

APLICAÇÕES DA BIOLOGIA MOLECULAR NA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS

Acceptance date: 01/07/2024

Marcos Roberto Ribeiro-Junior

Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu

Francisco José Domingues Neto

Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu

Daniele Maria do Nascimento

Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Botucatu

RESUMO: O capítulo aborda as aplicações da biologia molecular na ciência das plantas daninhas, destacando a rápida adoção de organismos geneticamente modificados (OGMs) na agricultura moderna. As plantas daninhas apresentam uma diversidade genética elevada, adaptando-se rapidamente às mudanças ambientais e ao uso intensivo de herbicidas, o que leva ao desenvolvimento de resistência. A biologia molecular oferece várias técnicas para estudar e manejar essa resistência. Entre elas, a caracterização genômica, identificação de espécies resistentes, e o uso de marcadores moleculares, como

RFLP e SSR, que ajudam na análise da diversidade genética e resistência. Técnicas genômicas também são empregadas para identificar mutações que conferem resistência, permitindo um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos. O silenciamento gênico pós-transcricional, especialmente via RNA de interferência (RNAi), é destacado como uma ferramenta promissora para contornar a resistência das plantas daninhas a herbicidas. Esta técnica específica pode desativar genes responsáveis pela resistência sem alterar o genoma da planta. As técnicas de biologia molecular aprofundam a compreensão das interações entre plantas daninhas e o ambiente, sendo necessárias mais pesquisas para aplicação prática em larga escala, especialmente para o uso de RNAi no controle de plantas daninhas.

PALAVRAS-CHAVE: marcadores moleculares; organismos geneticamente modificados; resistência a herbicidas; RNA de interferência (RNAi); sequenciamento; silenciamento gênico.

INTRODUÇÃO

Na história da agricultura moderna, a tecnologia de organismos geneticamente modificados (OGMs) foi adotada de forma rápida e eficiente. Essas culturas, em geral, apresentam características geneticamente programadas que proporcionam vantagens em comparação às culturas tradicionais, como a resistência a herbicidas, facilitando o manejo de plantas daninhas.

Desde os primórdios da agricultura, as plantas daninhas emergiram de um processo evolutivo dinâmico, adaptando-se às alterações ambientais provocadas pela natureza ou pela atividade agrícola humana. A principal característica das plantas daninhas é a elevada diversidade genética (BAKER, 1974; VIDAL; MEROTTO JÚNIOR, 2001).

Diversos estudos na ciência das plantas daninhas utilizam técnicas de biologia molecular, como a caracterização do genoma de espécies, a identificação de espécies com maior eficácia e a análise da diversidade genética entre populações. Dentre essas técnicas, a identificação de espécies resistentes a herbicidas, seus mecanismos de resistência e controle são de extrema importância (SCHNEIDER; RIZZARDI; NUNES, 2018).

Os herbicidas representam uma técnica moderna e eficaz para o controle de plantas daninhas. Entretanto, desde a década de 1960, sabe-se que o uso recorrente de certos herbicidas ou de mecanismos de ação semelhantes em uma mesma área leva à rápida evolução das plantas daninhas, desenvolvendo resistência (VANLOQUEREN; BARET, 2009).

A resistência a herbicidas ocorre quando uma planta daninha sofre uma alteração genética em um ou mais genes que lhe permite sobreviver mesmo com a aplicação do herbicida. Ao se reproduzir, a planta resistente pode transmitir essa alteração genética aos seus descendentes, tornando a aplicação do herbicida ineficaz (HANSON et al., 2013).

Com o avanço da biologia molecular, técnicas como o silenciamento gênico pós-transcricional (RNA de interferência - RNAi) emergem como ferramentas importantes para contornar a resistência das plantas daninhas a herbicidas. Este mecanismo de silenciamento gênico utiliza RNA de fita dupla (dsRNA) com sequência homóloga a um gene-alvo, gerando uma interferência altamente específica no produto desse gene, resultando em uma queda drástica na sua expressão. Utilizando-se como alvo um gene presente em uma planta daninha que confere resistência a determinado herbicida, o RNAi pode “contornar” a expressão desse gene, eliminando a resistência da planta ao herbicida. Este e outros tipos de técnicas serão abordados na presente revisão, elucidando como a biologia molecular pode contribuir em diversos aspectos na ciência das plantas daninhas.

RESISTÊNCIA DE PLANTAS DANINHAS A HERBICIDAS

Uma característica importante das plantas daninhas é a ampla diversidade genética, permitindo a adaptação e sobrevivência dessas espécies em várias condições ambientais e agroecossistemas. A aplicação de herbicidas é a principal ferramenta utilizada pelos produtores no controle de plantas daninhas. Devido à intensa utilização de herbicidas nas últimas décadas, diversas populações de plantas daninhas foram selecionadas em resposta à pressão de seleção dos herbicidas, resultando em biótipos resistentes.

