

OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO DE POPULAÇÕES DE CAPIM-ARROZ RESISTENTES A GLIFOSATO NO RIO GRANDE DO SUL

Bruna Morais de Oliveira¹; Estefani Sulzbach², Leonardo Vicente Ellert Kroth³; Willian Augusto Ellert Kroth⁴; Catarine Markus⁵.

Palavras-chave: Inibidor de EPSPS, *Echinochloa* sp., resistência a herbicidas.

Introdução

A resistência de plantas daninhas aos herbicidas tem se intensificado no Brasil, tornando-se uma das principais limitações ao manejo eficiente das culturas agrícolas. Nas áreas de arroz irrigado, especialmente em terras baixas do sul do país, as espécies de capim-arroz, (*Echinochloa colona* e *Echinochloa crus-galli*) estão entre as espécies mais problemáticas (Cortes et al., 2023; Shelter et al., 2024; Bortoly, et al., 2024). Além disso, essas espécies tem apresentado nas últimas safras um aumento expressivo também em áreas de coxilha. O uso contínuo de herbicidas como o glifosato tem favorecido a seleção de biótipos resistentes, agravando os desafios no controle químico (Oliveira et al., 2025). Diante desse cenário, os objetivos deste trabalho foram identificar a ocorrência de biótipos de capim-arroz com resistência ao glifosato no estado do Rio Grande do Sul, a partir de coletas realizadas nas safras 2021/2022 e 2022/2023, avaliar a distribuição de biótipos resistentes das espécies *E. colona* e *E. crus-galli*, e investigar a presença de mecanismos de resistência associados à alteração no local de ação do herbicida.

Material e Métodos

O material vegetal constituiu de 100 populações de capim-arroz coletadas em 38 municípios no estado do Rio Grande do Sul, nas safras 2021/2022 e 2022/2023 em áreas de coxilha, produtoras de soja e milho, e em áreas de terras baixas, produtoras de arroz e soja. Os estudos foram realizados na casa de vegetação climatizada do Departamento de Plantas de Lavoura e no Laboratório de Biologia Molecular da Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em Porto Alegre/RS. Cada ponto de coleta foi composto por cinco plantas, coletadas individualmente e uma amostra coletada em “bulk” (amostra mistura), que foi composta por ~10 plantas. A coleta de biótipos de capim-arroz escapes foi realizada quando a planta daninha apresentava sementes maduras.

Inicialmente as sementes das populações foram submetidas a quebra de dormência. Após a germinação, as plântulas com uma folha foram transplantadas em copos de 200 ml, com furos na parte inferior e adicionado como substrato uma mistura com argissolo + composto orgânico na proporção de 10:1, acrescido de fertilizante mineral. Cada vaso conteve duas plantas, que correspondeu a uma unidade experimental. Os vasos foram acondicionados em bandejas plásticas, e receberam uma lâmina de água de 1 cm. As plantas permaneceram em casa de vegetação climatizada em temperatura de 25°C ± 5°C, umidade relativa do ar de 60 a 80% e luminosidade de 700 a 1000 µmol/cm²/s, obtida através da suplementação da iluminação natural, com lâmpadas de vapor de sódio.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com oito repetições. A aplicação do herbicida glifosato foi realizada quando as plantas estavam no estágio de três a quatro folhas, através de câmara de pulverização automatizada (Greenhouse Spray Chamber,

¹ Aluna de mestrado em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, brunamorais93@gmail.com

² Aluna de doutorado em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, estefanisulzbach@gmail.com

³ Aluno de graduação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, leonardovkroth@gmail.com

⁴ Aluno de graduação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, williamkroth64@gmail.com

⁵ Professora Adjunta, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil, catarine.markus@ufrgs.br

modelo Generation III), com volume de calda de 200 L ha⁻¹ e velocidade de deslocamento de 1,16 m s⁻¹. A ponta de pulverização utilizada foi a do tipo TJ8002E. As doses utilizadas foram 1041,6, 1736,0 e 3472,0 g ha⁻¹ de equivalente ácido (e.a.) de glifosato e um tratamento testemunha.

