i) sensível: não supera a lâmina de 7,5 cm; ii) moderadamente tolerante: supera a lâmina de 7,5 cm, mas não de 12,5 cm; e iii) tolerante: supera a lâmina de 12,5 cm. Estas alturas de lâmina de água foram utilizadas como tratamentos discriminantes nos demais experimentos.

4.2 Seleção de fenótipos contrastantes quanto à tolerância à submersão

A análise de variância indicou diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as duas rodadas do experimento (aqui denominadas de experimento 1 e experimento 2), e os dados foram analisados de forma separada. As diferenças podem ser atribuídas à temperatura do ar e a radiação solar, pois o experimento 1 foi realizado em fevereiro de 2021 (temperatura média de 26,3 °C) e o experimento 2 em agosto de 2021 (temperatura média de 22,4 °C), em casa de vegetação climatizada. O primeiro período possibilitou maior crescimento das plantas.

A variável germinação, em ambos os experimentos, resultou em interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os biótipos de capim-arroz e as lâminas de água (Tabela 7). Os biótipos 5, 11, 13, 14, 15, 20, 29, 30, 32, 34, 39, 40, 41, 43, 44 e 45 não apresentaram diferenças na germinação entre as três alturas de lâmina de água nos dois experimentos, de acordo com o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Como os biótipos foram coletados de localidades distintas o histórico do manejo da área e a pressão de seleção atuante sobre cada um deles foi diferente, fazendo com que as respostas fossem variadas.

TABELA 7. Germinação em relação à lâmina de 0 cm (%) de 45 biótipos de capim-arroz 28 dias após a semeadura sob alturas 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água em duas repetições de experimento

Biótipo	Experimento 1		Experimento 2	
	7,5 cm	12,5 cm	7,5 cm	12,5 cm
1	72,0 a A	40,0 b B	82,8 a A	34,5 d B
2	52,0 b B	40,0 b B	77,8 b A	37,0 d B
3	70,4 a	66,7 a	85,2 a A	66,7 b B
4	58,8 b	111,8 a	89,3 a A	67,9 b B
5	80,0 b	110,0 b	100,0 b	68,8 c
6	70,4 a A	18,5 b B	87,0 b A	21,7 d B
7	50,0 b B	68,2 b B	83,3 a A	50,0 c B
8	166,7 a A	183,3 a B	96,3 a	81,5 a
9	141,7 a	150,0 a	90,0 a A	60,0 b B
10	78,9 a	63,2 b	88,0 a A	48,0 c B
11	62,5 a	79,2 a	114,3 a	90,5 b
12	30,0 b B	65,0 b B	109,5 a A	61,9 c B
13	85,7 b	85,7 b	78,9 b	63,2 c
14	111,1 b	100,0 b	115,4 b	69,2 d
15	100,0 a	90,0 a	89,5 b	94,7 b
16	30,0 b A	75,0 b B	100,0 b	88,2 c
17	60,0 b A	53,3 b	86,7 b A	53,3 d B
18	47,8 b A	78,3 a B	100,0 b	90,0 b
19	30,8 b B	46,2 b B	81,0 b	57,1 c
20	77,8 a	85,2 a	92,9 a	82,1 a
21	114,3 a	100,0 b	82,6 b A	60,9 c B
22	69,2 b	84,6 b	70,0 b B	36,7 c C
23	65,0 b	65,0 b	77,8 b A	48,1 c B
24	39,1 b B	47,8 b B	74,1 b B	40,7 c C
25	62,5 a	70,8 a	83,3 a A	56,7 b B
26	100,0 a A	33,3 b B	76,5 b A	35,3 d B
27	18,8 b B	37,5 b B	68,2 b B	27,3 d C
28	17,4 b B	30,4 b B	68,2 b B	31,8 d C
29	91,3 a	60,9 b	90,5 b	66,7 c
30	100,0 a	105,6 a	105,9 b	111,8 b
31	32,0 b A	72,0 a B	95,2 b	85,7 b
32	126,3 a	89,5 a	113,3 b	113,3 b
33	78,6 b	57,1 b	67,9 b B	28,6 d C
34	70,0 a	90,0 a	95,5 b	81,8 b
35	38,5 b	100,0 b	80,0 b A	52,0 c B
36	154,5 a	136,4 b	81,5 a A	55,6 c B
37	77,8 a A	51,9 b B	82,6 b A	60,9 c B
38	83,3 a	86,7 a	100,0 a A	93,3 a B
39	212,5 a	187,5 b	85,7 b	71,4 c
40	72,7 b	118,2 b	76,7 a	73,3 c
41	121,1 a	78,9 b	76,7 a	70,0 c
42	75,0 b	187,5 b	83,3 b A	62,5 c B
43	63,6 a	104,5 a	90,0 a	76,7 a
44	79,2 a	91,7 a	89,7 a	75,9 a
45	93,8 a	93,8 b	125,0 b	125,0 c
CV	41,7	33,7	20,0	34,4

Médias representadas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha para cada experimento não diferem entre si de acordo com o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). ^{NS}: não significativo. CV: coeficiente de variação (%).

A germinação dos biótipos de capim-arroz avaliados apresenta resultados variados entre as lâminas de água. Assim, nas condições testadas, esse parâmetro não foi eficiente para discriminar o efeito da altura de lâmina de água em relação à variabilidade da tolerância à submersão, pois entre os biótipos que mantiveram a mesma capacidade de germinar sob condição de hipóxia e normóxia estão os biótipos tolerantes 29, 40 e 41 e o biótipo sensível 44. A sinalização para germinação durante as condições de hipóxia é modificada e reduz drasticamente a porcentagem de sementes germinadas para alguns biótipos (Ogorek; Striker; Mollard, 2019). As diferenças de germinação observadas entre os biótipos podem estar relacionadas à qualidade da semente, já que nenhum controle de viabilidade foi realizado.

A altura da parte aérea resultou em interação significativa ($p \leq 0,05$) entre as lâminas de água e os biótipos para os experimentos 1 e 2. Todos os biótipos atingiram altura superior à 34,7 e 31,0 cm no experimento 1 e 2, respectivamente, quando mantidos na condição de solo saturado (lâmina de 0 cm). A lâmina de 7,5 cm foi restritiva ao crescimento dos biótipos 36 e 44, ao passo que a lâmina de 12,5 cm somente foi superada pelos biótipos 29, 37, 40 e 41, em ambos os experimentos (Tabela 8). A variação de respostas dos biótipos avaliados pode ser explicada possivelmente pela variabilidade genética e por diferentes pressões de seleção relacionadas ao ambiente e às práticas de manejo. As condições de sucessivos cultivos, instabilidade da irrigação, em termos de altura de lâmina de água e intermitência e ausência de outras práticas de controle de plantas daninhas favorecem que os biótipos sejam selecionados para a característica de tolerância ao alagamento. Essa característica é presente de forma natural entre as populações de *E. crus-galli*. Um estudo que avaliou a variabilidade natural de capim-arroz constatou diferentes níveis de tolerância à submersão após um período de 14 anos sob pressões de seleção contrastantes, relacionadas à altitude e frequência de inundação da área (Liu *et al.*, 2021).

A variável altura de planta foi utilizada como principal indicador da tolerância à submersão em capim-arroz. A capacidade de alongar, superar a lâmina de água e retomar os processos aeróbicos está diretamente ligada com a capacidade de sobreviver e competir com a cultura do arroz. As respostas contrastantes da altura de planta para as diferentes alturas de lâmina de água indicam a ocorrência de variabilidade genética de *Echinochloa crus-galli* em relação a tolerância à submersão.

TABELA 8. Altura da parte aérea (cm) de 45 biótipos de capim-arroz aos 28 dias após a semeadura sob alturas de 0, 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água em duas repetições de experimento

Biótipo	Experimento 1			Experimento 2		
	0 cm	7,5 cm	12,5 cm	0 cm	7,5 cm	12,5 cm
1	56,7 b A	35,7 b B	7,7 c C	33,0 b A	21,0 b B	7,3 c C
2	51,0 c A	30,7 c B	6,7 c C	31,0 b A	19,3 b B	6,3 d C
3	46,3 c A	41,3 b A	11,0 c B	33,3 b A	25,7 a B	10,6 b C
4	72,3 a A	21,7 c B	6,3 c C	37,3 a A	20,7 b B	6,0 d C
5	51,0 c A	36,7 b B	5,0 c C	34,7 b A	22,3 b B	5,3 d C
6	48,0 c A	34,7 b A	3,3 c B	32,3 b A	23,7 b B	3,0 d C
7	46,7 c A	39,7 b A	8,8 c B	33,0 b A	25,3 a B	8,5 c C
8	79,7 a A	35,0 b B	6,8 c C	37,0 a A	26,0 a B	6,5 d C
9	57,3 b A	21,7 c B	6,2 c C	38,7 a A	15,3 c B	5,7 d C
10	43,0 d A	40,0 b A	7,3 c B	34,7 b A	20,3 b B	6,8 d C
11	56,0 b A	46,7 a A	10,5 c B	38,0 a A	26,3 a B	10,0 b C
12	49,7 c A	21,0 c B	10,7 c B	38,3 a A	20,0 b B	10,2 b C
13	44,7 d A	36,0 b A	10,0 c B	39,3 a A	13,7 c B	9,5 c B
14	34,7 d A	34,0 b A	11,0 c B	44,3 a A	15,7 c B	10,5 b B
15	42,3 d A	44,0 a A	7,2 c B	35,3 b A	20,0 b B	6,7 d C
16	48,7 c A	36,0 b B	10,0 c C	39,0 a A	23,7 b B	9,5 c C
17	55,3 b A	35,3 b B	9,0 c C	39,0 a A	18,3 c B	8,0 c C
18	57,3 b A	50,7 a A	10,2 c B	39,3 a A	23,0 b B	9,2 c C
19	52,3 c A	41,3 b B	7,0 c C	41,3 a A	16,7 c B	6,0 d C
20	51,0 c A	49,0 a A	9,7 c B	37,7 a A	25,3 a B	8,7 c C
21	47,3 c A	24,7 c B	11,0 c C	39,0 a A	26,0 a B	10,0 b C
22	55,0 b A	16,7 c B	4,3 c C	33,3 b A	24,0 b B	4,0 d C
23	44,0 d A	40,0 b A	6,7 c B	34,3 b A	23,7 b B	6,4 d C
24	48,0 c A	42,7 b A	5,0 c B	32,3 b A	24,0 b B	4,7 d C
25	50,7 c A	35,0 b B	9,3 c C	34,3 b A	23,0 b B	9,0 c C
26	52,7 c A	45,7 a A	9,7 c B	35,3 b A	25,7 a B	9,4 c C
27	54,7 b A	37,3 b B	7,7 c C	33,7 b A	21,3 b B	7,4 c C
28	52,0 c A	41,0 b B	9,0 c C	35,3 b A	28,7 a B	8,7 c C
29	61,7 b A	53,0 a A	41,7 a B	36,7 a A	29,0 a B	26,0 a C
30	50,3 c A	42,7 b A	11,3 c B	38,3 a A	24,3 b B	11,3 b C
31	42,7 d A	37,3 b A	9,0 c B	39,7 a A	16,3 c B	3,3 d C
32	50,3 c A	19,7 c B	7,3 c C	36,7 a A	20,7 b B	7,7 c C
33	60,0 b A	30,0 c B	6,3 c C	37,7 a A	21,7 b B	8,7 c C
34	61,0 b A	49,3 a B	17,3 c C	40,7 a A	21,0 b B	8,0 c B
35	56,7 b A	45,3 a B	6,3 c C	41,7 a A	30,0 a B	7,0 c C
36	69,0 a A	5,7 d B	5,3 c B	40,3 a A	6,3 d B	6,7 d B
37	53,0 c A	51,7 a A	14,3 c B	39,3 a A	29,0 a B	16,0 b C
38	35,3 d A	26,7 c A	9,0 c B	35,3 b A	26,7 a B	13,7 b C
39	67,7 a A	26,3 c B	6,3 c C	35,3 b A	22,3 b B	9,3 c C
40	60,3 b A	49,7 a B	27,3 b C	38,0 a A	27,0 a B	24,0 a B
41	60,7 b A	50,7 a A	27,0 b B	32,7 b A	26,0 a B	23,0 a B
42	57,3 b A	41,0 b B	13,0 c C	32,3 b A	23,0 b B	10,0 b C
43	47,7 c A	19,3 c B	7,0 c C	34,0 b A	21,0 b B	8,0 c C
44	47,0 c A	8,0 d B	7,7 c B	33,3 b A	6,7 d B	7,0 c B
45	56,3 b A	49,3 a A	11,0 c B	37,7 a A	17,7 c B	7,7 c C
CV	17,0	32,0	67,0	8,3	23,0	52,0

Médias representadas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha para cada experimento não diferem entre si de acordo com o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). CV: coeficiente de variação

As variáveis MFPA (Tabela 9) e MSPA (Tabela 10) apresentaram interação significativa ($p \leq 0,05$) entre biótipos e as lâminas de água analisadas no experimento 1 e entre biótipos e as lâminas de água de 0,0 e 12,5 cm no experimento 2. De forma geral, como discutido no item 4.1, quanto maior a lâmina de água, menor o acúmulo de MFPA e MSPA. Os biótipos 29, 40 e 41 apresentaram maiores valores de MFPA e MSPA em relação aos demais, em ambos os experimentos sob a lâmina de 12,5 cm (Tabelas 9 e 10). Os resultados consistentes entre as duas repetições do experimento reforçam a variabilidade existente entre os biótipos de capim-arroz em termos de tolerância à submersão. O menor desenvolvimento das plantas sob lâmina de água é atribuído a menor eficiência energética do metabolismo anaeróbico, que faz com que grande parte dos processos de crescimento fique limitada. São relatadas alterações na parede celular que permitem o rápido alongamento (Su *et al.*, 2021) e conseqüentemente diminuem sua espessura. A transformação dos carboidratos de reserva em carboidratos solúveis também contribui para o menor acúmulo de massa (Pedersen; Perata; Voesenek, 2017). Em outro experimento, ao avaliar a biomassa da parte aérea e de raízes de plantas de capim-arroz sob diferentes alturas de lâmina de água e tempos de submersão, foi constatado que quanto maior a lâmina de água e quanto mais cedo é iniciado o alagamento, menor o acúmulo de massa aérea e radicular (Chauhan and Johnson, 2011).

