

INTROGRESSÃO DE RESISTÊNCIA A HERBICIDAS INIBIDORES DA ACCase EM LINHAGENS DE ARROZ IRRIGADO

Adriana Pereira¹; Laerte Reis Terres²; Alexander de Andrade³; Candida elisa Manfio⁴; Ester Wickert⁵

Palavras-chave: *Oryza sativa*, resistência herbicidas, marcador molecular, ACCase

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de cultivares de arroz resistentes aos herbicidas inibidores da enzima acetil coenzima A carboxilase (ACCcase) é uma opção estratégica para o manejo de plantas daninhas beneficiando toda a cadeia produtiva do arroz irrigado (ROMAN, 2007). O arroz vermelho é a principal planta daninha da cultura do arroz irrigado e por pertencer à mesma espécie do arroz cultivado, se torna uma planta de difícil controle seletivo (BURGOS et al., 2014).

Recentemente a Epagri desenvolveu linhagens de arroz que apresentavam a mutação G2027T no gene da ACCcase conferindo resistência a herbicidas deste grupo (ANDRADE et al., 2018). A introgressão de genes de resistência em cultivares já estabelecidas e de interesse do produtor é uma ferramenta eficaz na obtenção de materiais genéticos com potencial agronômico.

O objetivo deste trabalho foi verificar a introgressão da resistência a herbicidas inibidores da ACCcase em em cultivar de arroz irrigado da Epagri, através do método de retrocruzamento e utilizando-se ferramentas moleculares.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais genéticos previamente selecionadas a campo, oriundos de retrocruzamentos entre o Cultivar SCS124 Sardo (MARSCHALEK, et al 2020) e asLinhagens RH 101 e RH 202, utilizadas como doadoras do gene que confere resistência a herbicidas inibidores da ACCcase, desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético da Epagri, foram avaliados para identificar plantas com 100% de similaridade com o Cultivar SCS124 Sardo e que apresentavam o gene de resistência ao herbicida.

O DNA dos materiais foi extraído seguindo metodologia proposta por Doyle & Doyle, 1990. A qualidade e a quantidade de DNA foram verificadas por espectrofotômetro de micro volume a 260nm e 280nm e soluções de trabalho a 20 ng.µL⁻¹ foram preparadas para serem utilizadas nas reações de PCR-SSR. Nas reações foi utilizado um painel de 24 microssatélites padronizado pelo Laboratório de Biologia Molecular da Epagri-Itajaí para caracterizar os cultivares de arroz lançados pela Empresa. Os produtos resultantes da amplificação SSR foram submetidos a eletroforese capilar no analisador genético ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Os resultados foram

¹ Quimica, Ms., Estação Experimentakl de Itajaí , EPAGRI, Rodovia Antonoi Heil, 6800, 88.318-112, Itajaí-SC, e-mail: adriana@epagri.sc.gov.br.

² Eng., Dr., EEI/EPAGRI, e-mail: laerteterres@epagri.sc.gov.br.

³ Eng., Dr., EEI/EPAGRI, e-mail: alexanderandrade@epagri.sc.gov.br.

⁴ Eng. Agr., Dr., EEI/EPAGRI, e-mail: candidamanfio@epagri.sc.gov.br.

⁵ Eng. Agr., Dr., EEI/EPAGRI, e-mail: esterwickter@epagri.sc.gov.br.

interpretados utilizando-se o software GeneMapper 6.0. Os produtos das amplificações foram codificados na forma de uma matriz binária (0=ausentes, 1=presentes). A relação entre os indivíduos foi medida pelo coeficiente de similaridade de Jaccard e o agrupamento dos indivíduos foi feito por análise de conglomerados, utilizando o método hierárquico aglomerativo UPGMA, através do programa NTSYS-PC 2.1.