As variáveis avaliadas foram controle visual (%) aos 14 e 28 dias após a tratamento (DAT) e massa fresca da parte aérea (MFPA) aos 28 DAT. A avaliação de controle visual foi realizada através da atribuição de notas em escala percentual onde zero correspondeu à ausência de efeito, e 100 correspondeu a morte total da planta. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), quando verificada a significância ($p < 0,05$) foi realizada a comparação de médias através Teste de Dunnett 5%. Ainda, os resultados foram agrupados considerando plantas resistentes como aquelas que apresentaram controle < 80%, intermediárias plantas que apresentaram controle entre 81% a 98% e que apresentavam sobrevivência, e suscetíveis as plantas que morreram pela ação do tratamento herbicida. As populações que sobreviveram a dose comercial de glifosato foram multiplicadas para a obtenção da geração 1, o mesmo processo foi repetido para a obtenção da geração 2. Durante o processo de floração as espécies foram identificadas através de características morfológicas.

Para identificação dos mecanismos de resistência a glifosato por local de ação alterado o material vegetal foi coletado de plantas sobreviventes ao herbicida glifosato na geração 2. Após, foi realizada a extração de DNA conforme o protocolo CTAB modificado (cetyltrimethylammonium bromide) (Doyle & Doyle, 1987), e a quantificação do DNA foi realizada em espectrofotômetro (Libra S80, Biochrom). Para a realização da PCR (Polymerase Chain Reaction) foi utilizado o Termociclador (Bio-Rad C1000 - Touch Thermal Cycler). Os produtos da amplificação foram purificados e encaminhados ao sequenciamento, realizado pela empresa MacroGen Inc, (Gasandong, Geumchen-gu seoul, Korea). O resultado do sequenciamento foi analisado feito pelo alinhamento das sequências no programa 121 BioEdit de forma a alinhar com gene referência e contrastar as sequências com o biótipo suscetível (versão 7.0.5.3) (Hall, 1999).

Resultados e Discussão

Das 100 populações analisadas 24,4%, 4,9% e 9,8% apresentaram resistência intermediária nas doses de 1041,6, 1736,0 e 3472,0 g ha⁻¹ e. a. de glifosato, respectivamente. Já 41,5%, 26,8% e 12,2% das populações foram classificadas como resistentes nas respectivas doses. Por outro lado, a suscetibilidade ao herbicida aumentou com o incremento da dose, com 34,1%, 70,7% e 82,9% das populações sendo controladas de forma eficaz nas doses de 1041,6, 1736,0 e 3472,0 g ha⁻¹ e.a. de glifosato, respectivamente. Isso provavelmente indica que os níveis de resistência da maioria dessas populações são baixos (<10), pois houve aumento no controle com o dobro da dose comercial.

Dentre as populações sobreviventes a aplicação de glifosato em dose comercial verificou-se que 29,6% delas são da espécie *E. colona*, e 70,4% da espécie *E. crus-galli* (Figura 1). Assim, é perceptível maior incidência de *E. crus-galli* com resistência a glifosato no estado do Rio Grande do Sul. Além disso, essa espécie mostrou maior distribuição, com presença de biótipos resistentes em lavouras de norte a sul do estado, nos diferentes sistemas de cultivo avaliados. No entanto, salienta-se que a resistência de *E. colona* a glifosato ainda não foi reportada no Brasil e existe a necessidade de confirmação da resistência através de curva dose resposta.

Dentre as populações resistentes, 27 foram sequenciadas para a identificação do mecanismo de resistência por local de ação alterado. Dessas populações apenas duas populações (24 e 45) apresentaram mutação no gene *EPSPS* (Figura 2B e 2C). Ambas as populações apresentaram alteração na posição 106. Para a população 24 verificou-se a substituição Pro-106-Ser, e para a população 45 Pro-106-Leu. As populações que apresentaram picos duplos no cromatograma podem estar em heterozigose, uma vez que a geração utilizada para o sequenciamento foi a G1. Outro aspecto importante a ser considerado é que os primers utilizados amplificam simultaneamente os três genomas do capim-arroz, o que dificulta a distinção entre alelos e pode apresentar inclusive uma dificuldade de identificar a mutação por

um efeito de diluição. Estudos anteriores identificaram resistência ao glifosato em *E. colona*, associadas às mutações Pro-106-Thr e Pro-106-Leu (Han et al., 2016). Os próximos passos serão conduzir essa análise com a G2 e com primers que amplificam o gene *EPSPS* em cada um dos genomas.