Os resultados das variáveis altura, massa fresca e massa seca da parte aérea foram utilizados para selecionar os biótipos 44 (SAOJER-01) como sensível, 30 (SANTPAT-01) e 32 (BAGE-01) como moderadamente tolerantes e 40 (MOST-51) e 41 (PALMS-01) como tolerantes à submersão, que apresentaram resultados consistentes entre as repetições do experimento. Esses biótipos foram selecionados através da resposta fenotípica para investigar os mecanismos de tolerância à submersão em capim-arroz. Para confirmação dos resultados fenotípicos de tolerância a submersão uma nova rodada de experimentos foram realizados.

TABELA 9. Massa fresca da parte aérea (g) de 45 biótipos de capim-arroz aos 28 dias após a semeadura sob alturas de 0; 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água em duas repetições de experimento

Biótipo	Experimento 1						Experimento 2					
	0 cm		7,5 cm		12,5 cm		0 cm		7,5 cm		12,5 cm	
1	13,74	a A	6,18	a B	0,03	b C	6,31	a A	0,74	^{ns} B	0,03	b B
2	12,74	a A	2,36	c B	0,02	b B	4,05	b A	0,69	B	0,02	b B
3	11,71	a A	7,76	a B	0,10	b C	5,50	a A	1,33	B	0,10	b C
4	9,62	b A	1,15	c B	0,03	b B	4,47	b A	0,60	B	0,03	b B
5	10,79	a A	4,82	b B	0,05	b C	5,62	a A	0,87	B	0,05	b B
6	11,94	a A	2,94	b B	0,01	b B	4,35	b A	0,93	B	0,01	b B
7	11,21	a A	5,20	b B	0,06	b C	5,40	a A	1,15	B	0,06	b C
8	12,82	a A	3,40	b B	0,06	b B	4,30	b A	1,03	B	0,06	b B
9	7,73	b A	0,59	c B	0,04	b B	3,86	b A	0,16	B	0,04	b B
10	11,21	a A	4,66	b B	0,04	b C	5,55	a A	0,56	B	0,04	b B
11	11,48	a A	8,78	a A	0,08	b B	5,72	a A	1,21	B	0,08	b C
12	10,07	a A	0,92	c B	0,06	b B	5,59	a A	0,63	B	0,06	b B
13	8,74	b A	2,40	c B	0,04	b B	4,67	b A	0,20	B	0,04	b B
14	3,83	c ^{NS}	2,82	b	0,04	b	4,96	b A	0,26	B	0,04	b B
15	8,52	b A	9,79	a A	0,06	b B	4,65	b A	0,81	B	0,06	b B
16	11,08	a A	4,09	b B	0,08	b C	4,51	b A	0,76	B	0,08	b B
17	9,51	b A	2,77	b B	0,03	b B	4,33	b A	0,49	B	0,03	b B
18	12,24	a A	8,31	a B	0,05	b C	5,70	a A	0,61	B	0,05	b B
19	11,93	a A	2,61	b B	0,04	b B	5,99	a A	0,36	B	0,04	b B
20	13,03	a A	10,04	a A	0,08	b B	5,64	a A	1,13	B	0,08	b C
21	4,98	c A	1,04	c B	0,09	b B	5,01	b A	1,05	B	0,09	b B
22	10,71	a A	0,50	c B	0,03	b B	5,20	a A	1,37	B	0,03	b C
23	6,90	b A	1,91	c B	0,02	b B	4,39	b A	0,79	B	0,02	b B
24	10,09	a A	3,03	b B	0,03	b B	3,98	b A	0,78	B	0,03	b B
25	11,25	a A	2,71	b B	0,05	b B	5,33	a A	0,91	B	0,05	b B
26	12,14	a A	5,45	b B	0,05	b C	4,50	b A	0,91	B	0,05	b B
27	11,25	a A	1,54	c B	0,02	b B	4,60	b A	0,52	B	0,02	b B
28	12,87	a A	1,05	c B	0,03	b B	5,00	b A	1,26	B	0,03	b C
29	12,58	a A	10,00	a A	6,85	a B	4,92	b A	1,49	B	1,84	a B
30	8,82	b A	4,31	b B	0,08	b C	4,57	b A	0,94	B	0,08	b B
31	11,86	a A	4,57	b B	0,07	b C	4,69	b A	0,24	B	0,07	b B
32	9,46	b A	0,56	c B	0,07	b B	3,63	b A	0,34	B	0,07	b B
33	10,74	a A	3,26	b B	0,03	b B	5,51	a A	0,53	B	0,03	b B
34	14,56	a A	7,13	a B	0,76	b C	5,52	a A	0,58	B	0,76	b B
35	7,27	b A	3,39	b B	0,04	b B	6,33	a A	1,87	B	0,04	b C
36	11,03	a A	0,10	c B	0,03	b B	4,84	b A	0,11	B	0,03	b B
37	13,04	a A	12,20	a A	0,46	b B	4,87	b A	1,19	B	0,46	b B
38	4,26	c A	1,44	c B	0,06	b B	4,26	b A	1,44	B	0,05	b C
39	11,63	a A	1,11	c B	0,03	b B	4,61	b A	0,63	B	0,03	b B
40	11,11	a A	5,51	b B	2,67	a C	5,14	a A	1,09	B	1,67	a B
41	14,20	a A	10,28	a B	2,29	a C	4,97	b A	1,24	B	1,29	a B
42	8,00	b A	3,13	b B	0,04	b B	4,07	b A	0,78	B	0,04	b B
43	10,43	a A	1,02	c B	0,05	b B	5,31	a A	0,35	B	0,05	b B
44	11,75	a A	0,15	c B	0,06	b B	4,96	b A	0,13	B	0,06	b B
45	9,16	b A	9,21	a A	0,05	b B	3,71	b A	0,61	B	0,05	b B
CV	23,0		78,7		36,6		13,5		51,4		21,7	

Médias representadas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha para cada experimento não diferem entre si de acordo com o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). ^{NS}: não significativo. CV: coeficiente de variação

TABELA 10. Massa seca da parte aérea (g) de 45 biótipos de capim-arroz 28 dias após a semeadura sob alturas 0; 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água em duas repetições de experimento

Biótipo	Experimento 1			Experimento 2		
	0 cm	7,5 cm	12,5 cm	0 cm	7,5 cm	12,5 cm
1	1,74 a A	0,44 a B	0,01 b C	0,74 a A	0,06 ^{ns} B	0,01 c B
2	1,35 b A	0,17 b B	0,01 b B	0,56 a A	0,06 B	0,01 c B
3	1,23 c A	0,53 a B	0,03 b C	0,61 a A	0,12 B	0,03 c B
4	0,93 d A	0,08 b B	0,01 b B	0,55 a A	0,05 B	0,01 c B
5	0,94 d A	0,33 b B	0,01 b C	0,58 a A	0,08 B	0,01 c B
6	1,16 c A	0,19 b B	0,00 b B	0,44 b A	0,11 B	0,00 c B
7	0,91 d A	0,35 b B	0,02 b C	0,62 a A	0,11 B	0,02 c B
8	1,12 c A	0,26 b B	0,02 b B	0,49 b A	0,10 B	0,02 c B
9	0,71 d A	0,05 b B	0,01 b B	0,47 b A	0,02 B	0,01 c B
10	0,97 d A	0,34 b B	0,01 b C	0,59 a A	0,05 B	0,01 c B
11	1,27 c A	0,61 a B	0,03 b C	0,61 a A	0,12 B	0,03 c B
12	0,85 d A	0,05 b B	0,02 b B	0,62 a A	0,05 B	0,02 c B
13	0,79 d A	0,18 b B	0,01 b B	0,59 a A	0,02 B	0,01 c B
14	0,24 e ^{NS}	0,18 b	0,01 b	0,62 a A	0,02 B	0,01 c B
15	0,60 e A	0,67 a B	0,02 b B	0,43 b A	0,07 B	0,02 c B
16	1,14 c A	0,29 b B	0,02 b B	0,58 a A	0,07 B	0,02 c B
17	0,85 d A	0,23 b B	0,01 b B	0,47 b A	0,04 B	0,01 c B
18	1,31 c A	0,64 a B	0,02 b C	0,67 a A	0,06 B	0,02 c B
19	1,15 c A	0,17 b B	0,01 b B	0,69 a A	0,03 B	0,01 c B
20	1,07 c A	0,70 a B	0,02 b C	0,57 a A	0,10 B	0,02 c B
21	0,47 e A	0,09 b B	0,03 b B	0,58 a A	0,11 B	0,03 c B
22	0,80 d A	0,04 b B	0,01 b B	0,49 b A	0,12 B	0,01 c B
23	0,53 e A	0,31 b A	0,01 b B	0,44 b A	0,07 B	0,01 c B
24	0,81 d A	0,19 b B	0,01 b B	0,39 b A	0,08 B	0,01 c B
25	0,96 d A	0,18 b B	0,02 b B	0,52 b A	0,08 B	0,02 c B
26	1,04 c A	0,39 b B	0,01 b C	0,43 b A	0,08 B	0,01 c B
27	0,95 d A	0,09 b B	0,00 b B	0,44 b A	0,05 B	0,00 c B
28	1,28 c A	0,07 b B	0,01 b B	0,49 b A	0,11 B	0,01 c B
29	1,21 c A	0,69 a B	0,49 a B	0,54 a A	0,15 B	0,55 a C
30	0,71 d A	0,28 b B	0,02 b B	0,51 b A	0,09 B	0,02 c B
31	0,96 d A	0,28 b B	0,02 b B	0,51 b A	0,02 B	0,02 c B
32	0,56 e A	0,05 b B	0,02 b B	0,36 b A	0,02 B	0,02 c B
33	0,89 d A	0,22 b B	0,01 b B	0,57 a A	0,03 B	0,01 c B
34	1,42 b A	0,51 a B	0,06 b C	0,63 a A	0,05 B	0,23 b C
35	0,50 e A	0,24 b B	0,01 b B	0,66 a A	0,19 B	0,01 c C
36	0,86 d A	0,01 b B	0,01 b B	0,51 b A	0,01 B	0,01 c B
37	1,22 c A	0,88 a B	0,04 b C	0,57 a A	0,11 B	0,14 b B
38	0,45 e A	0,15 b B	0,02 b B	0,45 b A	0,15 B	0,01 c B
39	1,05 c A	0,08 b B	0,01 b B	0,49 b A	0,05 B	0,01 c B
40	0,98 d A	0,42 a B	0,42 a B	0,56 a A	0,49 A	0,32 a B
41	1,43 b A	0,75 a B	0,40 a C	0,51 b A	0,40 B	0,39 a B
42	0,59 e A	0,21 b B	0,01 b B	0,44 b A	0,08 B	0,01 c B
43	0,88 d A	0,07 b B	0,02 b B	0,57 a A	0,06 B	0,02 c B
44	0,97 d A	0,01 b B	0,02 b B	0,51 b A	0,02 B	0,02 c B
45	0,84 d A	0,65 a A	0,01 b B	0,42 b A	0,05 B	0,01 c B
CV	31,7	77,6	80,1	20,2	71,0	16,4

Médias representadas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha para cada experimento não diferem entre si de acordo com o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). ^{NS}: não significativo. CV: coeficiente de variação

4.2.1 Confirmação de resultados

A análise de variância não indicou diferenças entre as duas rodadas do experimento de acordo com o teste F ($p \leq 0,05$) e os dados foram analisados conjuntamente. A variável germinação (Figura 5 A) não resultou em interação significativa entre as lâminas de água e os biótipos avaliados, de forma similar ao apresentado no item 4.1. A interação entre os biótipos e as lâminas de água foi significativa ($p \leq 0,05$) para as variáveis altura, massa fresca e massa seca da parte aérea.

