

RESISTÊNCIA CRUZADA E NÍVEL DE RESISTÊNCIA DE DIFERENTES MUTAÇÕES DO GENE ALS EM ARROZ-DANINHO RESISTENTE A IMIDAZOLINONAS

Othon D. dos Santos¹; Guilherme M. Turra²; Eduardo C. Rudell³; Fernanda P. Marques¹; Aldo Merotto Jr⁴.

Palavras-chave: arroz-vermelho, *Oryza sativa*, triazolpirimidinas, sulfonilureias.

Introdução

O arroz-daninho (*Oryza spp.*) é uma das principais plantas daninhas no cultivo de arroz. Em função de sua similaridade genética com o arroz cultivado (*Oryza sativa*), o controle seletivo dessa espécie na pós-emergência do arroz só é possível através do uso de biotecnologias como cultivares resistentes a herbicidas. Nesse sentido, o uso de cultivares de arroz resistentes a imidazolinonas representaram um grande avanço no cultivo de arroz no sul do Brasil (Avila *et al.*, 2021). Cultivares consideradas de primeira geração apresentam as mutações Gly654Glu, enquanto cultivares de segunda geração contam com a mutação Ser653Asn ou Ala122Thr (Avila *et al.*, 2021). Porém, apenas alguns anos após o início de uso dessas cultivares, a resistência presente em arroz cultivado passou para o arroz-daninho através do fluxo gênico, com uma série de consequências agrônômicas, sociais e econômicas (Merotto *et al.*, 2016). Apesar da alta frequência de plantas de arroz-daninho com resistência proveniente do fluxo gênico, a evolução da resistência por processos independentes também é documentada (Merotto *et al.*, 2016, Turra *et al.*, 2024). Entretanto, os motivos para a baixa frequência e o impacto dessas mutações no cultivo de arroz não são esclarecidos. Além disso, mesmo com a presença de arroz-daninho resistente, os herbicidas inibidores da ALS continuam sendo uma importante ferramenta para manejo de outras espécies e de populações de arroz-daninho suscetíveis. Por esse motivo, os objetivos desse trabalho foram avaliar o nível e o padrão de resistência de mutações conhecidas e de novas mutações identificadas no gene *ALS* em arroz-daninho resistente a imidazolinonas.

Material e Métodos

O material vegetal consistiu em sete genótipos de arroz-daninho, um suscetível (sem mutação), três resistentes com as mutações Ala122Thr, Ser653Asn e Gly654Glu, relacionadas com cultivares de arroz resistentes a imidazolinonas, e três com mutações diferentes no gene *ALS*, identificadas em estudos anteriores (Turra *et al.*, 2024). Foram realizadas curvas dose-resposta com os herbicidas inibidores da ALS de diferentes grupos químicos imazetapir (imidazolinona), nicossulfurom (sulfonilureia) e cloransulam-metílico (triazolpirimidina-tipo 1). A aplicação ocorreu quando as plantas estavam no estágio de três folhas completamente expandidas, em câmara de aplicação automatizada ajustada para 200 L ha⁻¹. As doses foram de 0,06 a 32 vezes a dose de referência (100 g ha⁻¹) de imazetapir (Imazetapir Plus Nortox, 200 g L⁻¹) + Assist® (0,5% v/v), de 0,06 a 4 vezes a dose de referência (60 g ha⁻¹) de nicossulfurom (Nicosulfuron Nortox 40 SC 40 g L⁻¹) + Assist® (0,1% v/v) e de 0,06 a 4 vezes a dose de referência

¹ Aluno de graduação, UFRGS, othondiasdossantos@outlook.com, pintomarquesfernanda@gmail.com

² Aluno de doutorado, UFRGS, turragm@gmail.com

³ Aluno de mestrado, UFRGS, eduardo.rudell@gmail.com

⁴ Professor, UFRGS, merotto@ufrgs.br

(29,4 g ha⁻¹) de cloransulam-metílico (Pacto®, 840 g L⁻¹) + Haiten® (0,2% v/v). Um controle sem aplicação de herbicidas (dose zero) foi adicionado para cada genótipo. Para imazetapir, as doses variaram de acordo com a mutação presente para permitir o melhor ajuste da curva. Um genótipo de arroz-daninho sem a presença de mutações no gene *ALS* (suscetível) foi adicionado para fins de comparação. A avaliação da massa fresca da parte aérea ocorreu aos 21 dias após aplicação. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento e o experimento foi repetido duas vezes. Os dados foram ajustados ao modelo log-logístico de três parâmetros utilizando o pacote *drm* em linguagem R. Os gráficos foram gerados a partir do pacote *ggplot2*, também em R.