Os materiais com 100% de similaridade com o Cultivar SCS124 Sardo também foram avaliados para detecção da presença da mutação G2027T que confere resistência a herbicidas inibidores da ACCase seguindo metodologia proposta por Pereira et al., 2019.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 24 marcadores SSR utilizados na caracterização de cultivares da Epagri, 10 apresentaram polimorfismo e foram utilizados nas análises de similaridade genética. No dendrograma (Figura 1) observa-se a formação de um grupo com 8 amostras apresentando 100% de similaridade com o cultivar SCS124 Sardo. As demais amostras ficaram distantes geneticamente apresentando similaridades entre 20 a 80% com o Cultivar Sardo.

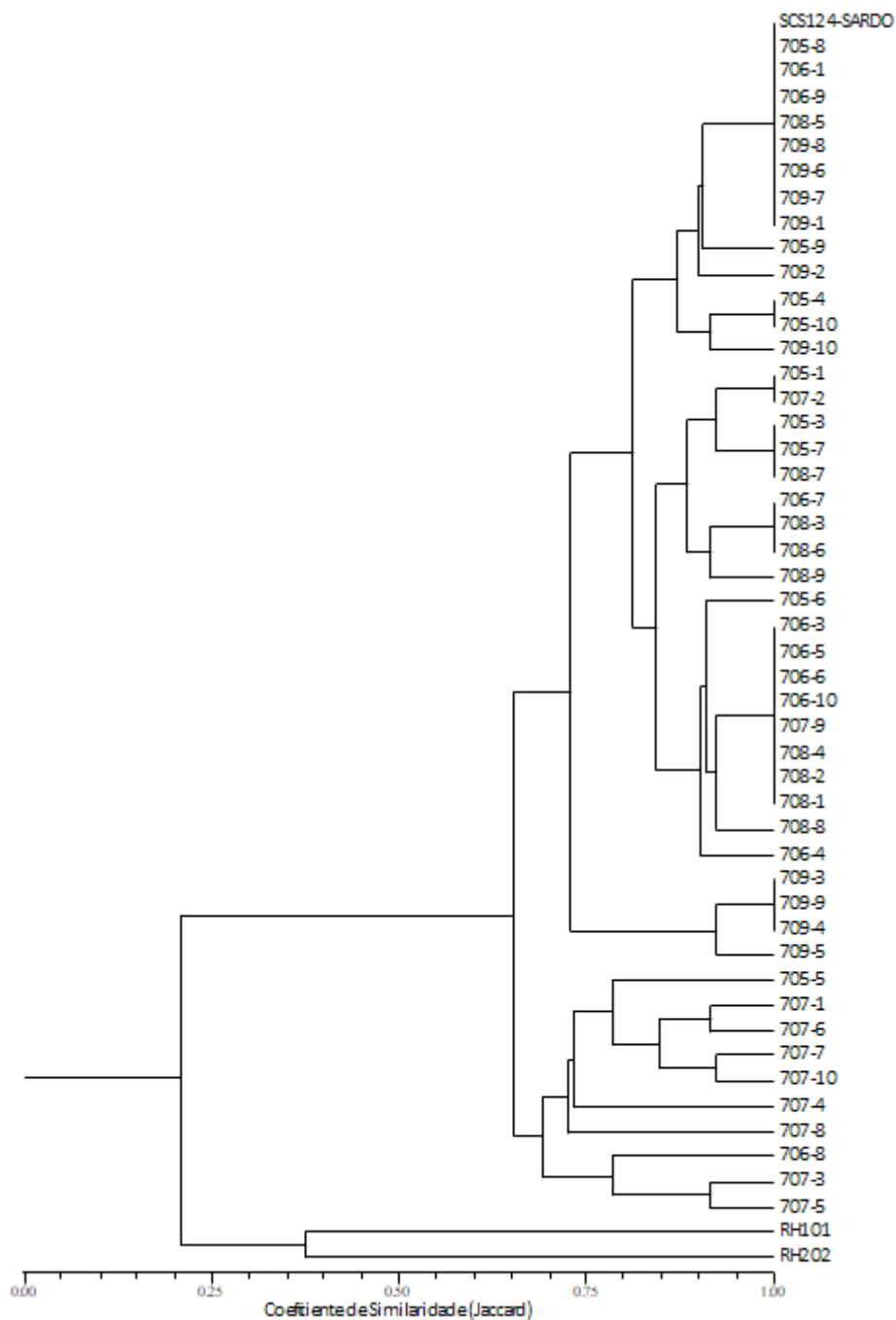


Figura 1 - Dendrograma de similaridade genética dos materiais oriundos do cruzamento entre a cultivar SCS124-Sardo com linhagens de arroz ACCase.