Os biótipos avaliados não diferiram em altura quando crescidos em solo saturado (lâmina de 0 cm) e atingiram aproximadamente 40 cm de altura (Figura 5 B). Na lâmina de 7,5 cm, os biótipos tolerantes MOST-51 e PALMS-01 tiveram maior crescimento, atingindo 30 cm. Os biótipos moderadamente tolerantes SANTPAT-01 e BAGE-01 tiveram crescimento intermediário e o biótipo sensível SAOJER-01 teve crescimento limitado. Sob lâmina de água de 12,5 cm, apenas os biótipos classificados como tolerantes foram capazes de atingir a superfície da água e crescer até altura média de 30 cm aos 28 dias após a semeadura (Figura 6). A condição de submersão desde o momento da germinação se configura como cenário mais prejudicial ao desenvolvimento das plantas. Como o alagamento foi mantido durante os 28 dias de condução do experimento apenas as plantas que atingiram a superfície e retomaram os processos aeróbicos sobreviveram. Em experimento similar, com *Echinochloa caudata*, o período de 30 dias sob condição de alagamento foi suficiente para extinguir as reservas e matar as plantas (Liu *et al.*, 2016). No presente estudo, até os biótipos tolerantes têm sua altura reduzida sob alturas de lâmina de água superiores, resposta atribuída às limitações energéticas discutidas no item 4.1. Ao avaliar os efeitos de regimes de irrigação e ferramentas de controle sobre o crescimento e reprodução de capim-arroz, outro estudo demonstrou que, mesmo que as plantas atinjam a superfície e sobrevivam, existem penalidades reprodutivas como menor perfilhamento e menor produção de sementes (Chauhan and Abugho, 2013).

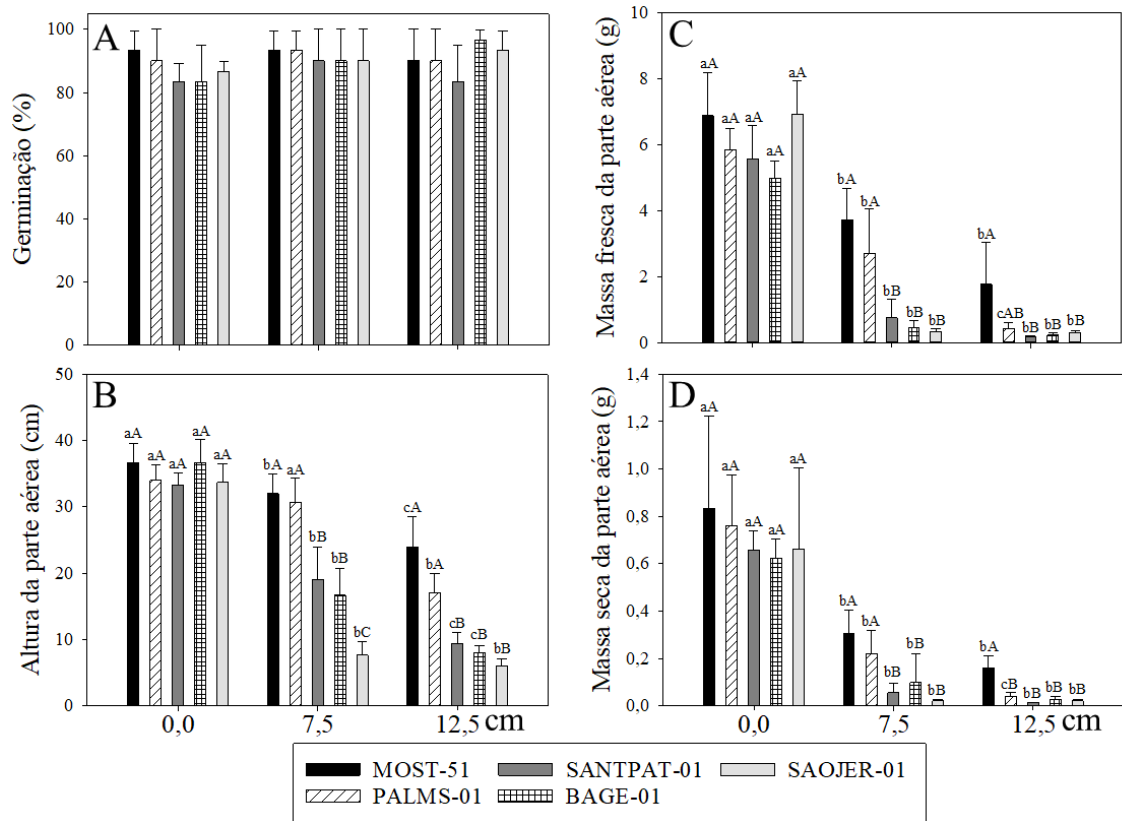


FIGURA 5. Germinação (A), altura (B), massa fresca (C) e massa seca (D) da parte aérea de biótipos selecionados de capim-arroz 28 dias após a sementeira sob alturas 0; 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água. Letras minúsculas comparam cada biótipo entre as diferentes lâminas e letras maiúsculas comparam os biótipo dentro de cada lâmina de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As barras verticais representam o intervalo de confiança ($\alpha = 0,05$).

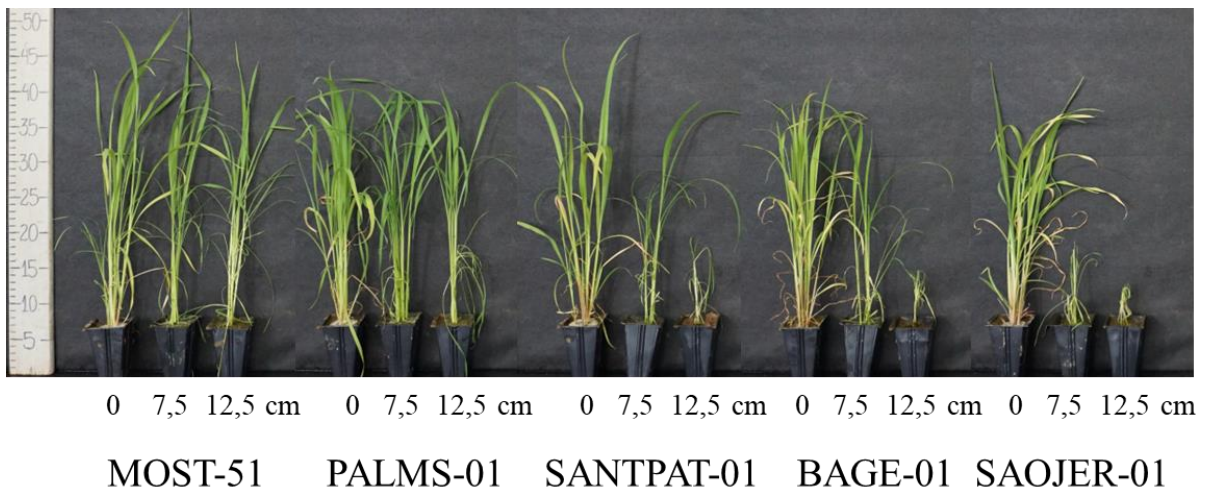


FIGURA 6. Biótipos selecionados MOST-51, PALMS-01, SANTPAT-01, BAGE-01 e SAOJER-01, aos 28 dias após a sementeira sob alturas 0, 7,5 e 12,5 cm de lâmina de água.

Para as variáveis MFPA e MSPA a resposta dos biótipos foi mais estável em comparação com a altura. Não foram constatadas diferenças de acúmulo de massa para a lâmina de 0 cm (Figura 5 C e D). Os biótipos tolerantes tiveram maior quantidade de massa na lâmina de água de 7,5 cm, e apenas o biótipo MOST-51 se diferenciou dos demais na lâmina de 12,5 cm, com maiores teores de massa fresca e seca. Os resultados das variáveis MFPA e MSPA são diretamente relacionados com a altura da parte aérea das plantas. Todos os processos que interferem no crescimento das plantas de capim-arroz em altura resultam em menor quantidade de massa na parte aérea.

A germinação foi similar entre os biótipos selecionados, ressaltando que a capacidade de germinar ocorre mesmo na condição de submersão, mas não proporciona a sobrevivência das plantas no ambiente de submersão. Os resultados de altura da parte aérea, utilizados para seleção dos biótipos, mantiveram o contraste entre sensível, moderadamente tolerante e tolerante. As variáveis MFPA e MSPA servem como complemento à altura de plantas, por ter sua resposta diretamente ligada com o crescimento dos biótipos.

4.3 Genes potencialmente envolvidos na tolerância à submersão em plantas de capim-arroz durante o crescimento inicial

4.3.1 Genes de referência

A análise da estabilidade dos genes de referência (Figura 7A) indicou maior estabilidade para o gene *GAPDH*, o qual foi selecionado como normalizador para os cálculos da expressão relativa dos genes alvos. Esse gene foi utilizado como normalizador para estudos de expressão em capim-arroz (Panozzo *et al.*, 2021) e outras espécies de *Lolium* sp. (Duhoux and Délye, 2013). Os genes *RUB*, *NCBP* e *28S* apresentaram desempenho inferior e não foram utilizados para a análise.

4.3.2 Genes alvo

Os biótipos selecionados apresentaram respostas diferenciais em relação à expressão dos genes envolvidos na tolerância à submersão (Figura 7). De maneira geral, o biótipo sensível (SAOJER-01) apresentou menor expressão e o biótipo tolerante (MOST-51) apresentou respostas superiores para expressão de todos os genes avaliados. Os demais biótipos (SANTPAT-01 e BAGE-01, moderadamente tolerantes e PALMS-01, tolerante) apresentaram expressão relativa variável entre os genes avaliados no estudo.

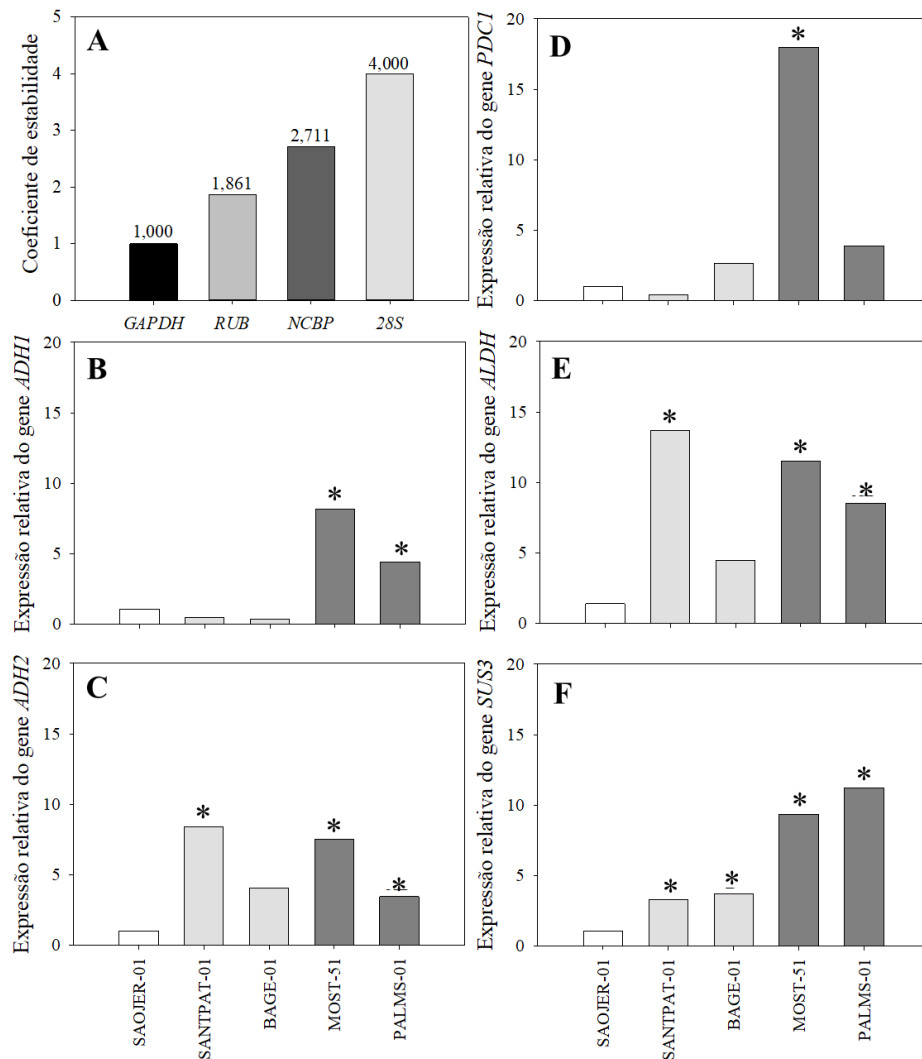


FIGURA 7. Estabilidade dos genes endógenos (A) e expressão relativa dos genes *ADH1* (B), *ADH2* (C), *PDC1* (D), *ALDH* (E) e *SUS3* (F) de cinco biótipos selecionados de capim-arroz 24 horas após a germinação sob lâmina de 7,5 cm. Médias acompanhadas de * diferem estatisticamente do biótipo sensível SAOJER-01 de acordo com o teste-t ($p \leq 0,05$).

4.3.2.1 Genes envolvidos da respiração anaeróbica

Os genes envolvidos na respiração anaeróbica e caracterizados em *Oryza sativa* são *ADH1*, *ADH2*, *PDC1* e *ALDH*. Esses genes atuam, principalmente, durante a germinação e o desenvolvimento inicial do arroz e são importantes para o estabelecimento e desenvolvimento das plantas em condição de alagamento (Kaspary; Roma-Burgos; Merotto Junior, 2020). Em capim-arroz, o conhecimento dos mecanismos de tolerância à submersão são limitados, por isso a escolha dos genes candidatos partiu dos resultados existentes para arroz cultivado. Os genes candidatos *ADH1*, *ADH2*, *PDC1* e *ALDH* apresentaram regiões de

similaridade e permitiram o desenho de *primers* (Tabela 3) e amplificação de forma eficiente em *E. crus-galli*.

