

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA VEGETAL



Tese

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E MORFOMÉTRICOS DE GENÓTIPOS DE ARROZ
EM RESPOSTA AO ESTRESSE TÉRMICO**

DIOGO DA SILVA MOURA

PELOTAS, 2017

DIOGO DA SILVA MOURA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E MORFOMÉTRICOS DE GENÓTIPOS DE ARROZ
EM RESPOSTA AO ESTRESSE TÉRMICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Fisiologia Vegetal.

Orientador: Sidnei Deuner, Dr.

Coorientadores: Giovani Greigh de Brito, Dr.

Luis Antonio de Avila, Ph.D.

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M929a Moura, Diogo da Silva

Aspectos fisiológicos e morfométricos de genótipos de arroz em resposta ao estresse térmico / Diogo da Silva Moura ; Sidnei Deuner, orientador ; Giovani Greigh de Brito, Luis Antonio de Avila, coorientadores. — Pelotas, 2017.

101 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Oryza sativa l.. 2. Eventos climáticos extremos. 3. Fotossíntese. 4. Componentes de rendimentos. 5. Termotolerância. I. Deuner, Sidnei, orient. II. Brito, Giovani Greigh de, coorient. III. Avila, Luis Antonio de, coorient. IV. Título.

CDD : 633.18

DIOGO DA SILVA MOURA

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E MORFOMÉTRICOS DE GENÓTIPOS DE ARROZ
EM RESPOSTA AO ESTRESSE TÉRMICO**

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Fisiologia Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 12 de dezembro de 2017.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Sidnei Deuner (Orientador), Doutor em Agronomia (Fisiologia Vegetal) pela Universidade Federal de Lavras.

Prof. Dr. Luciano do Amarante, Doutor em Biologia Vegetal pela Universidade Estadual de Campinas.

Dr. André Andres, Doutor em Sciences and Innovative Technologies pela Università degli Studi di Torino.

Dr. Paulo Ricardo Reis Fagundes, Doutor em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Aos meus pais, Eroni e Margareth;

À minha irmã, Cíntia;

Aos familiares, amigos e professores.

OFEREÇO E DEDICO

“A grandeza não consiste em receber honras,

mas em merecê-las.”

(ARISTÓTELES)

Agradecimentos

Primeiramente a DEUS, pela saúde, proteção, acompanhamento e sabedoria em todos os momentos da minha caminhada.

À minha família, pelo apoio, carinho, compreensão, incentivo e por entender a minha ausência durante o período.

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

Ao meu orientador, Dr. Sidnei Deuner, pela amizade, companheirismo, ensinamentos, dedicação e orientação durante essa trajetória.

Ao meu coorientador, Dr. Giovani Greigh de Brito, que não mediu esforços para obtenção de êxito na execução dos estudos, disponibilizando a estrutura necessária, acompanhando e auxiliando na condução e avaliação dos mesmos, bem como na redação dos artigos e da tese. Muito obrigado pelos ensinamentos, paciência e apoio nessa trajetória e, principalmente, pela amizade.

Ao meu coorientador, Ph D. Luís Antonio de Avila, pela amizade, ensinamentos, orientação durante o doutorado.

À CAPES pelo apoio financeiro na condução da pesquisa e pela bolsa de doutorado.

À Embrapa Clima Temperado e Estação Experimental Terras Baixas, por disponibilizar a estrutura necessária para condução dos estudos.

Ao apoio financeiro disponibilizado pelo CNPq via Chamada Universal – MCTI/CNPq (nº 14/2014) e pela Embrapa via Edital Macro II.

Aos professores e orientadores do PPGFV, Dario Munt, Eugenia Bolacel, Gustavo Souza, Leonardo Dutra, Luciano Amarante, Luciano Pinto, Marcos Baccarin e Valmor Bianchi, pelos ensinamentos.

Aos amigos de laboratório, Andrey Piveta, Caroline Thiel, Ítalo Moraes, Gabriele Espinel, Ruth Guzmán, Sheila Bigolin e Stefânia Nunes pelos ótimos momentos de convivência, alegrias, aprendizado e descontração.

Aos estagiários e bolsistas: Keller Schaun, Rafael Silva, Ramiro Martins, Rodrigo Armesto e Victória Schimitz, pela amizade e auxílio na execução dos experimentos.

Aos meus colegas de pós-graduação, pelo convívio, amizade e companheirismo.

Aos pós-doutorandos, Júnior Borella, Fernanda Reolon Tonel e Cristina Cuchiara, pelo auxílio na elaboração dos trabalhos.

Em especial ao meu amigo/irmão, Diogo Balbé Helgueira, que me acompanha desde os tempos de graduação até os dias de hoje, sendo um dos incentivadores do meu ingresso na pós-graduação.

Aos meus grandes amigos Luciano Luís Cassol, Fábio Schreiber, Juliano Pazini, Igor Menine Pacheco, Marlon Ouriques Bastiani e Andrey Piveta, pelos 6 anos de convivência, amizade, companheirismo e bons momentos.

Aos meus amigos do futebol (Kerb F.C.) e do vôlei (SCV e MVB), pelos momentos de descontração.

Ao Aílton, funcionário da Embrapa Terras Baixas, que estava sempre disposto a ajudar e preocupado com os experimentos.

Ao pessoal do Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Clima Temperado e ao Janni, pelo auxílio na condução e avaliação dos estudos.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito do trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

MOURA, Diogo da Silva. **Aspectos fisiológicos e morfométricos de genótipos de arroz em resposta ao estresse térmico**. 101f. Tese (doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

O aumento na frequência de ocorrência de eventos climáticos extremos, a exemplo de ondas de temperaturas infra e supraótimas, poderão ocasionar estresse nas plantas de arroz. Assim, é importante caracterizar os efeitos na cultura, bem como selecionar genótipos com maior tolerância a tais estresses. Neste contexto, objetivou-se avaliar, inicialmente, genótipos contrastantes de arroz irrigado (Nagina 22 e BRS Querência – tolerante e sensível a temperaturas elevadas, respectivamente) quando submetidos a temperaturas supraótimas no estágio vegetativo; posteriormente, os mesmos genótipos quando expostos a temperatura noturna elevada durante o estágio reprodutivo; e, ainda, 42 genótipos de arroz irrigado quanto a sua variabilidade fenotípica expostos a temperaturas infraótimas no estágio inicial de desenvolvimento (V2), utilizando-se de uma plataforma de fenotipagem. No primeiro estudo, os genótipos foram submetidos a dois gradientes de temperaturas: controle (temperatura ambiente) e temperatura supraótima (com elevação de 3-5 °C durante o dia e 1-2°C durante a noite em relação ao controle) desde a semeadura até 42 dias após a emergência; no segundo estudo, os mesmos genótipos foram expostos a diferentes temperaturas noturnas no estágio reprodutivo, sendo essas de 22 °C (controle) e 28 °C (temperatura noturna elevada), sendo avaliados parâmetros bioquímicos, fisiológicos e de rendimento; no terceiro estudo, os genótipos foram submetidos a temperaturas infraótimas (entre 13 e 17 °C) durante o estágio fenológico V2, e tiveram sua capacidade de recuperação avaliada. No primeiro estudo, temperaturas supraótimas no estágio vegetativo incrementaram em duas vezes a taxa de assimilação líquida de CO₂ do genótipo tolerante, enquanto não modificou significativamente a do genótipo sensível, o qual apresentou redução de 20% na massa seca de raízes. No segundo estudo, temperatura noturna elevada ocasionou maior atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (270%) e peroxidase (80%), redução nos açúcares solúveis totais (-30%), incremento da esterilidade de espiguetas (8%) e decréscimo no peso de 1000 grãos (-13%) no genótipo sensível ao calor. Ainda, as características de termotolerância do genótipo tolerante a temperaturas supraótimas permitem vislumbrar o seu uso como material fonte em programas de melhoramento vegetal. No terceiro estudo visualizou-se que temperaturas infraótimas impostas no estágio fenológico V2 exercem efeitos negativos na taxa de transporte de elétrons, rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII e índice de clorofila de genótipos de arroz irrigado, sendo que os materiais Sel. TB 1211-3, CTB 1419, CTB 1444, CTB 1455 e AB 13720 apresentam maior tolerância e capacidade de recuperação a tal estresse. Destaca-se a funcionalidade da fenotipagem fisiológica não-invasiva, a qual pode ser inserida em programas de melhoramento vegetal, permitindo a caracterização e seleção de genótipos com ampla variabilidade genética.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., eventos climáticos extremos, fotossíntese, componentes de rendimentos, termotolerância, fenotipagem não-invasiva

ABSTRACT

MOURA, Diogo da Silva. **Physiological and morphometric aspects of rice genotypes in response to thermal stress.** 101f. Thesis (doctoral) - Graduate Program in Plant Physiology, Institute of Biology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2017.

The increase in the frequency of occurrence of extreme climatic events, like waves of infra and supra-optimal temperatures, can cause stress in rice plants. Thus, it is important to characterize the effects on the crop, as well as to select genotypes with greater tolerance to such stresses. In this context, the objective was to evaluate, initially, contrasting genotypes of irrigated rice (Nagina 22 and BRS Querência-tolerante and sensitive to high temperatures, respectively) when submitted to supra-optimal temperatures at the vegetative stage; later, the same genotypes when exposed to the elevated temperature of the night during the reproductive stage; and also 42 genotypes of irrigated rice for their phenotypic variability exposed to infra-optimal temperatures at the initial stage of development (V2), using a phenotype platform. In the first study, the genotypes were submitted to two temperature gradients: control (ambient temperature) and supra-optimal temperature (elevation of 3-5 °C during the day and 1-2 °C at night in relation to the control) from sowing up to 42 days after emergence; in the second study, the same genotypes were exposed to different night temperatures at the reproductive stage, being 22 °C (control) and 28 °C (high night temperature), being evaluated biochemical, physiological and yield parameters; in the third study, genotypes were submitted to infra-optimal temperatures (between 13 and 17 °C) during phenological stage V2, and their recovery capacity was evaluated. In the first study, supra-optimal temperatures at the vegetative stage increased twice the rate of CO₂ assimilation of the tolerant genotype, while it did not significantly modify that of the sensitive genotype, which presented a 20% reduction in dry mass of roots. In the second study, elevated night temperature resulted in higher activity of phenylalanine ammonia-lyase (270%) and peroxidase (80%) enzymes, reduction in total soluble sugars (-30%), increase in spikelet sterility (8%) and decrease in weight of 1000 grains (-13%) in the heat sensitive genotype. Furthermore, the thermotolerance characteristics of the genotype tolerant to supra-optimal temperatures allow to see its use as a source material in plant breeding programs. In the third study

it was visualized that infra-optimal temperatures imposed in phenological stage V2 exert negative effects on the rate of electron transport, effective photochemical quantum yield of FSII and chlorophyll index of irrigated rice genotypes, being that the materials Sel. TB 1211-3, CTB 1419, CTB 1444, CTB 1455 and AB 13720 present greater tolerance and recovery capacity at such stress. The functionality of non-invasive physiological phenotyping is highlighted, which can be inserted into plant breeding programs, allowing the characterization and selection of genotypes with wide genetic variability.

Keywords: *Oryza sativa* L., extreme climatic events, photosynthesis, yield components, thermotolerance, non-invasive phenotyping

Lista de Figuras

Capítulo I

- Figura 1** - Cultivo de genótipos de arroz irrigado em rizotrons: temperatura ambiente – TA (direita) e temperatura supraótima – TSO (esquerda)..... 24
- Figura 2** - Temperatura média do ambiente externo (TA) e dentro da estrutura de plástico (TSO) durante o período de condução do experimento. 24
- Figura 3** - Resposta fotossintética a temperaturas supraótimas em dois genótipos de arroz irrigado (BRS Querência e Nagina 22 - N22). Taxa de assimilação líquida de CO₂ – A (A), condutância estomática – *g_s* (B), taxa de transpiração – *E* (C) e eficiência quântica máxima do FSII – Fv/Fm (D)..... 27
- Figura 4** - Resposta da fluorescência da clorofila a temperaturas supraótimas em dois genótipos de arroz irrigado (BRS Querência e Nagina 22 - N22). Taxa de transporte de elétrons – ETR (A), dissipação fotoquímica – qP (B) e rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII - Y(II) (C) 30
- Figura 5** - Comprimento total de raízes (CR) e volume total de raízes (VR) de dois genótipos de arroz irrigado em resposta a temperaturas supraótimas [BRS Querência (A e C) e Nagina 22 - N22 (B e D)]..... 32
- Figura 6** - Massa seca total de raízes – MSR (A), massa seca total da parte aérea - MSPA (B) e área foliar – AF (C) de dois genótipos de arroz irrigado em resposta a temperaturas supraótimas (BRS Querência e Nagina 22 - N22).. 34

Capítulo II

- Figura 1** - Instalações utilizadas para condução do estudo: casa de vegetação (A) e câmara de crescimento (B). 41
- Figura 2** - Atividade da fenilalanina amônia-liase - FAL (A) e da peroxidase (B) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna..... 46

- Figura 3** - Rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII (Y(II)) na condição controle (A), aos sete dias após imposição do estresse no estágio de emborrachamento – R2 (B) e no estágio de grão leitoso – R5/R6 (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna..... 48
- Figura 4** - Dissipação fotoquímica (qP) na condição controle (A), aos sete dias após imposição do estresse no estágio de emborrachamento – R2 (B) e no estágio de grão leitoso – R5/R6 (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna..... 49
- Figura 5** - Taxa de transporte de elétrons (ETR) na condição controle (A), aos sete dias após imposição do estresse no estágio de emborrachamento – R2 (B) e no estágio de grão leitoso – R5/R6 (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna..... 51
- Figura 6** - Dissipação não-fotoquímica (NPQ) na condição controle (A), aos sete dias após imposição do estresse no estágio de emborrachamento – R2 (B) e no estágio de grão leitoso – R5/R6 (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna..... 52
- Figura 7** - Açúcares solúveis totais - AST (A) e concentração de amido em glicose (B) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna..... 54
- Figura 8** - Níveis de glicose (A), sacarose (B) e frutose (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna..... 57
- Figura 9** - Peso de 10 panículas (A), número de grãos por panícula (B), esterilidade de espiguetas (C) e peso de 1000 grãos (D) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna..... 59

Capítulo III

- Figura 1** - Instalações (plataforma de fenotipagem PhenoSTRESS da Embrapa) usadas para simular os regimes de temperaturas impostos durante o período de condução do experimento. Incluindo rizotrons usados para análise morfométrica de raízes (A), visão das raízes em rizotron aberto (B), aspecto da parte aérea das plantas ao final do período de recuperação (C) e câmara de crescimento utilizada para o estudo (D)..68
- Figura 2** - Dinâmica da variação da temperatura - diferentes regimes de temperaturas impostos durante o crescimento das plantas de arroz... ..69
- Figura 3** - Análise dos componentes principais - PCA (A, B, C e D) para respostas fisiológicas e morfométricas em 42 genótipos de arroz 74
- Figura 4** - Efeitos dos diferentes gradientes de temperatura no rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII - Y(II) (A), na taxa de transporte de elétrons - ETR (B), na fluorescência máxima – Fm' (C) e no índice de clorofila das folhas - Chl (D) em genótipos de arroz nos estádios V2 (controle), V2 + 3 dias (estresse) e V3/V4 (recuperação)... 75
- Figura 5** - Massa seca total de raízes e da parte aérea em genótipos de arroz ao final do período de recuperação (V3/V4 – recuperação) 78

Lista de Tabelas

Capítulo III

Tabela 1 - Genótipos do programa de melhoramento de arroz da Embrapa utilizados no estudo.	67
--	----

Lista de Abreviaturas e Siglas

A	Taxa de assimilação líquida de CO ₂
ACM	Alumínio composto
AF	Área foliar
AGPase	ADP-glicose pirofosforilase
AST	Açúcares solúveis totais
ATP	Adenosina trifosfato
Chl	Índice de clorofila
CNE	Carboidratos não-estruturais
CR	Comprimento total de raízes
DAE	Dias após a emergência
<i>E</i>	Taxa de transpiração
EDTA	Ácido etilenodiamino tetraacético
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ETR	Taxa de transporte de elétrons
FAL	Fenilalanina amônia-liase
Fm	Fluorescência máxima
Fo	Fluorescência inicial
FSI	Fotossistema I
FSII	Fotossistema II
Fv/Fm	Eficiência quântica máxima do FSII
<i>gs</i>	Condutância estomática
INFRA	Gradiente de temperatura infraótima

MSPA	Massa seca total da parte aérea
MSR	Massa seca total de raízes
N22	Nagina 22
NPQ	Dissipação não-fotoquímica
OTM	Gradiente de temperatura ótima
PC's	Componentes principais
PCA	Análise dos componentes principais
pH	Potencial hidrogeniônico
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonila
PVP	Polivinilpirrolidona
qP	Dissipação fotoquímica
RS	Rio Grande do Sul
TA	Temperatura ambiente
TNE	Temperatura noturna elevada
TSO	Temperatura supraótima
VR	Volume total de raízes
Y(II)	Rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII

Sumário

1.	INTRODUÇÃO.....	18
2.	CAPÍTULO I – Alterações morfofisiológicas em genótipos contrastantes de arroz em resposta a temperaturas supraótimas durante o estágio vegetativo .	21
2.1.	Introdução	21
2.2.	Material e métodos.....	23
2.3.	Resultados e discussão	26
2.4.	Conclusões.....	36
3.	CAPÍTULO II - Atributos bioquímicos, fisiológicos e de rendimento associados às respostas do arroz submetido a temperatura noturna elevada.	37
3.1.	Introdução	37
3.2.	Material e métodos.....	40
3.3.	Resultados e discussão	45
3.4.	Conclusões.....	62
4.	CAPÍTULO III - Fenotipagem não-invasiva: uma ferramenta para caracterização fisiológica e morfométrica de genótipos de arroz submetidos a temperaturas infraótimas	64
4.1.	Introdução	64
4.2.	Material e métodos.....	66
4.3.	Resultados e discussão	72
4.4.	Conclusões.....	80
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
6.	REFERÊNCIAS	82

1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o segundo cereal mais cultivado no mundo, com área aproximada de 159 milhões de hectares e produção de 483 milhões de toneladas do grão na safra 2016/2017. Atualmente, a produção mundial está concentrada principalmente no continente asiático, com destaque para a China e a Índia, responsáveis respectivamente por 30 e 22% da produção mundial, sendo que o Brasil é o 9º maior produtor, com 1,7% da produção global (USDA, 2017).

Em território brasileiro foram cultivados na safra 2016/2017 em torno de 1,98 milhões de hectares, sendo o Estado do Rio Grande do Sul (RS) o maior produtor, correspondendo por 70,8% da produção nacional, com produtividade média de 7.930 kg ha⁻¹ (CONAB, 2017). Entretanto, de acordo com projeções de demanda, a produção deste grão deve ser incrementada em 70% até 2050 para suprir a crescente demanda por alimentos, levando em consideração o crescimento populacional e o desenvolvimento econômico, em regiões onde o arroz é a principal fonte energética (GODFRAY et al., 2010).

Os estresses bióticos e abióticos representam os principais fatores que resultam em perdas agrícolas em escala global e as mudanças climáticas previstas poderão potencializar seus efeitos negativos (BRITO et al., 2010; BRITO et al., 2011; DIOLA et al., 2011; DIOLA et al., 2013; WEBER et al., 2014; BRITO et al., 2016; GUIMARÃES et al., 2017). Neste sentido, em diversos programas de melhoramento genético de plantas, a fisiologia vegetal passou a desempenhar papel chave, o qual envolve desde o desenvolvimento de protocolos para a fenotipagem robusta, não invasiva em larga escala, passando por sua adoção visando dissecação de mecanismos determinantes para um fenótipo específico de interesse para um ambiente alvo.

Recentemente, relatórios elaborados por diferentes grupos de pesquisas evidenciam, por meio de registros históricos de dados climáticos e modelos de previsão, que a frequência da ocorrência de eventos extremos (a exemplo do excesso e escassez de água, ondas de calor e de frio) deverão se tornar cada vez mais frequentes ao longo das próximas décadas (IPCC, 2013; TIAN et al., 2015; BECKLIN et al., 2016; FAN et al., 2016). Além do impacto previsto desses eventos climáticos extremos sobre a população global, permanecem incertas, sua influência na

distribuição de espécies de plantas, na produtividade, no balanço de carbono e no impacto fisiológico *versus* a capacidade de resiliência das plantas.

Apesar do arroz ser de origem tropical, também é cultivado em regiões subtropicais e temperadas. Assim, durante a estação de crescimento a planta está exposta a possíveis ocorrências de temperaturas infra e supraótima, num intervalo, não raramente, menor que 24 horas. A ocorrência destes extremos ambientais pode resultar em prejuízos na produtividade de grãos. Cabe salientar que a temperatura ótima para o desenvolvimento da cultura situa-se entre 20 e 35 °C para a germinação, de 30 a 35 °C para a floração e de 20 a 25 °C para a maturação fisiológica (YOSHIDA, 1981), e que tanto temperaturas inferiores como superiores a esses limiares podem alterar e desencadear vias de transdução de sinal, culminando em mudanças em diferentes processos fotoquímicos e bioquímicos da fotossíntese (BAHUGUNA et al., 2017).

Se por um lado estresse por temperaturas supraótimas pode resultar em prejuízos significativos à sustentabilidade da orizicultura do Sul do Brasil, por outro, a ocorrência abrupta de ondas de frio, com temperaturas infraótimas incidindo durante os períodos de germinação/emergência e estabelecimento da cultura (S0-V4) (COUNCE et al., 2000) também poderá conduzir à desuniformidade no estande de plantas, crescimento lento, maior exposição à competição com plantas daninhas, além de aumento da taxa de mortalidade de plantas e conseqüentemente, menor produtividade.

Neste sentido, ao assumir que as plantas arroz estarão cada mais expostas a extremos do clima, e que as mudanças climáticas irão intensificar e aumentar a frequência de ocorrência de períodos de escassez de água associados à sua exposição a temperaturas médias aumentadas, torna-se evidente que a adoção de tecnologias baseadas exclusivamente no manejo, sejam insuficientes para tamponar efeitos deletérios decorrentes das mudanças climáticas. Assim, o banco de germoplasma da espécie em questão precisa ser cada vez mais acessado, com vistas a uma caracterização fina, valoração e uso deste para fins específicos.

Desse modo, poder-se-á identificar, dissecar e valorar diferentes fundos genéticos, os quais poderão auxiliar na definição de novos ideótipos de plantas capazes de manter sustentáveis os sistemas de produção de arroz independente das variações climáticas que possam vir a acontecer. Neste sentido, é urgente a construção de uma abordagem multidisciplinar e vinculada aos programas de

melhoramento genético de plantas, a qual permita acelerar a obtenção/construção de ideótipos de plantas mais resilientes frente a estes cenários, permitindo suprir a demanda crescente por alimento básico.

Num cenário desafiador como o que se apresenta, abordagens que envolvam ajustes nas práticas culturais e nos sistemas de produção vigentes irão impactar positivamente reduzindo os efeitos negativos de extremos climáticos sobre a produtividade da cultura. Assim, as novas estratégias e ferramentas disponíveis atualmente, poderão oferecer aos programas de melhoramento vegetal novas oportunidades para exploração e manipulação das bases genéticas e funcionais envolvidas nos componentes de produção e estabilidade de rendimento sob condições de estresses, especialmente, ao considerar os eventos climáticos extremos atuais, juntamente aqueles previstos para se tornar cada vez mais intensos e frequentes no futuro.

Assim, objetivou-se adotar uma abordagem de fenotipagem fisiológica almejando caracterizar e identificar os mecanismos de tolerância ao estresse térmico, além de compreender as respostas fisiológicas e morfométricas do arroz quando expostos a estresses por temperaturas infra e supraótimas.

2. CAPÍTULO I - ALTERAÇÕES MORFOFISIOLÓGICAS EM GENÓTIPOS CONTRASTANTES DE ARROZ EM RESPOSTA A TEMPERATURAS SUPRAÓTIMAS DURANTE O ESTÁDIO VEGETATIVO

2.1. Introdução

O arroz é a cultura alimentar mais importante em todo o mundo, cultivado em extremos de latitudes, sendo considerado alimento básico para cerca de dois terços da população mundial (SECK, 2012). No entanto, a produção de alimentos, bem como a produção anual de cereais, deverá aumentar nos próximos anos (FAO, 2017) para suprir o crescimento populacional, associado ao desenvolvimento econômico, especialmente de algumas regiões da Ásia e África. Para atingir essa demanda crescente pelo arroz, os orizicultores precisarão produzir anualmente cerca de 8 a 10 milhões de toneladas a mais de arroz sem expansão da área cultivada, exigindo um aumento anual da produção de cerca de 1,2 - 1,5% (SECK, 2012), índice significativamente superior aos obtidos atualmente pelos diferentes programas de melhoramento genético atuais. Soma-se a este desafio, suprir tal demanda frente a um clima em alteração acelerada. As mudanças climáticas projetadas para o futuro nos acenam que adoção de estratégias multidisciplinares e novas tecnologias exercerão um papel cada vez maior.

Neste sentido, esforços devem ser concentrados visando, inicialmente, compreender como a temperatura supraótima interfere em processos chaves da planta e como esta reage ao fator de estresse. Tal abordagem culminará na obtenção de conhecimentos que subsidiem a construção de ideótipos de plantas mais resilientes quando expostas a condições ambientais cada vez mais severas.

Apenas como ilustração da relevância do tema aqui abordado, estudos estimam que haverá um aumento da temperatura média de 2 a 5,4 °C, até 2100 (IPCC, 2014), com incremento estimado de 3,8 °C na temperatura média no Brasil (PINTO et al., 2008). Para o Estado do RS tem sido relatado um aumento na temperatura média mínima ao redor de 2 °C no verão (janeiro/fevereiro/março). Diante do exposto, é imprescindível determinar quais serão os impactos sobre a produtividade e qualidade da produção, caso estes aumentos continuem a progredir no mesmo ritmo.

Temperaturas excessivamente elevadas são um dos principais fatores ambientais que limitam o crescimento e o rendimento das culturas, induzindo a muitas alterações bioquímicas e moleculares influenciando inúmeros processos celulares, e assim podendo provocar efeitos negativos no crescimento e desenvolvimento das plantas (SHEEHY et al., 2005; SHRIVASTAVA et al., 2012). Dentre as alterações ocasionados pelo incremento da temperatura, destacam-se aquelas sobre processos que culminam a fotossíntese. Estudos evidenciam que a exposição às temperaturas supraótimas resultam na diminuição na assimilação de CO₂ e, conseqüentemente, perdas na produtividade de grãos (YOSHIDA, 1981; BRITO et al, 2016). Por outro lado, cabe ressaltar que para a maioria das espécies de plantas durante o estágio de desenvolvimento vegetativo há, geralmente, maior capacidade para tolerar e recuperar-se de temperaturas supraótimas (HATFIELD; PRUEGER, 2015).

Estudos que abordem os impactos de temperaturas supraótimas sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas são escassos para o Brasil, especialmente nos estágios iniciais de desenvolvimento. O impacto do aumento da temperatura tem efeito cumulativo em fases posteriores do desenvolvimento da planta, sendo que mudanças na fase vegetativa e reprodutiva inicial poderão afetar o enchimento de grãos, causados pela redução da produção e viabilidade do pólen, e na qualidade final dos grãos (PRASAD et al., 2006; SHRIVASTAVA et al., 2012).

