

IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS DE ARROZ-DANINHO RESISTENTES A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACCASE

Guilherme M. Turra¹; Antonio de L. S. Cardoso²; Filipi M. Machado²; Vinicius F. Tasca²; Aldo Merotto Jr.³

Palavras-chave: fluxo gênico, MaxAce®, propaquizafope, Provisia®, quizalofop-P-etílico

Introdução

O arroz-daninho (*Oryza spp.*) é uma das principais espécies que compete com a cultura do arroz (*Oryza sativa*), principalmente em função de sua similaridade genética. Uma das formas de controle de arroz-daninho e outras gramíneas de forma seletiva na pós-emergência do arroz é a utilização de híbridos de arroz com resistência a herbicidas inibidores da ACCase do grupo químico dos ariloxifenoxipropionatos (FOPs). As tecnologias Provisia® (BASF, 2022) e MaxAce® (RiceTec, 2022) foram geradas através de mutagênese e conferem resistência a FOPs em função das mutações Ile1781Leu e Gly2096Ser, respectivamente. Uma das principais preocupações da utilização de cultivares ou híbridos de arroz resistentes a herbicidas é a possibilidade de fluxo gênico da mutação para o arroz-daninho, como já ocorreu com herbicidas inibidores da ALS (Merotto *et al.*, 2016). Nos Estados Unidos, a resistência a inibidores da ACCase já foi reportada em arroz-daninho em função da mutação Ile1781Leu (González-Torralva; Norsworthy, 2023), mas a origem da mutação, via fluxo gênico ou independente, não foi comprovada. A identificação de plantas de arroz-daninho resistentes a inibidores da ACCase em estágios iniciais de infestação é importante para mitigar a evolução da resistência e aumentar a vida útil dessas tecnologias em arroz. Os objetivos desse trabalho foram avaliar a ocorrência de plantas de arroz-daninho com resistência a herbicidas inibidores da ACCase e desenvolver métodos moleculares para a rápida identificação de plantas resistentes.

Material e Métodos

Marcadores moleculares do tipo SNAP foram desenhados para detecção das mutações Ile1781Leu e Gly2096Ser com base na sequência do gene ACCase de arroz (*Os05g0295300*) e das patentes de Provisia® (Mankin *et al.*, 2021) e MaxAce® (Hinga *et al.*, 2016). DNA dos híbridos de arroz LD132PV e XP739MA, com as respectivas mutações Ile1781Leu e Gly2096Ser, e da cultivar de arroz sem mutação do gene ACCase, IRGA 424RI, foi utilizado para a validação dos marcadores moleculares. Um controle negativo, sem a presença de DNA, também foi adicionado. A reação foi otimizada para amplificação em qPCR utilizando protocolo padrão do PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix. A especificidade da amplificação foi verificada pelas curvas de melting.

Sementes de arroz-daninho foram coletadas na safra 2024/25 em áreas com cultivo de arroz com as tecnologias Provisia® ou MaxAce® aproximadamente 20 dias após o florescimento do arroz cultivado. As sementes foram mantidas a 40 °C por uma semana para quebra de dormência. Após, as sementes foram esterilizadas superficialmente por imersão em solução de NaClO (2%) e germinadas em papel germinador a 27 °C. Plântulas (2 cm) foram transplantadas

¹ Aluno de doutorado, UFRGS, turragm@gmail.com

² Aluno de graduação, UFRGS, dlucena0111@gmail.com, filipimesqmach@gmail.com, viniciustasca210900@gmail.com

³ Professor, UFRGS, merotto@ufrgs.br

em bandejas de 30 x 45 cm contendo uma mistura de solo e substrato comercial, com espaçamento de 3,0 x 1,5 cm, totalizando 150 plantas por bandeja. A aplicação do herbicida quizalofop-P-etílico (Provisia® 50EC, 50 g L⁻¹) na dose de 40 g ha⁻¹ (800 mL ha⁻¹) mais o adjuvante Dash® na dose de 0,5 % v/v foi realizada quando as plantas atingiram o estágio de três folhas completamente expandidas. A dose foi definida com base em níveis basais de suscetibilidade de genótipos de arroz-daninho a esse herbicida. Aos 14 dias após a aplicação, foi realizada a contagem de plantas sobreviventes e coleta de tecido para análises moleculares. Plantas sobreviventes foram genotipadas com os marcadores moleculares e tiveram o gene *ACC* sequenciado para confirmação dos resultados. Além disso, para a confirmação de que se trata de arroz-daninho, as plantas sobreviventes foram avaliadas em relação a cor do pericarpo e genotipadas em relação a presença de mutações no gene *ALS* (Turra *et al.*, 2024).