O gene *ADH1* foi mais expresso em relação ao biótipo sensível SAOJER-01 somente pelos biótipos tolerantes MOST-51 e PALMS-01 com, respectivamente, 8,9 e 4,8 vezes mais expressão relativa (Figura 7 B). Enquanto o gene *ADH2* foi mais expresso pelos biótipos tolerante MOST-51 e PALMS-01 em 8,0 e 3,5 vezes, e moderadamente tolerante SANTPAT-01, com 9,0 vezes mais expressão relativa em comparação com biótipos sensível SAOJER-01 (Figura 7 C). O gene *PDC1* somente foi expresso de forma elevada por MOST-51, com 18,2 vezes mais expressão relativa do que SAOJER-01 (Figura 7 D). Esses três genes são envolvidos no processo de respiração anaeróbica. Em estudo avaliando a expressão de genes relacionados com o alagamento em arroz-daninho, a expressão dos genes *ADH1*, *ADH2* e *PDC1* foi superior para os biótipos tolerantes, em comparação aos sensíveis, em condições de submersão (Kaspary *et al.*, 2020), de forma similar ao observado em capim-arroz tolerante à submersão no presente estudo. As enzimas codificadas por esses genes, piruvato descarboxilase (PDC) e álcool desidrogenase (ADH), atuam através da reciclagem de NADH⁺ durante a fermentação alcoólica, que tem o objetivo de manter a glicólise ativa e gerar energia em condições de anaerobiose (Magneschi and Perata, 2009). A continuidade de geração de energia em condições de baixa disponibilidade de oxigênio pode ser o diferencial entre biótipos tolerantes e sensíveis. Os biótipos capazes de investir energia em crescimento e atingir a superfície da água mais rápido apresentam vantagem em relação aos que se mantêm submersos. Quando as reservas energéticas acabam e os processos aeróbicos não são retomados a planta morre.

Para o gene *ALDH* os biótipos MOST-51, PALMS-01 e SANTPAT-01 tiveram expressão relativa superior ao biótipo sensível em 14,0, 8,9 e 12,8 vezes, respectivamente (Figura 7 E). A enzima codificada pelo gene *ALDH* é responsável por detoxificar o acetaldeído, que é produto de reações anaeróbicas catalisados pelas enzimas ADH e PDC. Quanto maior a expressão dos genes *ADH1*, *ADH2* e *PDC1*, maior a necessidade da enzima *ALDH*. O padrão de expressão do gene *ALDH* é bastante similar ao do gene *ADH2* para os biótipos avaliados. Em cultivares de arroz com tolerância à submersão foi detectada maior expressão relativa de *ALDH* aos 2, 3 e 4 dias após a semeadura, em comparação com a cultivar sensível (Miro *et al.*, 2017), da mesma forma que o observado para os biótipos tolerantes MOST-51 e PALMS-01 24 horas após o início da germinação (correspondente a

4 dias após a semeadura) nesse estudo. Mesmo com maior expressão do gene *ALDH*, o biótipo SANTPAT-01 não é capaz de superar alturas de lâmina de água superiores a 12,5 cm (Figura 5). Isso pode indicar que a maior expressão relativa de *ALDH* é um mecanismo complementar no processo de tolerância à submersão durante o crescimento inicial e parece estar diretamente associada à expressão dos genes que atuam para manter a respiração anaeróbica ativa.

4.3.2.2 Genes envolvidos no metabolismo de carboidratos

Os genes *RAmy3D*, *OsTPP7* e *SUS3* são conhecidos por atuar no metabolismo de carboidratos. Esses genes mobilizam reservas e disponibilizam carboidratos solúveis utilizados como substrato para os processos de geração de energia. *RAmy3D* e *OsTPP7* são ativos durante a germinação e crescimento inicial, enquanto o gene *SUS3* tem sua atividade manifestada principalmente durante a germinação de *O. sativa* (Kaspary; Roma-Burgos; Merotto Junior, 2020). Para capim-arroz, os três genes apresentaram similaridade, porém apenas *SUS3* permitiu o correto desenho de *primers* e amplificação.

A expressão relativa do gene *SUS3* (Figura 7 F) foi similar às respostas fenotípicas apresentadas anteriormente. Todos os biótipos apresentaram expressão relativa superior ao biótipo sensível SAOJER-0. A expressão dos biótipos tolerantes MOST-51 e PALMS-01 foi superior a 9,8 vezes e a expressão dos biótipos moderadamente tolerantes SANTPAT-01 e BAGE-01 foi aproximadamente 4 vezes superior ao SAOJER-01. Esse gene atua na remobilização de reservas, garantindo substrato para geração de energia através da glicólise. Uma das causas para a variabilidade da tolerância à submersão dos biótipos avaliados pode ser a quantidade de carboidratos de reserva, como o amido, na semente. No período de avaliação, 24 horas após o início da germinação, as reservas contidas nas sementes são a fonte principal de energia para o crescimento. Em estudo que avaliou mecanismos de tolerância à submersão durante a germinação e crescimento inicial de arroz, a expressão do gene *SUS3* não variou entre a cultivar sensível e tolerante (Ismail *et al.*, 2009), o que contraria os resultados obtidos para capim-arroz. Outro fator que pode alterar a expressão do gene *SUS3* é a temperatura. Em estudo comparando cultivares de arroz a expressão do gene *SUS3* foi aumentada em condição de alta temperatura (Takehara *et al.*, 2018). Nesse sentido, é possível que a condição de temperatura da água esteja envolvida no processo de tolerância à submersão.

4.3.2.3 Genes envolvidos no metabolismo do etileno

Em arroz cultivado, os genes *SNK1*, *SNK2* e *SUB1A* são associados à capacidade de sobreviver à submersão em estádios avançados do desenvolvimento. O gene *SUB1A* inibe a síntese de etileno e o alongamento e reduz o consumo de energia em arroz cultivado (Fukao *et al.*, 2006), e a estratégia consiste em se manter quiescente durante o período de submersão, retomando o metabolismo quando as condições de normóxia retornarem. No presente estudo, a comparação do gene *SUB1A* com o genoma de capim-arroz resultou em baixa cobertura (Tabela 2), e ele não foi utilizado. Já os genes *SNK1* e *SNK2* estimulam a síntese de etileno e de giberelinas, que causam o rápida alongamento das plantas de arroz (Hattori *et al.*, 2009). Porém, ambos os genes *SNK* não apresentaram similaridade com o genoma de *E. crus-galli*.

4.3.2.4 Expressão de genes e tolerância à submersão

Os resultados obtidos indicam que os genes avaliados, envolvidos no metabolismo de carboidratos e vias anaeróbicas de produção de energia, podem estar relacionados com a tolerância à submersão em *Echinochloa crus-galli*, pelo menos durante o crescimento inicial. A resposta fenotípica dos biótipos verificada no estudo 4.2 é condizente com o padrão de expressão dos genes de tolerância à submersão (Figura 7). A síntese de diversos resultados da literatura, que avaliaram a expressão de genes relacionados com a tolerância à submersão em arroz cultivado e arroz-daninho durante diferentes estágios de desenvolvimento, reforça que a maior expressão dos genes avaliados é uma das estratégias de tolerância à submersão durante a germinação e o crescimento inicial em plantas (Kaspary; Roma-Burgos; Merotto Junior, 2020).

Estudo similar de avaliação da tolerância à submersão e a expressão de genes relacionados com essa característica foi realizado com arroz daninho. Os biótipos de arroz-daninho classificados como tolerante, medianamente tolerante e não tolerante à condição de alagamento apresentaram redução de 21,5, 21,3 e 28,65%, respectivamente, da altura da parte aérea, em comparação à condição saturada, quando mantidos sob lâmina de 10 cm por 28 dias após a semeadura (Kaspary, 2018). Já os biótipos de capim-arroz selecionados como tolerantes, moderadamente tolerantes e sensível resultaram em redução da altura da parte aérea de 34,2, 48,7 e 80,0% em comparação ao solo saturado, respectivamente, quando conduzidos sob lâmina de 12,5 cm (Figura 5). A maior redução da altura de plantas de capim-arroz em comparação com arroz-daninho indica que *E. crus-galli* apresenta tolerância à

submersão inferior. Os biótipos de arroz-daninho ainda apresentaram expressão dos genes *ADH1* e *ADH2* 5 e 2 vezes maior, respectivamente, para o biótipo tolerante em comparação com o medianamente tolerante, 4 dias após a semeadura do arroz (correspondente a avaliação de 24 horas após a germinação). Para os genes *SUS3* e *PDC1* não foram verificadas diferenças de expressão (Kaspary *et al.*, 2020). Em capim-arroz, a expressão de *ADH1* e *ADH2* é superior para os biótipos tolerantes MOST-51 e PALMS-01 (Figuras 7 B e C). As similaridades observadas em plantas de espécies diferentes reforçam a participação dos genes avaliados no mecanismo de tolerância à submersão.

A superioridade de MOST-51 e PALMS-01 em relação ao biótipo sensível SAOJER-01 em quase todos os genes avaliados demonstra que a tolerância à submersão não se deve a uma rota ou mecanismo isolado, mas a um conjunto de fatores. Os resultados retratam a expressão de genes no momento da coleta, 24 horas após o início da germinação, e os efeitos em outras fases de crescimento sob condição de submersão podem demonstrar diferente regulação gênica.

4.4 Avaliação do efeito de momentos de entrada de água e alturas de lâmina de água no controle de capim-arroz após aplicação de herbicidas em pré-emergência em condições de campo

A ANOVA, de acordo com o teste F ($p \leq 0,05$), não indicou diferença entre os dois anos de condução e os dados foram analisados de forma unificada para todas as variáveis.

4.4.1 Avaliações aos 10 dias após a semeadura

A variável eficiência de controle aos 10 dias após a aplicação (DAA) apresentou interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores biótipos e herbicidas. Não foi constatado efeito da irrigação, pois aos 10 DAA os tratamentos com lâmina de água não tinham sido iniciados. A eficiência de controle do herbicida clomazone foi superior a 91,6% para todos os biótipos aos 10 DAA (Tabela 11). O herbicida pendimetalina teve resultados de controle entre 66,3 e 85,2%. A variação nos níveis de eficiência de controle para os herbicidas imazapir + imazapic, penoxsulam e quincloraque são atribuídos aos diferentes mecanismos de resistência presentes entre os biótipos (descritos em 3.4). Os biótipos resistentes a imazapir-imazapic ARRGR-01, BAGE-01, CAMAQ-01, CAPV-01, MOST-51, PALMS-01, SANTPAT-01 e SAOJER-01 apresentaram níveis de controle inferiores a 33,1%. Os

herbicidas penoxsulam e quincloraque resultaram em níveis de controle superiores a 75,5% para os biótipos suscetíveis a esses herbicidas. De acordo com pesquisa recente entre produtores de arroz do estado do Rio Grande do Sul, a resistência a herbicidas é um dos principais entraves no controle de plantas daninhas na lavoura de arroz (Silva *et al.*, 2021) e os resultados obtidos neste estudo indicam que esse problema pode ser agravado pela variabilidade do efeito da lâmina de água nos biótipos de capim-arroz avaliados.

Para número da plantas aos 10 DAA foi verificada interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores biótipos e herbicidas. Não foi constatado efeito da irrigação, pois aos 10 DAA os tratamentos com lâmina de água não tinham sido iniciados. O número de plantas aos 10 DAA (Tabela 12), de forma similar ao que acontece com a eficiência de controle, foi principalmente definido pela resistência a herbicidas. Os herbicidas clomazone e pendimetalina reduziram o número de plantas em relação à testemunha de todos os biótipos. Para os herbicidas inibidores da ALS a redução do número de plantas em relação à testemunha foi menos acentuada, pois esses herbicidas apresentam ação mais lenta, quando comparados com os demais utilizados, e não apresentaram efeito total aos 10 DAA. O biótipo resistente MOST-51 não diferiu da testemunha em termos de número de plantas aos 10 DAA de imazapir+imazapic ou penoxsulam. Além disso, os biótipos resistentes aos herbicidas imazapir + imazapic, penoxsulam ou quincloraque não diferiram da testemunha.

TABELA 11. Eficiência de controle (%) de nove biótipos de capim-arroz aos 10 dias após a aplicação de cinco herbicidas em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.