Neste contexto, a análise do crescimento, que é um método que descreve as mudanças na produção vegetal em função do tempo e propõe acompanhar a dinâmica da produção fotossintética avaliada por meio do acúmulo de matéria seca, pode ser utilizada para avaliar a adaptação ecológica das plantas a novos ambientes, competição interespecífica, efeitos de sistemas de manejo, entre outros, permitindo uma avaliação da capacidade produtiva de diferentes genótipos (FRANÇA et al., 1999; ANTONIAZZI; DESCHAMPS, 2006).

Ainda, a produtividade contrastante observada entre diferentes genótipos de arroz tem sido justificada por meio das diferenças na dinâmica da distribuição de assimilados entre órgãos, durante o crescimento e o desenvolvimento das plantas (NTANOS; KOUTROUBAS, 2002). Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar as respostas fisiológicas e morfométricas de dois genótipos contrastantes de arroz irrigado submetidos a temperaturas supraótimas no estágio inicial de desenvolvimento.

2.2. Material e métodos

2.2.1. Material vegetal

O experimento foi realizado na Estação Experimental Terras Baixas da Embrapa Clima Temperado, localizada no município de Capão do Leão/RS, entre os meses de dezembro de 2015 e janeiro de 2016. Foram utilizados dois genótipos de arroz irrigado, o Nagina 22 (N22), conhecidamente tolerante ao calor (JAGADISH et al., 2010), e o BRS Querência, sensível ao calor, selecionados com base em estudos prévios (dados não mostrados). Esses genótipos apresentam ciclo semelhante, mas diferenças significativas para o peso de grãos e tamanho da panícula quando cultivados em condições de campo.

2.2.2. Condições de cultivo das plantas

Para o cultivo das plantas foram utilizados rizotrons de formato retangular, constituídos por duas placas de ACM (alumínio composto) com 120 cm de altura e 35 cm de largura, separadas por canaletas de alumínio, mantendo um espaçamento entre as placas de 1,5 cm e fixadas com prendedores. Os rizotrons foram previamente preenchidos com solo classificado como Planossolo Hidromórfico Eutrófico solódico – Unidade de Mapeamento Pelotas (EMBRAPA, 2006).

Foi realizada semeadura de três sementes de cada genótipo nos rizotrons, sendo que após a germinação apenas uma planta foi mantida. Para favorecer o crescimento das raízes na face inferior da placa, os rizotrons foram apoiados em cavaletes de madeira com inclinação de 45°. Ambos os genótipos foram expostos a dois gradientes de temperatura: ambiente (TA) - as plantas foram cultivadas em rizotrons sob condições de temperatura do ambiente; e supraótima (TSO) - as plantas foram cultivadas em rizotrons colocados dentro de uma estrutura de plástico (semelhante a uma estufa) como mostrado na Figura 1, que aumentou a temperatura de 3 a 5 °C durante o dia e de 1 a 2 °C durante à noite, em comparação com as plantas crescidas em condições normais de temperatura ambiente. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três repetições, sendo que cada repetição consistiu em um rizotron contendo uma planta de um dos genótipos.



Figura 1 - Cultivo de genótipos de arroz irrigado em rizotrons: temperatura ambiente – TA (direita) e temperatura supraótima – TSO (esquerda).

A umidade do solo foi monitorada diariamente e, quando necessário, realizada a irrigação. As condições de temperatura para as duas condições (TA e TSO) foram monitoradas através de sensores, sendo que a Figura 2 mostra as mesmas durante a condução do experimento.

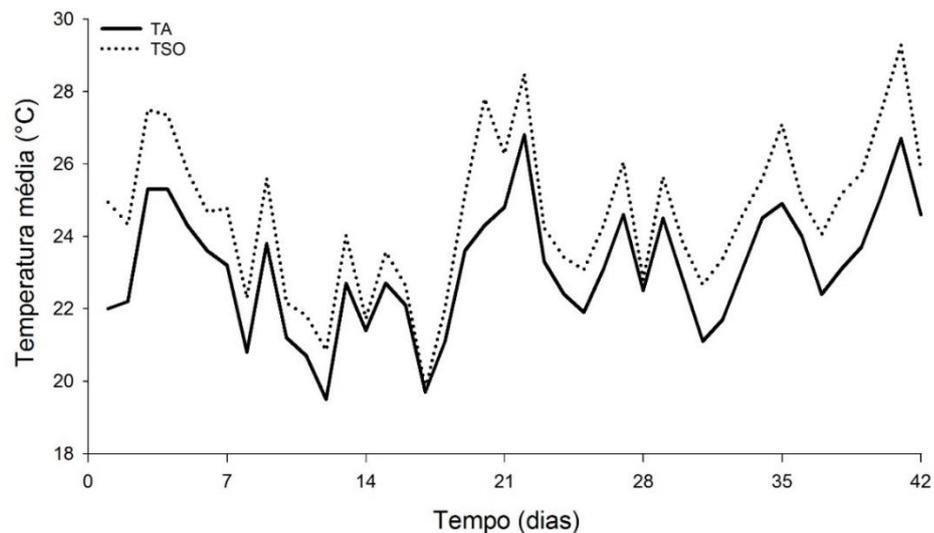


Figura 2 - Temperatura média do ambiente externo (TA) e dentro da estrutura de plástico (TSO) durante o período de condução do experimento.

2.2.3. Análise das trocas gasosas

Parâmetros das trocas gasosas foram mensurados nas plantas aos 42 dias após a emergência (DAE) usando um analisador de gás no infravermelho IRGA (modelo LI-6400XT LI-COR, Inc., Lincoln, NE, EUA). As medições foram realizadas entre às 09:00 e 11:00 horas da manhã, com concentração de CO₂ na câmara de 400 µmol mol⁻¹ e uma densidade de fluxo de fótons de 900 µmol de fótons m⁻² s⁻¹, usando a fonte de luz da LI-COR anexada na câmara de medição. A taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*), a condutância estomática (*g_s*) e a taxa de transpiração (*E*) foram mensuradas no terço médio da folha expandida mais jovem.

2.2.4. Análise da fluorescência da clorofila

A fluorescência da clorofila de folhas de plantas adaptadas ao escuro foi mensurada aos 42 DAE usando um fluorômetro portátil (modelo PAM-2500 da Walz Heinz GmbH, Effeltrich, Alemanha). As folhas foram mantidas no escuro por pelo menos 40 minutos, e a fluorescência foi induzida por um pulso de flash de saturação com 7000 µmol fótons m⁻² s⁻¹. A eficiência quântica máxima do FSII (*F_v/F_m*) foi definida como $(F_m - F_o)/F_m$, onde *F_m* corresponde a fluorescência máxima e *F_o* a fluorescência inicial. O rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII (*Y(II)*) foi definido como $(F_m' - F_s)/F_m'$. A dissipação fotoquímica (*qP*) foi definida como $1 - (F_s - F_o')/(F_m' - F')$ e taxa de transporte de elétrons (*ETR*) definida como $PAR \cdot ETR\text{-fator} \cdot PPS2/PPPS$. *Y(II)* (BAKER, 2008). As avaliações foram realizadas no terço médio da folha expandida mais jovem.

2.2.5. Análise morfométrica de raízes

A análise morfométrica tem como princípio quantificar variações morfológicas, principalmente na forma e no tamanho das estruturas medidas, possibilitando avaliar a influência de diversos fatores sobre o desenvolvimento de tais estruturas. No presente estudo a mesma foi realizada com auxílio de câmera fotográfica (Sony Cyber Shot DSC-HX1, Zoom Óptico 20X) e do software analisador de imagens WinRHIZO Pro2013 (Regent Instruments, Inc., Quebec City, QC, para aferir o comprimento total

de raízes (CR) e o volume total de raízes (VR) aos sete, 14, 21, 28, 35 e 42 DAE, na profundidade de 0-120 cm.

2.2.6. Determinação da área foliar e da biomassa

Adicionalmente, também foram avaliadas aos 42 DAE a área foliar (AF), estimada com auxílio de um medidor de área foliar (modelo LI-3000 LI-COR), a massa seca total de raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA), quantificadas após secagem do material vegetal em estufa, a temperatura de 60 °C, até atingir peso constante e, posteriormente, realizada a pesagem.

2.2.7. Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à homocedasticidade, pelo teste de Hartley e à normalidade, pelo teste de Shapiro-Wilk. Posteriormente, procedeu-se a análise da variância (ANOVA) e, constatando-se significância estatística, os tratamentos foram comparados pelo teste de Student-Newman-Keuls ou análise de regressão ($p \leq 0,05$). As análises foram realizadas usando o SigmaPlot versão 13 (Systat Software Inc., San Jose, CA, EUA).

2.3. Resultados e discussão

Quanto à análise de trocas gasosas, em plantas cultivadas em rizotrons, a taxa de assimilação líquida de CO₂ (*A*) dobrou em plantas do genótipo N22 quando cultivadas dentro da estrutura de plástico (TSO) em comparação com as plantas de N22 em condição de temperatura externa (TA), enquanto não foram observadas diferenças na *A* do genótipo BRS Querência (Figura 3A).

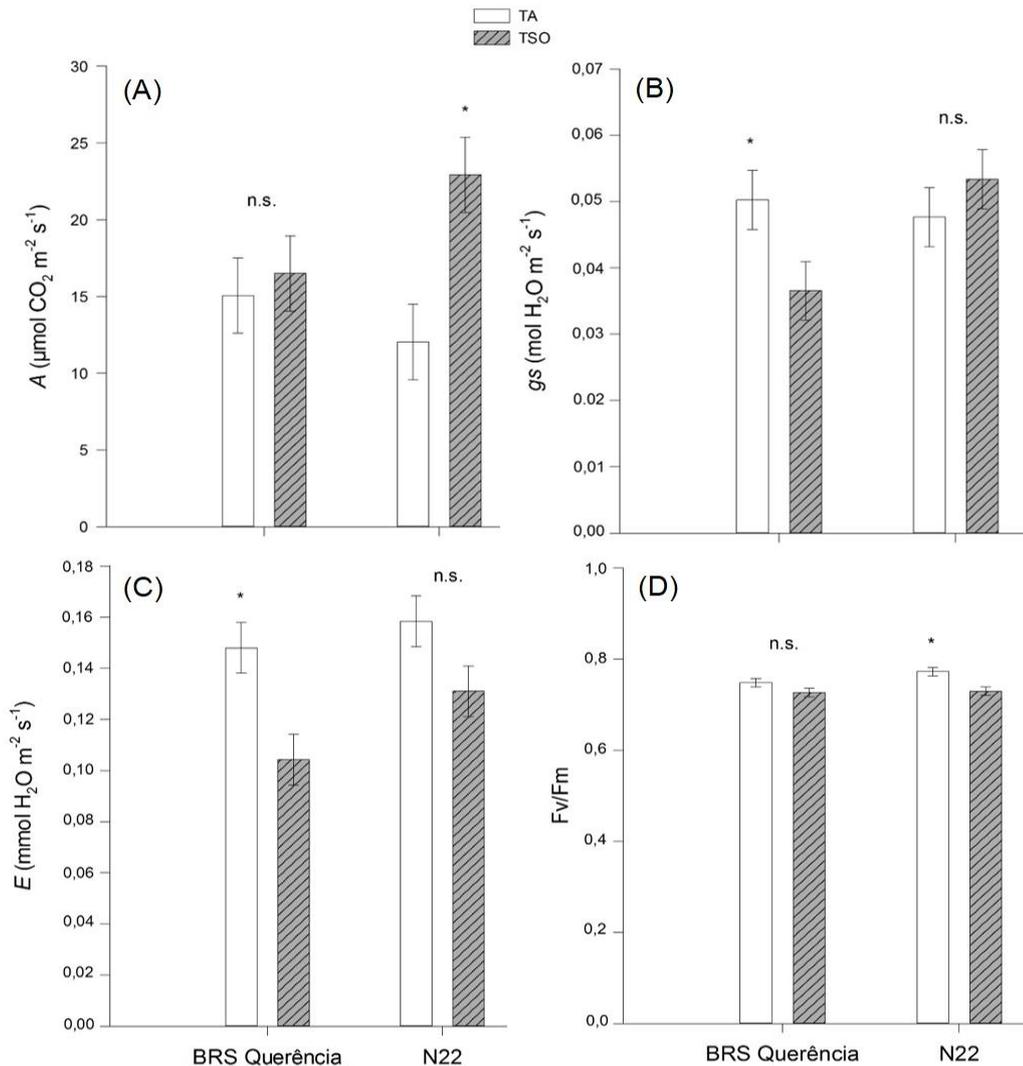


Figura 3 – Resposta fotossintética a temperaturas supraótimas em dois genótipos de arroz irrigado (BRS Querência e Nagina 22 - N22). Taxa de assimilação líquida de CO_2 – A (A), condutância estomática – gs (B), taxa de transpiração – E (C) e eficiência quântica máxima do FSII – Fv/Fm (D). “TA” - plantas que cresceram em rizotrons sob condições de temperatura ambiente; “TSO” – plantas que cresceram em rizotrons dentro de estrutura de plástico. Nota: os símbolos * e ^{n.s.} indicam diferença significativa pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$) e não-significativa, respectivamente, entre os tratamentos (TA e TSO) para cada genótipo.

A fotossíntese tem sido relatada como altamente sensível ao estresse por calor, sendo que a temperatura ideal para a assimilação de CO_2 varia de 20 a 35 °C (HÜVE et al., 2011), com incrementos da taxa fotossintética da temperatura limiar mínima até a máxima. Embora as plantas apresentem uma amplitude considerável na temperatura ótima para a fotossíntese, a inibição da mesma ocorre normalmente quando a temperatura ultrapassa os 35 °C (BERRY; BJÖRKMAN, 1980; SCHRADER et al., 2004), devido à inibição da atividade da Rubisco ativase e à concomitante redução da atividade da Rubisco (KIM; PORTIS, 2005), ou à limitação no fornecimento de NADPH e ribulose bifosfato (KUBIEN; SAGE, 2008), refletindo na perda do

gradiente de pH nos tilacóides (ZHANG et al., 2009). O aumento da *A* do genótipo tolerante ao calor em TSO, verificado no presente estudo, corrobora com estudos já realizados por Scafaro et al. (2010) e Scafaro et al. (2012), onde a espécie de arroz tolerante ao calor *Oryza meridionalis* apresentou incremento da atividade fotossintética quando exposta a temperatura elevada, sendo que essa atividade estava associada à termotolerância da mesma.

De um modo oposto, houve redução significativa de 27% na condutância estomática (*gs*) (Figura 3B) e 30% na taxa de transpiração (*E*) (Figura 3C) em plantas do BRS Querência mantidas em condições de TSO quando comparadas com as plantas do TA. Diferentemente, as plantas de N22, tolerantes a temperaturas elevadas, não apresentaram alterações na *gs* e *E* quando expostas ao calor excessivo. Segundo Leakey et al. (2002) e Poons e Welschen (2003), a redução desses parâmetros é dependente da temperatura e pode ser modulada por características genéticas de cada material.

Estudos mostraram que cultivares de arroz sensíveis ao calor extremo diminuíram a *gs* em cerca de 20 a 50% quando expostos a temperaturas elevadas (40 °C), e o estresse variou de acordo com o estágio de desenvolvimento fenológico das plantas, sendo que a fase reprodutiva foi a mais afetada (RESTREPO-DIAZ; GARCES-VARON, 2013). Manter o funcionamento da *gs* é altamente importante para reduzir a temperatura foliar em alguns graus abaixo da temperatura do ar através da *E* sob condições de temperatura elevada, assim podendo influenciar na sobrevivência ou morte dos tecidos (TRIBUZY, 2005).

No presente estudo, o desempenho diferencial dos dois genótipos com relação a *E* pode estar relacionado com os resultados obtidos para a *gs* nos diferentes gradientes de temperatura. A transpiração estomática, que corresponde a 90% das perdas de água na planta, varia de acordo com a ação de fatores internos e externos, tais como a temperatura. Em ambientes onde a temperatura está acima dos 30 °C, há uma tendência ao fechamento estomático, com conseqüente redução dos níveis de transpiração. Possivelmente, o mecanismo de termotolerância do N22 possibilitou a manutenção dos níveis de transpiração e condutância estomática na condição de TSO e, conseqüentemente, maior capacidade fotossintética do genótipo, diferentemente das plantas do BRS Querência, que demonstraram decréscimo na *gs* e *E*.

As temperaturas ótimas para a *A* nas concentrações ambientais atuais de CO₂ são em torno de 30 °C ou ligeiramente acima, enquanto as temperaturas ótimas para o transporte de elétrons fotossintéticos são tipicamente de 5 a 15 °C maiores (MEDLYN et al., 1999). Conforme mostrado na Figura 3D, a eficiência quântica máxima do FSII (Fv/Fm) reduziu em plantas de N22 expostas a temperaturas elevadas (TSO) em cerca de 6%, enquanto as plantas de BRS Querência não diminuíram o Fv/Fm no TSO comparadas às plantas mantidas em TA.

Da mesma forma que o Fv/Fm, a taxa de transporte de elétrons (ETR) também reduziu (29%) em plantas de N22 sob temperaturas supraótimas (TSO) em comparação com as plantas em TA, enquanto as plantas de BRS Querência não mostraram diferenças entre os dois gradientes de temperatura (Figura 4A). A dissipação fotoquímica (qP) (Figura 4B) e o rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII (Y(II)) (Figura 4C) apresentaram desempenho semelhante em cada uma das condições de temperatura para ambos os genótipos, com redução dos valores em ambiente com temperaturas supraótimas quando comparado à condição de TA.

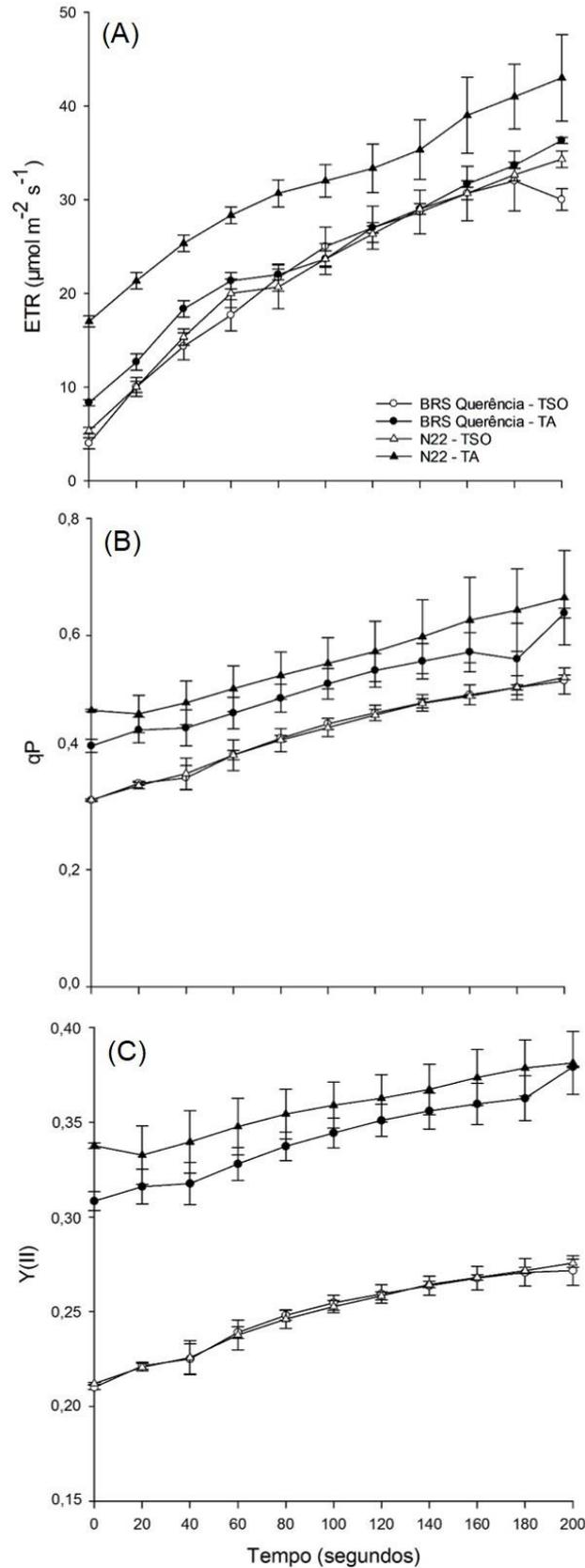


Figura 4 - Resposta da fluorescência da clorofila a temperaturas supraótimas em dois genótipos de arroz irrigado (BRS Querência e Nagina 22 - N22). Taxa de transporte de elétrons – ETR (A), dissipação fotoquímica – qP (B) e rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII – Y (II) (C). “TA” - plantas que cresceram em rizotrons sob condições de temperatura ambiente; “TSO” – plantas que cresceram em rizotrons dentro de estrutura de plástico.

Conforme demonstrado nesse estudo, a TSO incrementou a *A* (Figura 3A), por outro lado, a ETR, determinada a partir da análise da fluorescência da clorofila, diminuiu (Figura 4A). Embora o transporte de elétrons prejudicado já tenha sido demonstrado sob condições moderadas de estresse por calor, superando ligeiramente as temperaturas ótimas (ZHANG et al., 2009), as taxas fotossintéticas geralmente se recuperam rapidamente do estresse térmico moderado (HÜVE et al., 2011).

A ETR do FSII nas folhas está fortemente ligada à taxa de fixação de CO₂, no entanto, parte dos elétrons do FSII são divididos entre a fotorrespiração e outros processos (OBERHUBER et al., 1993). Assim, a descoberta de que as folhas mostraram as taxas máximas de elétrons do fotossistema II (FSII) no BRS Querência e no N22 em condições de temperatura ambiente (TA) pode estar relacionada à condução do fluxo de energia dos fotossistemas através da fotorrespiração como um mecanismo para dissipar parte da energia produzida pelo processo fotoquímico (YAMASAKI et al., 2002).

Em geral, a resposta da capacidade de transporte de elétrons em temperaturas elevadas é diferente entre as espécies (MEDLYN et al., 1999). Além disso, as plantas sob estresse por calor podem ajustar o metabolismo, apresentando estratégias para manter as estruturas dos fotossistemas, o que, por sua vez, leva a uma paralisação ou redução na taxa de transporte de elétrons (INOUE et al., 2001). Os fotossistemas também são muito sensíveis às variações de temperatura devido à sua posição dentro da membrana dos tilacóides (BADRETDINOV et al., 2002), e alguns graus acima na temperatura podem aumentar a fluidez da membrana, levando à desorganização do aparato fotossintético (NIINEMETS et al., 1999). Neste sentido, Leakey et al. (2002) mostraram que a temperatura foliar acima de 34 °C pode reduzir a capacidade de transporte de elétrons, ao mesmo tempo em que conduz de forma mais eficiente a energia (ATP e NADPH) para processos fotossintéticos ao aumentar a assimilação de CO₂ e pode reduzir a fotorrespiração.

Segundo Yin et al. (2010), o estresse por temperatura elevada em plantas pode afetar diversos mecanismos, tais como o estado de ativação da enzima Rubisco, o rendimento quântico máximo e efetivo do FSII, a eficiência real do FSII no estado adaptado à luz e/ou a dissipação não-fotoquímica em folhas de arroz. Tal afirmação corrobora com os resultados encontrados no presente estudo, onde a redução dos valores desses parâmetros foi observada nas plantas de ambos os genótipos quando expostas a temperaturas supraótimas.

Em ambos os genótipos, o comprimento total de raízes (CR) não foi afetado pelo incremento da temperatura durante o período de condução do experimento (Figuras 5A e 5B). Em relação ao volume total de raízes (VR), houve incremento nos dois genótipos quando em condições de TSO, sendo esse em maior nível para o N22, que apresentou aumento aproximado de 70% do VR no TSO comparativamente ao TA (Figuras 5C e 5D).

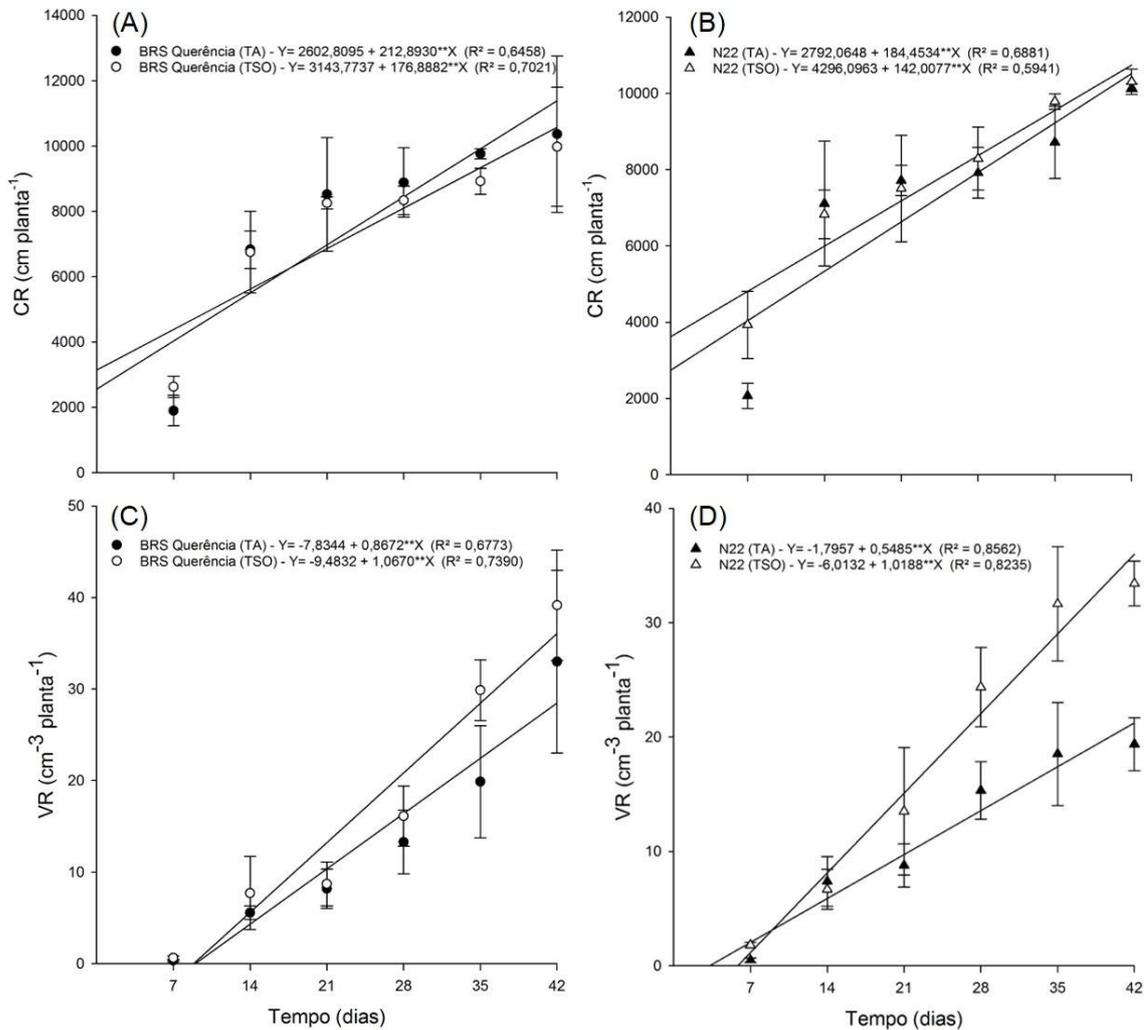


Figura 5 – Comprimento total de raízes (CR) e volume total de raízes (VR) de dois genótipos de arroz irrigado em resposta a temperaturas supraótimas [BRS Querência (A e C) e Nagina 22 - N22 (B e D)]. “TA” - plantas que cresceram em rizotrons sob condições de temperatura ambiente; “TSO” – plantas que cresceram em rizotrons dentro de estrutura de plástico.