Resultados e Discussão

Para imazetapir, uma imidazolinona muito usada no cultivo de arroz, o genótipo suscetível foi totalmente controlado com 12,5% da dose de referência (Figura 1). O controle total das plantas com a mutação Gly654Glu foi obtido com 200% da dose de referência (Figura 1). Cultivares de arroz contendo a mutação Gly654Glu, consideradas como de primeira geração, deixaram de ser usadas em função do baixo nível de resistência a imidazolinonas conferido por essa mutação (Avila *et al.*, 2021). Mesmo assim, plantas de arroz-daninho que possuem essa mutação foram no mínimo 10 vezes mais resistentes que o genótipo suscetível (Tabela 1). As plantas de arroz-daninho com mutação Ser653Asn e as mutações presentes nos genótipos URS.R1 e URS.R3 resultaram em níveis de resistência a imazetapir similares, variando de 60 a 86 vezes em comparação com o suscetível (Tabela 1). O controle total dos genótipos com essas mutações ocorreu apenas com 16 vezes a dose de referência de imazetapir (Figura 1). A presença da mutação Ala122Thr resultou em plantas de arroz-daninho capazes de suportar 16 vezes a dose de imazetapir (Figura 1), com nível de resistência 140 vezes superior ao genótipo sem mutação e no mínimo 1,6 vezes mais resistente que os demais genótipos, a exceção de URS.R2.

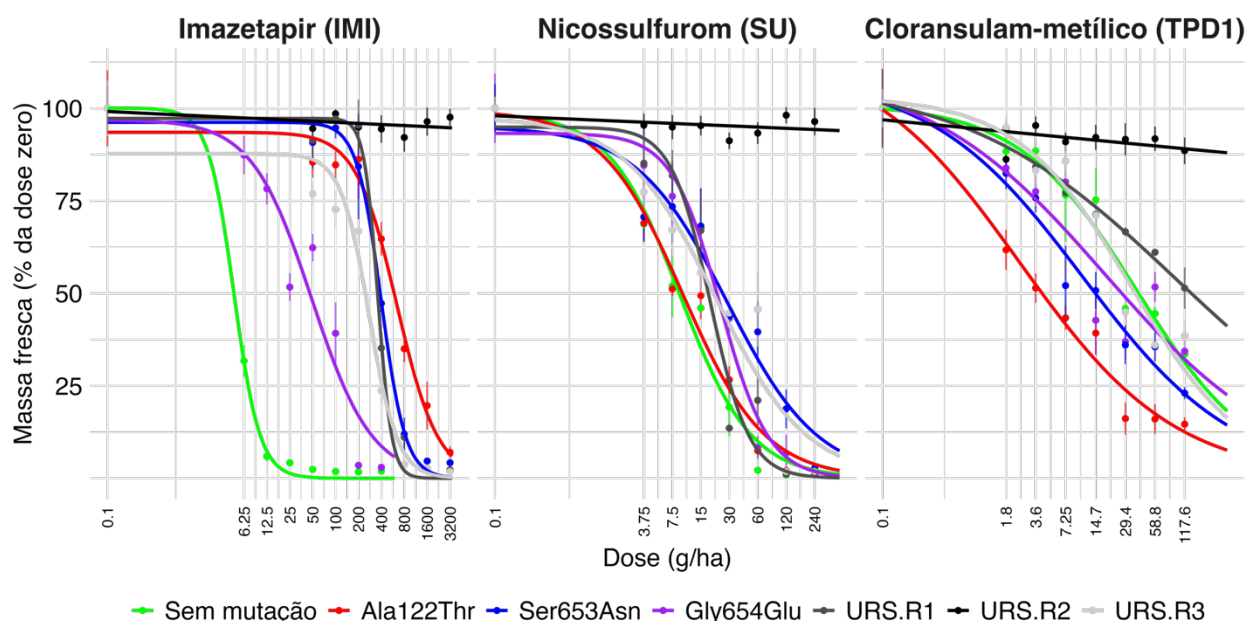


Figura 1. Curva dose-resposta da variável massa fresca da parte aérea relativa à testemunha sem aplicação para genótipos de arroz-daninho com diferentes mutações no gene *ALS* 21 dias após a aplicação dos herbicidas imazetapir (imidazolinona – IMI), nicossulfurom (sulfonilureia – SU) e cloransulam-metílico (triazolpirimidina-tipo 1 – TPD1).

Para nicossulfurom, uma sulfonilureia sem registro de uso em arroz, o controle do genótipo URS.R1, genótipos com as mutações Ala122Thr e Gly654Glu e o genótipo sem mutação aconteceu com duas vezes a dose de referência, enquanto os genótipos URS.R3 e o com a mutação Ser653Asn foram totalmente controlados apenas com quatro vezes a dose de referência desse herbicida (Figura 1). Os genótipos URS.R1, URS.R3 e com as mutações Gly654Glu e Ser653Asn foram no mínimo duas vezes mais resistentes que o genótipo sem mutação (Tabela 1), enquanto Ala122Thr demonstrou o mesmo nível de resistência. Com exceção da mutação presente em URS.R2, as demais mutações no gene *ALS* não permitem a utilização de nicossulfurom com dose igual ou maior a dose de referência. Outra sulfonilureia usada em arroz, o pirazossulfurom-etílico, tem seu mecanismo de seletividade em função da metabolização do herbicida por atividade de enzimas P-450 (Yun; Shim; Usui, 2001).

Tabela 1. Parâmetros da equação log-logística de três parâmetros para a variável massa fresca da parte aérea para genótipos de arroz-daninho com diferentes mutações no gene *ALS* 21 dias após a aplicação dos herbicidas cloransulam-metílico, imazetapir e nicossulfurom.