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é a capacidade natural e herdável de alguns biótipos, dentro de uma população, de sobreviver e se reproduzir após a exposição à dose de um herbicida que seria letal para uma população suscetível da mesma espécie (CHRISTOFFOLETI; LÓPEZ-OVEJERO; CARVALHO, 2008). No caso de plantas daninhas resistentes a herbicidas, o termo “biótipo” refere-se a um grupo de indivíduos com carga genética semelhante, porém diferenciado da maioria dos indivíduos da população (KISSMANN, 2003).

Mecanismos genéticos que conferem resistência

Todas as informações genéticas de um organismo estão contidas em seu DNA. Mutações são alterações que ocorrem no DNA de um determinado indivíduo, sendo, na maioria dos casos, passadas para seus descendentes. A ocorrência de falhas durante a replicação ou transcrição da fita de DNA, bem como mutações que provoquem inserção, deleção ou substituição de bases nitrogenadas, pode alterar um ou mais aminoácidos da proteína a ser formada, resultando em uma proteína mutante (VARGAS; SCHERER ROMAN, 2006).

Alterações no genoma podem originar enzimas com características funcionais distintas. Se o aminoácido alterado for o ponto de acoplamento de uma molécula herbicida, esta pode perder a atividade inibitória sobre a nova enzima.

USO DE MARCADORES MOLECULARES

Marcadores moleculares são sequências de DNA que revelam polimorfismos entre indivíduos relacionados geneticamente. Existem diferentes tipos de marcadores moleculares, que variam pela técnica utilizada para expor a variabilidade a nível de DNA, habilidade de detectar diferenças entre indivíduos, custo, facilidade de uso, consistência e repetibilidade (MILACH, 1998). Dentre as técnicas de marcadores moleculares, destacam-se o polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) e os marcadores microssatélites (SSR).

A técnica de RFLP é utilizada na ciência das plantas daninhas para mapeamento genômico, marcação gênica, relacionamento taxonômico e dinâmica populacional,

identificando a variabilidade genética entre populações e resistência a herbicidas (CHEUNG et al., 1993). Apesar de suas vantagens, a técnica de RFLP apresenta desvantagens como a necessidade de grandes quantidades de DNA e o uso de radioatividade ou técnicas de coloração (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017).

Marcadores microssatélites (SSR) são repetições em tandem de motivos de 1 a 6 nucleotídeos, classificados conforme seu tamanho e tipo de unidade de repetição. Devido à alta taxa de mutações, essas regiões são de grande interesse na genética de populações. A análise de SSRs é realizada por PCR convencional, seguida de verificação dos resultados em gel de agarose, poliacrilamida ou eletroforese capilar automatizada (MEKSEM; KAHL, 2006). A análise em gel de agarose é fácil de executar, mas possui baixa capacidade discriminatória. A análise em gel de poliacrilamida é mais precisa, mas de maior custo. A eletroforese capilar apresenta alta precisão, porém com alto custo devido à necessidade de marcação dos oligonucleotídeos com fluoróforos específicos (MISSIAGGIA; GRATTAPAGLIA, 2006).

GENÔMICA, SEQUENCIAMENTO E EXPRESSÃO GÊNICA

A genômica no manejo de plantas daninhas visa esclarecer como as informações genéticas estão organizadas e como essa organização determina suas funções. A maioria dos genes sequenciados possui função desconhecida (CARRER; BARBOSA; RAMIRO, 2010). O sequenciamento de genes relacionados ao local de ação de herbicidas é uma ferramenta empregada para identificar mutações que causam tolerância ao herbicida (SCHNEIDER; RIZZARDI; NUNES, 2018).

Análises de sequenciamento, como no gene ALS em *Sagittaria montevidensis*, permitem verificar mecanismos de resistência a herbicidas, como a mutação Pro197Phe (MEROTTO JUNIOR et al., 2010). Essas tecnologias possibilitam a identificação precoce de resistência antes da comercialização de herbicidas, além de estratégias para prever mutações em plantas daninhas, proporcionando um maior entendimento dos mecanismos de resistência e o impacto da rotação e doses de herbicidas na seleção de plantas resistentes (STEWART JR et al., 2009).

Para desenvolver esses estudos, é necessário sequenciar com precisão os nucleotídeos de um DNA específico. Atualmente, diversas técnicas permitem o sequenciamento rápido e econômico de genomas inteiros de espécies de plantas daninhas.

CONTROLE DE PLANTAS DANINHAS ATRAVÉS DO SILENCIAMENTO GÊNICO PÓS-TRANSCRICIONAL (RNA DE INTERFERÊNCIA)

O RNA de interferência (RNAi) é um mecanismo potente e específico de silenciamento gênico presente em diversos organismos. Esse mecanismo foi identificado em *Caenorhabditis elegans*.