A massa seca total de raízes (MSR) dobrou em condição de temperatura elevada (TSO) em comparação com a condição de temperatura ambiente (TA) no genótipo N22, enquanto não ocorreram alterações significativas no BRS Querência apesar do pequeno decréscimo da mesma (Figura 6A). Em relação a massa seca total da parte aérea (MSPA), ambos os genótipos mostraram incremento quando em TSO

comparativamente ao TA, sendo esse de 51 e 57% para o BRS Querência e N22, respectivamente (Figura 6B). Comportamento semelhante foi observado na área foliar (AF), com incremento de 57% no BRS Querência e 58% no N22 quando expostos a TSO em relação a TA (Figura 6C).

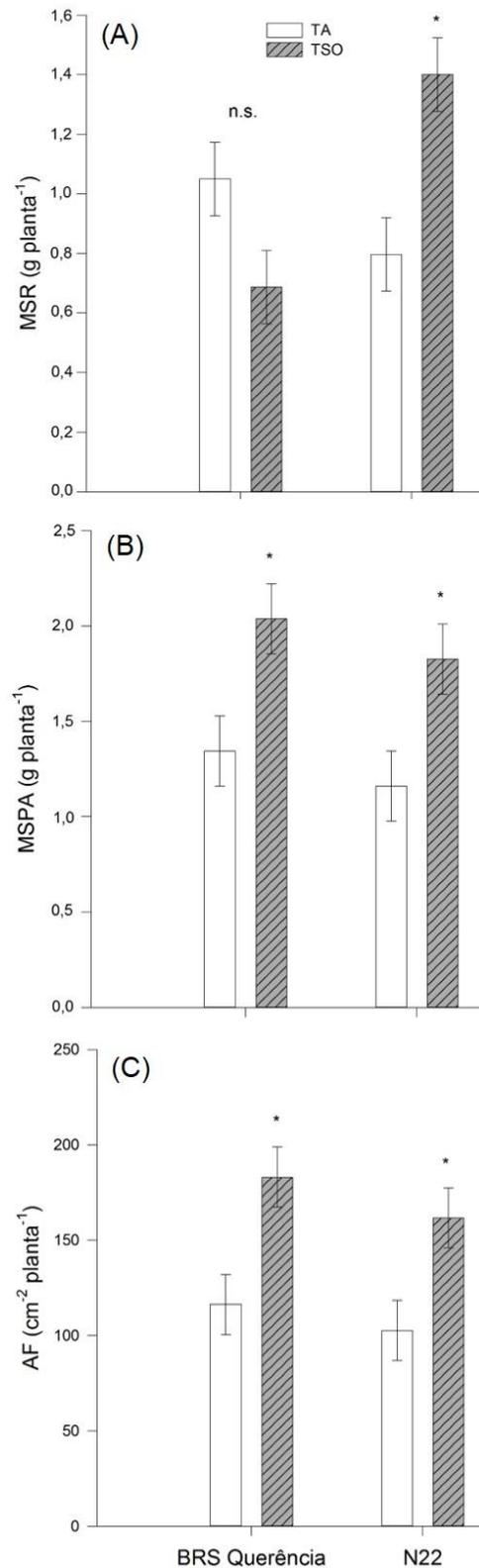


Figura 6 - Massa seca total de raízes – MSR (A), massa seca total da parte aérea - MSPA (B) e área foliar – AF (C) de dois genótipos de arroz irrigado em resposta a temperaturas supraótimas (BRS Querência e Nagina 22 - N22). “TA” - plantas que cresceram em rizotrons sob condições de temperatura ambiente; “TSO” – plantas que cresceram em rizotrons dentro de estrutura de plástico. *Nota:* os símbolos * e n.s. indicam diferença significativa pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p \leq 0,05$) e não-significativa, respectivamente, entre os tratamentos (TA e TSO) para cada genótipo.

De acordo com Arai-Sanoh et al. (2010), em ambientes onde tem-se o aumento da temperatura do ar, conseqüentemente ocorre incremento da temperatura da água e da superfície do solo, fato que, no presente estudo, possivelmente tenha ocorrido nos rizotrons dispostos dentro do abrigo.

Em estudo realizado pelos mesmos autores, o aumento da temperatura do solo até determinado limite, aproximadamente 30 °C, não afetou negativamente o desenvolvimento do sistema radicular de genótipo de arroz sensível ao calor extremo, entretanto, temperaturas superiores a essa resultaram em menor crescimento das raízes.

Conforme demonstrado pelo genótipo sensível BRS Querência, não houve diferenças significativas no peso seco das raízes, embora tenha ocorrido leve decréscimo, caracterizando que a temperatura do solo atingiu o máximo para manter o crescimento de raízes sem vários danos, diferentemente do N22 que não foi afetado pela temperatura do solo, aumentando o crescimento radicular. Essas diferenças podem estar relacionadas ao aumento da taxa fotossintética e à divisão de carboidratos entre raízes e parte aérea no N22 (XU; HUANG, 2000), enquanto houve incremento na taxa respiratória no BRS Querência (DU; TACHIBANA, 1994).

A área foliar das plantas é fortemente afetada pela temperatura, radiação, sombreamento, fotoperíodo, umidade do ar, disponibilidade de água e nutrientes minerais (TARDIEU et al., 2005; SCHURR et al., 2006). Corroborando com o presente estudo, Hay e Wilson (1982) e McMaster et al. (2003) mostraram que o aumento da temperatura próxima da zona radicular afeta o crescimento e o desenvolvimento das folhas, além de vários processos fisiológicos em plantas de arroz.

Em geral, a melhor resposta do N22 a temperaturas supraótimas pode estar relacionada a uma termotolerância desse genótipo comparativamente ao BRS Querência, que se mostrou mais sensível aos efeitos da temperatura elevada. Portanto, a melhor capacidade de manutenção do crescimento radicular em condições de temperaturas elevadas pode auxiliar o N22 na absorção de água e nutrientes nessa condição estressante, o que pode permitir a continuidade do crescimento e, conseqüente, produtividade das plantas.

2.4. Conclusões

Temperaturas supraótimas afetam negativamente de forma mais acentuada as respostas fotossintéticas do genótipo BRS Querência em relação ao N22.

O genótipo N22 apresenta melhor resposta dos parâmetros morfométricas em condição de temperatura supraótima, mantendo estabilidade no crescimento do sistema radicular e da parte aérea.

A melhor resposta do genótipo N22 a temperaturas elevadas é devido aos seus traços intrínsecos de termotolerância, sendo que o mesmo surge como um material com potencial fonte de tolerância ao calor em programas de melhoramento vegetal que visam a obtenção de novos materiais para enfrentar o aquecimento global.

3. CAPÍTULO II - ATRIBUTOS BIOQUÍMICOS, FISIOLÓGICOS E DE RENDIMENTO ASSOCIADOS ÀS RESPOSTAS DO ARROZ SUBMETIDO A TEMPERATURA NOTURNA ELEVADA

3.1. Introdução

O arroz é um dos alimentos básicos mais relevantes para mais da metade da população mundial (FAN et al., 2016). A produção do grão de arroz deve ser incrementada em 70% até 2050 para suprir a crescente demanda por alimentos, levando em consideração o crescimento populacional e o desenvolvimento econômico (GODFRAY et al., 2010). Nesse sentido, tem-se preocupação especial em entender o comportamento da cultura frente às possíveis mudanças climáticas, sabendo-se que a produtividade do arroz tem sofrido fortes oscilações ao longo dos anos, ocasionadas, fundamentalmente, por eventos climáticos extremos, tais como a ocorrência de temperaturas infra e/ou supraótimas em períodos críticos do ciclo da cultura.

Neste cenário, as previsões mais pessimistas estimam um aumento médio na temperatura entre 2 °C e 5,4 °C até 2100, e as mais otimistas preveem que este aumento deverá situar entre 1,4 °C e 3,8 °C (PINTO et al., 2008). Para o Estado do Rio Grande do Sul (RS), maior produtor brasileiro de arroz, alguns registros e estudos indicaram que, num período de 57 anos, a tendência de aumento da temperatura mínima variou de 0,8 °C até os valores máximos de 1,9; 1,7 e 1,9 °C, respectivamente, para os meses de dezembro, janeiro, fevereiro e março (MARQUES et al., 2005). De acordo com Alward et al. (1999), grande parte do aumento da temperatura média diária deverá acontecer devido ao incremento das temperaturas noturnas.

Cientistas do Instituto Internacional de Investigação do Arroz relataram um aumento de 1,13 °C na temperatura noturna durante um período de 25 anos (1979-2003) nas Filipinas (PENG et al., 2004), enquanto na Líbia a mesma aumentou a uma taxa de 0,18 °C por década ao longo do período 1950-1995 (JONES et al., 1999). Ainda, embora o impacto projetado das mudanças climáticas sobre o rendimento das culturas tenha sido amplamente publicado na última década, ainda são inexpressivos os estudos que destacam o papel do aumento das temperaturas noturnas na resposta fisiológica da cultura do arroz (CHATURVEDI et al., 2017) e, conseqüentemente, os seus impactos sobre o desempenho relacionado ao rendimento de grãos. Segundo

relatado por Marengo e Camargo (2008), já está ocorrendo um aumento significativo de temperaturas noturnas na Região Sul do Brasil.

Nesse sentido cabe ressaltar que a antese - estágio reprodutivo R4 de acordo com a Escala de Counce et al. (2000) - é a fase de desenvolvimento da cultura mais sensível ao calor excessivo, e a temperatura crítica, acima da qual a esterilidade de espiguetas começa a aumentar, encontra-se entre 33 e 34 °C. Entretanto, uma parte significativa dos estudos publicados foram conduzidos utilizando background genético essencialmente da subespécie *indica* (mais tolerante) e por meio de experimentos em que as temperaturas foram programadas para permanecer constante durante o período diurno e noturno, o que não se traduz a realidade das condições de campo, onde as condições ambientais são dinâmicas. Adicionalmente, sob condições de campo, ocorrências de temperaturas diurnas elevadas estão também associadas a manutenção de temperaturas noturnas supraótimas, ao menos durante as primeiras horas após o anoitecer, aumentando a taxa de respiração no escuro, e influenciando sobre o acúmulo de reservas. Assim, isolar o papel do estresse térmico sob condições realísticas, ou seja, a campo, é tarefa complexa.

Nesse sentido, tem-se relatos que a temperatura noturna elevada diminui a produção de culturas (arroz, trigo, milho, girassol, entre outras), reduzindo a função fotossintética, o teor de açúcar e amido (LOKA; OOSTERHUIS, 2010), aumentando a taxa respiratória (MOHAMMED; TARPLEY, 2009), suprimindo o desenvolvimento de brotos florais (AHMED; HALL, 1993), causando esterilidade masculina e baixa viabilidade do pólen e acelerando a maturidade das culturas (MOHAMMED; TARPLEY, 2009). Complementarmente, tem-se que plantas de arroz submetidas a temperaturas elevadas durante estágio reprodutivo podem apresentar mudanças na dinâmica dos teores de sacarose, frutose, glicose e diferenças na atividade da sacarose sintase, entre outros (LI et al., 2006).

Tem sido relatado extensivamente que, no futuro, o aumento da concentração de CO₂ resultará em melhor desempenho fotossintético além de incrementos na atividade enzimática do metabolismo de carboidratos na fonte (folhas) caso outras variáveis limitantes não ocasionem impactos negativos; ou seja, isto somente poderia ocorrer caso estas pudessem ser isoladas em sistemas produtivos, o que na prática torna-se inviável. Mesmo assim, busca-se atualmente por genótipos que possam acumular uma maior quantidade de carboidratos não-estruturais (CNE), os quais sejam remobilizados para os drenos (os grãos, no caso do arroz). Isso poderia resultar

em plantas com panículas maiores, elevar o número de espiguetas viáveis por panícula, além de aumentar o peso de 1000 grãos (SHIMONO et al., 2009; ZHU et al., 2014). Por outro lado, a exemplo do que já foi exposto anteriormente, durante a fase reprodutiva inicial (R2) os efeitos negativos do estresse por temperaturas supraótimas podem levar à redução do rendimento de grãos de arroz e de seus componentes, com incremento da taxa de esterilidade de espigas e encurtamento do período de enchimento de grãos.

Também tem sido evidenciada a aceleração da taxa de senescência foliar, associada a reduções abruptas da taxa fotossintética, diminuindo a conversão de sacarose em amido, podendo reduzir o rendimento e qualidade de grãos (BAHUGUNA et al., 2017; CHATURVEDI et al., 2017; YOU et al., 2017). Considerando que o amido representa de 80 a 90% do peso final do grão de arroz, os eventos envolvendo desde o enchimento do grão até o seu rendimento final estão associados aos assimilados fornecidos pela fotossíntese atual e à capacidade de remobilização de CNE do colmo para os grãos em formação (YOSHIDA, 1981).

Da fase vegetativa até a de emborrachamento, os carbonos assimilados são armazenados parcial e temporariamente em colmos e folhas da planta de arroz como CNE, os quais são drenados de modo a suprir todos os eventos envolvendo desde a formação de órgãos reprodutivos até o desenvolvimento de grãos e sua maturação (MORITA; NAKANO, 2011; ZHANG et al., 2016). Para o arroz, existem estudos que mostram que a contribuição do CNE do colmo para o rendimento de grãos deve atingir 28% (YOSHIDA, 1981; PAN et al., 2011). Além disso, há indícios de que o CNE do colmo na fase de emborrachamento completo do arroz pode aumentar a taxa de amadurecimento dos grãos em plantas submetidas ao estresse térmico, interferindo na sua estabilidade produtiva (MORITA; NAKANO, 2011). Desta forma, diferentes estratégias devem ser usadas pelas plantas para responder às oscilações ambientais, incluindo aquelas relacionadas a rota dos fenilpropanóides.

A fenilalanina amônia-liase (FAL) catalisa o primeiro passo na rota dos fenilpropanóides, levando a L-fenilalanina a sofrer desaminação para produzir amônia e trans-cinamato (DIXON et al., 2002). Assim, a biossíntese dos flavonoides, isoflavonóides, antocianinas, fitoalexinas, antocianinas e de ligninas são dependentes da atividade da FAL (PASCUAL et al., 2016; DEMPSEY; KLESSIG, 2017).

Estes compostos estão envolvidos em diferentes eventos, que incluem a defesa das plantas contra agentes patogênicos e predadores, na proteção contra irradiação

UV e respostas à oscilação de temperatura (DIXON; PAIVA, 1995; MacDONALD; D'CUNHA, 2007). Desta forma, a detecção de atividade diferencial da FAL em genótipos contrastantes a temperaturas supraótimas quando submetidos a elevada temperatura noturna pode levar a novos esforços visando o desenvolvimento/estabelecimento da atividade da FAL como um marcador bioquímico adequado para ser incorporado junto aos programas de melhoramento genético do arroz, objetivando a obtenção de ideótipos de plantas mais resilientes ao clima projetado para o futuro. Também se tem relatos que, para neutralizar os efeitos prejudiciais das espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas sob estresses abióticos, as plantas desenvolveram um sistema complexo de desintoxicação antioxidativa que inclui enzimas antioxidantes, dentre as quais encontra-se a peroxidase (HARSH et al., 2016), sendo essa enzima objeto de estudo no presente trabalho.

Embora inúmeros estudos envolvendo os impactos projetados das mudanças climáticas sobre o rendimento das culturas tenham sido amplamente divulgados na última década, ainda há lacunas subjacentes às respostas fisiológicas do arroz quando as plantas são submetidas a temperaturas noturnas elevadas. Assim, este estudo avaliou os efeitos da temperatura noturna elevada na atividade das enzimas FAL e peroxidase, em parâmetros da fluorescência da clorofila, no acúmulo e remobilização de carboidratos não-estruturais e nos componentes de rendimento em genótipos contrastantes de arroz irrigado submetidos a dois regimes de temperatura noturna.

3.2. Material e métodos

3.2.1. Material vegetal

O experimento foi realizado na Embrapa Clima Temperado, localizada no município de Pelotas/RS, entre os meses de setembro de 2016 e fevereiro de 2017. Foram utilizados dois genótipos de arroz irrigado, o Nagina 22 (N22), conhecidamente tolerante ao calor (JAGADISH et al., 2010), e o BRS Querência, sensível ao calor, selecionados com base em estudos prévios (dados não mostrados). Esses genótipos apresentam ciclo semelhante, mas diferenças significativas para o peso de grãos e tamanho da panícula quando cultivados em condições de campo.

3.2.2. Condições de cultivo das plantas

Para o cultivo foram utilizados vasos plásticos previamente preenchidos com três kg de solo, sendo esse classificado como Planossolo Hidromórfico Eutrófico solódico – Unidade de Mapeamento Pelotas (EMBRAPA, 2006). Foi realizada semeadura de três sementes de cada genótipo nos vasos plásticos, sendo que após a germinação apenas duas plantas foram mantidas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 10 repetições para cada tratamento.

Inicialmente, as plantas de arroz foram mantidas dentro de uma casa de vegetação (Figura 1A) desde a semeadura até o estágio de emborrachamento (R2), de acordo com a escala de Counce et al. (2000). Posteriormente, as plantas de cada genótipo foram levadas para duas câmaras de crescimento (Figura 1B) com o objetivo de impor as temperaturas noturnas pré-definidas. A fim de garantir que a mesma amostra fosse usada para análises fisiológicas não destrutivas ao longo do experimento, a folha mais nova e expandida foi marcada.



Figura 1 - Instalações utilizadas para condução do estudo: casa de vegetação (A) e câmara de crescimento (B).

As câmaras de crescimento foram programadas para manter a temperatura de acordo com os gradientes pré-definidos. No tratamento com temperatura noturna ótima (controle), a câmara de crescimento foi programada para manter $22,0/30,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ de temperaturas (noite/dia), enquanto que no tratamento com temperatura noturna elevada (TNE), o gradiente foi de $28,0/30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (noite/dia). As câmaras foram programadas com fotoperíodo de 10 horas de escuro e 14 horas de luz à 500

$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aproximadamente. As plantas foram mantidas nas câmaras de crescimento até a fase de grão leitoso (R5/R6), sendo posteriormente levadas novamente para casa de vegetação, onde permaneceram até a maturidade fisiológica. A umidade do solo nos vasos plásticos foi monitorada diariamente, sendo que quando necessário, até o estágio fenológico V4, foi realizada a irrigação, e após esse período, foi mantida uma lâmina de água de aproximadamente 5 cm.

Análises enzimáticas, dos carboidratos não-estruturais e dos parâmetros da fluorescência da clorofila foram realizadas em plantas submetidas às condições de controle e TNE em dois períodos de tempo: no sétimo dia após a imposição do estresse, com as plantas ainda no estágio de emborrachamento (R2), e quando as plantas atingiram o estágio de grão leitoso (R5/R6). Ao final do ciclo foram avaliados os componentes de rendimento associados.

3.2.3. Análise enzimática

Foram coletadas amostras de folha bandeira de três plantas, sendo realizada a pesagem do tecido e, imediatamente, o mesmo foi congelado em gelo seco. Posteriormente, as amostras foram armazenadas a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ até os procedimentos de análise.

A atividade da peroxidase foi quantificada conforme descrito por Campos et al. (2003). Resumidamente, os tecidos foliares (0,5 g) foram homogeneizados com almofariz e pilão a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ em 20 mL de tampão de extração [50 mM de tampão de fosfato (pH 7,0)] e 1,0 mg de polivinilpirrolidona (PVP-10). O homogeneizado foi filtrado e depois centrifugado a 4.000 g durante 20 minutos a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e os resíduos precipitados foram descartados. Posteriormente, o sobrenadante foi utilizado nas determinações da atividade da peroxidase de acordo com o método descrito por Campos et al. (2003).

A atividade da FAL foi quantificada conforme metodologia descrita anteriormente por (HYODO; YANG, 1971; HYODO et al., 1978) e modificada por Campos et al. (2003). Resumidamente, os extratos de folhas de tecidos (0,5 g) foram homogeneizados com almofariz e pilão em 6 mL de tampão de extração [50 mM de tampão Tris-HCl (pH 8,8), 15 mM de beta-mercaptoetanol, 5 mM de EDTA, 5 mM de ácido ascórbico, 10 mM de leupeptina, 1 mM de fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) e 0,15% p/v de PVP. O homogeneizado foi filtrado através de quatro camadas de

gazes e depois centrifugado a 12.000 g durante 20 minutos a 4 °C. A concentração de proteína nos extratos foi determinada pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1951).

3.2.4. Análise da fluorescência da clorofila

Para todos os tratamentos, as medidas foram iniciadas na folha expandida mais jovem em quatro plantas diferentes. As folhas usadas foram marcadas para permitir que essas análises fossem realizadas sempre nas mesmas folhas.

O terço médio de cada folha foi inserida na câmara foliar para as medições. Posteriormente, as análises foram feitas usando um fluorômetro PAM-2500 (Walz Heinz GmbH, Effeltrich, Alemanha). Antes das medidas, as plantas foram adaptadas ao escuro durante a noite dentro de cada câmara de crescimento. A fluorescência inicial (F_o) nos centros abertos do fotossistema II (FSII) foi determinada por luz de medição (menos de $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), enquanto que a fluorescência máxima (F_m) em centros fechados ou em estado reduzido do FSII foi avaliado após a aplicação de um pulso de 0,8 segundos de luz de saturação ($7000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

A eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m) foi definida como $(F_m - F_o)/F_m$. As curvas de indução foram feitas por pulso de luz de saturação aplicada a cada 20 segundos até alcançar o estado estacionário. Durante as medições, a luz actínica (luz vermelha) foi ativada para quantificar o estado estacionário da fluorescência da clorofila. Em plantas no estado adaptado à luz, a F_m' foi analisada através da aplicação de pulso saturante, enquanto que F_o' foi avaliado desligando a luz actínica durante 2 segundos após o pulso de saturação e acendendo a luz vermelho-distante. A dissipação não-fotoquímica (NPQ) foi quantificado pela razão $F_m/F_m' - 1$.

O rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII ($Y(II)$) foi definido como $(F_m' - F_s)/F_m'$. A dissipação fotoquímica (q_P) foi definida como $1 - (F_s - F_o')/(F_m' - F_o')$ e taxa de transporte de elétrons (ETR) definida como $\text{PAR} \cdot \text{ETR-fator} \cdot \text{PPS2/PPPS} \cdot Y(II)$ (BAKER, 2008).

3.2.5. Análise dos carboidratos não-estruturais (CNE)

Plantas de ambos genótipos e regimes de temperaturas foram cortadas na porção basal do colmo entre 09:00 e 10:00 horas com o objetivo de quantificar os carboidratos não-estruturais (açúcar solúvel total e amido em glicose). Cinco plantas

de cada tratamento foram amostradas para análises bioquímicas. Estas plantas foram separadas em folhas, colmo e panículas e imediatamente pesadas e secas à 60 °C, e subsequentemente armazenadas. Após, as amostras foram trituradas (50 mesh). A extração foi feita em etanol 80%, em banho-maria a 95 °C durante 10 minutos e centrifugadas à 2.500 g por cinco minutos.

As determinações dos açúcares solúveis totais (AST) foram realizadas utilizando o extrato sobrenadante e o amido foi quantificado a partir do resíduo remanescente após a extração dos açúcares solúveis. Os AST foram extraídos utilizando fenol-ácido e o amido em resíduo remanescente foi seco e, posteriormente, dosado usando hidrólise enzimática e, subsequentemente, quantificado por meio de adição da enzima peroxidase-glicose oxidase/o-dianisidine (CHOW; LANDHAUSSER, 2004). As determinações de glicose, frutose e sacarose foram realizadas por cromatografia gasosa (STREETER; STRIMBU, 1998), sendo a derivação realizada pela utilização de hexametildisilazano e trimetilclorosilano na razão 3:1.

3.2.6. Análise dos componentes de rendimento

Após o período de estresse, todos os genótipos foram levados de volta à casa de vegetação onde foram mantidos até a maturidade fisiológica. Posteriormente, os principais componentes de rendimento foram quantificados colhendo cada planta separadamente. Foram quantificados o número de grãos por panícula, a porcentagem de esterilidade de espiguetas, o peso de 10 panículas e o peso de 1000 grãos, sendo que o peso dos grãos foi ajustado para 14% de teor de umidade.

3.2.7. Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à homocedasticidade (teste de Hartley) e à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e, quando necessário, transformados. Posteriormente, procedeu-se a análise da variância (ANOVA) de duas vias, com o objetivo de quantificar os efeitos de cada fundo genético nos dois regimes de temperatura (controle e TNE).

Quando detectado interação significativa procedeu-se o seu desdobramento (genótipos dentro de cada regime de temperatura). Subsequentemente, os tratamentos foram comparados pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$). Para

alguns parâmetros de fluorescência da clorofila, curvas foram construídas considerando seus erros padrão para cada ponto mensurado (SigmaPlot 13.0 - Systat Software San Jose).

3.3. Resultados e discussão

Inicialmente cabe ressaltar que os valores obtidos para o tratamento controle foram muito similares nos dois períodos de avaliação (sétimo dia após a imposição do estresse e estágio de grão leitoso), não apresentando diferenças entre eles, assim, fez-se a opção por apresentar os resultados para esse tratamento de forma agrupada, ou seja, os valores utilizados para os parâmetros foram com base nos dados obtidos nas duas avaliações. Desse modo, ao mesmo tempo que esse procedimento não alterou a análise, ele propiciou um melhor entendimento dos resultados apresentados.

Para as enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL) e peroxidase, destaca-se a interação significativa dos regimes de temperatura x genótipos ($p < 0,001$) no sétimo dia após a imposição do estresse e no estágio de grão leitoso.

O N22 apresentou atividade da FAL superior em 93% comparativamente ao BRS Querência quando as plantas foram mantidas sob a condição controle. Adicionalmente, seus níveis de atividades da FAL foram inalterados no sétimo dia após a imposição do estresse e no estágio de grão leitoso quando em TNE, sugerindo a existência de alguns traços constitutivos que conferem estabilidade ao N22 independente da condição térmica. Por outro lado, houve um incremento de 270 e 161% da atividade da FAL no BRS Querência nos estádios de emborrachamento (R2) e grão leitoso (R5/R6), respectivamente (Figura 2A).

Ambos os genótipos não apresentaram diferenças significativas na atividade da peroxidase na condição controle, entretanto, o BRS Querência quando submetido a TNE mostrou incremento de 80 e 21% na atividade dessa enzima nos estádios de emborrachamento e grão leitoso, respectivamente (Figura 2B).