Resultados e Discussão

Os marcadores moleculares SNAP foram seletivos na detecção das mutações Ile1781Leu e Gly2096Ser, com ausência de amplificação para cultivar suscetível IRGA424RI e o controle negativo – NTC (Figura 1A). O sequenciamento do gene *ACC* dos genótipos de arroz cultivado LD132PV e XP739MA confirmou o resultado dos marcadores (Figura 1B). A utilização de marcadores moleculares se configura como uma estratégia de rápido diagnóstico da resistência e pode auxiliar na tomada de decisão em situações de campo.

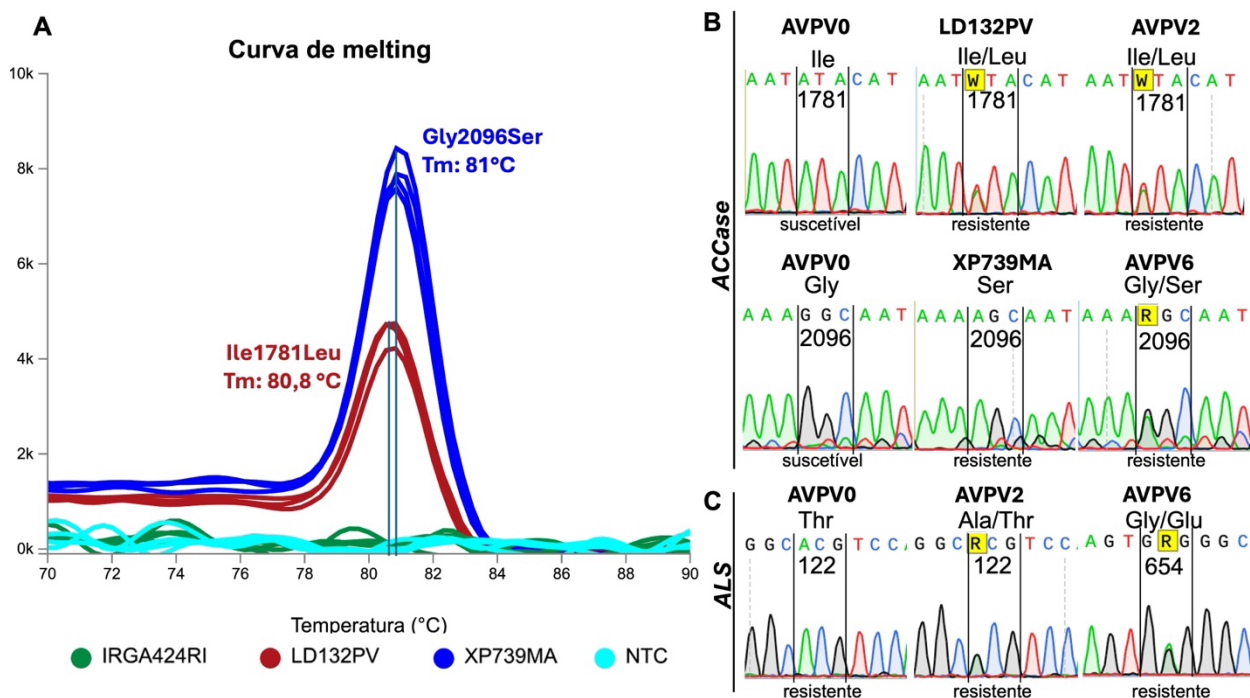


Figura 1. Curvas de melting (A) para os marcadores moleculares SNAP específicos para as mutações Ile1781Leu e Gly2096Ser nas cultivares IRGA 424RI (suscetível), LD132PV e XP739MA (resistentes a inibidores de *ACC*ase), e confirmação da presença de mutações através de sequenciamento dos genes *ACC*ase (B) e *ALS* (C) nas plantas de arroz-daninho AVPV0, AVPV2 e AVPV6 e nos híbridos LD132PV e XP739MA. Picos duplos indicam heterozigose.