Imazetapir						
Genótipo	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>e</i> (<i>ED</i> ₅₀)		FR	
Suscetível	2,53	15,43	4,59	*		
Ala122Thr	1,61	15,59	641,89	*	140,0	*
Ser653Asn	2,72	15,44	397,69	*	86,6	*
Gly654Glu	1,10	18,23	48,67	*	10,6	*
URS.R1	4,79	7,67	360,76	*	78,5	*
URS.R3	2,32	14,95	277,79	*	60,5	*
Nicossulfurom						
Genótipo	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>e</i> (<i>ED</i> ₅₀)		FR	
Suscetível	1,16	19,12	9,06	*		
Ala122Thr	1,01	17,70	9,70	*	1,1	
Ser653Asn	0,90	16,54	28,64	*	3,2	*
Gly654Glu	1,70	16,62	24,14	*	2,7	*
URS.R1	2,11	15,54	18,97	*	2,1	*
URS.R3	0,90	18,08	21,67	*	2,4	*
Cloransulam-metílico						
Genótipo	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>e</i> (<i>ED</i> ₅₀)		FR	
Suscetível	0,72	15,19	40,20			
Ala122Thr	0,54	15,34	2,41		0,1	*
Ser653Asn	0,55	12,22	10,93	.	0,3	*
Gly654Glu	0,47	15,77	20,39	.	0,5	
URS.R1	0,40	15,52	96,40	.	2,4	*
URS.R3	0,75	15,26	35,35	*	0,9	

b: inclinação da curva, *d*: limite superior, *e*: ponto de inflexão, que representa a dose (g ha⁻¹) que resulta em 50% da redução da massa fresca da parte aérea (*ED*₅₀), FR: fator de resistência = *ED*₅₀ do resistente / *ED*₅₀ suscetível. * parâmetro considerado estatisticamente significativo a 5% com base no intervalo de confiança calculado pelo método delta.

Para cloransulam-metílico, um triazolpirimidina-tipo 1 não utilizada em arroz, a aplicação de quatro vezes a dose de referência não resultou na morte total das plantas de arroz-daninho, com ou sem mutação (Figura 1). As mutações Ala122Thr e Ser653Asn foram, respectivamente, 20 e 4 vezes mais sensíveis que o genótipo suscetível (Tabela 1). A mutação presente no genótipo URS.R1 resultou em 2,4 mais resistência do que o genótipo suscetível para esse herbicida (Tabela 1). O herbicida penoxsulam, com registro de uso de forma seletiva em arroz para controle de capim-arroz, ciperáceas e outras espécies é uma triazolpirimidina-tipo 2. Recentes relatos de casos de fitotoxicidade após o uso desse herbicida podem estar associados ao uso de cultivares de arroz cuja enzima mutada apresenta maior sensibilidade.

O genótipo URS.R2 não foi afetado pela aplicação dos herbicidas cloransulam-metílico, imazetapir e nicossulfurom nas doses testadas (Figura 1). Ainda, não foi possível estimar os parâmetros da equação (Tabela 1) de forma significativa para esse genótipo em função dos altos níveis de resistência. A mutação presente no genótipo URS.R2 confere resistência cruzada aos grupos químicos imidazolinona, sulfonilureia e triazolpirimidina dos herbicidas inibidores da ALS. O aumento da frequência de plantas de arroz-daninho contendo essa mutação pode significar um aumento na problemática de controle da espécie. Por outro lado, existe a possibilidade de utilização dessa mutação como tecnologia em cultivares de arroz para controle de plantas daninhas através do uso de outros herbicidas inibidores da ALS ou do aumento das doses de referência, com possibilidade de controle das demais mutações.

Conclusões

Existe variação dependente da mutação no nível de resistência entre os diferentes grupos químicos de inibidores da ALS. A mutação Ala122Thr confere o maior nível de resistência a imidazolinonas, mas é igual ou mais sensível que plantas sem mutação para sulfonilureias e triazolpirimidinas. A mutação presente no genótipo URS.R2 resulta em elevados níveis de resistência para os diferentes grupos químicos testados, com possibilidade de uso em cultivares resistentes a inibidores da ALS.

Agradecimentos

À CAPES pela bolsa de doutorado a GMT e ao CNPq pela bolsa Pq a AMJ

Referências

- AVILA, Luis Antonio de *et al.* Eighteen years of Clearfield™ rice in Brazil: what have we learned? **Weed Science**, v. 69, n. 5, p. 585–597, set. 2021.
- MEROTTO, Aldo *et al.* Evolutionary and social consequences of introgression of nontransgenic herbicide resistance from rice to weedy rice in Brazil. **Evolutionary Applications**, v. 9, n. 7, p. 837–846, ago. 2016.
- TURRA, Guilherme Menegol; *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.
- YUN, Min Soo; SHIM, le Sung; USUI, Kenji. Involvement of cytochrome P-450 enzyme activity in the selectivity and safening action of pyrazosulfuron-ethyl. **Pest Management Science**, v. 57, n. 3, p. 283–288, 2001.