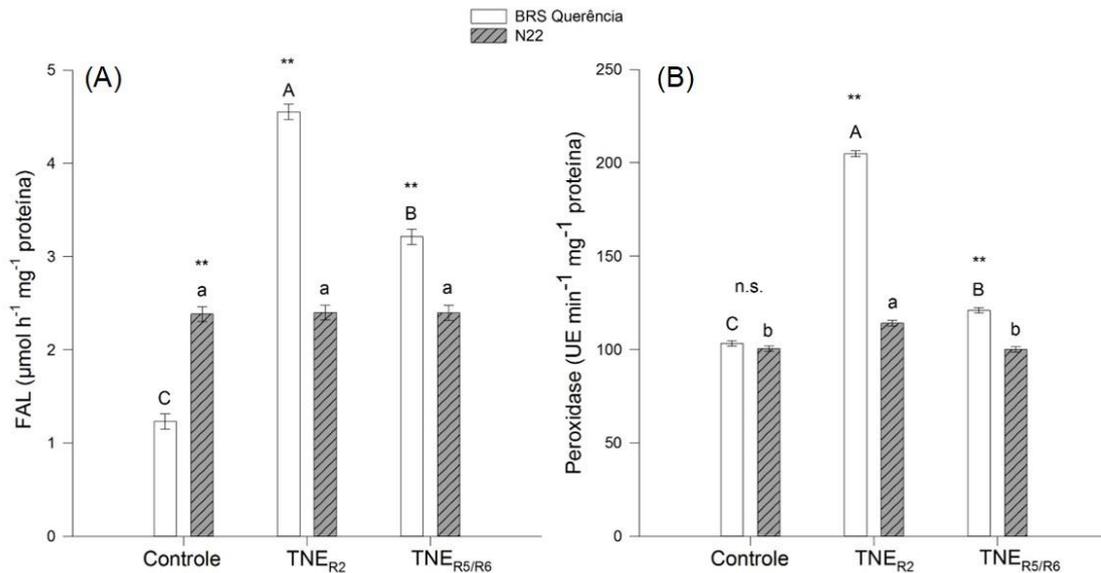


Figura 2 – Atividade da fenilalanina amônia-liase - FAL (A) e da peroxidase (B) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna. *Nota:* Para colunas em branco (BRS Querência) e colunas em cinza cruzado (N22) seguidas pela mesma letra maiúscula e a mesma letra minúscula, respectivamente, não são significativamente diferentes ao nível de $p < 0,05$ pelo teste Student-Newman-Keuls. Os símbolos ** e n.s. significam diferença significativa ao nível de $p < 0,01$ e não significativa, respectivamente, para uma determinada condição de temperatura noturna entre os genótipos contrastantes. TNE_{R2} e TNE_{R5/R6} representam os efeitos da temperatura noturna elevada no estágio de emorrachamento – R2 e no estágio de grão leitoso – R5/R6, respectivamente.

Embora existam muitos estudos com respeito a resposta da FAL a uma variedade de condições ambientais, há uma escassez de dados para abordagens que avaliam os efeitos da temperatura noturna elevada nas respostas fisiológicas e/ou bioquímicas em plantas de arroz. Os resultados sugerem que a FAL é constitutivamente expressa pelo N22 independente do regime de temperatura e tempo de exposição. Por outro lado, o genótipo sensível (BRS Querência) aumentou sua atividade de nível em respostas ao estresse, diminuindo subsequentemente sua atividade no estágio de grão leitoso, destacando uma posterior resposta de aclimação.

Diferentes estudos demonstraram que vários fatores ambientais podem desencadear a atividade da FAL, tal como fornecimento de nutrientes, condições de luminosidade (incluindo radiação UV), ataque de agentes microbianos patogênicos ou concentração atmosférica de CO₂ e oscilação da temperatura (KENRICK; CRANE, 1997; HUANG et al., 2010).

Neste sentido, é necessário considerar que o metabolismo secundário está estreitamente ligado ao metabolismo primário e é influenciado pela taxa de substrato que pode estar disponível para rotas biossintéticas secundárias. Ao assumir como

verdadeiro tal pensamento, então qualquer fator ambiental que ative alguma via de transdução de sinal poderá conduzir a alterações das respostas associadas à fotossíntese. Conseqüentemente, o metabolismo primário afeta o metabolismo secundário (IBRAHIM et al., 2012).

Assim, a ocorrência de temperaturas noturnas elevadas pode ser considerada um desses fatores e, em cenários climáticos futuros, o aumento da temperatura global como resultado das mudanças climáticas poderá levar a alterações na biossíntese de metabólitos secundários de plantas, modificando o fluxo fonte-dreno e, conseqüentemente, o acúmulo e remobilização de CNE para enchimento de grãos, além de alterar a capacidade da planta em responder aos estresses bióticos e abióticos.

De acordo com a literatura, temperaturas extremas afetam o crescimento, a produção e a qualidade da produção das plantas, sendo que os níveis de EROs tendem a aumentar quando as mesmas estão expostas a condições estressantes, como temperaturas baixas ou altas (MITTLER et al., 2004; SCANDALIOS, 2005).

As plantas são dotadas de sistema efetivo para controlar a ação deletéria destes radicais produzidos em excesso em condições de estresse, sendo possível observar uma expressão diferencial de algumas enzimas do metabolismo antioxidante em várias espécies vegetais (MORO et al., 2015).

Para neutralizar os efeitos prejudiciais das EROs produzidas sob estresses abióticos, as plantas desenvolveram um sistema complexo de desintoxicação antioxidativa que inclui enzimas antioxidantes como superóxido dismutase, catalase, guaiacol peroxidase, ascorbato peroxidase, peroxidase e glutatona redutase, e antioxidantes não enzimáticos (HARSH et al., 2016).

Justificando os resultados encontrados nas avaliações onde ocorreu incremento da atividade da peroxidase principalmente para o BRS Querência, tem-se que sua atividade em *Acacia retinodes*, *Biota orientalis* e *Casuarina equisetifolia* aumentou devido à exposição a temperaturas elevadas (RACHED-KANOUNI; ALATOU, 2013). Em trabalho com mudas de *Brassica spp.* constatou-se que a atividade dessa enzima foi incrementada em quatro genótipos quando estes estavam em condição de estresse por temperatura elevada (KAUR et al., 2009), assim como na cultura do trigo, que também apresentou aumento da atividade em plantas expostas ao calor excessivo (ALMESELMANI et al., 2006).

Quanto às análises de fluorescência da clorofila, as mesmas foram realizadas com intuito de avaliar o desempenho da fotossíntese, fornecendo informações sobre o estado funcional das membranas de tilacóides nos cloroplastos das plantas em resposta ao estresse em questão. Ambos os genótipos foram semelhantes para alguns parâmetros induzidos em curvas rápidas, como o rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII ($Y(II)$) (Figura 3) e dissipação fotoquímica (qP) (Figura 4), que estimam a proporção de elétrons que são usados na fase fotoquímica do FSII e a fração aberta do FSII em relação à fração total deste fotossistema, respectivamente, independentemente do regime de temperatura e do período de avaliações. Cabe salientar que nos dois genótipos houve um pequeno decréscimo dos valores desses parâmetros durante o período avaliado.

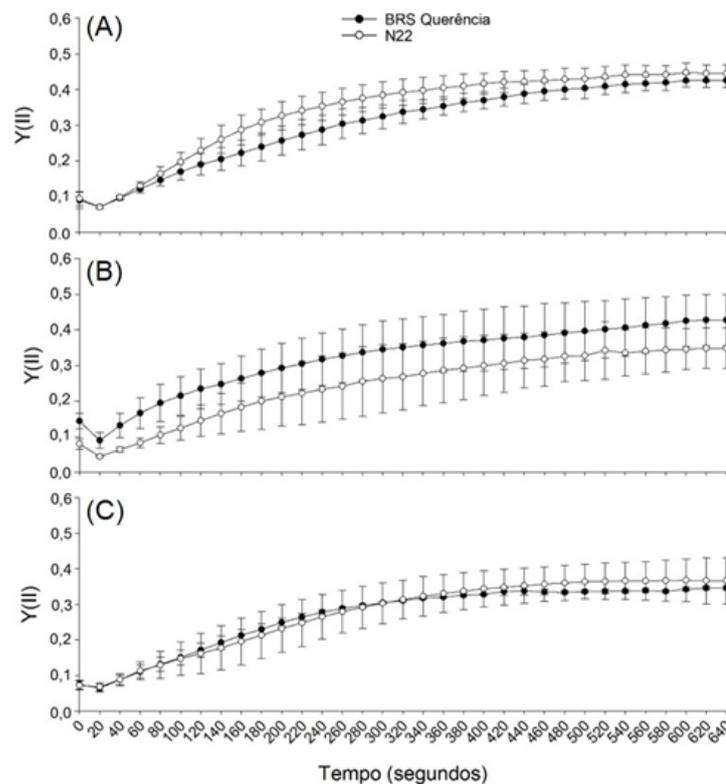


Figura 3 - Rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII ($Y(II)$) na condição controle (A), aos sete dias após imposição do estresse no estágio de emborrachamento – R2 (B) e no estágio de grão leitoso – R5/R6 (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna.

Segundo Yin et al. (2010), o estresse por temperatura supraótimas em plantas pode afetar diversos mecanismos, tais como o estado de ativação da enzima Rubisco, o rendimento quântico máximo efetivo do FSII, a eficiência real do FSII no estado adaptado à luz e/ou a dissipação não-fotoquímica em folhas de arroz. Tal afirmação

corroborar com os resultados encontrados no presente estudo, onde uma pequena redução dos valores desses parâmetros foi observada nas plantas de ambos os genótipos quando expostas a temperaturas elevadas, sendo essa redução mais acentuada no genótipo sensível ao calor.

Willits e Peet (2001) estudando o desempenho da fluorescência da clorofila de plantas de tomate expostas a diferentes temperaturas observaram que o aumento da temperatura foliar foi correlacionado com a redução do rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII, e essa tem sido relacionada ao declínio no funcionamento das reações fotoquímicas primárias, envolvendo principalmente a inibição do FSII, localizada no sistema de membrana de tilacóides (BERRY; BJORKMAN, 1980; WEIS; BERRY, 1988).

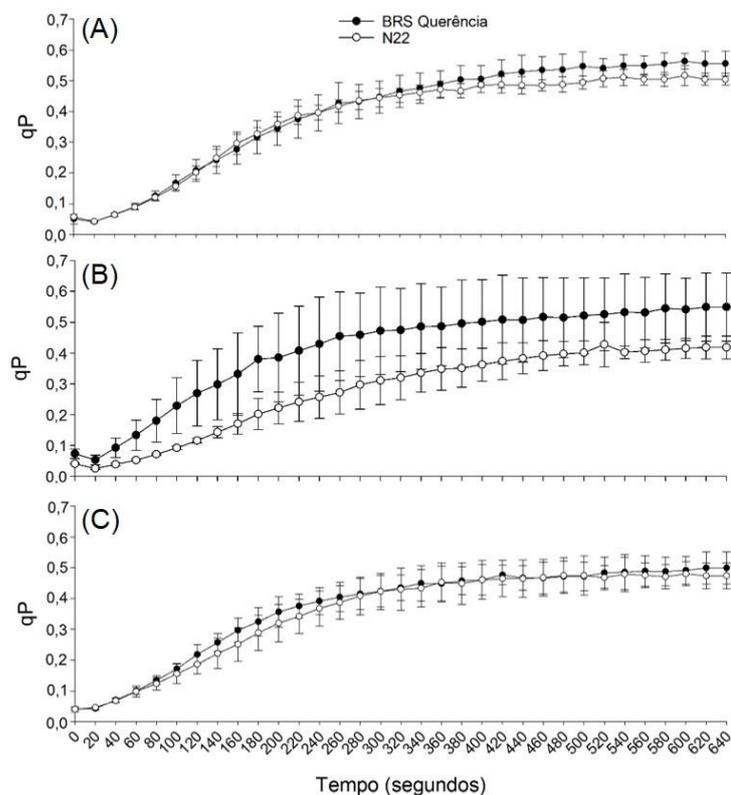


Figura 4 - Dissipação fotoquímica (qP) na condição controle (A), aos sete dias após imposição do estresse no estágio de emborrachamento – R2 (B) e no estágio de grão leitoso – R5/R6 (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna.

A dissipação fotoquímica, que se refere à utilização da energia luminosa para os processos fotoquímicos da fotossíntese, tem sua atividade estritamente relacionada às condições ambientais que plantas estão expostas. A ocorrência de estresses abióticos nas mesmas pode ocasionar diversos efeitos sobre o mecanismo

fotossintético dessas e, dentre esses tem-se a redução da atividade fotoquímica, com consequente declínio de alguns parâmetros fotoquímicos, tais como a taxa de transporte de elétrons, a dissipação fotoquímica e a fração de energia absorvida utilizada no processo fotoquímico (SAUSEN, 2007).

As plantas expostas à condição de temperatura elevada nesse estudo apresentaram redução do qP, e essa pode ter ocorrido devido alguns fatores, tais como o fechamento estomático (TEZARA et al., 2005), ou então pelo aumento da dissipação não fotoquímica de energia (KRIEGER; WEIS, 1993) - comportamento esse verificado no presente estudo.

Nesse sentido, em pesquisa realizada por Lu e Zhang (2000), avaliando o efeito do calor excessivo em plantas de trigo, verificou-se que o incremento da temperatura de 25 para 30 °C não alterou os valores da qP, entretanto, a partir dos 30 °C houve uma redução gradual desses valores conforme se tinha o aumento da temperatura. O incremento da temperatura de 20 até 30 °C exerceu pouca interferência na qP de plantas de *Pisum sativum* L., *Chenopodium album* L., *Zea mays* L. e *Amaranthus retroflexus* L., porém, temperaturas superiores aos 30 °C ocasionaram redução desses valores de forma significativa (HAMILTON et al., 2008).

Na condição controle, o N22 mostrou uma maior taxa de transporte de elétrons (ETR), aproximadamente 21,5% (Figura 5), e uma menor dissipação não-fotoquímica (NPQ), aproximadamente 40% (Figura 6), em relação a condição de TNE no estágio de grão leitoso. Comportamento semelhante foi observado para o genótipo BRS Querência. Ambos os genótipos apresentaram desempenho semelhante para esses dois parâmetros no estágio de grão leitoso na condição de TNE.

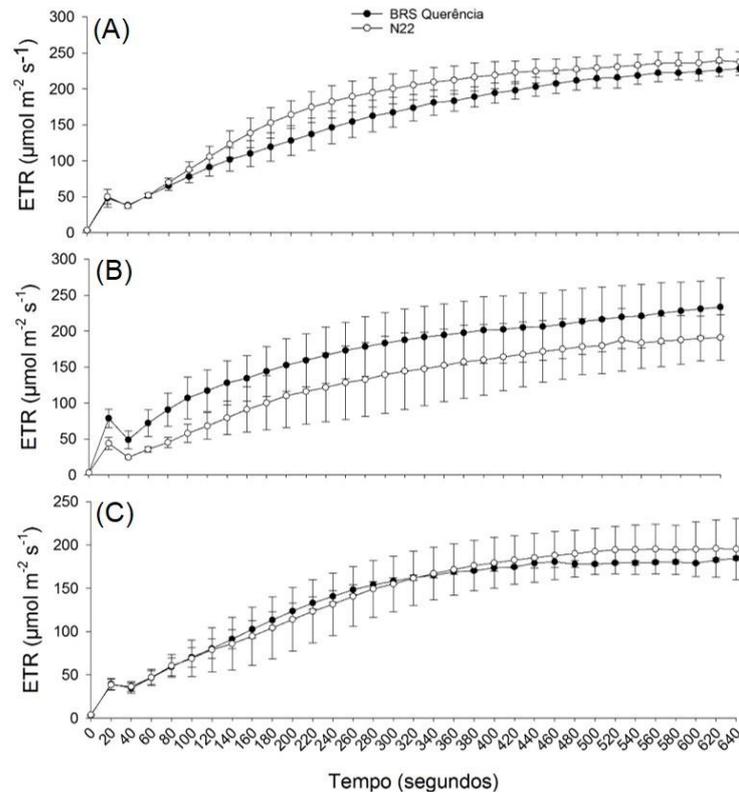


Figura 5 - Taxa de transporte de elétrons (ETR) na condição controle (A), aos sete dias após imposição do estresse no estágio de emorrachamento – R2 (B) e no estágio de grão leitoso – R5/R6 (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna.

Quando em estresse térmico, as células de plantas criam mecanismos para se adaptar a tal condição, apresentando estratégias de manutenção das estruturas dos fotossistemas, entretanto, estas estratégias podem não significar a continuação do transporte de elétrons, e sim a economia de ter que reestruturar a maquinaria fotoquímica (INOUE et al., 2001).

Ressalta-se que a temperatura pode afetar a fotossíntese, modulando a taxa de atividade das enzimas que participam do processo fotossintético e da cadeia transportadora de elétrons (SAGE; KUBIEN, 2007). O transporte de elétrons fotossintéticos da água para NADP^+ é conduzido pelo FSII e pelo FSI, sendo que o FSII é altamente sensível a temperaturas elevadas, e lesões induzidas pelo calor certamente podem inibir o transporte de elétrons fotossintéticos (WAHID et al., 2007; ALLAKHVERDIEV et al., 2008). Adicionalmente, a resposta da capacidade de transporte de elétrons à elevação da temperatura pode variar muito entre os ambientes em que a folha se desenvolve, grupos funcionais e espécies vegetais (MEDLYN et al., 1999).

Corroborando com os resultados do presente estudo, em trabalho realizado por Poli et al. (2013) foram avaliados três genótipos de arroz - dois tolerantes e um sensível a altas temperaturas – em duas condições de temperatura (ambiente e estresse por calor), e houve redução da ETR para os três genótipos quando expostos a temperatura elevada. Nesse sentido, em estudo realizado por Yamasaki et al. (2002), plantas de trigo foram cultivadas em três condições de temperatura (15; 25 e 35 °C), sendo que a máxima ETR foi observada a 25 °C. De acordo com Leakey et al. (2003), temperaturas foliares elevadas podem causar diminuição da capacidade de transporte de elétrons, gerando menores quantidades de energia para os processos de fixação de CO₂ e regeneração da Ribulose 1,5 bisfosfato.

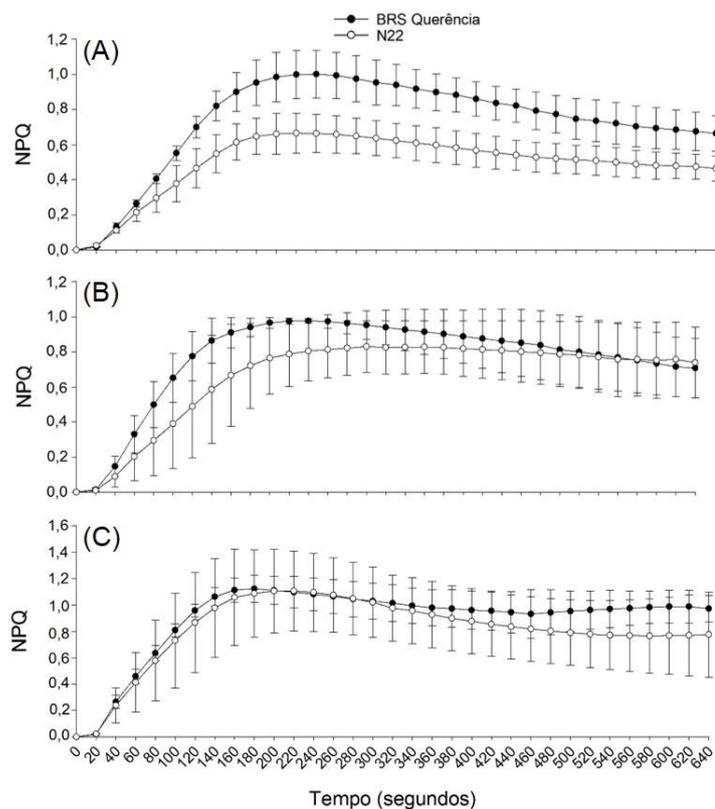


Figura 6 – Dissipação não-fotoquímica (NPQ) na condição controle (A), aos sete dias após imposição do estresse no estágio de emborrachamento – R2 (B) e no estágio de grão leitoso – R5/R6 (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna.

A fim de reduzir os danos da fotoinibição, as plantas desenvolveram vários mecanismos de proteção, incluindo a dissipação não-fotoquímica. Quando a energia absorvida exceder o requisito da atividade fotoquímica, esse mecanismo de dissipação de calor é desencadeado, convertendo essa energia de excitação em

energia térmica (calor), que pode então ser liberada (KASAJIMA et al., 2011) e assim evitar a formação de EROs (EBERHARD et al., 2008). De forma sucinta, a NPQ refere-se ao nível de fluorescência máxima no qual a eficiência fotoquímica está no máximo e a dissipação térmica está no mínimo (MAXWELL; JOHNSON, 2000).

Vegetais mutantes que não possuem a capacidade de induzir a dissipação não-fotoquímica são mais sensíveis à fotoinibição (ALLORENT et al., 2013) e apresentam menor resistência a estresses ambientais, dentre esses o calor (TANG et al., 2007).

Nesse sentido, corroborando com os resultados verificados no presente estudo, Yin et al. (2010) visualizaram incremento significativo da NPQ em plantas de arroz quando essas foram expostas a temperaturas elevadas. Em trabalho realizado por Willits e Peet (2001), plantas de *Citrus medica* foram expostas a diferentes gradientes de temperatura, sendo observado aumento gradual da NPQ conforme maior a temperatura do ambiente a qual as plantas estavam submetidas.

Para os açúcares solúveis totais (AST) no sétimo dia após a imposição do estresse e no estágio de grão leitoso, e para a concentração de amido em glicose no estágio de grão leitoso houve interação significativa entre regimes de temperatura e genótipos ($p < 0,001$) (Figura 7). Enquanto o N22 mostrou valores de AST mais altos na condição controle e no estágio de grão leitoso quando exposto a TNE, houve tendência de redução dos AST em regime de TNE para o BRS Querência (Figura 7A). Além de sua maior capacidade para manter um nível de AST mais alto na condição controle, o N22 também mostrou maior capacidade de recuperação para os valores no estágio de grão leitoso.

O genótipo BRS Querência mostrou os maiores valores de amido em glicose independentemente da temperatura imposta, sendo 563% maior para o BRS Querência quando comparado ao N22 aos sete dias após imposição do estresse (Figura 7B). No entanto, apesar dos valores da concentração de amido em glicose mostrados pelo N22 serem sempre inferiores aos do BRS Querência até os sete dias após a imposição do estresse, o mesmo apresentou tendência a uma pequena recuperação no estágio de grão leitoso.

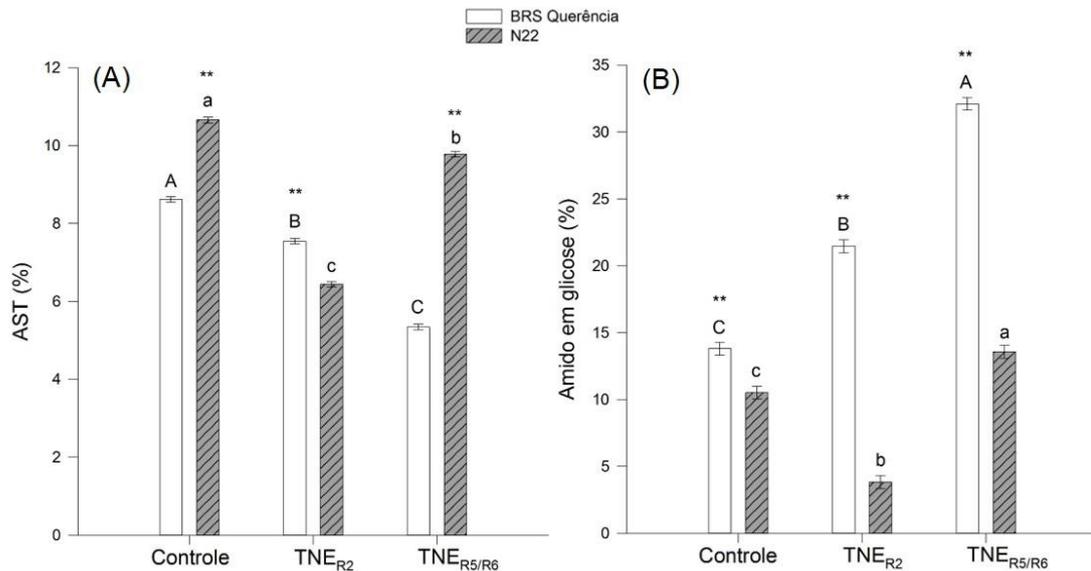


Figura 7 – Açúcares solúveis totais - AST (A) e concentração de amido em glicose (B) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna. *Nota:* Para colunas em branco (BRS Querência) e colunas em cinza cruzado (N22) seguidas pela mesma letra maiúscula e a mesma letra minúscula, respectivamente, não são significativamente diferentes ao nível de $p < 0,05$ pelo teste Student-Newman-Keuls. Os símbolos ** e n.s. significam diferença significativa ao nível de $p < 0,01$ e não significativa, respectivamente, para uma determinada condição de temperatura noturna entre os genótipos contrastantes. TNE_{R2} e TNE_{R5/R6} representam os efeitos da temperatura noturna elevada no estágio de emborrachamento – R2 e no estágio de grão leitoso – R5/R6, respectivamente.

Variações nos fatores ambientais, como a luz, a água ou a temperatura, podem levar a uma diminuição significativa da eficiência da fotossíntese nos tecidos de origem e, assim, reduzir o suprimento de açúcares solúveis para os tecidos dreno. Sob condições de privação de açúcar, mudanças fisiológicas e bioquímicas ocorrem para sustentar a respiração e outros processos metabólicos (ROSA et al., 2009).

O açúcar desempenha papel central nas vias biossintéticas de metabólitos primários e secundários, como blocos de construção de macromoléculas, no controle de processos de desenvolvimento (PRICE et al., 2004) e no mecanismo de defesa das plantas (GUPTA; KAUR, 2005), existindo uma grande quantidade de genes que induzem a produção desses açúcares, que, por sua vez, atuam como uma rede regulatória complexa ou de transdução de sinal relacionadas aos estresses ambientais (GIBSON, 2000; PRICE et al., 2004). Cabe ressaltar que as mudanças no teor de açúcares não seguem um padrão e podem variar de acordo com os genótipos e os fatores estressantes (MORSY et al., 2007), assim, tal afirmação pode justificar o comportamento distinto entre os genótipos avaliados no presente estudo.

Corroborando com os resultados obtidos, onde o genótipo sensível ao calor BRS Querência teve redução da concentração de açúcares totais quando exposto a temperatura elevada, tem-se que cinco genótipos de *Vigna aconitifolia* apresentaram redução do teor de açúcar após as plantas serem expostas a condições com temperatura elevada (HARSH et al., 2016). Adicionalmente, plantas de *Phaseolus vulgaris* também apresentaram redução do teor de açúcar após estresse osmótico leve e moderado (SASSI-AYDI et al., 2014) e o conteúdo de açúcares solúveis em folhas de *Populus deltoides* reduziu significativamente com o aumento da temperatura noturna (TURNBULL et al., 2002). Essa diminuição do teor de açúcar pode ser a consequência da redução induzida pelo estresse osmótico na fotossíntese e a subsequente falta de fotoassimilados nas partes aéreas (HUSSIN, et al., 2013).

Cabe ressaltar que efeitos diferenciais da relação fonte-dreno no metabolismo das plantas são induzidos por fatores ambientais desfavoráveis, levando a uma expressão diferencial de várias proteínas relacionadas ao metabolismo de carboidratos, tais como enzimas relacionadas à biossíntese de amido (ADP - glicose pirofosforilase) e metabolismo de sacarose (sacarose sintase, sacarose fosfato sintase e invertases) (ROSA et al., 2009).