Até o momento, 2400 plantas de arroz-daninho, de seis localidades distintas, foram avaliadas. Dessas, seis sobreviveram à aplicação do herbicida quizalofop-P-etílico (Figura 2A). As plantas sobreviventes (avpv1 a avpv6) e uma planta suscetível (avpv0) foram genotipadas para mutações conhecidas nos genes *ACCase* (Figura 1B) e *ALS* (Figura 1C). Nenhuma mutação foi encontrada no *ACCase* de avpv0 e avpv1 (Tabela 1). A sobrevivência da planta avpv1 está provavelmente relacionada com falhas de aplicação ou a outros mecanismos de resistência não relacionados ao local de ação. As plantas avpv2, avpv3, avpv4 e avpv5 apresentaram a mutação Ile1781Leu, enquanto avpv6 apresentou a mutação Gly2096Ser (Tabela 2). O primeiro grupo é originário da coleta de sementes de uma mesma lavoura cultivada com o híbrido LD132PV.

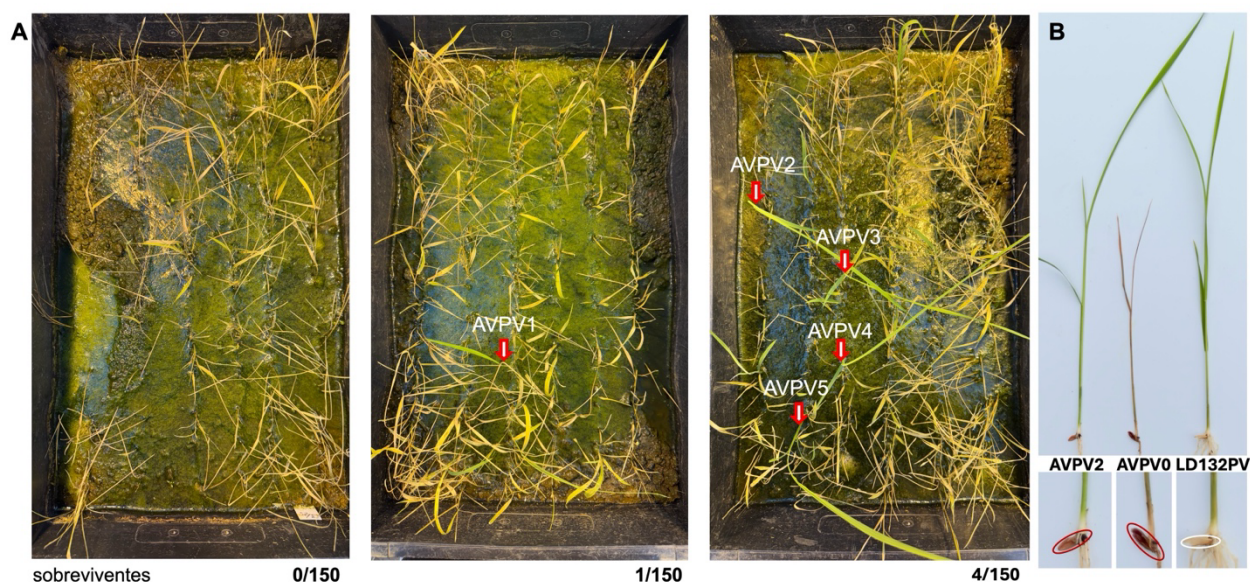


Figura 2. Plantas de arroz-daninho 14 dias após a aplicação de quizalofop-P-etílico. (A) Representação da avaliação com plantas de três localidades distintas. As setas vermelhas indicam plantas sobreviventes. (B) Representação da avaliação do pericarpo de uma planta de arroz-daninho sobrevivente (avpv2), uma planta de arroz-daninho morta (avpv0), ambas coletadas na mesma lavoura, e o híbrido de arroz resistente a quizalofop-P-etílico (LD132PV).

Todas as mutações no gene *ACCase* de arroz-daninho estavam em heterozigose (Figura 1B e Tabela 2). A heterozigose, ou seja, a presença de dois alelos distintos para um mesmo *locus*, pode indicar o cruzamento recente entre uma planta com a mutação e outra sem a mutação. Além disso, para o gene *ALS*, a planta suscetível a inibidores da *ACCase* (avpv0) apresentou a mutação Ala122Thr em homozigose, enquanto as plantas avpv2, avpv3, avpv4 e avpv5 apresentaram a mutação Ala122Thr e a planta avpv6 apresentou a mutação Gly654Glu, todas em heterozigose (Figura 1B e Tabela 2). Esse é mais um indício de um evento de hibridização recente. O fluxo gênico de cultivares de arroz para arroz-daninho é um fenômeno bem caracterizado (Merotto *et al.*, 2016). Porém, as consequências da fixação das mutações no gene *ACCase* em populações de arroz-daninho não são conhecidas. Todas as seis plantas sobreviventes apresentaram pericarpo vermelho (Figura 2B), o que descarta a possibilidade de coleta de sementes de algum dos genótipos de arroz cultivado com as mutações reportadas. As plantas de arroz-daninho resistentes foram coletadas em áreas em primeiro ano de cultivo com os híbridos resistentes a inibidores de *ACCase*, indicando que a resistência foi detectada já na primeira geração de ocorrência do cruzamento. Este processo é suportado pela identificação das mutações em heterozigose nos genes *ACCase* e *ALS*.