	IMA	PEN	QUINC	PENDI	CLO	TEST
ARRGR-01	18,4 b	85,3 a *	7,5 e	77,7 b *	91,6 a *	0,0 a
BAGE-01	19,1 b	79,3 a *	77,2 b *	76,0 ab *	97,2 a *	0,0 a
CAMAQ-1	25,3 b *	20,6 b *	95,3 a *	74,4 ab *	95,6 a *	0,0 a
CAPV-01	11,9 b	21,9 b *	33,1 cd *	66,3 ab *	97,3 a *	0,0 a
MOST-01	78,8 a *	90,0 a *	94,3 b *	85,2 a *	98,3 a *	0,0 a
MOST-51	15,3 b	15,0 b	19,5 de	78,0 ab *	98,0 a *	0,0 a
PALMS-01	33,1 b *	94,5 a *	95,7 b *	84,9 a *	99,4 a *	0,0 a
SANTPAT-01	16,3 b	75,5 a *	54,7 c *	79,5 ab *	95,9 a *	0,0 a
SAOJER-01	16,9 b	16,9 b	17,5 de	72,7 ab *	96,9 a *	0,0 a
CV	79,4	63,9	66,6	7,6	2,3	0,0

Médias representadas pela mesma letra minúscula na coluna entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). * Estatisticamente diferente da TEST. CV: coeficiente de variação. IMA: imazapir+imazapic, PEN: penoxsulam, QUINC: quincloraque, PENDI: pendimetalina, CLO: clomazone, TEST: testemunha sem aplicação.

TABELA 12. Número de plantas de nove biótipos de capim-arroz aos 10 dias após a aplicação de cinco herbicidas em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.

	IMA	PEN	QUINC	PENDI	CLO	TEST
ARRGR-01	44,5 a	14,9 ab *	38,2 a	17,5 a *	2,6 a *	41,3 a
BAGE-01	30,7 b	17,7 a *	3,1 d *	11,7 ab *	1,0 a *	29,3 b
CAMAQ-1	13,4 cd	13,3 abc	2,4 d *	7,9 b *	0,0 a *	15,7 cd
CAPV-01	18,6 c	17,2 a	7,2 cd *	7,6 b *	2,3 a *	16,6 cd
MOST-01	10,1 d	7,5 cd *	2,8 d *	6,7 b *	0,3 a *	19,7 c
MOST-51	15,0 cd	16,9 a	15,5 b	6,4 b *	0,8 a *	18,2 cd
PALMS-01	11,8 d	2,6 d *	3,1 d *	7,3 b	0,3 a *	11,9 d
SANTPAT-01	15,3 cd	10,1 bc *	10,8 bc	8,0 b *	0,3 a *	16,7 cd
SAOJER-01	13,3 cd	15,8 ab	12,4 bc	5,3 b *	0,4 a *	14,4 cd
CV	58,6	40,1	97,4	43,0	93,8	45,2

Médias representadas pela mesma letra minúscula na coluna entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). * Estatisticamente diferente da TEST ($p \leq 0,05$). CV: coeficiente de variação. IMA: imazapir+imazapic, PEN: penoxsulam, QUINC: quincloraque, PENDI: pendimetalina, CLO: clomazone, TEST: testemunha sem aplicação.

As diferenças de número de plantas para cada um dos biótipos na testemunha sem aplicação ocorreram em função da qualidade das sementes utilizadas. A resistência a herbicidas, assim como o processo de tolerância à submersão, é resultado da pressão de seleção causada pelo uso repetitivo de um mecanismo de ação herbicida ao longo do tempo (Vidotto *et al.*, 2020).

Aos 10 DAA é esperado que as plantas de capim-arroz que receberam aplicação de quincloraque, clomazone e pendimetalina e são suscetíveis a esses herbicidas já estejam mortas. Os maiores níveis de controle desses três herbicidas (Tabela 11) nesse momento de avaliação são atribuídos ao seu efeito mais rápido, em comparação com inibidores da ALS. Esse resultado também é confirmado pelo número de plantas (Tabela 12), já que, com exceção dos biótipos ARRGR-01, MOST-51, SANTPAT-01 e SAOJER-01 para o herbicida quincloraque, todos os demais apresentaram redução no número de plantas em relação a testemunha.

4.4.2 Avaliações aos 50 dias após a semeadura

Para a avaliação da eficiência de controle aos 50 DAA, a análise de variância mostrou interação ($p \leq 0,05$) entre os fatores irrigação, herbicidas e biótipos. Na testemunha sem aplicação de herbicidas, a lâmina de água com altura de 15 cm, estabelecida em V2 resultou em maior controle dos biótipos de capim-arroz quando comparado com as demais irrigações (Tabela 13). O biótipo sensível SAOJER-01 apresentou níveis de controle de 50%

TABELA 13. Eficiência de controle (%) de nove biótipos de capim-arroz aos 50 dias após a aplicação de cinco herbicidas e entrada de água em estádio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.

Lâmina de 5 cm com entrada de água em estádio V2																		
	IMA			PEN			QUINC			PENDI		CLO		TEST				
ARRGR-01	65,6	bc	* I	100,0	a	* ns	57,5	b	* I	87,5	a	* ns	100,0	a	* ns	37,5	a	I
BAGE-01	71,3	abc	* I	100,0	a	* ns	100,0	a	* ns	97,5	a	* ns	100,0	a	* ns	12,5	ab	II
CAMAQ-1	78,8	ab	* I	93,8	a	* I	100,0	a	* ns	95,0	a	* ns	100,0	a	* ns	12,5	ab	ns
CAPV-01	40,0	c	* I	53,8	b	* I	53,8	b	* ns	96,3	a	* ns	100,0	a	* ns	12,5	ab	ns
MOST-01	100,0	a	* ns	100,0	a	* ns	100,0	a	* ns	97,5	a	* ns	100,0	a	* ns	0,0	b	ns
MOST-51	60,0	bc	* I	71,3	ab	* I	45,0	b	* I	86,9	a	* ns	100,0	a	* ns	0,0	b	ns
PALMS-01	76,3	ab	* I	100,0	a	* ns	100,0	a	* ns	93,8	a	* ns	100,0	a	* ns	0,0	b	ns
SANTPAT-01	60,0	bc	* I	92,5	a	* ns	50,0	b	* I	93,8	a	* ns	93,8	a	* ns	0,0	b	II
SAOJER-01	52,5	bc	* II	75,0	ab	* I	63,8	b	I	100,0	a	* ns	100,0	a	* ns	37,5	a	I
CV	26,1			19,2			33,3			4,7			2,1			122,5		
Lâmina de 15 cm com entrada de água em estádio V2																		
	IMA			PEN			QUINC			PENDI		CLO		TEST				
ARRGR-01	72,5	abc	* I	100,0	a	*	62,5	b	* I	100,0	a	*	100,0	a	*	25,0	ab	I
BAGE-01	83,8	ab	* I	100,0	a	*	100,0	a	*	93,8	a	*	100,0	a	*	31,3	ab	I
CAMAQ-1	87,5	ab	* I	80,0	ab	* I	100,0	a	*	100,0	a	*	100,0	a	*	25,0	ab	
CAPV-01	50,0	c	I	73,8	ab	* I	52,5	b		90,0	a	*	100,0	a	*	25,0	ab	
MOST-01	100,0	a	*	100,0	a	*	100,0	a	*	100,0	a	*	100,0	a	*	12,5	b	
MOST-51	77,5	abc	* I	76,3	ab	* I	58,8	b	* I	97,5	a	*	100,0	a	*	0,0	b	
PALMS-01	87,5	ab	* I	100,0	a	*	100,0	a	*	97,5	a	*	100,0	a	*	0,0	b	
SANTPAT-01	58,8	bc	I	93,1	ab	*	73,8	ab	I	100,0	a	*	100,0	a	*	50,0	a	I
SAOJER-01	100,0	a	* I	63,8	b	I	77,5	ab	I	100,0	a	*	100,0	a	*	50,0	a	I
CV	21,5			16,1			24,7			3,6			0,0			75,5		
Lâmina de 5 cm com entrada de água em estádio V4																		
	IMA			PEN			QUINC			PENDI		CLO		TEST				
ARRGR-01	37,5	bc	* II	100,0	a	*	36,3	b	* II	85,0	a	*	100,0	a	*	0,0	a	II
BAGE-01	38,8	b	* II	88,8	a	*	100,0	a	*	93,8	a	*	100,0	a	*	0,0	a	III
CAMAQ-1	40,0	b	* II	40,0	b	* II	100,0	a	*	85,0	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
CAPV-01	6,3	c	III	25,0	bc	II	36,3	b	*	87,5	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
MOST-01	98,8	a	*	100,0	a	*	100,0	a	*	90,0	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
MOST-51	33,8	bc	* II	20,0	bc	II	17,5	b	II	91,3	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
PALMS-01	41,3	b	* II	98,8	a	*	100,0	a	*	100,0	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
SANTPAT-01	13,8	bc	II	93,8	a	*	15,0	b	III	85,0	a	*	100,0	a	*	0,0	a	II
SAOJER-01	25,0	bc	III	5,0	c	II	6,3	b	II	100,0	a	*	100,0	a	*	0,0	a	II
CV	70,3			63,0			74,1			6,6			0,0			0,0		
Lâmina de 15 cm com entrada de água em estádio V4																		
	IMA			PEN			QUINC			PENDI		CLO		TEST				
ARRGR-01	37,5	bc	* II	100,0	a	*	25,0	b	III	87,0	a	*	100,0	a	*	0,0	a	II
BAGE-01	47,5	b	* II	98,8	a	*	100,0	a	*	78,8	a	*	100,0	a	*	0,0	a	III
CAMAQ-1	47,5	b	* II	40,0	b	* II	98,8	a	*	92,5	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
CAPV-01	18,8	bc	II	20,0	b	II	28,8	b		86,3	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
MOST-01	100,0	a	*	100,0	a	*	100,0	a	*	87,5	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
MOST-51	27,5	bc	II	16,3	b	II	13,8	b	II	87,5	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
PALMS-01	50,0	b	* II	100,0	a	*	100,0	a	*	93,8	a	*	100,0	a	*	0,0	a	
SANTPAT-01	15,0	c	II	81,3	a	*	32,5	b	* II	93,8	a	*	100,0	a	*	0,0	a	II
SAOJER-01	30,0	bc	* III	13,8	b	II	8,8	b	II	100,0	a	*	100,0	a	*	0,0	a	II
CV	61,0			62,9			73,9			6,8			0,0			0,0		

Médias representadas pela mesma letra minúscula na coluna e números romanos entre tratamentos de entrada de água não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). * Estatisticamente diferente da TEST ($p \leq 0,05$). ns: não significativo. CV: coeficiente de variação. IMA: imazapir+imazapic, PEN: penoxsulam, QUINC: quincloraque, PENDI: pendimetalina, CLO: clomazone, TEST: testemunha sem aplicação.

sob lâmina de 15 cm com entrada em V2. Já quando a lâmina de 15 cm foi estabelecida em V4 o controle do biótipo SAOJER-01 na testemunha foi de 0%. A entrada de água de forma antecipada encontrou plantas de capim-arroz em estádios menores de desenvolvimento, facilitando os efeitos da submersão e o controle. Outro experimento, ao avaliar o momento de início e a duração da submersão, concluiu que quanto mais próximo da semeadura ocorrer o estabelecimento da lâmina de água, maiores são as restrições à germinação e crescimento de raízes e parte aérea de *Echinochloa crus-galli*, *Echinochloa colona* e arroz cultivado, independentemente da tolerância à submersão (Estioko *et al.*, 2014).

Na condição testemunha sem aplicação de herbicidas é possível realizar a análise do efeito da época e altura de lâmina de água nos biótipos com diferentes sensibilidade à submersão, selecionados nos estudos em casa de vegetação. Os biótipos tolerantes MOST-51 e PALMS-01, capazes de superar a lâmina de 12,5 cm em condições controladas (Figura 5), não foram controlados por nenhuma condição de irrigação. Em comparação com o biótipo sensível, MOST-51 apresentou expressão superior de todos os genes avaliados, e PALMS-01 foi superior para expressão dos genes *ADH1*, *ADH2*, *SUS3* e *ALDH* (Figura 7).

O biótipo sensível à submersão SÃOJER-01 apresentou nível de controle de 50 e 37,5 % para as alturas de lâmina de 15 e 5 cm, respectivamente, quando a entrada de água ocorreu em V2 (Tabela 13). Já quando a entrada de água ocorreu em estágio V4 nenhuma altura de lâmina de água resultou em controle. Isso significa que o momento de entrada de água é mais importante do que a altura da lâmina para o controle de biótipos sensíveis ao alagamento. Esse biótipo, em casa de vegetação, não foi capaz de superar a lâmina de 7,5 cm (Figura 5), porém, em condições de campo, superou a lâmina de 15 cm com entrada em V4. No estudo em casa de vegetação, a condição de submersão foi estabelecida após a semeadura, enquanto que no campo a irrigação em estágio V4 foi iniciada quando as plantas de capim-arroz apresentavam altura aproximada de 10 cm. Essa diferença pode justificar a sobrevivência do biótipo SAOJER-01 sob lâmina de 15 cm em condição de campo.

Os biótipos SANTPAT-01 e BAGE-01, selecionados como moderadamente tolerantes, foram controlados sob lâmina de 15 cm com entrada em V2 em 50 e 31,3%, respectivamente (Tabela 13). Para esse mesmo momento de entrada de água, porém com lâmina de 5 cm, BAGE-01 atingiu 12,5% de controle e SANTPAT-01 não foi controlado. O biótipo SANTPAT-01 apresentou expressão relativa dos genes *ADH2* e *ALDH* superior em comparação com o biótipo sensível (Figura 7), o que indica que a capacidade parcial de

ativar rotas relacionadas com a respiração anaeróbica pode garantir a sobrevivência sob alturas de lâminas de água menores. Os biótipos ARRGR-01, CAMAQ-01 CAPV-01 e MOST-01, classificados como moderadamente tolerantes à submersão através dos resultados obtidos em 4.2.1, não apresentaram respostas consistentes. O biótipo ARRGR-01 atingiu maiores níveis de controle quando a irrigação foi iniciada em V2, mas sem diferenças entre altura de lâmina de água (Tabela 13). Os demais biótipos não foram significativamente afetados pela irrigação em condição de campo, em termos de eficiência de controle.