No presente estudo, quanto à concentração de amido em glicose, verificou-se comportamento inversamente proporcional ao teor de açúcares totais e, nesse sentido tem-se que as plantas em resposta ao choque térmico agudo acabam degradando o amido no momento em que seria esperada a sua biossíntese, resultando no acúmulo de maltose, o principal catabólito de amido, e de outros açúcares derivados (SITNICKA; ORZECOWSKI, 2014).

Reordenamentos semelhantes no metabolismo do amido foram observados em plantas expostas a curtos períodos de estresse oxidativo ou osmótico (VALERIO et al., 2011; ZANELLA et al., 2016). Dessa forma, esses açúcares podem auxiliar na estabilização de proteínas e estruturas celulares, particularmente quando o estresse se torna severo ou persiste por períodos mais longos (HOEKSTRA et al., 2001) e na eliminação de radicais livres, protegendo as células contra o excesso de EROs (THALMANN et al., 2016). Também deve-se destacar que os açúcares solúveis e o amido desempenham papel primordial no desenvolvimento do pólen em plantas, sendo que alterações nos teores dos mesmos podem ocasionar efeitos sobre a fertilidade e, conseqüentemente, na produção final (STORME; GEELLEN, 2014).

Os resultados para os níveis de glicose e sacarose foram similares, com o N22 apresentando os maiores valores na condição controle e no estágio de grão leitoso quando exposto a TNE, comparativamente ao BRS Querência e, apesar de mostrar tendência em reduzir os níveis aos sete dias após imposição do estresse, apresentou maior capacidade de recuperação ao final do período de estresse. Já para o BRS Querência os maiores valores foram visualizados no sétimo dia após imposição do estresse (Figura 8A e 8B).

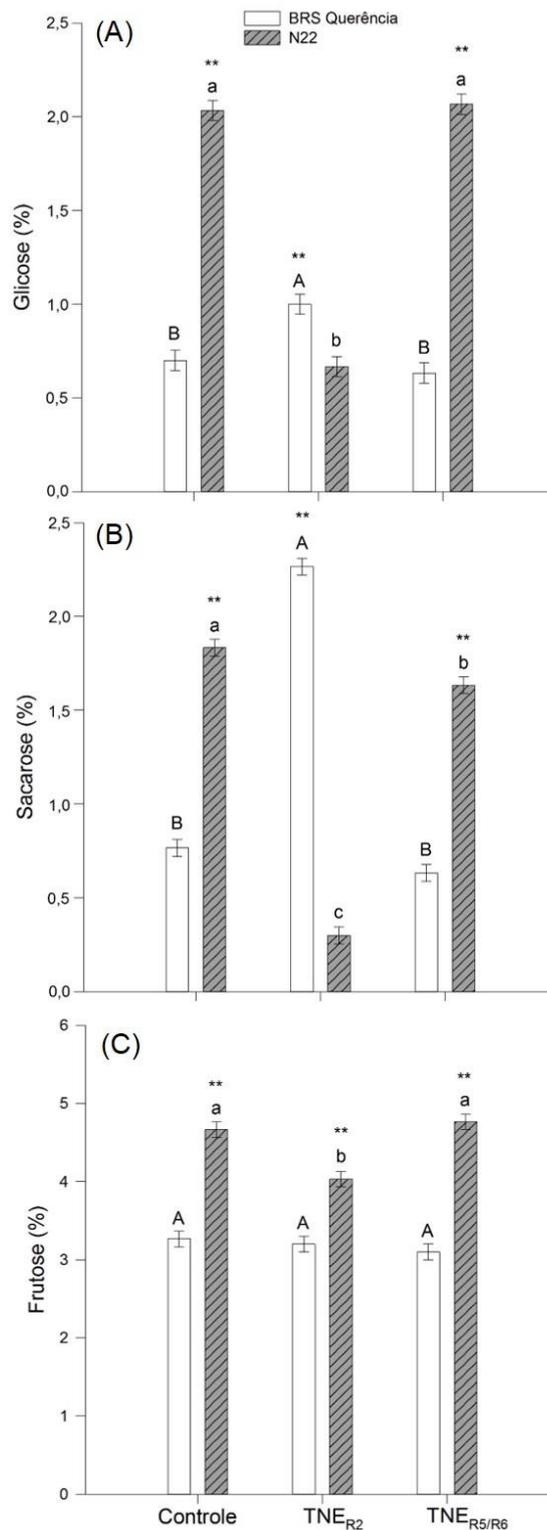


Figura 8 - Níveis de glicose (A), sacarose (B) e frutose (C) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna. *Nota:* Para colunas em branco (BRS Querência) e colunas em cinza cruzado (N22) seguidas pela mesma letra maiúscula e a mesma letra minúscula, respectivamente, não são significativamente diferentes ao nível de $p < 0,05$ pelo teste Student-Newman-Keuls. Os símbolos ** e *n.s.* significam diferença significativa ao nível de $p < 0,01$ e não significativa, respectivamente, para uma determinada condição de temperatura noturna entre os genótipos contrastantes. TNE_{R2} e TNE_{R5/R6} representam os efeitos da temperatura noturna elevada no estágio de emborrachamento – R2 e no estágio de grão leitoso – R5/R6, respectivamente.

Para a frutose, os maiores valores foram visualizados no N22 independentemente da temperatura noturna e estágio fenológico. Enquanto não foi verificada alteração significativa nos níveis de frutose para o BRS Querência, o N22 apresentou redução do valor em TNE no estágio de grão leitoso (Figura 8C).

A literatura traz que alguns açúcares solúveis desempenham papéis semelhantes em eventos associados ao metabolismo de plantas estressadas (GILL et al., 2001; ALMODARES et al., 2008), sendo que a sacarose e a glicose atuam como substratos para a respiração celular ou como osmólitos para manter a homeostase celular (GUPTA et al., 2005), enquanto a frutose não é relacionada à osmoproteção e parece estar vinculada à síntese de metabolitos secundários (ROSA et al., 2009).

De modo geral, pode-se visualizar que para o N22 ocorreu incremento dos níveis da frutose, glicose e sacarose quando na avaliação do TNE no estágio R5/R6 comparativamente ao estágio R2 do TNE, sugerindo que tal comportamento seja resultante de mecanismos de defesa desse genótipo ao estresse por temperaturas elevadas. Diferentemente do observado para o N22, o genótipo BRS Querência, sensível ao calor, apresentou redução dos teores desses açúcares ao final do período avaliado, demonstrando uma menor ativação de mecanismos de defesa e capacidade de aclimação e, nesse sentido, cabe ressaltar que as mudanças no teor de açúcares não seguem um padrão e podem variar de acordo com os genótipos e os fatores estressantes (MORSY et al., 2007).

Além disso, é necessário considerar que sacarose sintase é a principal enzima envolvida na clivagem de sacarose em grãos de arroz, em razão de sua importância neste caso, esta é considerada como um importante marcador bioquímico da atividade de dreno (KATO, 1995; LIANG et al., 2001; ZHANG et al., 2014; YOU et al., 2016). De outro modo, a ADP-glicose pirofosforilase (AGPase) também foi considerada como uma enzima chave que participa na síntese de amido, e sua atividade está associada à taxa e quantidade de síntese de amido (AHMADI; BAKER, 2001; YANG et al., 2004; YANG et al., 2017). A AGPase no estágio inicial do enchimento de grão foi diminuída como resultado de temperaturas supraótimas (AHMED et al., 2015) e, sob outro estresse abiótico, como o déficit de água, as enzimas sacarose sintase e AGPase tiveram seus níveis de atividades influenciados. Os resultados sugerem que a maior capacidade do N22 em manter níveis mais elevados de açúcar solúvel (frutose, glicose e sacarose) no estágio de grão leitoso pode ter contribuído para a sua maior estabilidade nos componentes de rendimento durante a imposição de TNE.

Em relação ao peso de 10 panículas, foi visualizada diferença entre os materiais nas duas condições de temperatura noturna, onde no tratamento controle o BRS Querência apresentou valor de 33,2 g e o N22 de 28,9 g, enquanto no tratamento estresse esses foram de 31,9 e 28,2 g, respectivamente para cada um dos genótipos (Figura 9A). Na comparação das temperaturas noturnas para cada genótipo, não foram observadas diferenças. Cabe ressaltar que a diferença observada no peso de 10 panículas, onde o BRS Querência apresentou maiores valores comparativamente ao N22 em ambas as condições de temperatura noturna, pode estar relacionado ao potencial produtivo de cada genótipo, e não necessariamente somente aos efeitos das temperaturas.

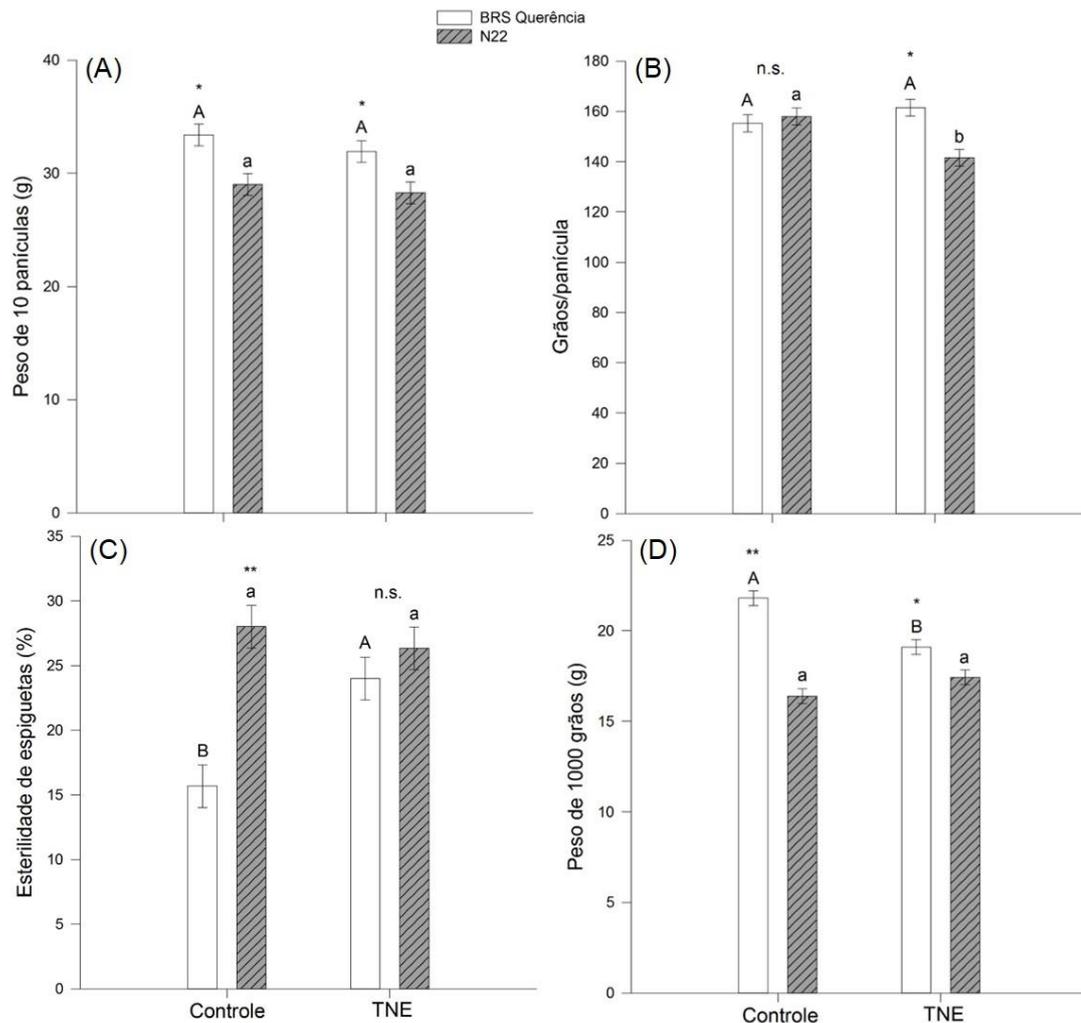


Figura 9 - Peso de 10 panículas (A), número de grãos por panícula (B), esterilidade de espiguetas (C) e peso de 1000 grãos (D) em genótipos de arroz submetidos a diferentes regimes de temperatura noturna. *Nota:* Para colunas em branco (BRS Querência) e colunas em cinza cruzado (N22) seguidas pela mesma letra maiúscula e a mesma letra minúscula, respectivamente, não são significativamente diferentes ao nível de $p < 0,05$ pelo teste Student-Newman-Keuls. Os símbolos *, ** e n.s. significam diferença significativa ao nível de $p < 0,05$; $p < 0,01$ e não significativa, respectivamente, para uma determinada condição de temperatura noturna entre os genótipos contrastantes. TNE significa temperatura noturna elevada.

Na avaliação do número de grãos por panículas constatou-se diferença significativa entre os genótipos apenas quando expostos a TNE, onde o BRS Querência foi superior, com 169 grãos/panícula, enquanto o valor para o N22 foi 16% menor, com 141 grãos/panícula (Figura 9B). Não foi constatada diferença significativa entre as duas condições de temperatura para o BRS Querência, entretanto, o N22 apresentou maior número de grãos por panícula quando em temperatura noturna de 22 °C, com 158 grãos, valor esse aproximadamente 11% superior ao visualizado em temperatura de 28 °C.

Nesse sentido, tem-se que os dois principais componentes de produção são o número de grãos e o peso individual de grão, sendo que ambos são sensíveis a altas temperaturas, e dependentes principalmente da funcionalidade dos gametas masculinos (pólen) e femininos (óvulos). Em condições ambientais adversas, tal como temperatura muito elevada durante o desenvolvimento floral e a antese, podem influenciar negativamente a viabilidade e a funcionalidade dos gametas, levando à diminuição da fertilidade da floração e, conseqüentemente, no conjunto de grãos (PRASAD et al., 2015).

Adicionalmente, tem-se que o rendimento de grãos é significativamente reduzido quando a temperatura do ar excede o valor crítico para o crescimento do arroz, especialmente durante os estádios de crescimento altamente suscetíveis (WU et al., 2016), sendo que durante a fase reprodutiva precoce das plantas de arroz determinam-se algumas características, tais como o número de espiguetas por panícula e o tamanho do grão, que estão associados ao crescimento e ao desenvolvimento de ramos e flores (MU et al., 2005; LI et al., 2015).

Para a esterilidade de espiguetas, observou-se desempenho distinto entre os genótipos apenas em temperatura noturna de 22 °C (Figura 9C). Nessa condição, o N22 apresentou esterilidade de espiguetas aproximada de 28%, diferindo dos 16% obtidos para o BRS Querência, demonstrando assim a existência de uma alta esterilidade inata do genótipo N22 mesmo em condição de temperatura considerada ótima.

Não foi observada diferença entre os genótipos quando expostos a TNE. Quando avaliado o desempenho de cada genótipo nas duas condições, verificou-se para o BRS Querência uma maior taxa de esterilidade de espiguetas no tratamento estresse, com 24%, diferindo do tratamento controle que apresentou 16%, demonstrando assim a sensibilidade do material à temperatura elevada. Não foi visualizado diferença entre

as temperaturas noturnas para o N22, o que justifica o mesmo ser classificado como material tolerante a temperaturas elevadas.

Temperaturas elevadas induzem à deiscência anormal de antera, levando à redução no número de pólenes germinados no estigma, ocasionando esterilidade de espiguetas (POLI et al., 2013). Nesse sentido, a viabilidade do pólen é uma característica importante, pois é influenciada diretamente por altas temperaturas anteriormente e após a deiscência de anteras, sendo que menos de uma hora de exposição à temperatura acima da ótima é suficiente para induzir a esterilidade do pólen (MATSUI et al., 1997; JAGADISH et al., 2007).

Quanto ao N22, considerado tolerante ao calor, tem-se que essa tolerância possa ser devido ao acúmulo de proteínas de choque térmico ao frio e ao calor que respondem ao estresse nas anteras (JAGADISH et al., 2010), fazendo com que temperaturas extremas não exerçam tanto efeito sobre o mesmo.

Os resultados obtidos no presente estudo, com temperaturas elevadas exercendo menor influência sobre a esterilidade de espiguetas do N22 comparativamente ao genótipo sensível ao calor – BRS Querência, corroboram com o trabalho de Rang et al. (2011), onde acessos de N22 mostraram significativamente maior fertilidade de espiguetas sob alta temperatura quando comparada ao genótipo Moroberekan, sendo esse caracterizado como sensível ao calor. Em trabalho realizado por Mohammed e Tarpley (2011), o incremento da temperatura noturna de 27 para 32 °C reduziu a fertilidade de espiguetas de plantas de arroz sensíveis ao calor em até 70%.

Para o peso de 1000 grãos, diferenças significativas entre os genótipos foram visualizadas nos dois tratamentos, sendo que no controle o BRS Querência apresentou 21,8 gramas e o N22 de 16,4 gramas, enquanto em TNE os valores obtidos foram de 19,1 e 17,4 gramas, respectivamente (Figura 9D). Quando avaliado o desempenho do BRS Querência nas duas condições de temperatura, verificou-se maior peso de 1000 grãos no tratamento controle, diferindo do tratamento estresse, que comparativamente apresentou redução de 2,7 gramas.

A elevação da temperatura noturna para 28 °C ocasionou incremento no peso de 1000 grãos do N22, ocorrendo ganho de 1 grama quando comparado ao tratamento controle, demonstrando a capacidade de termotolerância do mesmo. Os resultados demonstraram maior peso de 1000 grãos do BRS Querência em ambas as situações, entretanto, deve-se considerar o potencial produtivo de cada genótipo e,

principalmente, que para o N22 não houve redução dos valores quando expostos à temperatura elevada.

Justificando os resultados encontrados para o BRS Querência, tem-se que temperaturas noturnas elevadas podem diminuir os rendimentos das culturas devido à redução da duração do crescimento da cultura, acarretando na supressão do desenvolvimento dos brotos florais e numa menor produção e viabilidade do pólen (PRASAD et al., 2006; MOHAMMED; TARPLEY, 2009).

A produção final, que é a manifestação de todos os processos fisiológicos envolvidos no ciclo produtivo das culturas, diminui devido às temperaturas noturnas elevadas e isso se deve ao aumento da respiração e a diminuição da fotossíntese e da estabilidade de membranas (MOHAMMED; TARPLEY, 2011).

Como já mencionado anteriormente, o rendimento de grãos do arroz está intimamente ligado a fertilidade das espiguetas e, havendo uma redução dessa, nesse caso devido às temperaturas elevadas na floração, ocorrerá conseqüentemente o decréscimo do peso de grãos da cultura (PRASAD et al., 2006; MOHAMMED; TARPLEY, 2011). Tal comportamento foi verificado no presente estudo, onde quanto maior a esterilidade de espiguetas em ambos os genótipos, menor foi o peso de 1000 grãos. Nesse sentido, a literatura traz relatos que temperaturas supraótimas causaram redução no rendimento de arroz em países de diferentes regiões tropicais e subtropicais do mundo (BRITO et al., 2016).

3.4. Conclusões

A temperatura noturna elevada incrementa a atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase e peroxidase do genótipo sensível BRS Querência, diferentemente do genótipo tolerante N22.

Parâmetros da fluorescência da clorofila são alterados de maneira similar em genótipos contrastantes de arroz quando submetidos à temperatura noturna elevada, ocorrendo redução dos valores.

A temperatura noturna elevada imposta desde o estágio de emborrachamento até o de grão leitoso ocasiona mudanças nos atributos relacionados com o fluxo fonte-dreno no genótipo sensível BRS Querência, conduzindo a mudanças na natureza de acumulação e remobilização de carboidratos não-estruturais para o enchimento de grãos.

A maior capacidade de translocação mostrada pelo N22 pode contribuir para a menor taxa de esterilidade e maior estabilidade nos componentes de rendimento.

4. CAPÍTULO III - FENOTIPAGEM NÃO-INVASIVA: UMA FERRAMENTA PARA CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE GENÓTIPOS DE ARROZ SUBMETIDOS A TEMPERATURAS INFRAÓTIMAS

4.1. Introdução

As mudanças climáticas projetadas para o futuro poderão aumentar os efeitos negativos de estresses bióticos e abióticos sobre as culturas, comprometendo assim a produtividade agrícola em escala global (BRITO et al., 2010; BRITO et al., 2011; DIOLA et al. 2011, DIOLA et al., 2013; WEBER et al., 2014; BRITO et al., 2016; GUIMARÃES et al., 2017). Associado a isso, a frequência cada vez maior de ocorrência destes provavelmente influenciará na distribuição de espécies de plantas, na produtividade, equilíbrio de carbono e impactando negativamente na capacidade de resiliência fisiológica das plantas em um ambiente específico.

Para o estabelecimento uniforme da cultura do arroz, a qual envolve a germinação/emergência e o desenvolvimento inicial de plântulas, esta espécie requer temperaturas situadas entre 20 e 35 °C (YOSHIDA, 1981). O estresse por temperaturas infraótimas ocorre quando a temperatura reduz abaixo de um limiar de 17 °C, resultando em má germinação, diminuição no acúmulo de biomassa das plântulas, além de um retardo no crescimento inicial das plantas e, conseqüentemente podendo resultar em decréscimos dos componentes de produção e da produtividade (SHAKIBA et al., 2017). Adicionalmente, também podem ser observadas alterações em níveis moleculares, bioquímicas, fisiológicas e morfológicas (SANGHERA et al., 2011).

No Brasil, tal comportamento tem sido visualizado principalmente em lavouras no Estado do RS, onde os produtores têm realizado a semeadura antecipada da cultura visando coincidir a fase reprodutiva com o período de maior radiação solar, entretanto, expondo assim as plantas às temperaturas infraótimas durante o seu estabelecimento. Neste sentido, semeaduras realizadas a partir do mês de setembro, para algumas regiões produtoras, podem expor desde a semente até as plantas em seus estádios iniciais ao estresse em questão. Os dados meteorológicos dos anos 1971-2000 (<http://agromet.cpact.embrapa.br/estacao/mensal.html>) evidenciam ainda um aumento nas oscilações de temperatura durante o desenvolvimento da cultura do

arroz, com ondas de calor e frio se tornando cada vez mais recorrentes nas últimas décadas, especialmente durante setembro e meados de outubro, quando as plantas de arroz ainda estão no estágio inicial de desenvolvimento.

Embora diferentes estudos tenham demonstrado os efeitos de temperaturas infraótimas no desempenho fisiológico do arroz, a maioria destes estudos foi realizada sob temperatura única e estática para os períodos do dia e da noite, o que reduz a consistência dos resultados quando comparado com a dinâmica ambiental de alteração da temperatura no campo. Por outro lado, os estudos realizados em condições de campo ainda envolvem procedimentos onerosos, além da possibilidade da ocorrência de erros ou efeitos resultantes da variabilidade na composição química, propriedades físicas e práticas de manejo do solo (ARAUS et al., 2014).

Assim, com o objetivo de aumentar a consistência dos dados gerados, torna-se importante a utilização de plataformas de fenotipagem fisiológica, permitindo simular o gradiente de temperatura durante os períodos noturnos e diurnos, além do controle da umidade, quantidade de dióxido de carbono, níveis de etileno, intensidade e qualidade luminosa. Outros dispositivos, tais como fluorômetro de imagem, câmera infravermelha, scanners de raízes e analisador de gás no infravermelho também integram esta plataforma de fenotipagem.

Nesse sentido, sem alternativas plausíveis para exercer o controle sobre as condições meteorológicas, e com ocorrência cada vez mais frequente de temperaturas infraótimas durante o cultivo do arroz, é necessário encontrar formas de escape para que não haja perda de produtividade devido a tal estresse. Desse modo, a exploração da variabilidade do banco de germoplasma do arroz surge como uma alternativa viável, avaliando a tolerância de acessos das subespécies *indica* e *japonica* a temperaturas infraótimas (RENAWAKE et al., 2014).

O grupo *indica* abrange os materiais provenientes da Índia, China e Indonésia, enquanto os *japonica* são provenientes do Japão e Coreia do Sul (TAKAHASHI, 1984). Essa classificação foi feita inicialmente com base em características morfológicas que distinguem as duas subespécies, porém com o passar do tempo, características fisiológicas que mostravam variação descontínua entre os grupos passaram a ser incluídas, dentre estas, destacando-se aquelas relacionadas a tolerância ao frio. Assim, tem sido relatada maior tolerância dos genótipos do tipo *japonica* enquanto maior sensibilidade dentro do grupo *indica* (TAKAHASHI, 1984). No entanto, incremento do uso de acessos de *japonica* junto aos programas de

melhoramento tem ocorrido introgressão significativa de alelos valiosos, que precisam ser identificados, dissecados e usados para acelerar os processos de melhoramento com o objetivo de desenvolver cultivares com tolerância melhorada a temperaturas infraótimas.

Sabendo-se que a maioria das cultivares semeadas no RS não raramente são expostas a temperaturas infraótimas durante a fase inicial de estabelecimento da cultura, é fundamental que esforços sejam dispensados à identificação, dissecação e uso pelos programas de melhoramento genético visando a obtenção de linhagens/cultivares mais tolerantes a temperaturas infraótimas. Nesse sentido, este trabalho teve por objetivos aplicar procedimentos fisiológicos não-invasivos, através de parâmetros da fluorescência da clorofila para fenotipagem de múltiplos genótipos em resposta à temperatura infraótima; e além disso, adotar análises multivariadas para discriminar aqueles com maior potencial para serem incluídos em programas de melhoramento com o objetivo de obter linhagens/cultivares com maior resiliência frente à ocorrência de temperaturas infraótimas.

4.2. Material e métodos

4.2.1 Material vegetal

A pesquisa foi realizada na Embrapa Clima Temperado - Pelotas/RS no ano de 2016, sendo conduzida em ambiente controlado - usando uma plataforma de fenotipagem da Embrapa – PhenoSTRESS.

O estudo foi baseado em estudos prévios do Programa de Melhoramento de Arroz da Embrapa, e envolveu 42 genótipos de arroz irrigado compostos por fundo genético essencialmente *indica*, *japonica* e cruzamento *indica/japonica*, apresentando diversidade genética e ecológica (Tabela 1).

Para atingir o objetivo do estudo, foram incluídos dois genótipos conhecidamente tolerantes a temperaturas infraótimas (Tomoe Mochi e Diamante), que foram selecionados com base em resultados de experimentos anteriores, onde apresentaram comportamento promissor quando cultivados em condições de temperaturas infraótimas (dados não mostrados).

Tabela 1 - Genótipos do programa de melhoramento de arroz da Embrapa utilizados no estudo.