Tabela 1. Composição de nucleotídeos (entre parênteses) e aminoácidos em posições conhecidas nos genes *ACCase* e *ALS* relacionadas com a resistência a herbicidas para sete plantas de arroz-daninho.

Planta	Resistência		<i>ACCase</i>			<i>ALS</i>	
	<i>ACCase</i>	<i>ALS</i>	1781	2096	122	653	654
Suscetível	S ¹	S	ILE (ATA)	GLY (GGC)	ALA (GCG)	SER (AGT)	GLY (GGG)
AVPV0	S	R	ILE (ATA)	GLY (GGC)	THR (ACG)	SER (AGT)	GLY (GGG)
AVPV1	R	sem informação	ILE (ATA)	GLY (GGC)	sem informação	sem informação	sem informação
AVPV2	R	R	ILE/LEU ² (ATA/TTA)	GLY (GGC)	ALA/THR (GCG/ACG)	SER (AGT)	GLY (GGG)
AVPV3	R	R	ILE/LEU (ATA/TTA)	GLY (GGC)	ALA/THR (GCG/ACG)	SER (AGT)	GLY (GGG)
AVPV4	R	R	ILE/LEU (ATA/TTA)	GLY (GGC)	ALA/THR (GCG/ACG)	SER (AGT)	GLY (GGG)
AVPV5	R	R	ILE/LEU (ATA/TTA)	GLY (GGC)	ALA/THR (GCG/ACG)	SER (AGT)	GLY (GGG)
AVPV6	R	R	ILE (ATA)	GLY/SER (GGC/AGC)	ALA (GCG)	SER (AGT)	GLY/GLU (GAG)

¹S: suscetível, R: resistente. ²A presença de dois aminoácidos na mesma posição indica heterozigose.

Conclusões

Plantas de arroz-daninho com resistência aos herbicidas inibidores da *ACCase* foram identificadas em duas lavouras de arroz do Rio Grande do Sul já no primeiro ano de utilização das tecnologias de cultivares resistentes. A resistência está associada à presença de mutações Ile1781Leu e Gly2096Ser no gene *ACCase*, possivelmente originadas por fluxo gênico recente com genótipos de arroz resistente. Esses resultados reforçam a importância do monitoramento genético e do uso criterioso de herbicidas e suas biotecnologias associadas.

Referências

- BASF. **BASF lança Sistema de Arroz Provisia™ no Brasil**. Disponível em: <<https://www.basf.com/basf/www/br/pt/media/news-releases/2022/02/basf-lanca-sistema-de-arroz-provisia--no-brasil->>. Acesso em: 16 maio. 2025.
- GONZÁLEZ-TORRALVA, Fidel; NORSWORTHY, J. K. Quizalofop resistance in weedy rice (*Oryza sativa* L.) is mainly conferred by an Ile1781Leu mutation. **Plant Science**, v. 336, p. 111838, 1 nov. 2023.
- HINGA, Melissa *et al.* **Rice resistant to HPPD and accase inhibiting herbicides**. , 5 abr. 2016. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/US9303270B2/en>>. Acesso em: 27 maio. 2025.
- MANKIN, S. Luke *et al.* **Method for treating post-emergent rice**. , 24 ago. 2021. Disponível em: <<https://patents.google.com/patent/US11096345B2/en>>. Acesso em: 27 maio. 2025.
- MEROTTO, Aldo *et al.* Evolutionary and social consequences of introgression of nontransgenic herbicide resistance from rice to weedy rice in Brazil. **Evol. Applications**, v. 9, n. 7, p. 837–846, ago. 2016.
- RICETEC. **Seeds and Solutions | RiceTec Global**. Disponível em: <<https://ricetec.com/seeds-and-solutions/>>. Acesso em: 16 maio. 2025.
- TURRA, Guilherme M.; *et al.* 2024. Análise da frequência e distribuição de mutações no gene *ALS* associadas com a resistência a herbicidas imidazolinonas em arroz-daninho do Rio Grande do Sul. **Anais do XXXIII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, Campinas, SP, Brasil. Pg 401.