O herbicida clomazone apresentou controle superior a 93,8% para todos os biótipos e não foi afetado pela irrigação. Para o herbicida pendimetalina o nível de controle variou de 78,8% a 100%, independentemente da irrigação adotada (Tabela 13). Para o herbicida imazapir + imazapic, o controle do biótipo sensível à submersão SAOJER-01 foi superior à testemunha apenas sob lâmina de 15 cm, independentemente do momento de entrada de água (Tabela 13). O resultado indica que para o controle desse biótipo o herbicida imazapir + imazapic é favorecido por alturas de lâmina maiores. Os biótipos tolerantes à submersão, MOST-51 e PALMS-01, e moderadamente tolerantes, BAGE-01 e CAMAQ-01, apresentaram controle superior em relação à testemunha para o herbicida imazapir + imazapir, em todas as irrigações, com exceção de MOST-51 sob lâmina de 15 cm em V4. Nesse caso a lâmina de água perde efeito sobre a eficiência de controle, devido à tolerância à submersão moderada e alta desses biótipos. Assim, o que define o nível de controle é o nível de resistência dos biótipos, que pode ser variável, dependendo do mecanismo de resistência (Panozzo *et al.*, 2021).

Para os herbicidas penoxsulam e quincloraque todos os biótipos suscetíveis foram controlados a níveis superiores a 81,3% (Tabela 13). Os biótipos resistentes ao penoxsulam foram mais controlados quando a irrigação foi estabelecida em V2. O biótipo MOST-51, por exemplo, resultou em 71,3% quando a lâmina de 5 cm iniciou em V2, enquanto que o controle foi de apenas 16,3% quando a mesma lâmina foi estabelecida em V4. Para quincloraque, tanto o biótipo sensível a submersão, quanto o tolerante MOST-51 foram mais controlados com a antecipação da irrigação (Tabela 13). SAOJER-01 resultou em 77,5% de controle com lâmina de 15 cm em V2, e apenas 8,8% com lâmina de 15 em V4. Recentemente a situação do controle de plantas daninhas foi avaliada, através de pesquisa com técnicos no estado do Rio Grande do Sul, e os resultados indicam que 43% das lavouras apresentam capim-arroz resistente ao herbicida quincloraque e 49% aos herbicidas

inibidores da ALS (Ulguim *et al.*, 2021), mecanismo de ação dos herbicidas imazapir + imazapic e penoxsulam.

Esse é o primeiro estudo a avaliar os efeitos da aplicação de herbicidas, momentos de entrada de água e alturas de lâmina de água de forma conjunta. As interações entre esses fatores permitem inferir que a lâmina de água complementa o efeito do herbicida e auxilia no controle de biótipos de capim-arroz com resistência a herbicidas. A altura da lâmina de água, por si só, em condições de campo, foi capaz de controlar o biótipo sensível à submersão e resistente a herbicidas em até 50% (Tabela 13), o que reforça que o correto manejo da lâmina de água, em termos de altura e momento de entrada, se configura como um importante método de controle de capim-arroz nos cultivos de arroz irrigado.

A variável número de plantas aos 50 DAA apresentou interação significativa ($p \leq 0,05$) entre os fatores irrigação, herbicidas e biótipos e respondeu de forma similar à eficiência de controle aos 50 DAA. O número de plantas na testemunha foi maior para irrigação iniciada em estágio V4 em comparação com a irrigação iniciada em estágio V2 para todos os biótipos sensíveis e moderadamente tolerantes à submersão (Tabela 14). Na altura de lâmina de 15 cm em V2 os biótipos tolerantes MOST-51 e PALMS-01 apresentaram maior número de plantas do que o biótipo sensível SAOJER-01, os demais biótipos resultaram em respostas intermediárias. Na altura de lâmina de 5 cm em estágio V2 os biótipos MOST-51, PALMS-01, ARRGR-01 e SANTPAT-01, os dois últimos moderadamente tolerantes, foram superiores ao SAOJER-1. O número de plantas foi reduzido para os biótipos tolerantes apenas sob lâmina de 15 cm em V2. O efeito isolado da lâmina de água, avaliado na testemunha, demonstra que a entrada da água de forma antecipada diminuiu o número de plantas vivas aos 50 DAA, independentemente da altura de lâmina de água para os biótipos moderadamente tolerantes e sensível. A causa para a diminuição no número de plantas, exclusivamente pelo efeito da água, é a morte por esgotamento de reservas, discutidas em 4.1.

Os herbicidas clomazone e pendimetalina não apresentaram variação para o número de plantas entre as irrigações e apresentaram menor número de plantas em relação à testemunha, independentemente da irrigação realizada (Tabela 14). O baixo número de plantas para esses herbicidas é explicado pela suscetibilidade dos biótipos avaliados. Os herbicidas imazapir + imazapic, penoxsulam e quincloraque apresentaram menor número de plantas quando a irrigação foi estabelecida em V2 (Tabela 14). Neste momento de irrigação,

TABELA 14. Número de plantas de nove biótipos de capim-arroz aos 50 dias após a aplicação de cinco herbicidas e entrada de água em estádio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.

Lâmina de 5 cm com entrada de água em estádio V2																		
	IMA			PEN			QUINC			PENDI			CLO		TEST			
ARRGR-01	3,5	ab	III	0,0	a	* ns	4,3	a	II	0,5	a	* ns	0,0	a	* ns	6,8	ab	III
BAGE-01	2,4	ab	II	0,0	a	ns	0,0	a	ns	0,1	a	ns	0,0	a	ns	3,3	bc	II
CAMAQ-1	0,9	ab	II	1,0	a	II	0,0	a	ns	0,3	a	ns	0,0	a	ns	3,6	bc	II
CAPV-01	5,1	a	III	3,3	a	II	2,4	a	II	0,1	a	ns	0,0	a	ns	4,3	bc	II
MOST-01	0,0	b	ns	0,0	a	ns	0,0	a	ns	0,1	a	ns	0,0	a	ns	4,1	bc	II
MOST-51	3,0	ab	* II	3,3	a	* II	3,4	a	* II	0,5	a	* ns	0,0	a	* ns	9,8	a	I
PALMS-01	1,3	ab	* II	0,0	a	* ns	0,0	a	* ns	0,0	a	* ns	0,0	a	* ns	9,4	a	I
SANTPAT-01	4,5	ab	* II	0,5	a	* ns	2,9	a	* II	0,8	a	* ns	0,0	a	* ns	6,1	ab	II
SAOJER-01	2,1	ab	III	3,3	a	II	3,8	a	II	0,0	a	ns	0,0	a	ns	1,5	c	II
CV	66,7			122,9			98,9			98,9			0,0		51,8			
Lâmina de 15 cm com entrada de água em estádio V2																		
	IMA			PEN			QUINC			PENDI			CLO		TEST			
ARRGR-01	2,5	ab	III	0,0	a		2,9	a	II	0,0	a		0,0	a		3,1	ab	III
BAGE-01	0,6	ab	II	0,0	a		0,0	a		0,5	a		0,0	a		3,8	ab	II
CAMAQ-1	0,5	ab	II	0,9	a	II	0,0	a		0,0	a		0,0	a		2,9	ab	II
CAPV-01	3,0	ab	III	1,1	a	II	1,8	a	II	0,3	a		0,0	a		3,6	ab	II
MOST-01	0,0	b		0,0	a		0,0	a		0,0	a		0,0	a		1,9	ab	II
MOST-51	2,4	ab	* II	1,0	a	* II	3,4	a	II	0,8	a	*	0,0	a	*	5,7	a	II
PALMS-01	0,5	ab	* II	0,0	a	*	0,0	a	*	0,0	a	*	0,0	a	*	6,0	a	II
SANTPAT-01	5,1	a	II	0,4	a		2,1	a	II	0,0	a		0,0	a		4,1	ab	II
SAOJER-01	0,0	b	III	1,5	a	II	1,5	a	II	0,0	a		0,0	a		1,0	b	II
CV	107,2			108,9			104,1			167,7			0,0		45,4			
Lâmina de 5 cm com entrada de água em estádio V4																		
	IMA			PEN			QUINC			PENDI			CLO		TEST			
ARRGR-01	7,5	b	* II	0,0	b	*	12,0	a	* I	0,3	a	*	0,0	a	*	19,3	a	I
BAGE-01	7,0	b	* I	0,8	b	*	0,0	c	*	0,1	a	*	0,0	a	*	14,1	b	I
CAMAQ-1	6,3	b	I	6,5	a	I	0,0	c	*	0,8	a	*	0,0	a	*	10,3	bcd	I
CAPV-01	8,3	ab	II	8,3	a	I	6,1	b	I	0,4	a	*	0,0	a	*	9,4	cd	I
MOST-01	0,1	c	*	0,0	b	*	0,0	c	*	0,1	a	*	0,0	a	*	7,8	d	I
MOST-51	7,5	b	I	8,9	a	I	11,4	a	I	0,1	a	*	0,0	a	*	9,9	bcd	I
PALMS-01	4,6	bc	* I	0,0	b	*	0,0	c	*	0,9	a	*	0,0	a	*	9,8	bcd	I
SANTPAT-01	12,6	a	I	0,4	b	*	9,8	ab	I	0,1	a	*	0,0	a	*	11,6	bcd	I
SAOJER-01	8,0	ab	* II	11,0	a	I	14,0	a	I	0,0	a	*	0,0	a	*	12,5	bc	I
CV	48,3			115,6			101,2			100,4			0,0		29,5			
Lâmina de 15 cm com entrada de água em estádio V4																		
	IMA			PEN			QUINC			PENDI			CLO		TEST			
ARRGR-01	12,5	ab	I	0,0	c	*	11,5	a	I	3,5	a	*	0,0	a	*	8,3	c	II
BAGE-01	7,6	cd	* I	0,1	c	*	0,0	c	*	0,9	a	*	0,0	a	*	12,0	abc	I
CAMAQ-1	7,6	cd	I	7,3	b	I	1,1	c	*	1,1	a	*	0,0	a	*	9,5	bc	I
CAPV-01	10,4	bcd	I	11,3	ab	I	6,1	b	* I	0,6	a	*	0,0	a	*	11,8	abc	I
MOST-01	0,0	e	*	0,0	c	*	0,0	c	*	0,6	a	*	0,0	a	*	8,0	c	I
MOST-51	8,3	bcd	* I	10,9	ab	I	11,8	a	I	0,4	a	*	0,0	a	*	13,6	ab	I
PALMS-01	6,0	d	I	0,0	c	*	0,0	c	*	0,3	a	*	0,0	a	*	9,1	bc	I
SANTPAT-01	12,0	abc	I	1,3	c	*	13,1	a	I	0,1	a	*	0,0	a	*	11,9	abc	I
SAOJER-01	16,5	a	I	13,5	a	I	14,5	a	I	0,0	a	*	0,0	a	*	16,3	a	I
CV	51,9			116,8			97,3			127,5			0,0		24,3			

Médias representadas pela mesma letra minúscula na coluna e números romanos entre tratamentos de entrada de água não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). * Estatisticamente diferente da TEST ($p \leq 0,05$). ns: não significativo. CV: coeficiente de variação. IMA: imazapir+imazapic, PEN: penoxsulam, QUINC: quincloraque, PENDI: pendimetalina, CLO: clomazone, TEST: testemunha sem aplicação.

o número de plantas para os biótipos resistentes aos três herbicidas foi definido, principalmente, pelo efeito da lâmina de água, sendo que apenas MOST-51 e PALMS-01 diferiram da testemunha em ambas as lâminas no estágio V2. Já para as lâminas estabelecidas em estágio V4, o número de plantas é principalmente definido pelo mecanismo de resistência de cada um dos biótipos, como discutido para a variável eficiência de controle aos 50 DAA.

A comparação do número de plantas aos 10 DAA (Tabela 12) com o número de plantas ao 50 DAA (Tabela 14) de todos os biótipos, herbicidas e irrigações resulta em redução do número de plantas. O biótipo CAPV-01, após aplicação de imazapir + imazapic, reduziu o número de plantas de 18,6 (Tabela 12) para 6,7, na média dos tratamentos de irrigação (Tabela 14). Esse resultado indica que a interação entre lâmina de água e herbicida potencializa o controle de biótipos de capim-arroz resistentes a herbicida. Já o biótipo BAGE-01, reduziu de 29,3 para 8,3 plantas na testemunha sem aplicação, independentemente da irrigação adotada. O que reforça o efeito isolado da lâmina de água no controle dos biótipos.