Genótipos	Cruzamentos	Subespécies
86914-IR 891-7-2-1	Fonte indisponível	<i>japonica</i>
HSC 16	Fonte indisponível	<i>indica</i>
LTB 06012	Fonte indisponível	<i>indica</i>
LTB 050055	CNA 8621/CNAi 9025	<i>indica</i>
LTB 050151	BRS-7 Taim /CL Sel. 720	<i>indica</i>
LTB 07041	CL 113-4-1-1/CL 591	<i>indica</i>
LTB 07048	IR 3825-B-B-23/CL 591	<i>indica</i>
AB 10572	BRA 01016/BRA 02676	<i>indica</i>
AB 10501	CNAx12967-B-2-B-8-B	<i>indica</i>
AB 13002	Sel. Em SC 764	<i>indica</i>
AB 13008	BRS Fronteira/BR IRGA 409	<i>indica</i>
AB 13012	BRS Querência/IRGA 417	<i>indica/japonica</i>
AB 12597	BRA 01028/IRGA 419	<i>indica</i>
AB 11502	IRGA 417/IRGA 419	<i>indica</i>
AB 13715	CNA 5/3/1-29-B-B-4-B/BRA 040081	<i>indica</i>
AB 13720	BRA 01330 / CNAx 11208-B-21-B	<i>indica</i>
AB 14001	BRS Fronteira/BR IRGA 409	<i>indica</i>
AB 13006	BRS Fronteira/BR IRGA 409	<i>indica</i>
AB 13689	SCS 112 /IRGA 417	<i>indica</i>
AB 13003	Sel. Em SC 766	<i>indica</i>
CTB 1414	Sel. TB 1211-1/BRS-6 Chuí	<i>indica/japonica</i>
CTB 1417	Sel. TB 1211-2/BRS Pampa	<i>indica/japonica</i>
CTB 1418	Sel. TB 1211-2/BRS-6 Chuí	<i>indica/japonica</i>
CTB 1419	Sel. TB 1211-2/IRGA 424	<i>indica/japonica</i>
CTB 1421	Sel. TB 1211-3/IRGA 424	<i>indica/japonica</i>
CTB 1424	Sel. TB 1211-5/IRGA 424	<i>indica/japonica</i>
CTB 1425	AB 10004/BRS Pampa	<i>indica</i>
CTB 1442	Sel. TB 1211-1/AB09007	<i>indica/japonica</i>
CTB 1444	Sel. TB 1211-1/BRA051108	<i>indica/japonica</i>
CTB 1445	Sel. TB 1211-1/BRA 051077	<i>indica/japonica</i>
CTB 1447	Sel. TB 1211-2/INTA Puitá CL	<i>indica/japonica</i>
CTB 1449	Sel. TB 1211-2/BRA051077	<i>indica/japonica</i>
CTB 1450	Sel. TB 1211-3/INTA Puitá CL	<i>indica/japonica</i>
CTB 1454	Sel. TB 1211-5/BRA 051108	<i>indica/japonica</i>
CTB 1455	Sel. TB 1211-5/BRA051077	<i>indica/japonica</i>
CTB 1457	AB 10007/BRS 6 Chuí	<i>indica/japonica</i>
Sel. TB 1211-1	CL 113-4-1-1/CL 591	<i>indica/japonica</i>
Sel. TB 1211-2	CL 113-4-1-1/CL 591	<i>indica/japonica</i>

Sel. TB 1211-3	CL 113-4-1-1/CL 591	<i>indica/japonica</i>
Sel. TB 1211-5	CL 113-4-1-1/CL 591	<i>indica/japonica</i>
Diamante	Padrão de tolerância	<i>japonica</i>
Tomoe Mochi	Padrão de tolerância	<i>japonica</i>

4.2.2 Condições de cultivo das plantas

Os genótipos de arroz foram cultivados em bandejas plásticas e rizotrons (Figura 1), previamente preenchidos com substrato não-estéril à base de turfa com pH $5,8 \pm 0,2$, condutividade elétrica (mS/cm) $0,7 \pm 0,2$, capacidade de retenção de água de 80,0%, N (%) 0,04, P₂O₅ (%) 0,04 e K₂O (%) 0,05. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo que nas bandejas plásticas cada célula correspondia a uma repetição, totalizando seis repetições – análises fisiológicas, e três repetições nos rizotrons – análises morfométricas de raízes.

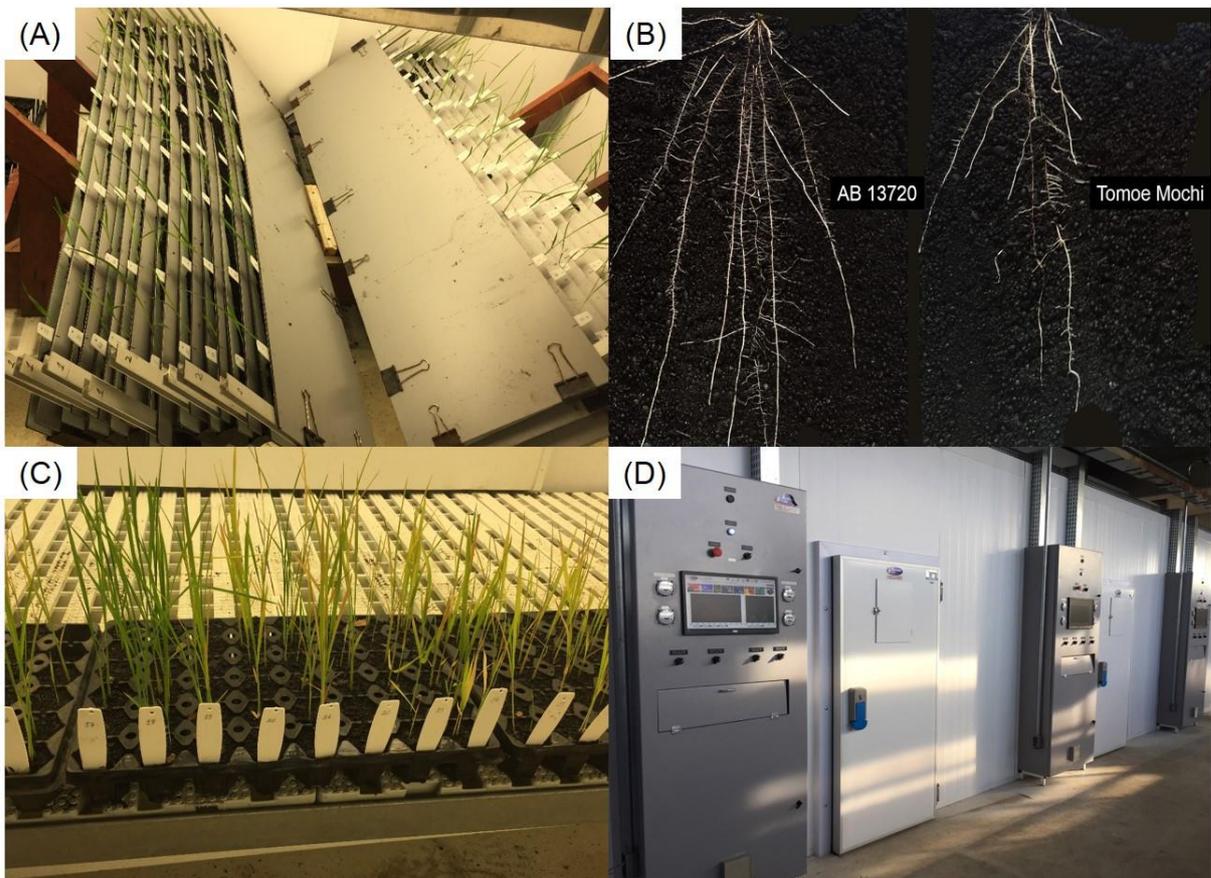


Figura 1 - Instalações (plataforma de fenotipagem PhenoSTRESS da Embrapa) usadas para simular os regimes de temperaturas impostos durante o período de condução do experimento. Incluindo rizotrons usados para análise morfométrica de raízes (A), visão das raízes em rizotron aberto (B), aspecto da parte aérea das plantas ao final do período de recuperação (C) e câmara de crescimento utilizada para o estudo (D).

A câmara de crescimento foi programada para simular as alterações de temperatura do ambiente mais realistas com base em dados climáticos históricos da Região Sul do Brasil. As plantas foram cultivadas sob o gradiente de temperatura ótima (OTM - 22/32 °C noite/dia), desde a semeadura até o estágio V2 (COUNCE et al., 2000); posteriormente, as plantas foram submetidas ao gradiente de temperatura infraótima (INFRA - 13/17 °C noite/dia) durante três dias; após, todos os genótipos retornaram às condições OTM durante sete dias para recuperação (Figura 2). Durante o período experimental a umidade da câmara de crescimento foi constante ($60 \pm 10\%$), sendo o período de escuro de 10 horas e o de luz de 14 horas à $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aproximadamente. A irrigação nas bandejas plásticas e rizotrons foi realizada sempre que necessária.

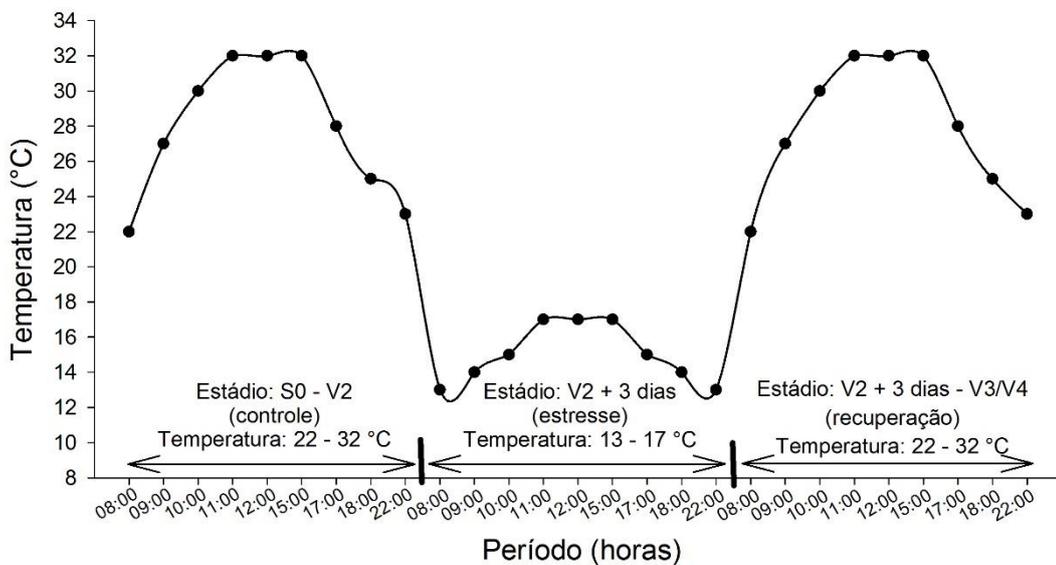


Figura 2 - Dinâmica da variação da temperatura - diferentes regimes de temperaturas impostos durante o crescimento das plantas de arroz.

Análises fisiológicas da parte aérea e morfométricas de raízes foram realizadas em três períodos: (1) no décimo quarto dia após emergência das plântulas (avaliação imediatamente antes da imposição do estresse) – plantas estavam no estágio V2; (2) ao terceiro dia após a imposição da temperatura infraótima (avaliação no final do período de estresse); (3) no sétimo dia após o período de recuperação, quando as plantas se encontravam no estágio V3/V4.

4.2.3 Análise da fluorescência da clorofila

As análises de fluorescência de clorofila foram realizadas utilizando um fluorômetro PAM-2500 (Walz Heinz GmbH, Effeltrich, Alemanha). Anteriormente a realização das mensurações, todos os genótipos foram adaptados à luz por pelo menos uma hora dentro da câmara de crescimento, a qual estava programada para manter a luz à $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, umidade do ar em $50 \pm 10\%$ e concentração de CO_2 a $400 \pm 30 \mu\text{mol mol}^{-1}$.

Durante as análises, as temperaturas internas da câmara de crescimento foram programadas para manter $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, $13 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ e $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ para a primeira avaliação (imediatamente antes da imposição do estresse), na segunda avaliação (ao final do período de estresse) e na terceira avaliação (após o período de recuperação do estresse), respectivamente. Assim, nestas condições, determinou-se a fluorescência mínima (F_o') em centro parcialmente reduzido do fotossistema II (FSII). O F_o' corresponde ao rendimento momentâneo da fluorescência de uma amostra iluminada um pouco antes da aplicação de um pulso de saturação.

Considerando que a fluorescência máxima (F_m') em centros fechados ou em estado reduzido do FSII também foi avaliada após uma aplicação de pulso de 0,8 s de luz de saturação ($7000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). O rendimento quântico fotoquímico efetivo de FSII ($Y(\text{II})$) foi definido como $(F_m' - F_s)/F_m'$. Durante as medições, a luz actínica (luz vermelha) foi ativada para quantificar o estado estacionário da fluorescência da clorofila (F_s). Sumarizando, o parâmetro F_m' foi quantificado em plantas submetidas a um estado adaptado à luz através da aplicação de um pulso de saturação, enquanto que F_o' foi avaliado desligando a luz actínica durante dois segundos após o pulso de saturação e acendendo a luz vermelho distante. A taxa de transporte de elétrons (ETR) foi calculada com $\text{PAR} \cdot \text{ETR-factor} \cdot \text{PPS2/PPPS} \cdot Y(\text{II})$ (BAKER, 2008).

4.2.4 Determinação do índice de clorofila

O índice de clorofila das folhas (Chl) foi mensurado de forma não-destrutiva usando um clorofilômetro Dual Sci 4 Scientific (Dx 4) (FORCE-A, Orsay, França). Foram avaliados três pontos aleatórios no lado adaxial de seis folhas mais jovens por unidade experimental, na posição do terço médio das folhas. Segundo Yuan et al.

(2016), essa posição é a que melhor representa o índice de clorofila em uma folha de arroz.

4.2.5 Análise morfométrica de raízes

Adicionalmente, como uma alternativa para medições não-destrutivas de características do sistema radicular dos 42 genótipos presentes no estudo, rizotrons foram construídos para visualizar, monitorar e preservar a arquitetura e morfologia de raízes das plantas de arroz, a fim de comparar as características radiculares quando submetidos a diferentes regimes de temperatura.

Cada rizotron consistiu em duas placas de ACM (alumínio composto) de 35 cm de altura, 120 cm de largura e 4 mm de espessura. As placas foram separadas por canaletas de alumínio, mantendo um espaçamento entre as placas de 1,5 cm e fixadas com prendedores. Os rizotrons foram preenchidos com 1220 gramas de substrato, como descrito anteriormente, para favorecer o crescimento das raízes na face inferior da placa, estes foram apoiados em cavaletes de madeira com inclinação de 45°.

Anteriormente ao momento da semeadura, os rizotrons foram irrigados, mantendo o substrato em 80% de sua capacidade de campo durante todo o período experimental. Nos estádios V2 (controle); V2 + 3 dias (estresse) e V3/V4 (recuperação) foram realizadas as aquisições das imagens das raízes utilizando uma câmera fotográfica (Sony Cyber Shot DSC-HX1, Zoom Óptico 20X).

Posteriormente as imagens fotografadas foram analisadas através do software analisador de imagens WinRHIZO Pro (Regent Instruments, Inc., Quebec City, QC), estimando o comprimento total de raízes (soma do comprimento de todas as raízes do sistema radicular), área superficial total de raízes, volume total de raízes e diâmetro médio de raízes na profundidade de 0-35 cm.

4.2.6 Determinação da biomassa

Após o período de recuperação das plantas, a massa seca total de raízes e da parte aérea foram quantificadas através da coleta separada de cada parte das plantas dos rizotrons. O material coletado foi imediatamente submetido à secagem em estufa, à temperatura de 60 °C até atingir peso constante e, posteriormente, realizada a pesagem.

4.2.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à homocedasticidade, pelo teste de Hartley e à normalidade, pelo teste de Shapiro-Wilk. Adicionalmente, a análise de componentes principais (PCA) foi realizada para identificar os genótipos potencialmente mais tolerantes a temperaturas infraótimas e excluir os parâmetros redundantes avaliados.

Este procedimento de PCA permitiu a exclusão de 16 variáveis fisiológicas e morfométricas redundantes que apresentaram contribuições semelhantes. Posteriormente, procedeu-se a análise da variância ($p \leq 0,05$) dos parâmetros selecionados a partir da PCA para os genótipos que mais respondiam a esses parâmetros selecionados e, constatando-se significância estatística, os tratamentos foram comparados pelo teste de Student-Newman-Keuls. As análises foram realizadas usando o SigmaPlot versão 13 (Systat Software Inc., San Jose, CA, EUA).

4.3. Resultados e discussão

Anteriormente a apresentação dos resultados, cabe conceituar e justificar a utilização da PCA. De acordo com Hongyu et al. (2015), a PCA é uma técnica estatística de análise multivariada que transforma linearmente um conjunto original de variáveis, inicialmente correlacionadas entre si, num conjunto substancialmente menor de variáveis não correlacionadas que contém a maior parte da informação do conjunto original. Esta técnica é associada à ideia de redução da massa de dados, com menor perda possível da informação, que procura redistribuir a variação observada nos eixos originais de forma a se obter um conjunto de eixos ortogonais não correlacionados (MANLY, 1986; HONGYU, 2015). Assim, devido aos vários parâmetros avaliados no presente estudo, fez-se a opção pela utilização da PCA para identificar os genótipos potencialmente mais tolerantes a temperaturas infraótimas e excluir os parâmetros redundantes avaliados

Logo, a PCA foi realizada utilizando os vários parâmetros avaliados e três componentes principais (PC's) foram observados: PC1, PC2 e PC3. Esses PC's contribuíram com 39,08; 22,70 e 13,48%, respectivamente (Figura 3). Assim, os três PC's representaram 75,26% da variação total entre as características dos genótipos de arroz quando submetidos a condições de estresse por temperatura infraótima.

Embora ao primeiro componente seja atribuído 39,08% da variação total, com contribuição significativa da massa seca total de raízes e da parte aérea, é muito importante enfatizar que o rápido desempenho de acumulação de biomassa mostrado por alguns genótipos ocorreu nos primeiros dias após a germinação das plantas, ou seja, anteriormente a imposição do estresse.

Além disso, ficou evidente que esses dois parâmetros eram praticamente ortogonais com as variáveis fisiológicas mensuradas (Figuras 3A e 3B). Portanto, destacando assim que os genótipos que mostraram melhor desempenho fisiológico quase sempre foram aqueles com menor massa seca de raízes e da parte aérea ao final do período avaliado. Os procedimentos de PCA permitiram identificar e, conseqüentemente, selecionar os genótipos Sel. TB 1211-3, CTB 1419, CTB 1444, CTB 1455 e AB 13720 como os que apresentaram melhor desempenho para as variáveis fisiológicas analisadas (Figura 3C e 3D).

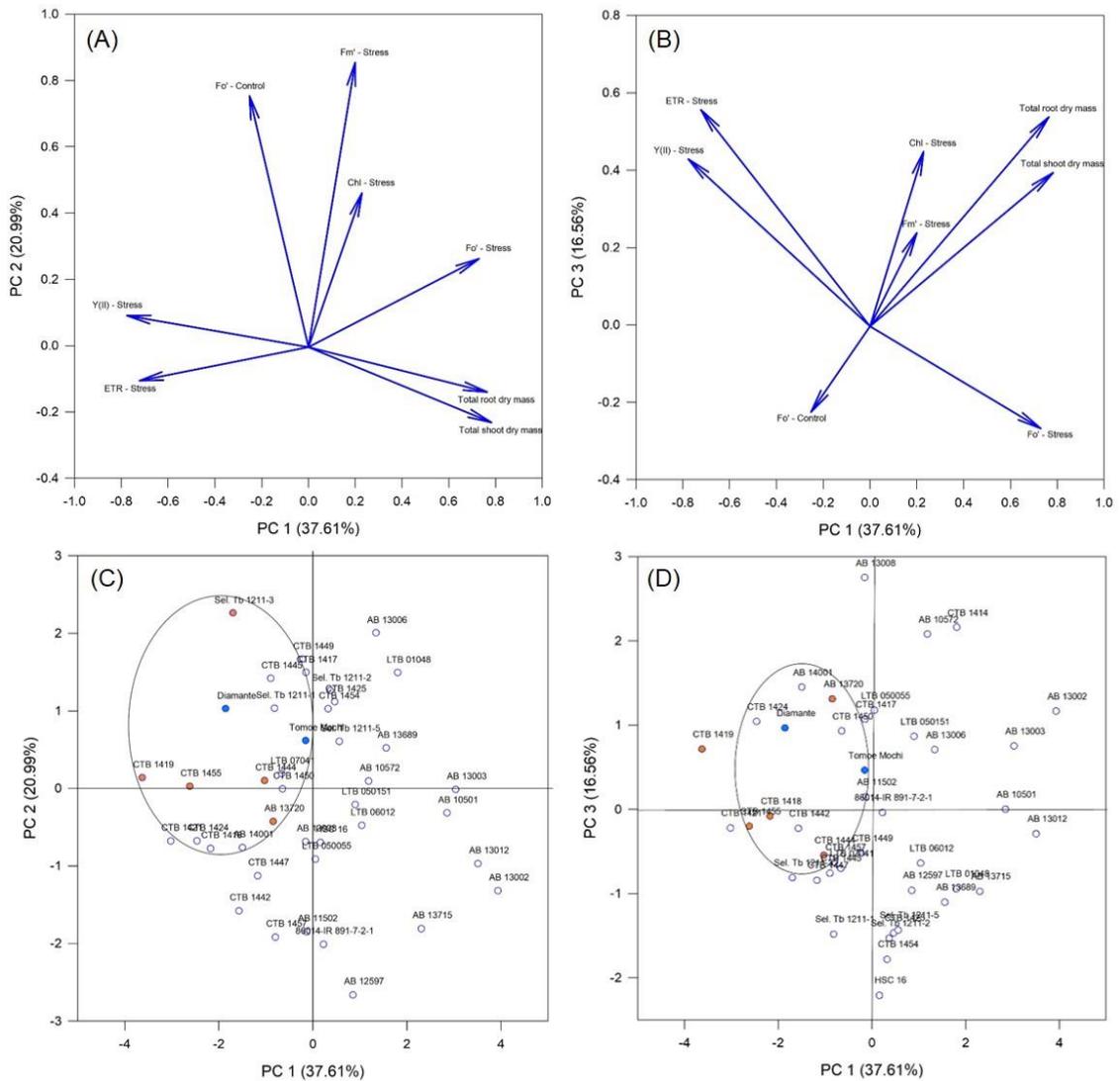


Figura 3 - Análise dos componentes principais - PCA (A, B, C e D) para respostas fisiológicas e morfométricas em 42 genótipos de arroz. Os três primeiros componentes exibem 75,26% da variação total entre as características dos genótipos quando submetidos a condições de estresse por temperatura infraótima. Os vetores representam a contribuição de cada parâmetro avaliado, e os genótipos estão dispostos próximos dos parâmetros aos quais os mesmos são mais responsivos.

Posteriormente, os genótipos selecionados a partir da PCA foram submetidos a análise estatística adicional com o objetivo de verificar sua estabilidade fisiológica nas avaliações realizadas ao longo do estudo, incluindo sua capacidade de recuperação ao final do período de estresse.

Para o rendimento quântico efetivo do FSII (Y(II)), de modo geral o CTB 1419 apresentou a melhor desempenho ao longo do período avaliado, estando esse relacionado a sua maior estabilidade, e destacando a sua superioridade em relação ao Diamante após o período de estresse por temperatura infraótima (Figura 4A). No

entanto, cabe ressaltar que após o período de recuperação, um desempenho semelhante entre os genótipos selecionados e os padrões de tolerância foi verificado.

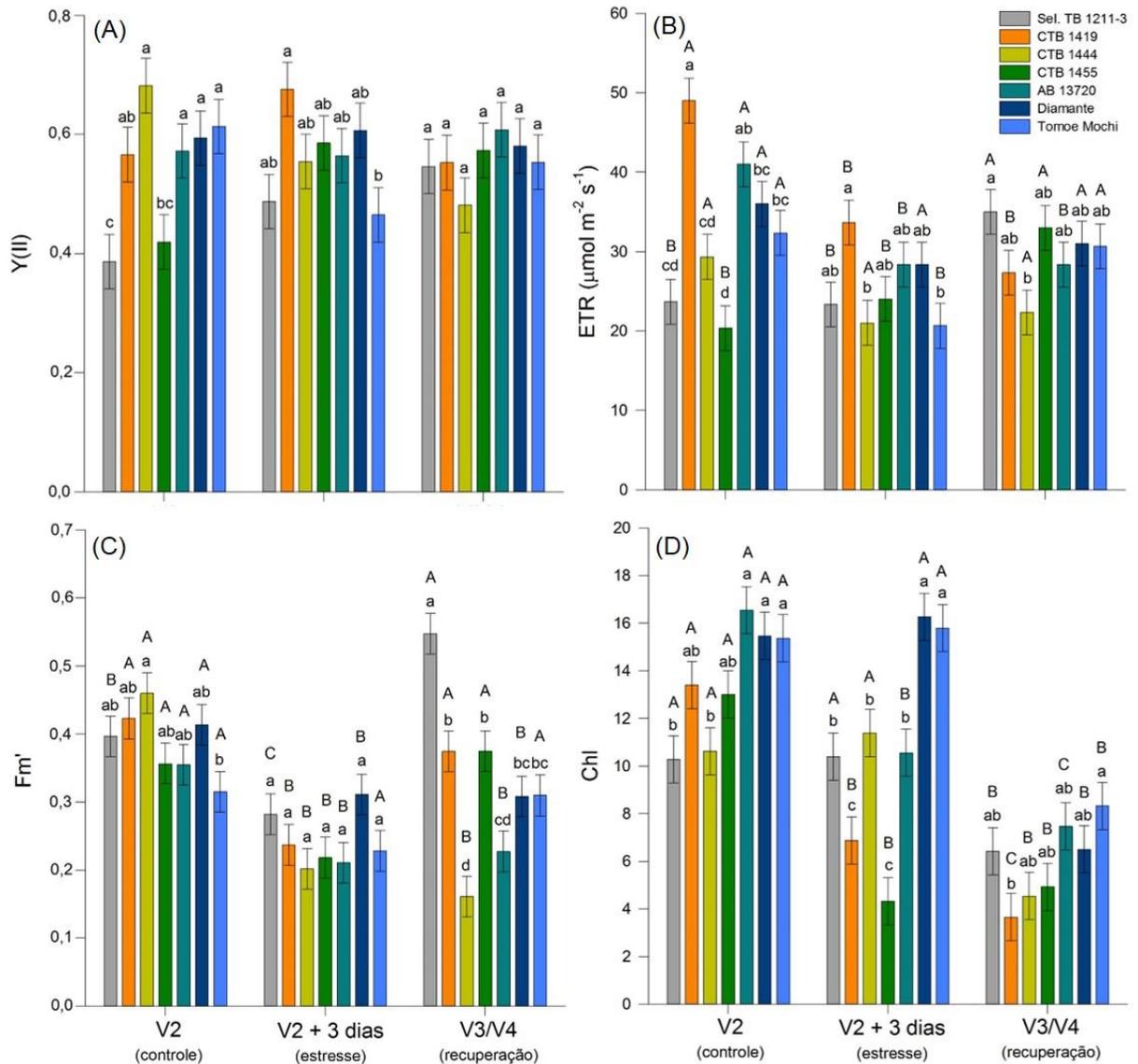


Figura 4 - Efeitos dos diferentes gradientes de temperatura no rendimento quântico fotoquímico efetivo do FSII - Y(II) (A), na taxa de transporte de elétrons - ETR (B), na fluorescência máxima - Fm' (C) e no índice de clorofila das folhas - Chl (D) em genótipos de arroz nos estádios V2 (controle), V2 + 3 dias (estresse) e V3/V4 (recuperação). Esses genótipos foram escolhidos com base em seu desempenho evidenciado pela PCA realizada anteriormente. *Nota:* Para todos os genótipos seguidos pela mesma letra minúscula em cada estágio de análise, eles não são significativamente diferentes ao nível $p < 0,05$ pelo teste Student-Newman-Keuls. Para cada genótipo seguido pela mesma letra maiúscula, eles não são significativamente diferentes ao nível $p < 0,05$ pelo teste Student-Newman-Keuls entre os estádios de avaliação.