Os resultados da PCR alelo específica confirmaram a presença da mutação G2027T que confere resistência a herbicidas inibidores da ACCase nos materiais com similaridade de 100% com o cultivar Sardo. Todos os materiais estão em heterozigose para esta característica (Figura 2).

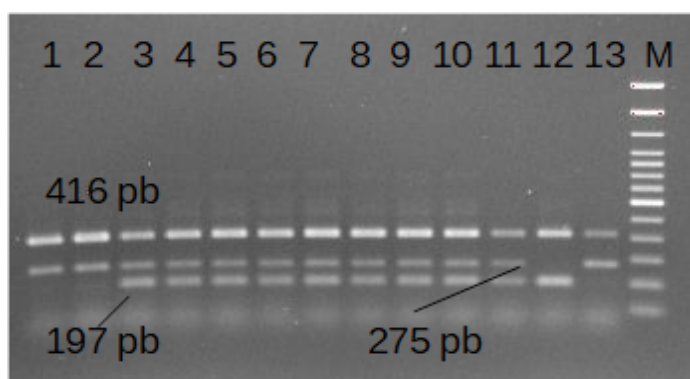


Figura 2 – Genotipagem dos materiais ACCase que apresentaram 100% de similaridade com o Cultivar Sardo. Colunas 1 e 2(Sardo); 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 (705-8, 706-1, 706-9, 708-5, 709-1, 709-6, 709-7, 709-8); 11 – Heterozigoto resistente; 12 - Homozigoto resistente - alelo T; Colunas 13 – homozigoto suscetível – alelo G; Coluna M – Ladder 100pb – Invitrogen

CONCLUSÃO

- Foi obtido oito materiais com a utilização da introgressão dos genes de resistência a herbicidas inibidores da ACCase em linhagem de arroz irrigado
- Oito materiais oriundos do cruzamento SCS124 Sardo X ACCase apresentaram 100% de similaridade com o Cultivar SCS124 Sardo. Nestes materiais foi confirmado presença da mutação G2027T que confere resistência a herbicidas inibidores da ACCase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, A., Tulmann-Neto, A., Tcacenco, F.A., Marschalek, R., Pereira, A., Oliveira Neto, A.M., Scheuermann, K.K., Wickert, E., Noldin, J.A. Development of rice (*Oryza sativa*) lines resistant to aryloxyphenoxypropionate herbicides through induced mutation with gamma rays. **Plant Breeding**, v. 137, p. 364-369, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pbr.12592>
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, n. 12, p. 13–15, 1990.
- Burgos, N.R. et al. The impact of herbicide-resistant rice technology on phenotypic diversity and population structure of United States weedy rice. **Plant Physiology**, N.166, p.1208-20, 2014
- Marschalek, R., Wickert, E., Scheuermann, K.K., Terres, L.R., Noldin, J.A., Hickel, E.R., Vale, M.L.C., Andrade, A. SCS124 Sardo: Brazilian rice cultivar with excellent milling quality. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 20(1): e28212017, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332020v20n1c7>
- Pereira, A., Tcacenco, D.A., Klabunde, G.H.F., Andrade, A. Detecting acetyl-coenzyme a carboxylase resistance gene in rice (*Oryza sativa* L.). **Mol Biol Rep** 46, 6271–6276 (2019). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05068-z>
- Roman, E.S. Como funcionam os herbicidas da biologia à aplicação. São Paulo: Berthier, 2007. p.159.