Para a variável MSPA aos 50 dias após a semeadura, a análise de variância indicou a ocorrência de interação ($p \leq 0,05$) entre os fatores irrigação e biótipos. A entrada de água em V2, independentemente da altura da lâmina de água, reduziu a massa de todos os biótipos de capim-arroz (Tabela 15). Sob lâmina de 15 cm em estágio V2 os biótipos não apresentaram diferenças de acúmulo de massa. A lâmina de 5 cm em V2 permitiu maior acúmulo de massa para os biótipos tolerantes MOST-51 e PALMS-01. Com a entrada de água em V4, os biótipos CAPV-01 (moderadamente tolerante) e SAOJER-01 (sensível) acumularam menores teores de massa sob lâmina de 15 cm. Os maiores valores de massa de CAPV-01 sob lâmina de 5 cm se devem à alta resistência a herbicidas desse biótipo (dados não publicados). Um estudo similar realizado em condições controladas concluiu que quanto mais cedo o ambiente de hipóxia é iniciado e quanto maior a altura da lâmina de água, maiores os efeitos sobre o controle de plantas do gênero *Echinochloa* (Liu *et al.*, 2016).

O efeito dos tratamentos de irrigação pode ser observado na ilustração do desenvolvimento das plantas de capim-arroz aos 51 dias após a semeadura (Figura 8). O início da irrigação em V2 com lâmina de 15 cm resultou em menor desenvolvimento de todos biótipos de capim-arroz avaliados. Nessa condição, até os biótipos tolerantes à submersão MOST-51 e PALMS-01 foram afetados pelo alagamento. As penalidades de

menor perfilhamento e menor produção de sementes podem ser importantes para estratégias de manejo de plantas daninhas resistentes a herbicidas a longo prazo.

TABELA 15. Massa seca da parte aérea (g) de nove biótipos de capim-arroz aos 50 dias após a semeadura e entrada de água em estágio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2020/21 e 2021/22.

	5 cm em V2	15 cm em V2	5 cm em V4	15 cm em V4
ARRGR-01	0,132 b B	0,107 a B	0,297 c A	0,278 c A
BAGE-01	0,135 bc BC	0,068 a C	0,367 c A	0,242 c AB
CAMAQ-1	0,076 d BC	0,055 a C	0,311 c A	0,225 c AB
CAPV-01	0,337 a BC	0,123 a C	0,716 a A	0,475 ab B
MOST-01	0,135 b B	0,065 a B	0,255 c A	0,248 c A
MOST-51	0,315 a B	0,191 a C	0,566 ab A	0,530 a A
PALMS-01	0,232 ab AB	0,123 a B	0,253 c A	0,163 c AB
SANTPAT-01	0,193 b BC	0,125 a C	0,423 bc A	0,326 bc AB
SAOJER-01	0,112 cd B	0,057 a B	0,611 a A	0,223 c B
CV	49,6	44,2	40,2	40,8

Médias representadas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). 5 cm em V2: lâmina de 5 cm com entrada da água em V2. 15 cm em V2: lâmina de 15 cm com entrada da água em V2. 5 cm em V4: lâmina de 5 cm com entrada da água em V4. 15 cm em V4: lâmina de 15 cm com entrada da água em V4. CV: coeficiente de variação.

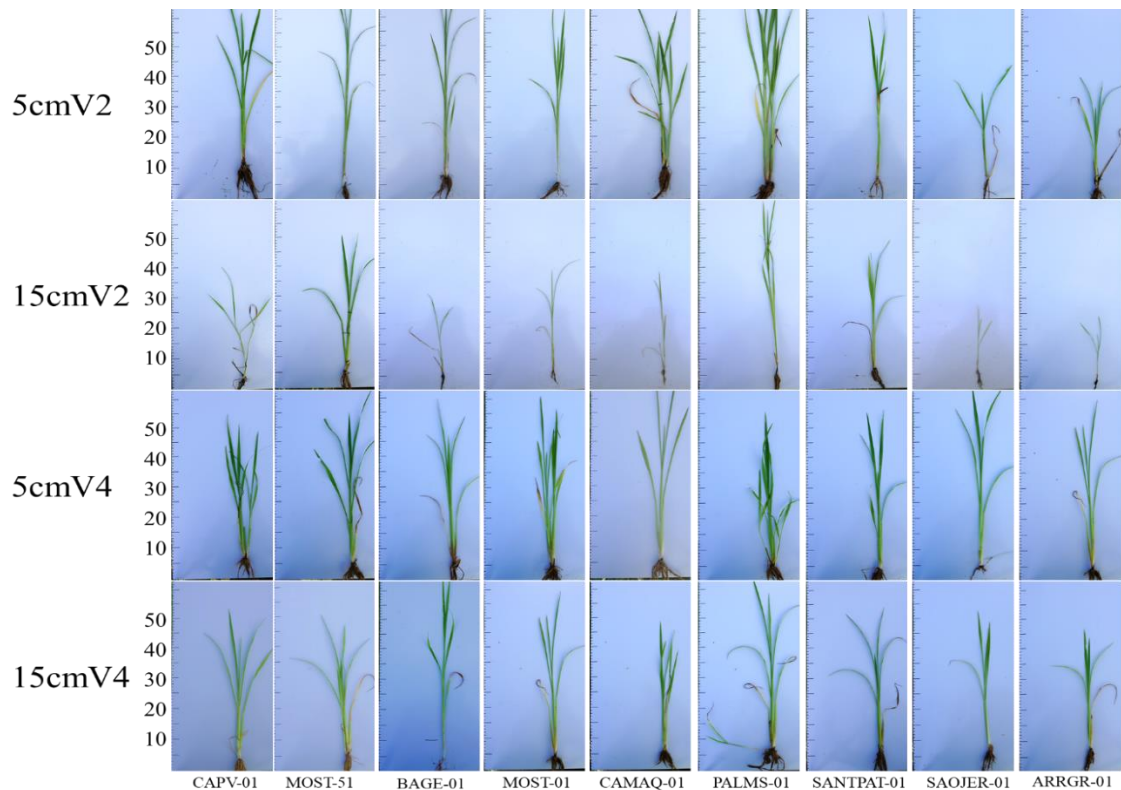


FIGURA 8. Desenvolvimento de nove biótipos de capim-arroz aos 51 dias após a semeadura e entrada de água em estágio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm, em condições de campo. Cachoeirinha, RS, 2021/22.

A ANOVA indicou efeito simples significativo do fator irrigação ($p \leq 0,05$) para a variável rendimento de grãos. O rendimento de grãos (Figura 9) foi significativamente maior quando as lâminas de água foram estabelecidas no estágio V2. Esse resultado é parcialmente justificado pela menor competição por nutrientes ao longo do ciclo de cultivo, devido ao maior nível de controle dos biótipos quando a irrigação foi iniciada de forma antecipada (Tabela 13). Além disso, a entrada antecipada de água permite que a cultura seja mantida em condições ideais de crescimento, com ausência de estresse por seca. Em pesquisa realizada com produtores de arroz do estado do Rio Grande do Sul, o uso inadequado da irrigação, principalmente através da entrada atrasada de água, foi elencado como um dos principais limitantes da produtividade da lavoura (Silva *et al.*, 2021).

A antecipação da entrada de água pode beneficiar a obtenção de maiores rendimentos de grãos da cultura de arroz, devido aos benefícios diretos relacionados ao desenvolvimento da cultura e também em relação ao efeito da submersão no controle capim-arroz. Em estudo que avaliou o controle da capim-arroz em função dos métodos de manejo a antecipação da irrigação resultou em maiores produtividades da cultura, independentemente do momento de aplicação do herbicida, em pré ou pós-emergência (Pinto *et al.*, 2008). Este efeito pode ocorrer devido ao favorecimento da eficiência de herbicidas e pela supressão de biótipos menos tolerantes à submersão, já que a antecipação da irrigação diminui a interferência de capim-arroz na cultura do arroz irrigado, como demonstrado por estudo que avaliou a interferência de *E. crus-galli* em função da época de irrigação em arroz irrigado por inundação (Agostinetto *et al.*, 2007).

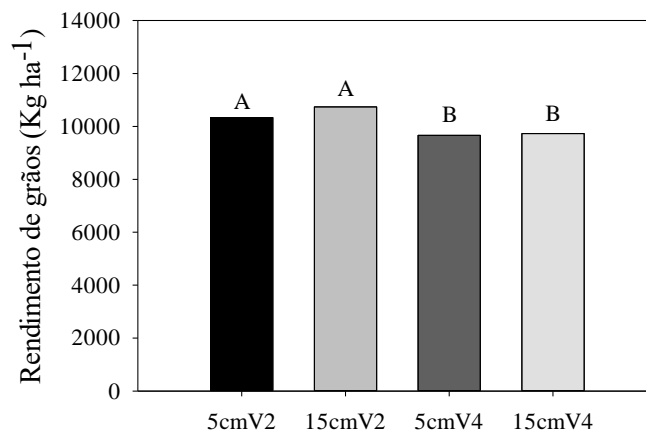


FIGURA 9. Rendimento de grãos de arroz resultante da entrada de água em estágio V2 e V4 com altura de lâmina de água de 5 ou 15 cm em condições de campo. Rendimento de grãos com letras iguais não diferente entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Cachoeirinha, RS, 2020/21.

5 CONCLUSÕES

O efeito da lâmina de água sobre a germinação e crescimento de biótipos de capim-arroz é variável e depende da altura de lâmina de água e da capacidade de cada biótipo tolerar a condição de submersão. A variável germinação não foi um indicador adequado da tolerância à submersão nas condições testadas, devido à grande variação. Ao passo que, a variável altura de plantas sob condição de submersão pode ser utilizada para diagnóstico deste estresse.

Grande parte dos biótipos avaliados apresentam moderada capacidade de tolerar a submersão. Essa característica intrínseca da espécie *Echinochloa crus-galli*, aliada ao manejo ineficiente da lâmina de água e cultivos sucessivos de arroz, pode favorecer a seleção de biótipos cada vez mais tolerantes à condição de alagamento. O maior número de casos de tolerância à submersão torna o controle dessa espécie mais complexo, pois dos 45 biótipos avaliados, 43 superaram a lâmina de 7,5 cm, e quatro tiveram a capacidade de superar a lâmina de 12,5 cm.

A variabilidade da tolerância à submersão entre os biótipos de capim-arroz parece estar associada com a expressão diferencial de genes envolvidos no metabolismo de carboidratos e manutenção de vias alternativas de produção de energia em ambiente anaeróbico.

Em condições de campo, a antecipação da entrada de água se configura como estratégia importante no controle de capim-arroz. De forma geral, independentemente da altura, a lâmina de água potencializa o efeito dos herbicidas quando a irrigação é iniciada no estágio V2, inclusive para biótipos que apresentam resistência a um ou mais mecanismos de ação herbicida.

6 REFERÊNCIAS

- Agostinetto, D. *et al.* Interferência de capim-arroz (*Echinochloa* spp.) na cultura do arroz irrigado (*Oryza sativa*) em função da época de irrigação. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 25, n. 4, p. 689–696, 2007.
- Avila, L. A. de *et al.* Eighteen years of Clearfield™ rice in Brazil: what have we learned? **Weed Science**, West Lafayette v. 69, n. 5, p. 585–597, 2021.
- Bagavathiannan, M. V.; Norsworthy, J. K. Pollen-mediated transfer of herbicide resistance in *Echinochloa crus-galli*. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 70, n. 9, p. 1425–1431, 2014.
- BORTOLY, E. D. **Avaliação do mecanismo de resistência a Imazethapyr e relações filogenéticas de capim-arroz (*Echinochloa* spp.)**. 2013. 118 f. Dissertação (Mestrado e Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.
- Chauhan, B. S.; Abugho, S. B. Effects of water regime, nitrogen fertilization, and rice plant density on growth and reproduction of lowland weed *Echinochloa crus-galli*. **Crop Protection**, Guildford, v. 54, p. 142–147, 2013.
- Chauhan, B. S.; Johnson, D. E. Ecological studies on *Cyperus difformis*, *Cyperus iria* and *Fimbristylis miliacea*: three troublesome annual sedge weeds of rice. **Annals of Applied Biology**, Warwickshire, v. 155, n. 1, p. 103–112, 2009.
- Chauhan, B. S.; Johnson, D. E. Ecological studies on *Echinochloa crus-galli* and the implications for weed management in direct-seeded rice. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, n. 11, p. 1385–1391, 2011.
- Chauhan, B. S.; Johnson, D. E. Implications of narrow crop row spacing and delayed *Echinochloa colona* and *Echinochloa crus-galli* emergence for weed growth and crop yield loss in aerobic rice. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 117, n. 2/3, p. 177–182, 2010.
- Chen, H.; Qualls, R. G.; Miller, G. C. Adaptive responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding: biomass allocation, adventitious rooting, aerenchyma formation and ethylene

production. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 119–128, 2002.

Colmer, T. D.; Greenway, H. Ion transport in seminal and adventitious roots of cereals during O₂ deficiency. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 1, p. 39–57, 2011.

Colmer, T. D.; Winkel, A.; Pedersen, O. A perspective on underwater photosynthesis in submerged terrestrial wetland plants. **AoB Plants**, Oxford, v. 2011, [art.] plr030, 2011.

Cutti, L. *et al.* Negative cross-resistance to clomazone in imazethapyr-resistant *Echinochloa crus-galli* caused by increased metabolization. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v. 178, [art.] 104918, 2021.

Dalazen, G.; Markus, C.; Merotto Junior, A. Differential expression of genes associated with degradation enhancement of imazethapyr in Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Journal of Agricultural Science**, London, v. 10, n. 9, p. 389-401, 2018.