A tecnologia RNAi permite a aplicação de produtos específicos e eficazes para o controle de plantas daninhas, desativando RNAs mensageiros responsáveis pela produção de proteínas essenciais, sendo uma forma efetiva e específica de selecionar e desativar genes (SCHNEIDER; RIZZARDI; NUNES, 2018). Inicialmente, dsRNAs longos são clivados pela enzima DICER em small interfering RNAs (siRNAs). Uma das fitas desses siRNAs é degradada para ativar o complexo de silenciamento, que passa a reconhecer e clivar sequências de mRNA complementares.

Pesquisas recentes buscam formas de aplicar dsRNA em larga escala em campos agrícolas. Experimentos com tabaco demonstraram efeito protetor de pelo menos 20 dias, utilizando nanopartículas de argila pulverizadas como spray (MITTER et al., 2017).

A técnica de RNAi não altera o genoma da planta, atuando apenas no silenciamento de genes presentes. Por exemplo, a resistência de *Amaranthus palmeri* ao herbicida glyphosate, conferida pela produção de níveis elevados de uma enzima, pode ser revertida pelo RNAi, restaurando a vulnerabilidade da planta ao herbicida (MONSANTO, 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As técnicas de biologia molecular apresentadas neste capítulo permitem caracterizar espécies de plantas daninhas e selecionar aquelas com resistência a herbicidas. Técnicas genômicas permitem analisar aspectos fisiológicos, genéticos e biológicos dessas plantas, aprofundando a compreensão das interações entre plantas daninhas e o ambiente.

Plantas daninhas evoluem rapidamente na agricultura, e técnicas como o RNAi influenciam positivamente estudos básicos na área, apresentando alta sensibilidade e eficiência. No entanto, são necessários mais estudos para encontrar formas eficientes, seguras e acessíveis de aplicar moléculas de dsRNA em larga escala.

REFERÊNCIAS

BAKER, H. G. The evolution of weeds. Annual review of ecology and systematics, v. 5, n. 1, p. 1–24, 1974.

CARRER, H.; BARBOSA, A. L.; RAMIRO, D. A. Biotecnologia na agricultura. estudos avançados, v. 24, n. 70, p. 149–164, 2010.

CHEUNG, W. et al. A rapid assay for chloroplast-encoded triazine resistance in higher plants. Springer, 1993.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CARVALHO, J. C. Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas. Londrina: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas Daninhas aos Herbicidas, 2008.

HANSON, B. et al. Selection Pressure, Shifting Populations, and Herbicide Resistance and Tolerance. 2013.

KISSMANN, K. G. Resistência de plantas daninhas a herbicidas. Disponível em: www.hrac-br.com.br/arquivos/texto_herbicidas.doc, v. 1, n. 05, 2003.

MEKSEM, K.; KAHL, G. The handbook of plant genome mapping: genetic and physical mapping. [s.l.] John Wiley & Sons, 2006.

MEROTTO JUNIOR, A. et al. Isolamento do gene ALS e investigação do mecanismo de resistência a herbicidas em *Sagittaria montevidensis*. Ciência rural, Santa Maria. Vol. 40, n. 11 (nov. 2010), p. 2381-2384, 2010.

MILACH, S. C. K. Marcadores de DNA. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, v. 5, p. 14–17, 1998.

MISSIAGGIA, A.; GRATTAPAGLIA, D. Plant microsatellite genotyping with 4-color fluorescent detection using multiple-tailed primers. Genet Mol Res, v. 5, n. 1, p. 72–78, 2006.

MITTER, N. et al. Clay nanosheets for topical delivery of RNAi for sustained protection against plant viruses. Nature Plants, v. 3, n. January, 2017.

MONSANTO. RNA Interference in Plants. 2017.

SCHNEIDER, T.; RIZZARDI, M. A.; NUNES, A. L. Biologia molecular aplicada à ciência das plantas daninhas Molecular biology applied to weed science Introdução Marcadores moleculares. v. 523, p. 12–24, 2018.

STEWART JR, C. N. et al. Evolution of weediness and invasiveness: charting the course for weed genomics. Weed Science, v. 57, n. 5, p. 451–462, 2009.

TURCHETTO-ZOLET, A. et al. Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações. Ribeirão Preto: [s.n.].

VANLOQUEREN, G.; BARET, P. V. How agricultural research systems shape a technological regime that develops genetic engineering but locks out agroecological innovations. Research policy, v. 38, n. 6, p. 971–983, 2009.

VARGAS, L.; SCHERER ROMAN, E. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: conceitos, origem e evolução. 2006.

VIDAL, R. A.; MEROTTO JÚNIOR, A. Herbicidologia. Herbicidologia. Porto Alegre: Evangraf, 2001.