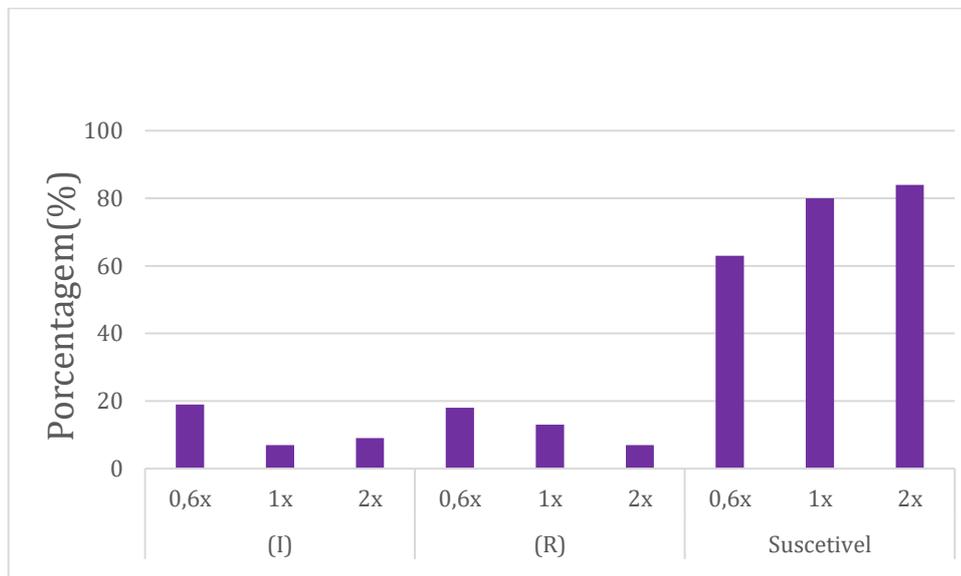


Figura 1. Frequência de populações de capim-arroz resistentes (controle < 80%) (R), intermediárias (controle entre 81% a 98% com sobrevivência) (I), e suscetíveis (S) a glifosato aplicado em 1041,6, 1736,0 e 3472,0 g ha⁻¹ e. a.

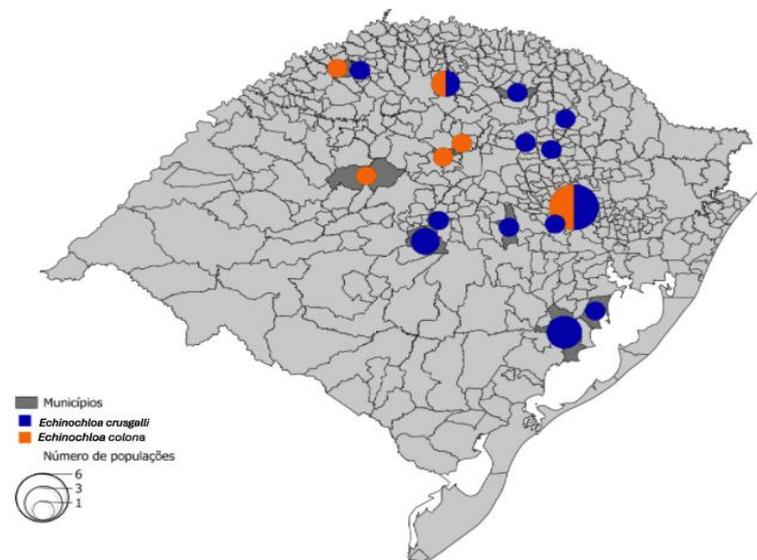
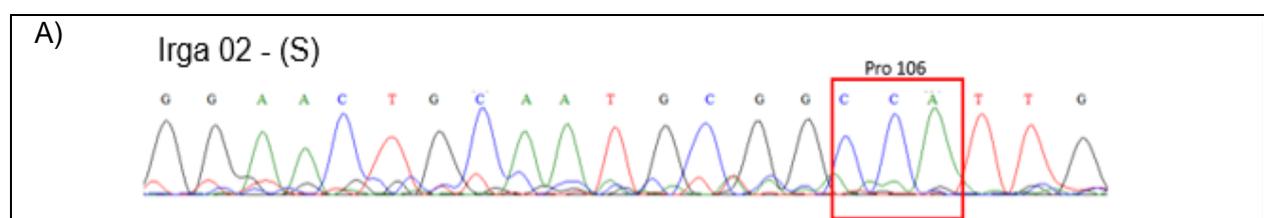


Figura 2: Mapa da distribuição de populações de capim-arroz com resistência a glifosato. Em laranja a distribuição de *E. colona* e em azul *E. crus-galli* no estado do Rio Grande do Sul.