Delhaize, E. *et al.* Engineering high-level aluminum tolerance in barley with the ALMT1 gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, DC, v. 101, n. 42, p. 15249–15254, 2004.

Dordas, C. Nonsymbiotic hemoglobins and stress tolerance in plants. **Plant Science**, Shannon, v. 176, n. 4, p. 433-440, 2009.

Duhoux, A.; Délye, C. Reference genes to study herbicide stress response in *Lolium* sp.: up-regulation of P450 genes in plants resistant to acetolactate-synthase inhibitors. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 5, [art.] e63576, 2013.

Dussault, A.-A.; Pouliot, M. Rapid and simple comparison of messenger RNA levels using real-time PCR. **Biological Procedures Online**, Waterloo, v. 8, p. 1–10, 2006.

Estioko, L. P. *et al.* Differences in responses to flooding by germinating seeds of two contrasting rice cultivars and two species of economically important grass weeds. **AoB Plants**, Oxford, v. 6, [art.] plu064, [p. 1–15], 2014.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Crops and livestock products**. [Base de Dados FAOSTAT]. Rome: FAO, 2020. Disponível em: <https://www.fao.org/heapstat/en/#data/QCL/visualize>. Acesso em: 6 fev. 2022.

Fox, T. C. *et al.* Identification and gene expression of anaerobically induced enolase in *Echinochloa phyllopogon* and *Echinochloa crus-pavonis*. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 109, n. 2, p. 433–443, 1995.

Fukao, T. *et al.* A Variable cluster of ethylene response factor–like genes regulates metabolic and developmental acclimation responses to submergence in rice. **The Plant Cell**, Rockville, v. 18, n. 8, p. 2021–2034, 2006.

Fukao, T. Genetic and biochemical analysis of anaerobically-induced enzymes during seed germination of *Echinochloa crus-galli* varieties tolerant and intolerant of anoxia. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 386, p. 1421–1429, 2003.

Galon, L. *et al.* Estimativa das perdas de produtividade de grãos em cultivares de arroz (*Oryza sativa*) pela interferência do capim-arroz (*Echinochloa* spp.). **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 4, p. 697–707, 2007.

Guo, L. *et al.* *Echinochloa crus-galli* genome analysis provides insight into its adaptation and invasiveness as a weed. **Nature Communications**, London, v. 8, n. 1, [art.] 1031, 2017.

Hattori, Y. *et al.* The ethylene response factors SNORKEL1 and SNORKEL2 allow rice to adapt to deep water. **Nature**, London, v. 460, n. 7258, p. 1026–1030, 2009.

He, D.; Zhang, H.; Yang, P. The mitochondrion-located protein OsB12D1 enhances flooding tolerance during seed germination and early seedling growth in rice. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 15, n. 8, p. 13461–13481, 2014.

HEAP, I. **Mutations in herbicide-resistant weeds to inhibition of acetolactate synthase**. [The international survey of herbicide resistant weeds database]. [S. l.], 2022. Disponível em: <https://www.weedscience.org/Pages/MutationDisplayAll.aspx>. Acesso em: 25 jan. 2022.

Holguín, J. E. *et al.* Dormancy breakage and germination are tightly controlled by hypoxic submergence water on *Echinochloa crus-galli* seeds from an accession resistant to anaerobic germination. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 30, n. 4, p. 262–267, 2020.

Hsu, S.-K.; Tung, C.-W. RNA-Seq analysis of diverse rice genotypes to identify the genes controlling coleoptile growth during submerged germination. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, [art.] 762, 2017.

Hwang, J. H. *et al.* Expression profile analysis of hypoxia responses in arabidopsis roots and shoots. **Journal of Plant Biology**, New York, v. 54, n. 6, p. 373–383, 2011.

Ismail, A. M. *et al.* Adaptation to flooding during emergence and seedling growth in rice and weeds, and implications for crop establishment. **AoB Plants**, Oxford, v. 2012, [art.] pls019, 2012.

Ismail, A. M. *et al.* Mechanisms associated with tolerance to flooding during germination and early seedling growth in rice (*Oryza sativa*). **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, n. 2, p. 197–209, 2009.

Iwakami, S. *et al.* Multiple-herbicide resistance in *Echinochloa crus-galli* var. *formosensis*, an allohexaploid weed species, in dry-seeded rice. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v. 119, p. 1–8, 2015.

- Kaspary, T. E. **Expressão de genes relacionados à tolerância à submersão e regulação do degrane em arroz daninho (*Oryza sativa* L.)**. 2018. 137 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.
- Kaspary, T. E. *et al.* Genes related to flooding tolerance during germination and early growth of weedy rice. **Weed Research**, Oxford, v. 60, n. 6, p. 435–449, 2020.
- Kaspary, T. E.; Roma-Burgos, N.; Merotto Junior, A. Snorkeling strategy: tolerance to flooding in rice and potential application for weed management. **Genes**, Basel, v. 11, n. 9, [art.] 975, 2020.
- Kretzschmar, T. *et al.* A trehalose-6-phosphate phosphatase enhances anaerobic germination tolerance in rice. **Nature Plants**, London, v. 1, n. 9, [art.] 15124, [p. 1–5], 2015.
- Liu, B. *et al.* Differential flooding impacts on *Echinochloa caudata* and *Scirpus planiculmis*: implications for weed control in Wetlands. **Wetlands**, New York, v. 36, n. 5, p. 979–984, 2016.
- Liu, S. *et al.* Intraspecific differentiation in seed flooding tolerance of *Echinochloa crusgalli* var. *zelayensis* population in shores of a giant reservoir along altitudinal gradients. **Journal of Plant Ecology**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 22–32, 2021.
- Loreti, E.; Van Veen, H.; Perata, P. Plant responses to flooding stress. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 33, p. 64–71, 2016.
- Magneschi, L.; Perata, P. Rice germination and seedling growth in the absence of oxygen. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, n. 2, p. 181–196, 2009.
- MATZENBACHER, F. O. *et al.* Distribution and analysis of the mechanisms of resistance of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) to imidazolinone and quinclorac herbicides. **The Journal of Agricultural Science**, London, v. 153, n. 6, p. 1044–1058, 2014.
- Mennan, H. *et al.* Competitiveness of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars against *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. in water-seeded production systems. **Crop Protection**, Guildford, v. 41, p. 1–9, 2012.
- Miro, B. *et al.* Rice seed germination underwater: morpho-physiological responses and the bases of differential expression of alcoholic fermentation enzymes. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, [art.] 1857, 2017.
- Mollard, F. P. O.; Insausti, P.; Sánchez, R. A. Flooding induces secondary dormancy in *Setaria parviflora* seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 17, n. 1, p. 55–62, 2007.

- Morimoto, K.; Yamasue, Y. Differential ability of alcohol fermentation between the seeds of flooding-tolerant and flooding-susceptible varieties of *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. **Weed Biology and Management**, Carlton, v. 7, n. 1, p. 62–69, 2007.
- Ogorek, L. P.; Striker, G. G.; Mollard, F. P. O. *Echinochloa crus-galli* seed physiological dormancy and germination responses to hypoxic floodwaters. **Plant Biology**, New York, v. 21, n. 6, p. 1159–1166, 2019.
- Panozzo, S. *et al.* Target-site mutations and expression of ALS gene copies vary according to *Echinochloa* species. **Genes**, Basel, v. 12, n. 11, [art.] 1841, 2021.
- Pearce, D. M. E.; Jackson, M. B. Comparison of growth responses of Barnyard grass (*Echinochloa oryzoides*) and rice (*Oryza sativa*) to submergence, ethylene, carbon dioxide and oxygen shortage. **Annals of Botany**, Oxford, v. 68, n. 3, p. 201–209, 1991.
- Pedersen, O.; Perata, P.; Voesenek, L. A. C. J. Flooding and low oxygen responses in plants. **Functional Plant Biology**, Victoria, v. 44, n. 9, p. iii–vi, 2017.
- Pedersen, O.; Colmer, T.; Sand-Jensen, K. Underwater photosynthesis of submerged plants – Recent advances and methods. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 4, [art.] 140, 2013.
- Peña-Fronteras, J. T. *et al.* Adaptation to flooding in upland and lowland ecotypes of *Cyperus rotundus*, a troublesome sedge weed of rice: tuber morphology and carbohydrate metabolism. **Annals of Botany**, Oxford, v. 103, n. 2, p. 295–302, 2009.
- Perata, P. The rice SUB1A gene: making adaptation to submergence and post-submergence possible. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 41, n. 4, p. 717–720, 2018.
- Perata, P.; Alpi, A. Plant responses to anaerobiosis. **Plant Science**, Shannon, v. 93, n. 1, p. 1–17, 1993.
- Pinto, J. J. O. *et al.* Controle de Capim-Arroz (*Echinochloa* spp.) em função de métodos de manejo na cultura do arroz irrigado. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 26, n. 4, p. 767–777, 2008.
- Rao, A. N. *et al.* Weed management in direct-seeded rice. In: SPARKS, D. L. (ed.). **Advances in agronomy**. Cambridge: Academic Press, 2007. v. 93, p. 153–255.
- Ray, S.; Vijayan, J.; Sarkar, R. K. Germination Stage Oxygen Deficiency (GSOD): an emerging stress in the era of changing trends in climate and rice cultivation practice. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, [art.] 671, 2016.
- Rijnders, J. G. H. M. *et al.* The role of oxygen in submergence-induced petiole elongation in *Rumex palustris*: in situ measurements of oxygen in petioles of intact plants using micro-electrodes. **New Phytologist**, Oxford, v. 147, n. 3, p. 497–504, 2000.

- Sadiq, I. *et al.* Proteomic identification of differentially expressed proteins in the anoxic rice coleoptile. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 168, n. 18, p. 2234–2243, 2011.
- Santosa, I. E. *et al.* Patterns of peroxidative ethane emission from submerged rice seedlings indicate that damage from reactive oxygen species takes place during submergence and is not necessarily a post-anoxic phenomenon. **Planta**, Berlin, v. 226, n. 1, p. 193–202, 2007.
- Sasidharan, R.; Voesenek, L. A. C. J. Ethylene-mediated acclimations to flooding stress. **Plant Physiology**, Rockville, v. 169, n. 1, p. 3–12, 2015.
- Sauter, M. Root responses to flooding. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 16, n. 3, p. 282–286, 2013.
- Schindler, T. *et al.* Short-term flooding increases CH₄ and N₂O emissions from trees in a riparian forest soil-stem continuum. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, [art.] 3204, 2020.
- Shekhawat, K.; Rathore, S. S.; Chauhan, B. S. Weed management in dry direct-seeded rice: a review on challenges and opportunities for sustainable rice production. **Agronomy**, Basel, v. 10, n. 9, [art.] 1264, 2020.
- Silva, A. L. *et al.* Surveys of weed management on flooded rice yields in southern Brazil. **Weed Science**, West Lafayette, v. 70, n. 2, p. 249–258, 2021.
- Singh, Y. *et al.* The implications of land preparation, crop establishment method and weed management on rice yield variation in the rice–wheat system in the Indo-Gangetic plains. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 121, n. 1, p. 64–74, 2011.
- Su, L. *et al.* Dynamic genome-wide association analysis and identification of candidate genes involved in anaerobic germination tolerance in rice. **Rice**, New York, v. 14, n. 1, [art.] 1, 2021.
- Takehara, K. *et al.* Thermo-responsive allele of sucrose synthase 3 (Sus3) provides high-temperature tolerance during the ripening stage in rice (*Oryza sativa* L.). **Breeding Science**, Tokyo, v. 68, n. 3, p. 336–342, 2018.
- Ulguim, A. R. *et al.* Status of weed control in imidazolinone-herbicide resistant rice in Rio Grande do Sul. **Advances in Weed Science**, Londrina, v. 39, [art.] e237355, 2021.
- Vidotto, F. *et al.* Rapid increase of herbicide resistance in *Echinochloa* spp. consequent to repeated applications of the same herbicides over time. **Archives of Agronomy and Soil Science**, Berlin, v. 67, n. 5, p. 620–632, 2021.
- Voesenek, L. A. C. J.; Bailey-Serres, J. Flood adaptive traits and processes: an overview. **The New Phytologist**, Oxford, v. 206, n. 1, p. 57–73, 2015.
- Xie, F. *et al.* miRDeepFinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs. **Plant Molecular Biology**, The Hague, v. 80, p. 75–84, 2012.

Yamauchi, T. *et al.* Ethylene and reactive oxygen species are involved in root aerenchyma formation and adaptation of wheat seedlings to oxygen-deficient conditions. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 1, p. 261–273, 2014.

Ye, C.-Y. *et al.* The genomes of the allohexaploid *Echinochloa crus-galli* and its progenitors provide insights into polyploidization-driven adaptation. **Molecular Plant**, Cambridge, v. 13, n. 9, p. 1298–1310, 2020.

Zhang, F. *et al.* Effect of aerobic priming on the response of *Echinochloa crus-pavonis* to anaerobic stress (protein synthesis and phosphorylation). **Plant Physiology**, Lancaster, v. 105, n. 4, p. 1149–1157, 1994.

Zhou, S. *et al.* Effect of fulvic acid on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) seedling growth under flooding conditions. **Weed Science**, West Lafayette v. 69, n. 2, p. 192–202, 2021.