Os resultados indicam ainda que os genótipos Sel. TB 1211-3 e CTB 1455 apresentaram maior estabilidade em seus valores da taxa de transporte de elétrons (ETR) ao longo das três avaliações realizadas (Figura 4B). Para esses dois genótipos ressalta-se o incremento da ETR ao final do período de recuperação quando

comparado ao período de estresse, comportamento não visualizado nos demais genótipos, com exceção dos padrões de tolerância.

Para a fluorescência máxima (F_m'), houve uma maior similaridade entre os genótipos em relação aos parâmetros anteriores mostrados, sendo que não foi visualizada diferença significativa entre os materiais ao final do período de estresse (Figura 4C). Os genótipos Sel. TB 1211-3, CTB 1419 e CTB 1455 mostraram uma tendência a retornar à condição inicial (não estressante) ao final da recuperação, sendo inclusive esses valores superiores ao Diamante e Tomoe Mochi. Adicionalmente, ressalta-se que o Sel. TB 1211-3 teve melhor desempenho da F_m' ao final do período de recuperação, sendo esse 75% superior ao visualizado para os genótipos padrão de tolerância.

Quanto ao índice de clorofila (Chl), novamente pode ser destacada a maior estabilidade do Sel. TB 1211-3, que não apresentou redução no valor ao final do período de estresse, comparativamente ao período controle, e que obteve a menor redução do índice de clorofila ao final do período de recuperação, sendo essa de aproximadamente 35% (Figura 4D). Nesse sentido, e com intuito de destacar o comportamento do Sel. TB 1211-3, temos que os genótipos tolerantes Diamante e Tomoe Mochi apresentaram decréscimo de 60 e 48% no índice de clorofila ao final do período de avaliação, respectivamente.

Em muitos casos, parâmetros como F_v/F_m , $Y(II)$, ETR, NPQ, entre outros, são avaliados visando demonstrar a ocorrência de possíveis alterações no mecanismo fotossintético, ocasionadas fundamentalmente por temperatura infraótima, e assim concluir se as plantas apresentam sensibilidade ou tolerância ao estresse em questão. Corroborando com os resultados visualizados no presente estudo, análises de parâmetros da fluorescência da clorofila demonstraram alterações estruturais e funcionais no aparelho fotossintético de diferentes genótipos de plantas ou mudas transgênicas submetidas a tratamentos de baixas temperaturas (BONNECARRÈRE et al., 2011; SAAD et al., 2012).

Em estudo realizado por Hasani et al. (2014), o estresse por temperaturas infraótimas exerceu efeitos sobre diversos parâmetros da fluorescência da clorofila de seis genótipos de arroz, sendo que o mesmo resultou na redução da F_v/F_m , $Y(II)$, qP e ETR, enquanto houve aumento da NPQ. Ainda, os autores afirmam que a fluorescência da clorofila pode ser introduzida como um método adequado para rastrear genótipos de arroz tolerantes ao frio devido a resposta diferencial entre os

materiais. Como evidenciado nesse estudo, verificou-se um aumento na F_o' (não mostrado) enquanto houve decréscimo na F_m' , fato esse também visualizado em outros estudos (MISRA et al., 2011; KALAJI et al., 2016).

Tais resultados, com alterações nos parâmetros da fluorescência da clorofila, podem ser parcialmente explicados pelos efeitos da temperatura infraótima sobre o índice de clorofila nas plantas. Principais responsáveis pela captação de energia luminosa, as clorofilas são consideradas fundamentais para o processo fotossintético, sendo que alterações no teor dessas podem ser decorrentes de diferentes estresses, e assim interferindo no desenvolvimento da planta e conseqüentemente na produção de biomassa (LIMA et al., 2004; CANCELLIER et al., 2011). Cabe destacar que características fisiológicas como produção de clorofila são controladas geneticamente e devem ser exploradas no melhoramento genético de arroz irrigado, uma vez que possuem altos valores de herdabilidade (STHAPIT; WITCOMBE, 1998), e assim poderão auxiliar na redução dos efeitos ocasionados por temperaturas infraótimas.

No presente estudo, o conteúdo de clorofila continuou a diminuir após o período de recuperação, podendo esse fato ser atribuído ao tempo requerido pelas plantas para reprogramar e reparar suas vias metabólicas (STRASSER et al., 2004), considerando que as análises foram realizadas sete dias após o término do período de estresse.

Nesse sentido, em trabalho com cultivares de arroz sensíveis ao frio foi verificada a redução no conteúdo total de clorofila nas folhas (AGHAEE et al., 2011). Um fator que pode estar relacionado às alterações da clorofila sob estresse por temperaturas baixas em plantas, é que essa situação pode provocar condições de anaerobiose, levando ao processo de fermentação alcoólica, e conseqüente aumento na produção de etanol e na síntese de álcool desidrogenase. Enquanto o aumento na síntese de etanol pode ajudar na preservação da fluidez dos lipídeos da membrana (SALTVEIT et al., 2004; MERTZ et al., 2009), o aumento da produção de etanol, juntamente com o de espécies reativas de oxigênio ou diminuição na síntese de antioxidantes, pode acarretar no incremento da peroxidação dos lipídeos insaturados presentes nas membranas e que ajudam na fluidez dessas, sendo esses lipídeos sensíveis à oxidação, levando a ruptura da membrana plasmática, e ocasionando a perda da clorofila e degradação da Rubisco (MARCONDES; GARCIA, 2009).

Ao final do período de recuperação do estresse por temperatura infraótima, o genótipo AB 13720 mostrou os maiores valores para a acumulação de biomassa de raízes, sendo superior em 26% quando comparado ao Tomoe Mochi, que foi o genótipo padrão de tolerância com melhor resultado. Por outro lado, para a biomassa da parte aérea, os genótipos tolerantes a temperaturas infraótimas e o CTB 1444 apresentaram os maiores valores. Enquanto o menor acúmulo de biomassa da parte aérea foi visualizado para os genótipos Sel. TB 1211-3 e AB 13720, com aproximadamente 50% a menos que o Tomoe Mochi – padrão de tolerância com melhor resultado (Figura 5).

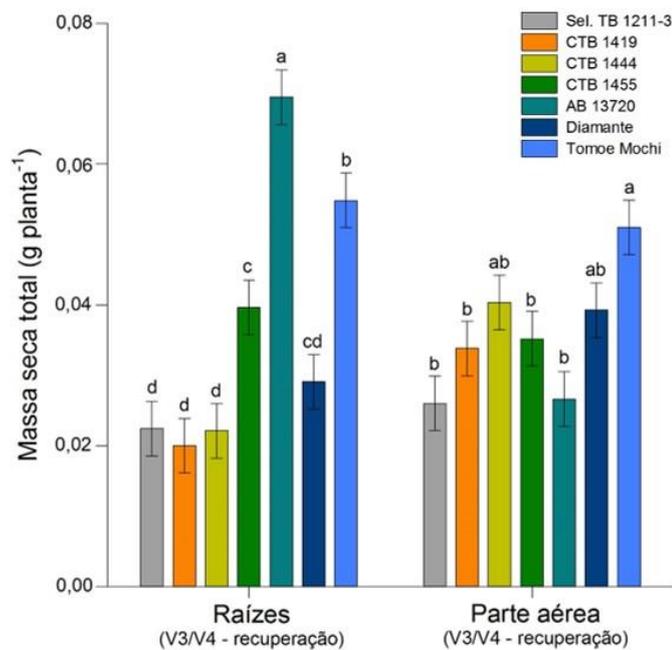


Figura 5 - Massa seca total de raízes e da parte aérea em genótipos de arroz ao final do período de recuperação (V3/V4 – recuperação). Esses genótipos foram selecionados com base em seu desempenho evidenciado pela PCA realizada anteriormente. *Nota:* Para todos os genótipos seguidos pela mesma letra minúscula em cada parte da planta, eles não são significativamente diferentes ao nível $p < 0,05$ pelo teste Student-Newman-Keuls.

De acordo com a literatura, temperaturas infraótimas podem provocar atraso no desenvolvimento, redução da estatura, amarelecimento das folhas e redução do acúmulo de matéria seca em plantas de arroz quando ocorre em estádios iniciais de desenvolvimento (MERTZ et al., 2009). Segundo Aghae et al. (2011), o estresse pelas baixas temperaturas diminui a biomassa devido à redução na absorção de água e nutrientes, assim como afeta a assimilação de CO_2 e, portanto, a taxa fotossintética.

De acordo com os resultados relatados em estudos prévios, em geral, temperaturas infraótimas levaram à diminuição do índice de clorofila, perturbando os centros de reação dos FSI e II, alterando o metabolismo antioxidante e,

conseqüentemente, diminuindo a taxa de acumulação de biomassa (HIROTSU et al., 2005; YAMORI et al., 2011; FUKAYAMA et al., 2015; MORAES DE FREITAS et al., 2016; MORITA et al., 2017). Tal comportamento foi visualizado no presente estudo, onde, de modo geral, os genótipos paralisaram o acúmulo de biomassa da parte aérea durante o período de estresse, bem como, adicionalmente pode-se constatar que os genótipos considerados padrão de tolerância apresentaram o maior acúmulo de biomassa ao final do período de recuperação.

Adicionalmente, cabe ressaltar que, como descrito anteriormente, os materiais da subespécie *japonica* apresentam maior tolerância ao frio e, conforme visualizado no presente estudo, os genótipos selecionados através da PCA (Sel. TB 1211-3, CTB 1419, CTB 1444, CTB 1455 e AB 13720) são originários do cruzamento *indica/japonica*. Nesse sentido, corroborando com os resultados obtidos, em estudo comparando várias cultivares de arroz pertencentes a essas duas subespécies, quanto à tolerância ao frio, os resultados demonstraram que a tolerância foi maior no grupo *japonica* que no *indica* (LI et al., 1981).

A partir disso, observa-se que há fontes de variabilidade para tolerância à temperatura infraótima em arroz, portanto, esses genótipos selecionados podem ser úteis como materiais fonte no melhoramento visando a incrementar a tolerância a temperaturas infraótimas na cultura do arroz em estádios iniciais de desenvolvimento das plantas.

Resumindo, a fluorescência da clorofila aparece como uma ferramenta útil para discriminar múltiplos genótipos quando submetidos a temperaturas infraótimas. Além disso, é possível investigar o estado do FSII de forma não invasiva, o que é muito interessante, considerando a possibilidade de retornar na mesma área alvo da folha para monitorar as alterações e desempenho fotoquímico em diferentes níveis de estresse. Os genótipos selecionados na PCA apresentaram maior desempenho para pelo menos uma das variáveis fisiológicas analisadas, mostrando desempenho similar ao demonstrado pelos genótipos considerados padrões de tolerância a temperaturas infraótimas. Também cabe salientar que nem sempre um acúmulo rápido de biomassa pode ser traduzido em maior desempenho fisiológico.

Com base na confirmação da existência de diferença no crescimento e no status fisiológico entre genótipos em função da alternância entre temperaturas consideradas ótimas e infraótimas para o desenvolvimento inicial da cultura, ressalta-se a importância do melhoramento genético como ferramenta para redução dessa

problemática no cultivo do arroz, através da utilização de materiais tolerantes ao estresse em questão, bem como a utilização de plataformas de fenotipagem para auxiliar nesse processo.

Assim, em programas de melhoramento vegetal onde múltiplos genótipos precisam ser caracterizados rotineiramente, devem ser envidados esforços no desenvolvimento e validação de abordagens fisiológicas robustas e não invasivas para superar os gargalos existentes e com o objetivo de construir o melhor ideótipo de planta para um ambiente específico.

4.4. Conclusões

Temperaturas infraótimas exercem efeitos negativos em parâmetros da fluorescência da clorofila e na morfometria de genótipos de arroz no estágio inicial de desenvolvimento.

Os genótipos Sel. TB 1211-3, CTB 1419, CTB 1444, CTB 1455 e AB 13720 demonstram maior tolerância a temperaturas infraótimas, com desempenho similar ao visualizado pelos genótipos considerados padrão de tolerância, podendo esses ser utilizados como material fonte em programas de melhoramento vegetal da cultura do arroz visando a criação de ideótipos com maior tolerância a temperaturas infraótimas.

Os materiais com características da subespécie *japonica* apresentam menor sensibilidade a temperaturas infraótimas, com seus valorosos alelos podendo ser utilizados em programas de melhoramento vegetal visando aumentar a tolerância ao estresse em questão.

Plataformas de fenotipagem fisiológica apresentam grande potencial de utilização, principalmente por propiciar a realização de avaliações não-destrutivas continuamente em pontos específicos das plantas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo indicam que o estresse por temperaturas supraótimas no estágio inicial de desenvolvimento das plantas afeta negativamente e de forma mais acentuada parâmetros fotossintéticos e morfométricos do genótipo sensível.

Características de termotolerância presentes no genótipo N22 potencializam o seu uso como fonte em programas de melhoramento genético do arroz para obtenção de linhagens/cultivares mais resilientes às variações térmicas.

A temperatura noturna elevada no estágio reprodutivo ocasiona modificações acentuadas na atividade enzimática, parâmetros da fluorescência da clorofila, na relação fonte-dreno e redução do rendimento final do genótipo sensível ao calor, enquanto o genótipo tolerante apresenta maior capacidade de translocação de carboidratos, menor taxa de esterilidade e maior estabilidade nos componentes de rendimento.

As temperaturas infraótimas exercem menores efeitos negativos sobre parâmetros da fluorescência da clorofila e morfométricos dos genótipos Sel. TB 1211-3, CTB 1419, CTB 1444, CTB 1455 e AB 13720. Estes potencialmente poderão ser utilizados como material fonte junto aos programas de melhoramento visando a criação de ideótipos com maior tolerância a temperaturas infraótimas

Finalmente, evidencia-se o potencial de uso da fenotipagem fisiológica não-invasiva via uso da fluorescência da clorofila, a qual poderá ser utilizada de forma integrada aos programas de melhoramento do arroz, permitindo a identificação, dissecação e valoração de genótipos para ambientes específicos.

6. REFERÊNCIAS

- AGHAEI, A.; MORADI, F.; MAIVAN, H.Z.; ZARINKAMAR, F.; IRANDOOST, P.; SHARIFI, P. Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage. **Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 39, p. 7617-7621, 2011.
- AHMADI, A.; BAKER, D. A. The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat. **Plant Growth Regulation**, v.35, n.1, p.81-91, 2001.
- AHMED, N.; TETLOW, I. J.; NAWAZ, S.; IQBAL, A.; MUBIN, M.; NAWAZ UL REHMAN, M. S.; BUTT, A.; LIGHTFOOT, D. A.; MAEKAWA, M. Effect of high temperature on grain filling period, yield, amylose content and activity of starch biosynthesis enzymes in endosperm of basmati rice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.95, n.11, p. 2237-2243, 2015.
- AHMED, F. E.; HALL, A. E. Heat injury during early floral bud development in cowpea. **Crop Science**, v.33, n.4, p.764-767, 1993.
- ALLAKHVERDIEV, S. I.; KRESLAVSKI, V. D.; KLIMOV, V. V.; LOS, D. A.; CARPENTIER, R.; MOHANTY, P. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. **Photosynthesis Research**, v.98, n.1-3, p.541–550, 2008.
- ALLORENT, G.; TOKUTSU, R.; ROACH, T.; PEERS, G.; CARDOL, P.; GIRARD-BASCOU, J. A dual strategy to cope with high light in *Chlamydomonas reinhardtii*. **The Plant Cell**, v.25, n.3, p.545–557, 2013.
- ALMESELMANI, M.; DESHMUKH, P. S.; SAIRAM, R. K.; KUSHWAHA, S. R.; SINGH, T. P. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. **Plant Science**, v.171, n.3, p.382–388, 2006.
- ALMODARES, A.; HADI, M. R.; DOSTI, B. The effects of salt stress on growth parameters and carbohydrates contents in sweet sorghum. **Research Journal of Environmental Sciences**, v.2, n.4, p.298–304, 2008.
- ALWARD, R. D.; DETLING, J. K.; MILCHUNAS, D. G. Grassland vegetation changes and nocturnal global warming. **Science**, v.283, n.8, p.229-231, 1999.

ANTONIAZZI, N.; DESCHAMPS, C. Análise de crescimento de duas cultivares de cevada após tratamentos com elicitores e fungicidas. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1065-1071, 2006.

ARAI-SANO, Y.; ISHIMARU, T.; OHSUMI, A.; KONDO, M. Effects of soil temperature on growth and root function in rice. **Plant Production Science**, v.13, n.3, p.235-242, 2010.

ARAUS, J. L.; CAIRNS, J. E. Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. **Trends in Plant Science**, v. 19, n. 1, p. 52 –61, 2014.

BADRETDINOV, D. Z.; BARANOVA, E. A.; KUZNETSOVA, S. A.; TULESHOVA, A. A.; KUKUSHKIN, A. K. Experimental and theoretical study of temperature dependence of steady-state parameters of delayed luminescence induction in leaves of higher plants. **Biofizika**, v.47, n.5, p.872-877, 2002.

BAHUGUNA, R. N.; SOLIS, C. A.; SHI, W.; JAGADISH, K. S. Post-flowering night respiration and altered sink activity account for high night temperature-induced grain yield and quality loss in rice (*Oryza sativa* L.). **Physiologia Plantarum**, v.159, n.1, p.59-73, 2017.

BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, n.1, p.89-113, 2008.

BECKLIN, K. M.; ANDERSON, J. T.; GERHART, L. M.; WADGYMAR, S. M.; WESSINGER, C. A.; WARD, J. K. Examining plant physiological responses to climate change through an evolutionary lens. **Plant Physiology**, v.172, n.2, p.635-649, 2016.

BERRY, J. A.; BJÖRKMAN, O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v.31, n.1, p.491-543, 1980.

BRITO, G. G.; FAGUNDES, P. R. R.; TELÓ, G. M.; ABREU, A. G.; JÚNIOR, A. M. M.; FRANCO, D. F.; ANDRES, A.; PARFITT, J. M. B.; KUNH, R.; PETRINE, J. A. Impact of supra-optimal temperatures on physiology and yield in rice field. **Journal of Agricultural Science**, v.8, n.2, p.27-37, 2016.

BRITO, G. G.; SOFIATTI, V.; LIMA, M. M. A.; CARVALHO, L. P.; SILVA-FILHO, J. L. Physiological traits for drought phenotyping in cotton. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.33, n.1, p.117-125, 2011.

BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; GALLINA, A. P.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; DIOLA, V.; LOUREIRO, M. E. Inheritance of coffee leaf rust resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene. **Euphytica**, v.173, n.2, p.255-264, 2010.

CAMPOS, A. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P.; SILVA, J. B.; OSÓRIO, V. A. Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.15, n.3, p.129-134, 2003.

CANCELLIER, E. L.; BARROS, H. B.; KISCHEL, E.; GONZAGA, L. A. M.; BRANDAO, D. R.; FIDELIS, R. R. Eficiência agrônômica no uso de nitrogênio mineral por cultivares de arroz de terras altas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.4, p.650-656, 2011.

CHATURVEDI, A. K.; BAHUGUNA, R. N.; SHAH, D.; PAL, M.; JAGADISH, S. V. K. High temperature stress during flowering and grain filling offsets beneficial impact of elevated CO₂ on assimilate partitioning and sink-strength in rice. **Scientific Reports**, v.7, n.1, p.8227, 2017.

CHOW, P. S.; LANDHAUSSER, S. M. A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues. **Tree Physiology**, v.24, n.10, p.1129-1136, 2004.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2017. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos – Décimo segundo levantamento - Safra 2016/2017**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em: 13 de outubro de 2017.

COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, v.40, n.2, p.436-443, 2000.

DEMPSEY, D. M. A.; KLESSIG, D. F. How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? **BMC Biology**, v.15, n.1, p.23, 2017.

DIOLA, V.; BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; PEREIRA, L. F. P.; LOUREIRO, M. E. A new set of differentially expressed signaling genes is early expressed in coffee leaf rust race II incompatible interaction. **Functional & Integrative Genomics**, v.13, n.3, p.379-389, 2013.

DIOLA, V.; BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; SAKIYAMA, N. S.; LOUREIRO, M. E. High-density genetic mapping for coffee leaf rust resistance. **Tree Genetics & Genomes**, v.7, n.6, p.1199-1208, 2011.

DIXON, R. A.; ACHNINE, L.; KOTA, P.; LIU, C. J.; REDDY, M. S.; WANG, L. The phenylpropanoid pathway and plant defence-a genomics perspective. **Molecular Plant Pathology**, v.3, n.5, p.371-390, 2002.

DIXON, R. A.; PAIVA, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **The Plant Cell**, v.7, n.7, p.1085-1097, 1995.

DU, Y. C.; TACHIBANA, S. Photosynthesis, photosynthetic translocation and metabolism in cucumber roots held at supra-optimal temperature. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.63, n.2, p.401-408, 1994.

EBERHARD, S.; FINAZZI, G.; WOLLMAN, F. A. The dynamics of photosynthesis. **Annual Review of Genetics**, v.42, n.1, p.463–515, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos. 2.ed.** Rio de Janeiro, 2006. 306p.

FAN, X.; TANG, Z.; TAN, Y.; ZHANG, Y.; LUO, B.; YANG, M.; LIAN, X.; SHEN, Q.; MILLER, A. J.; XU, G. Overexpression of a pH-sensitive nitrate transporter in rice increases crop yields. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.113, n.26, p.7118-7123, 2016.

THE FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. 2017. **How to feed the world in 2050.** Disponível em: <http://www.fao.org/publications> Acesso em: 20 de julho de 2017.

FRANÇA, M. G. C.; ROSSIELLO, R. O. P.; ZONTA, E.; ARAÚJO, A. P.; RAMOS, F. T. Desenvolvimento radicular e influxo de nitrogênio em duas cultivares de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.10, p.1845-1853, 1999.

FUKAYAMA, H.; KOGA, A.; HATANAKA, T.; MISOO, S. Small subunit of a cold-resistant plant, Timothy, does not significantly alter the catalytic properties of Rubisco in transgenic rice. **Photosynthesis Research**, v.124, n.1, p.57-65, 2015.

GIBSON, S. I. Plant sugar-response pathways: part of a complex regulatory web. **Plant Physiology**, v.124, n.4, p.1532–1539, 2000.

GILL, P. K.; SHARMA, A. D.; SINGH, P.; BHULLAR, S. S. Effect of various abiotic stresses on the growth soluble sugars and water relations of sorghum seedlings grown in light and darkness. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v.27, n.1-2, p.72–84, 2001.

GODFRAY, H. C. J.; BEDDINGTON, J. R.; CRUTE, I. R.; HADDAD, L.; LAWRENCE, D.; MUIR, J. F.; PRETTY, J.; ROBINSON, S.; THOMAS, S. M.; TOULMIN, C. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. **Science**, v.327, n.5967, p.812-818, 2010.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; BRITO, G. G.; HEUERT, J. Evaluation of water-stress tolerance of Acala SJ 2 and Auburn 2 cotton cultivars in a phenotyping platform. **Revista Ambiente & Água**, v.12, n.4, p.629-642, 2017.

GUPTA, A. K.; KAUR, N. Sugar signaling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. **Journal of Biosciences**, v.30, n.5, p.101–116, 2005.

HAMILTON, E. W.; HECKATHORN, S. A.; JOSHI, P.; WANG, D.; BARUA, D. Interactive effects of elevated CO₂ and growth temperature on the tolerance of photosynthesis to acute heat stress in C3 and C4 species. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.50, n.11, p.1375-1387, 2008.

HARSH, A.; SHARMA, Y. K.; JOSHI, U.; RAMPURIA, S.; SINGH, G.; KUMAR, S.; SHARMA, R. Effect of short-term heat stress on total sugars, proline and some antioxidant enzymes in moth bean (*Vigna aconitifolia*). **Annals of Agricultural Science**, v.61, n.1, p.57–64, 2016.

HASANI, Z.; YAGHOUBIAN, Y.; PIRDATSHTI, H.; NOURI, N. Z. Application of chlorophyll fluorescence technique to evaluate the tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to cold temperature and water stresses (In Parsian). **Iranian Journal of Cell and Tissue**, v.5, n.2, p.195-206, 2014.

HATFIELD, J. L.; PRUEGER, J. H. Temperature extremes: effect on plant growth and development. **Weather and Climate Extremes**, v.10, n.A, p.4–10, 2015.

HAY, R. K. M.; WILSON, G. T. Leaf appearance and extension in field-grown winter wheat plants: the importance of soil temperature during vegetative growth. **Journal of Agricultural Science**, v.99, n.2, p.403–410, 1982.

HIROTSU, N.; MAKINO, A.; YOKOTA, S.; MAE, T. The photosynthetic properties of rice leaves treated with low temperature and high irradiance. **Plant & Cell Physiology**, v.46, n.8, p.1377-1383, 2005.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v.6, n.9, p.431–438, 2001.

HONGYU, K., SANDANIELO, V. L. M., JUNIOR, G. J. O. Análise de componentes principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. **Engineering and Science**, v.1, n.5, p.83-90, 2016.

HUANG, J.; GU, M.; LAI, Z.; FAN, B.; SHI, K.; ZHOU, Y. H.; YU, J. Q.; CHEN, Z. Functional analysis of the *Arabidopsis* PAL gene family in plant growth, development, and response to environmental stress. **Plant Physiology**, v.153, n.4, p.1526-1538, 2010.

HUSSIN, S.; GEISLER, N.; KOYRO, H. W. Effect of NaCl salinity on *Atriplex nummularia* with special emphasis on carbon and nitrogen metabolism. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.35, n.4, p.1025–1038, 2013.

HÜVE, K.; BICHELE, I.; RASULOV, B.; NIINEMETS, Ü. When it is too hot for photosynthesis: heat-induced instability of photosynthesis in relation to respiratory burst, cell permeability changes and H₂O₂ formation. **Plant, Cell and Environment**, v.34, n.1, p.113–126, 2011.

HYODO, H.; KURODA, H.; YANG, S. F. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. **Plant Physiology**, v.62, n.1, p.31-35, 1978.

HYODO, H.; YANG, S. F. Ethylene enhanced synthesis of phenylalanine ammonia-lyase in pea seedlings. **Plant Physiology**, v.47, n.6, p.765-770, 1971.

IBRAHIM, M. H.; JAAFAR, H. Z. E.; KARIMI, E.; GHASEMZADEH, A. Primary, secondary metabolites, photosynthetic capacity and antioxidant activity of the malaysian herb kacip fatimah (*Labisia pumila* benth) exposed to potassium fertilization under greenhouse conditions. **International Journal of Molecular Sciences**, v.13, n.11, p.15321-15342, 2012.

INOUE, N.; TAIRA, Y.; EMI, T.; YAMANE, Y.; KASHINO, Y.; KOIKE, H.; SATOH, K. Acclimation to the growth temperature and the high-temperature effects on photosystem II and plasma membranes in a mesophilic cyanobacterium, *Synechocystis* sp. PCC6803. **Plant and Cell Physiology**, v.42, n.10, p.1140-1148, 2001.

INTERGOVERNMENTAL PANEL CLIMATE CHANGE – IPCC. 2014. **Climate change 2014 impacts, adaptation, and vulnerability part a: global and sectoral aspects**. Disponível em: <http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg2/WGIIAR5-PartA_FINAL.pdf> Acesso em: 16 de maio de 2017.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE – IPCC, 2013. **The Physical Science Basis**. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [STOCKER, T. F.; QIN, D. et al. (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535pp.