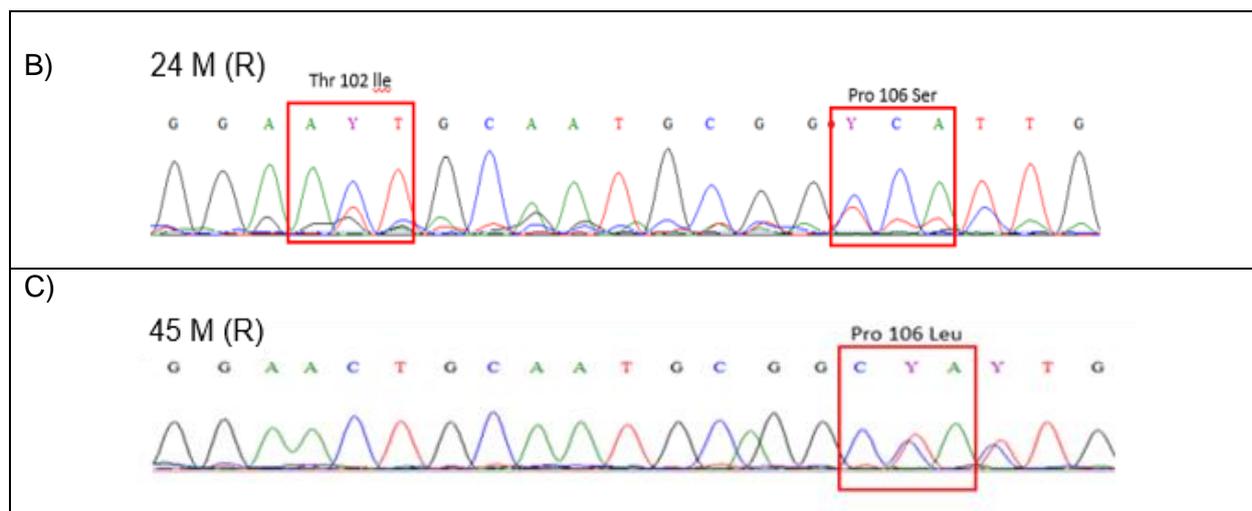


Figura 2: Cromatograma do fragmento do gene *EPSPS* dos biótipos A) IRGA-02 (S), B) 24M (R) e C) 45M (R).

Conclusões

O estudo confirmou a presença de biótipos de capim-arroz com resistência ao glifosato no Rio Grande do Sul nos diferentes sistemas de cultivo e municípios onde foram realizadas as coletas. A espécie *E. crus-galli* foi a mais frequentemente associada à resistência e apresentou ampla distribuição geográfica no estado. Já *E. colona* foi menos frequente entre as populações resistentes, e sua resistência ainda precisa ser confirmada por curvas dose-resposta. A maioria das populações apresentou níveis baixos de resistência, com aumento no controle à medida que a dose do herbicida foi elevada. Entre as populações resistentes, poucas apresentaram mutações no gene *EPSPS* associadas à resistência, indicando o envolvimento de outros mecanismos de resistência. As mutações identificadas ocorreram na posição 106, uma região já reconhecida por conferir baixo nível de resistência ao glifosato.

Referências

Bortoly, E. D.; Rubin, R.; Mariot, C. H. P.; Kalsing, A.; Menezes, V. G; Markus C.; Merotto A. Jr. Identificação de espécies do genero *Echinochloa* através de descritores morfológicos e moleculares. UFRGS, Porto Alegre - RS, Av. Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS.

Cortés, E.; Schneider, A.; Panigo, E.; Perreta, M.; De Prado, R.; Dellaferrera, I. First Report of Resistance to Glyphosate in Several Species of the Genus *Echinochloa* in Argentina. **Agronomy**, v. 13, p. 1219, 2023

Doyle, J. J.; Doyle, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, v. 19, n. 1, p. 11-15, 1987.

Gaines, Todd A. et al. Mechanisms of evolved herbicide resistance. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, n. 30, p. 10307–10330, 2020.

Han, H. et al. Target-site EPSPS Pro-106 mutations: sufficient to endow glyphosate resistance in polyploid *Echinochloa colona*? **Pest Management Science**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 264–271, 2016.

Schelter, M. L.; Souza, M. P.; Freitas, L. F.; Guerra, L. N.; Neto, A. M. O. Resistance of barnyardgrass biotypes (*Echinochloa crus-galli*) to ACCase-inhibiting herbicides in the main rice-growing regions of the state of Santa Catarina, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.54:02, e20220384, 2024.