JAGADISH, S. V. K.; MUTHURAJAN, R.; OANE, R.; WHEELER, T. R.; HEUER, S.; BENNETT, J.; CRAUFURD, P. Q. Physiological and proteomic approaches to address heat tolerance during anthesis in rice. **Journal Experimental of Botany**, v.61, n.1, p.143–156, 2010.

JAGADISH, S. V. K.; CRAUFURD, P. Q.; WHEELER, T. R. High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Experimental Botany**, v.58, n.7, p.1627–1635, 2007.

JONES, P. D.; NEW, M.; PARKER, D. E.; MARTIN, S.; RIGOR, I. G. Surface air temperature and its changes over the past 150 years. **Reviews of Geophysics**, v.37, n.2, p.173–199, 1999.

KALAJI, H. M.; JAJOO, A.; OUKARROUM, A.; BRESTIC, M.; ZIVCAK, M.; SAMBORSKA, I. A.; CETNER, M. D.; ŁUKASIK, I.; GOLTSEV, V.; LADLE, R. J. Chlorophyll *a* fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.38, n.4, p.102-113, 2016.

KASAJIMA, I.; EBANA, K.; YAMAMOTO, T.; TAKAHARA, K.; YANO, M.; KAWAI-YAMADA, M.; UCHIMIYA, H. Molecular distinction in genetic regulation of nonphotochemical quenching in rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.108, n.33, p.13835–13840, 2011.

KATO, T. Change of sucrose synthase activity in developing endosperm of rice cultivars. **Crop Science**, v.35, n.3, p.827-831, 1995.

KAUR, P.; NAVITA, G.; SANGHA, M. K. Induction of thermotolerance through heat acclimation and salicylic acid in brassica species. **African Journal of Biotechnology**, v.8, n.4, p.619–625, 2009.

KENRICK, P.; CRANE, P. R. The origin and early evolution of plants on land. **Nature**, v.389, n.6646, p.33-39, 1997.

KIM, K.; PORTIS, A. R. Jr. Temperature dependence of photosynthesis in *Arabidopsis* plants with modifications in Rubisco activase and membrane fluidity. **Plant and Cell Physiology**, v.46, n.3, p.522–530, 2005.

KRIEGER, A.; WEIS, E. The role of calcium in the pH-dependent control of photosystem II. **Photosynthesis Research**, v.37, n.2, p.117-130, 1993.

KUBIEN, D. S.; SAGE, R. F. The temperature response of photosynthesis in tobacco with reduced amounts of Rubisco. **Plant, Cell & Environment**, v.31, n.4, p.407–418, 2008.

LEAKEY, A. D. B.; PRESS, M. C.; SCHOLLES, J. D.; WATLING, J. R. Relative enhancement of photosynthesis and growth at elevated CO₂ is greater under sunflecks than uniform irradiance in a tropical rain forest tree seedling. **Plant Cell and Environment**, v.25, n.12, p.1701-1714, 2002.

- LI, T.; LIU, Q.; OHSUGI, R.; YAMAGISHI, T.; SASAKI, H. Effect of high temperature on sucrose content and sucrose cleaving enzyme activity in rice grain during the filling stage. **Rice Science**, v.13, n.3, p.205-210, 2006.
- LI, T. G., VISPERAS, R. M., VERGARA, B. S. Correlation of cold tolerance at different growth stages in rice. **Acta Botanica Sinica**, v.23, n.1, p.203-207, 1981.
- LIANG, J.; ZHANG, J.; CAO, X. Grain sink strength may be related to the poor grain filling of indica-japonica rice (*Oryza sativa*) hybrids. **Physiologia Plantarum**, v.112, n.4, p.470-477, 2001.
- LIMA, M. G. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; MENDES, C. R. Efeito de estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, v.63, n.3, p.335-340, 2004.
- LOKA, D. A.; OOSTERHUIS, D. M. Effect of high night temperatures on cotton respiration, ATP levels and carbohydrate content. **Environmental and Experimental Botany**, v.68, n.3, p.258-263, 2010.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **The Journal of Biology Chemistry**, v.193, n.1, p.265-275, 1951.
- LU, C. M.; ZHANG, J. H. Heat-induced multiple effects on PSII in wheat plants. **Journal of Plant Physiology**, v.156, n.2, p.259–265, 2000.
- MacDONALD, M. J.; D'CUNHA, G. B. A modern view of phenylalanine ammonia lyase. **Biochemistry and Cell Biology**, v.85, n.3, p.273-282, 2007.
- MANLY, B. F. J. (1986). **Multivariate statistical methods**. New York, Chapman and Hall, 159p.
- MARCONDES, J.; GARCIA, A. B. Aspectos citomorfológicos do estresse salino em plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.2, p.187-194, 2009.
- MARENGO, J. A.; CAMARGO, C. C. Surface air temperature trends in Southern Brazil for 1960-2002. **International Journal of Climatology**, v.28, n.7, p.893–904, 2008.

MARQUES, J. R. Q.; STEINMETZ, S.; DINIZ, G.; SIQUEIRA, O. J. W.; WREGE, M. S.; HERTER, F. G.; REISSER JÚNIOR, C. Impacto do aquecimento global na redução do risco de frio em arroz irrigado no Rio Grande do Sul. Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado. **Anais...** Santa Maria: Embrapa Clima Temperado: 247-250p., 2005.

MATSUI, T.; NAMUCO, O. S.; ZISKA, L. H.; HORIE, T. Effects of high temperature and CO₂ concentration on spikelet sterility in indica rice. **Field Crops Research**, v.51, n.3, p.213-219, 1997.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v.51, n.345, p.659-668, 2000.

McMASTER, G. S.; WILHELM, W. W.; PALIC, D. B.; PORTER, J. R.; JAMIESON, P. D. Spring wheat leaf appearance and temperature: extending the paradigm? **Annals of Botany**, v.91, n.6, p.697-705, 2003.

MEDLYN, B. E.; BADECK, F. W.; De PURY, D. G. G.; BARTON, C. V. M.; BROADMEADOW, M.; CEULEMANS, R.; De ANGELIS, P.; FORSTREUTER, M.; JACH, M. E.; KELLOMAKI, S.; LAITAT, E.; MAREK, M.; PHILIPPOT, S.; REY, A.; STRASSEMAYER, J.; LAITINEN, K.; LIOZON, R.; PORTIER, B.; ROBERNTZ, P. WANG, K.; JARVIS, P. G. Effects of elevated (CO₂) on photosynthesis in European forest species: a meta-analysis of model parameters. **Plant Cell and Environment**, v.22, n.12, p.1475-1495, 1999.

MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; SOARES, R. C.; BALDIGA, R. F.; PESKE, F. B.; MORAES, D. M. Alterações fisiológicas em sementes de arroz expostas ao frio na fase de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.254-262, 2009.

MISHRA, A.; MISHRA, K. B.; HÖERMILLER, I. I.; HEYER, A. G.; NEDBAL, L. Chlorophyll fluorescence emission as a reporter on cold tolerance in *Arabidopsis thaliana* accessions. **Plant Signaling & Behavior**, v.6, n.2, p.301-310, 2011.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, v.9, n.10, p.490–498, 2004.

MOHAMMED, A. R.; TARPLEY, L. (2011) **Effects of high night temperature on crop physiology and productivity: plant growth regulators provide a management option**. In: S. Casalegno (ed.), *Global Warming Impacts - Case Studies on the Economy, Human Health, and on Urban and Natural Environments*. Rijeka, Croatia: InTech. 290p.

MOHAMMED, A. R.; TARPLEY, L. Impact of high nighttime temperature on respiration, membrane stability, antioxidant capacity, and yield of rice plants. **Crop Science**, v.49, n.1, p.313–322, 2009.

MORAES DE FREITAS, G. P.; BASU, S.; RAMEGOWDA, V.; BRAGA, E. B.; PEREIRA, A. Comparative analysis of gene expression in response to cold stress in diverse rice genotypes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.471, n.1, p.253-259, 2016.

MORITA, R.; NAKAGAWA, M.; TAKEHISA, H.; HAYASHI, Y.; ICHIDA, H.; USUDA, S.; ICHINOSE, K.; ABE, H.; SHIRAKAWA, Y.; SATO, T.; FUJIWARA, M. T.; ITOH, R. D.; ABE, T. Heavy-ion beam mutagenesis identified an essential gene for chloroplast development under cold stress conditions during both early growth and tillering stages in rice. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.81, n.2, p.271-282, 2017.

MORITA, S.; NAKANO, H. Nonstructural carbohydrate content in the stem at full heading contributes to high performance of ripening in heat-tolerant rice cultivar Nikomaru. **Crop Science**, v.51, n.2, p.818-828, 2011.

MORO, A. L.; BROETTO, F.; MORO, E. Antioxidative responses, physiological and productive of rice grown under water deficit and silicon fertilization. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.5, p. 3013-3028, 2015.

MORSY, M. R.; JOUVE, L.; HAUSMAN, J. F.; HOFFMANN, L.; STEWART, J. M. Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v.164, n.2, p.157–167, 2007.

MU, C. S.; NEMOTO, K.; YOU, Z. B.; YAMAGISHI, J. Size and activity of shoot apical meristems as determinants of floret number in rice panicles. **Plant Production Science**, v.8, n.1, p.51–59, 2005.

NIINEMETS, U.; OJA, V.; KULL, O. Shape of leaf photosynthetic electron transport versus temperature response curve is not constant along canopy light gradients in temperate deciduous trees. **Plant Cell and Environment**, v.22, n.12, p.1497-1513, 1999.

NTANOS, D. A.; KOUTROUBAS, S. D. Dry matter and N accumulation and translocation for Indica and Japonica rice under Mediterranean conditions. **Field Crops Research**, v.74, n.1, p.93-101, 2002.

OBERHUBER, W.; DAI, Z. Y.; EDWARDS, G. E. Light dependence of quantum yields of photosystem II and CO₂ fixation in C₃ and C₄ plants. **Photosynthetic Research**, v.35, n.3, p.265–274, 1993.

PAN, J.; CUI, K.; WEI, D.; HUANG, J.; XIANG, J.; NIE, L. Relationships of non-structural carbohydrates accumulation and translocation with yield formation in rice recombinant inbred lines under two nitrogen levels. **Physiologia Plantarum**, v.141, n.4, p.321-331, 2011.

PASCUAL, M. B.; EL-AZAZ, J.; DE LA TORRE, F. N.; CAÑAS, R. A.; AVILA, C.; CÁNOVAS, F. M. Biosynthesis and metabolic fate of phenylalanine in conifers. **Frontiers in Plant Science**, v.7, n.1030, 2016.

PENG, S.; HUANG, J.; SHEEHY, J. E.; LAZA, R. C.; VISPERAS, R. M.; ZHONG, X.; CENTENO, C. S.; KHUSH, G. S.; CASSMAN, K. G. Rice yields decline with higher night temperature from global warming. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.101, n.27, p.9971-9975, 2004.

PINTO, H. S.; ASSAD, E. D.; JUNIOR, J. Z.; EVANGELISTA, S. R. M.; OTAVIAN, A. F.; ÁVILA, A. M. H.; EVANGELISTA, B.; MARIN, F. R.; JUNIOR, C. M.; PELLEGRINO, G. Q.; COLTRI, P. P.; CORAL, G. **Aquecimento global e a nova geografia da produção agrícola no Brasil**. Embrapa, São Paulo, 2008.

POLI, Y.; BASAVA, R. K.; PANIGRAHY, M.; VINUKONDA, V. P.; DOKULA, N. R.; VOLETI, S. R.; DESIRAJU, S.; NEELAMRAJU, S. Characterization of a Nagina22 rice mutant for heat tolerance and mapping for yield traits. **Rice**, v.6, n.36, p.1-9, 2013.

PONS, T. L.; WELSCHEN, R. A. M. Midday depression of net photosynthesis in the tropical rainforest tree *Eperua grandiflora*: contributions of stomatal and internal conductances, respiration and Rubisco functioning. **Tree Physiology**, v.23, n.14, p.937-947, 2003.

PRASAD, P. V. V.; DJANAGUIRAMAN, M.; PERUMAL, R.; CIAMPITTI, I. A. Impact of high temperature stress on floret fertility and individual grain weight of grain sorghum: sensitive stages and thresholds for temperature and duration. **Frontiers in Plant Science**, v.6, n.6, p.1-11, 2015.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN JR, L. H.; SHEEHY, J. E.; THOMSA, J. M. G. Species, ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress. **Field Crops Research**, v.95, n.2-3, p.398–411, 2006.

PRICE, J.; LAXMI, A.; MARTIN, S. K.; KANG, J. C. Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v.16, n.8, p.2128–2150, 2004.

RACHED-KANOUNI, M.; ALATOU, D. Change in activity of antioxidative enzymes in leaves of *Acacia retinodes*, *Biota orientalis* and *Casuarina equisetifolia* under heat stress condition. **European Scientific Journal**, v.9, n.24, p.402–410, 2013.

RANG, Z. W.; JAGADISH, S. V. K.; ZHOUA, Q. M.; CRAUFURDC, P. Q.; HEUERB, S. Effect of high temperature and water stress on pollen germination and spikelet fertility in rice. **Environmental and Experimental Botany**, v.70, n.1, p.58–65, 2011.

RENAWAKE, A. L.; MANANGKIL, O. E.; YOSHIDA, S.; ISHII, T.; MORI, N.; NAKAMURA, C. Mapping QTLs for cold tolerance at germination and the early seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v.28, n.6, p.989-998, 2014.

RESTREPO-DIAZ, H.; GARCES-VARON, G. Response of rice plants to heat stress during initiation of panicle primordia or grain-filling phases. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v.9, n.3, p.318-325, 2013.

ROSA, M.; CAROLINA PRADO, C.; PODAZZA, G.; INTERDONATO, R.; GONZÁLEZ, J. A.; HILAL, M.; PRADO, F. E. Soluble sugars - Metabolism, sensing and abiotic stress: A complex network in the life of plants. **Plant Signaling & Behavior**, v.4, n.5, p.388–393, 2009.

SAGE, R. F.; KUBIEN, D. S. The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. **Plant Cell and Environment**, v.30, n.9, p.1086–1106, 2007.

SALTVEIT, M. E.; PEISER, G.; RAB, A. Effect of acetaldehyde, arsenite, ethanol, and heat shock on protein synthesis and chilling sensitivity of cucumber radicles. **Physiologia Plantarum**, v.120, p.556-562, 2004.

SANGHERA, G.S.; WANI, S.H.; HUSSAIN, W.; SINGH, N.B. Engineering cold stress tolerance in crop plants. **Current Genomics**, v.12, n.1, p.30-43, 2011.

SASSI-AYDI, S.; AYDI, S.; ABDELLY, C. Inorganic nitrogen nutrition enhances osmotic stress tolerance in *Phaseolus vulgaris*: lessons from a drought-sensitive cultivar. **HortScience**, v.49, n.5, p.550–555, 2014.

SAUSEN, T. L. **Respostas fisiológicas de *Ricinus communis* à redução na disponibilidade de água no solo**. 2007. 71f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SCAFARO, A. P.; YAMORI, W.; CARMO-SILVA, A. E.; SALVUCCI, M. E.; CAEMMERER, S.; ATWELL, B. J. Rubisco activity is associated with photosynthetic thermotolerance in a wild rice (*Oryza meridionalis*). **Physiologia Plantarum**, v.146, n.1, p.99–109, 2012.

SCAFARO, A. P.; HAYNES, P. A.; ATWELL, B. J. Physiological and molecular changes in *Oryza meridionalis* Ng. a heat-tolerant species of wild rice. **Journal of Experimental Botany**, v.61, n.1, p.191-202, 2010.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: Molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.38, n.7, p.995–1014, 2005.

SCHRADER, S. M.; WISE, R. R.; WACHOLTZ, W. F.; ORT, D. R.; SHARKEY, T. D. Thylakoid membrane responses to moderately high leaf temperature in Pima cotton. **Plant Cell and Environment**, v.27, n.6, p.725-735, 2004.

SCHURR, U.; WALTER, A.; RASCHER, U. Functional dynamics of plant growth and photosynthesis – from steady-state to dynamics – from homogeneity to heterogeneity. **Plant, Cell and Environment**, v.29, n.3, p.340-352, 2006.

SECK, P. A.; DIAGNE, A.; MOHANTY, S.; WOPEREIS, M. C. S. Crops that feed the world 7: rice. **Food Security**, v.4, n.1, p.7–24, 2012.

SHAKIBA, E., EDWARDS, J. D.; JODARI, F.; DUKE, S. E.; BALDO, A. M.; KORNILIEV, P. Genetic architecture of cold tolerance in rice (*Oryza sativa*) determined through high resolution genome-wide analysis. **PLoS ONE**, v.12, n.3, 2017.

SHEEHY, J. E.; ELMIDO, A.; CENTENO, G.; PABLICO, P. Searching for new plant for climate change. **Journal of Agricultural Meteorology**, v.60, n.5, p.463-468, 2005.

SHIMONO, H.; OKADA, M.; YAMAKAWA, Y.; NAKAMURA, H.; KOBAYASHI, K.; HASEGAWA, T. Genotypic variation in rice yield enhancement by elevated CO₂ relates to growth before heading, and not to maturity group. **Journal of Experimental Botany**, v.60, n.2, p.523-532, 2009.

SHRIVASTAVA, P.; SAXENA, R. R.; XALXO, M. S.; VERULKAR, S. B. Effect of high temperature at different growth stages on rice yield and grain quality traits. **Journal of Rice Research**, v.5, n.1-2, p.29-41, 2012.

SigmaPlot 13.0 - Systat Software San Jose C. **Sigmaplot - exact graphs and data analysis**. 13.0 edn.

SITNICKA, D.; ORZECZOWSKI, S. Cold-induced starch degradation in potato leaves — intercultural differences in the gene expression and activity of key enzymes. **Biologia Plantarum**, v.58, n.4, p.659–666, 2014.

STHAPIT, B. R.; WITCOMBRE, J. R. Inheritance of tolerance to chilling stress in rice during germination and plumule greening. **Crop Science**, v.38, n.3, p. 660-665, 1998.

STORME, N.; GEELLEN, D. The impact of environmental stress on male reproductive development in plants: biological processes and molecular mechanisms. **Plant, Cell and Environment**, v.37, n.1, p.1-18, 2014.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. (2004). **Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient**. In: PAPAGEORGIOU, G. C.; GOVINDJE, E. (eds) Chlorophyll a fluorescence: A signature of photosynthesis. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 321-362.

STREETER, J. G.; STRIMBU, C. E. Simultaneous extraction and derivatization of carbohydrates from green plant tissues for analysis by gas-liquid chromatography. **Anal Biochemistry**, v.259, n.2, p.253-257, 1998.

TAKAHASHI, N. (1984). **Differentiation of ecotypes in *Oryza sativa* L.** In: TAKAHASHI, N., TSUNODA, S. (Eds). Biology of rice. Tokyo:Japan Sci Soc, p.31-67.

TANG, Y.; WEN, X.; LU, Q.; YANG, Z.; CHENG, Z.; LU, C. Heat stress induces an aggregation of the light-harvesting complex of photosystem II in spinach plants. **Plant Physiology**, v.143, n.2, p.629–638, 2007.

TARDIEU, F.; REYMOND, M.; MULLER, B.; GRANIER, C.; SIMONNEAU, T.; SADOK, W.; WELCKER, C. Linking physiological and genetic analyses of the control of leaf growth under changing environmental conditions. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.56, n.9, p.937–946, 2005.

TEZARA, W.; MARÍN, O.; RENGIFO, E.; MARTÍNEZ, D.; HERRERA, A. Photosynthesis and photoinhibition in two xerophytic shrubs during drought. **Photosynthetica**, v.43, n.1, p.37-45, 2005.

THALMANN, M.; PAZMINO, D.; SEUNG, D.; HORRER, D.; NIGRO, A.; MEIER, T.; KÖLLING, K.; PFEIFHOFER, H. W.; ZEEMAN, S. C.; SANTELIA, D. Regulation of leaf starch degradation by abscisic acid is important for osmotic stress tolerance in plants. **The Plant Cell**, v.28, n.8, p.1860–1878, 2016.

TIAN, Z.; NIU, Y. L.; SUN, L. X.; LI, C. S.; LIU, C. J.; FAN, D. L. China's rice field greenhouse gas emission under climate change based on DNDC model simulation. **The Journal of Applied Ecology**, v.26, n.3, p.793-799, 2015.

TRIBUZY, E. S. 2005. **Variações da temperatura foliar do dossel e o seu efeito na taxa assimilatória de CO₂ na Amazônia Central**. 2005. 84p. Tese (Doutorado em Ecologia de Agroecossistemas), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

TURNBULL, M. H.; MURTHY, R.; GRIFFIN, K. L. The relative impacts of daytime and night-time warming on photosynthetic capacity in *Populus deltoids*. **Plant, Cell and Environment**, v.25, n.12, p.1729-1737, 2002.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA, 2017. **Grain: World Markets and Trade – June – 2017**. Disponível em: < <https://www.ers.usda.gov/>> Acesso em: 30 de junho de 2017.

VALERIO, C.; COSTA, A.; MARRI, L.; ISSAKIDIS-BOURGUET, E.; PUPILLO, P.; TROST, P.; SPARLA, F. Thioredoxin-regulated β -amylase (BAM1) triggers diurnal starch degradation in guard cells, and in mesophyll cells under osmotic stress. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.2, p.545–555, 2011.

WAHID, A.; GELANI, S.; ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. Heat tolerance in plants: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, v.61, n.3, p.199–223, 2007.

WEBER, R. L.; WIEBKE-STROHM, B.; BREDEMEIER, C.; MARGIS-PINHEIRO, M.; BRITO, G. G.; RECHENMACHER, C.; BERTAGNOLLI, P. F.; SÁ, M. E.; CAMPOS, M. A.; AMORIM, R. M.; BENEVENTI, M. A.; MARGIS, R.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Expression of an osmotin-like protein from *Solanum nigrum* confers drought tolerance in transgenic soybean. **BMC Plant Biology**, v.14, n.343, 2014.

WEIS, E.; BERRY, J. (1988). **Plants and high temperature stress**, p.329–346. In: S.P. Long and F. I. Woodward (eds.), Symp. Soc. Expt. Biol. n. XXXXII, Cambridge Univ. Press, Cambridge.

WILLITS, D. H.; PEET, M. M. Measurement of chlorophyll fluorescence as a heat stress indicator in tomato: laboratory and greenhouse comparisons. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.126, n.2, p.188–194, 2001.

WU, C.; CUI, K.; WANG, W.; LI, Q.; FAHAD, S.; HU, Q.; HUANG, J.; NIE, L.; PENG, S. Heat-induced phytohormone changes are associated with disrupted early reproductive development and reduced yield in rice. **Scientific Reports**, v.6, n.1, p.1-14, 2016.

XU, Q.; HUANG, B. Effects of differential air and soil temperature on carbohydrate metabolism in creeping bentgrass. **Crop Science**, v.40, n.5, p.1368-1374, 2000.

YAMASAKI, T.; YAMAKAWA, T.; YAMANE, Y.; KOIKE, H.; SATOH, K.; KATOH, S. Temperature acclimation of photosynthesis and related changes in photosystem electron transport in winter wheat. **Plant Physiology**, v.128, n.3, p.1087–1097, 2002.

YAMORI, W.; SAKATA, N.; SUZUKI, Y.; SHIKANAI, T.; MAKINO, A. Cyclic electron flow around photosystem I via chloroplast NAD(P)H dehydrogenase (NDH) complex performs a significant physiological role during photosynthesis and plant growth at low temperature in rice. **The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology**, v.68, n.6, p.966-76, 2011.

YANG, J.; ZHANG, J.; WANG, Z.; XU, G.; ZHU, Q. Activities of key enzymes in sucrose-to-starch conversion in wheat grains subjected to water deficit during grain filling. **Plant Physiology**, v.135, n.3, p.1621-1629, 2004.

YANG, Y.; GAO, T.; XU, M.; DONG, J.; LI, H.; WANG, P.; LI, G.; GUO, T.; KANG, G.; WANG, Y. Functional analysis of a wheat AGPase plastidial small subunit with a truncated transit peptide. **Molecules**, v.22, n.3, 2017.

YIN, Y.; LI, S.; LIAO, W.; LU, Q.; WEN, X.; LU, C. Photosystem II photochemistry, photoinhibition, and the xanthophyll cycle in heat-stressed rice leaves. **Journal of Plant Physiology**, v.167, n.12, p.959-966, 2010.

YOSHIDA, S. (1981). **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: IRRI

YOU, C.; CHEN, L.; HE, H.; WU, L.; WANG, S.; DING, Y.; MA, C. iTRAQ-based proteome profile analysis of superior and inferior spikelets at early grain filling stage in japonica rice. **BMC Plant Biology**, v.17, n.1, p.100, 2017.

YOU, C.; ZHU, H.; XU, B.; HUANG, W.; WANG, S.; DING, Y.; LIU, Z.; LI, G.; CHEN, L.; DING, C.; TANG, S. Effect of removing superior spikelets on grain filling of inferior spikelets in rice. **Frontiers in Plant Science**, v.7, p.1161, 2016.

YUAN, Z.; CAO, Q.; ZHANG, K.; ATA-UL-KARIM, S. T.; TIAN, Y.; ZHU, Y.; CAO, W.; LIU, X. Optimal leaf positions for SPAD meter measurement in rice. **Frontiers in Plant Science**, v.7, n.719, 2016.

ZANELLA, M.; BORGHI, G. L.; PIRONE, C.; THALMANN, M.; PAZMINO, D.; COSTA, A.; SANTELIA, D.; TROST, P.; SPARLA, F. β -Amylase 1 (BAM1) degrades transitory starch to sustain proline biosynthesis during drought stress. **Journal of Experimental Botany**, v.67, n.6, p.1819–1826, 2016.

ZHANG, R.; CRUZ, J. A.; KRAMER, D. M.; MAGALLANES-LUNDBACK, M. E.; DELLAPENNA, D.; SHARKEY, T. D. Moderate heat stress reduces the pH component of the transthylakoid proton motive force in light-adapted, intact tobacco leaves. **Plant, Cell & Environment**, v.32, n.11, p.1538–1547, 2009.

ZHANG, W. J.; WU, L. M.; DING, Y. F.; WENG, F.; WU, X. R.; LI, G. H.; LIU, Z. H.; TANG S.; DING, C. Q.; WANG, S. H. Top-dressing nitrogen fertilizer rate contributes to decrease culm physical strength by reducing structural carbohydrate content in japonica rice. **Journal of Integrative Agriculture**, v.15, n.5, p.992-1004, 2016.

ZHANG, Z.; ZHAO, H.; TANG, J.; LI, Z.; LI, Z.; CHEN, D.; LIN, W. A proteomic study on molecular mechanism of poor grain-filling of rice (*Oryza sativa* L.) inferior spikelets. **PLoS One**, v.9, n.2, 2014.

ZHU, C.; ZHU, J.; CAO, J.; JIANG, Q.; LIU, G.; ZISKA, L. H. Biochemical and molecular characteristics of leaf photosynthesis and relative seed yield of two contrasting rice cultivars in response to elevated CO₂. **Journal of Experimental Botany**, v.65, n.20, p.6049-6056, 2014.