

ESTABELECIMENTO DE PLÂNTULAS DE ARROZ MUTANTE SOB ESTRESSE DO ÁCIDO PROPIONICO

Maurício Marini Köpp¹, Viviane Köpp da Luz², Francisco José da Silva Ledo¹, Rogerio Oliveira de Sousa³, Antonio Costa Oliveira²

Palavras-chave: *Oryza sativa*; mutação; estresse abiótico.

Introdução

A região Sul do Brasil apresenta uma área de 6,8 milhões de hectares constituída por solos hidromórficos, que são cultivados predominantemente por arroz irrigado, que tem como característica principal a deficiência de O₂ no solo. Nesta situação os microorganismos anaeróbios passam a atuar por meio da fermentação da matéria orgânica presente no solo, produzindo elevada quantidade de produtos intermediários fitotóxicos como os ácidos acético, propiônico e butírico, que ocorrem na concentração de 0,1 mM a 14 mM e relação de 6:3:1, respectivamente (Bohnen et al., 2005).

Os sistemas de semeadura direta e cultivo mínimo de arroz irrigado prevêm a manutenção de resíduos vegetais sob a superfície do solo, ocorrendo maior produção destes ácidos (Johnson et al. 2006). A toxidez por ácidos orgânicos se manifesta, nas fases iniciais de desenvolvimento, por uma menor germinação, um menor crescimento radicular, menor peso e altura de plântulas (Köpp et al., 2008). Em casos de toxidez mais severa, os prejuízos ao crescimento se refletem em outras fases, ocorrendo menor afilhamento, menor absorção de nutrientes e menor rendimento de grãos (Camargo et al., 2001). O ácido propiônico, apesar de apresentar nível intermediário de fitotoxicidade e concentração na solução do solo, causa danos significativos ao estabelecimento inicial de plântulas de arroz na lavoura.

A incorporação de genes responsáveis pela tolerância aos ácidos orgânicos em cultivares de alta produtividade através da identificação e caracterização da variabilidade genética, poderá contribuir para o incremento da área cultivada no sistema de semeadura direta de arroz irrigado, e conseqüentemente, aumentar a produtividade, reduzindo os impactos ambientais do cultivo convencional e os custos de produção do cereal. A falta de variabilidade genética para caracteres relacionados ao sistema de raízes e a sua difícil identificação, são fatores que dificultam os trabalhos relacionados ao estresse abiótico sob o sistema de raízes das plantas (Waisel et al., 2002). Neste sentido, a indução de mutação tem sido utilizada para obtenção de variabilidade genética e aumento da produção mundial de grãos gerando bancos de mutantes para muitas características (Ahloowalia e Maluszynski, 2001). Além disso, a utilização de sistemas de hidroponia surge como alternativa para avaliações das raízes, apresentando correlações significativas com ensaios realizados em campo.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o desenvolvimento de plântulas de arroz submetidas à ação tóxica do ácido propiônico, determinar a variável mais responsiva ao estresse e avaliar a eficiência da indução de mutação com raios gama (⁶⁰Co) na obtenção de variabilidade genética para o caráter tolerância ao ácido propiônico em arroz mediante a utilização de sistema hidropônico.

Material e Métodos

A indução de mutação foi realizada em sementes de arroz cultivar BRS 7 "Taim", através da irradiação com raios Gama (⁶⁰Co). Para estabelecer a melhor dosagem, foram testadas seis doses do agente ionizante: 0, 25, 50, 100, 200, 400 Gy em amostras de 200 sementes que permaneceram em água destilada por uma hora, em seguida foram irradiadas e logo submetidas por mais uma hora em água corrente. A seguir foram semeadas em bandejas contendo areia como substrato e avaliadas quanto a germinação e presença de anomalias no sistema radicular e na parte aérea.

A seguir, 3000 sementes foram irradiadas na dose de 250 Gy conforme descrito anteriormente constituindo a população M₁. Estas sementes, foram semeadas em campo experimental para avanço de geração, e durante as gerações M₂ e M₃ foram selecionados mutantes para diversas características. Para

¹ Pesquisador da Embrapa Gado de Leite – CNPGL, Rua Eugênio do Nascimento, 610, cep: 36038-330, Juiz de Fora, MG. e-mail: kopp@cnpgl.embrapa.br

² Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Centro de Genômica e Fitomelhoramento.

³ Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Solos.

realização deste trabalho, 40 famílias M₄ foram selecionadas de maneira a melhor representar as principais possíveis mutações identificadas em estudos anteriores. Para constituição das parcelas experimentais, 120 sementes foram germinadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por 72 horas em papel filtro embebido em água, e transferidas para o sistema hidropônico. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com três repetições, sendo que a unidade experimental foi constituída de dez plântulas para cada repetição.

O sistema hidropônico utilizado foi composto de potes com capacidade de 5,5 L com solução nutritiva de "Clark" que permaneceram em tanque tipo "banho-maria" com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, aeração da solução nutritiva para suprimento de oxigênio, permitindo o desenvolvimento do sistema radicular e iluminação artificial controlada. As doses utilizadas foram: zero (controle); 3; 6; e 9 mM de ácido propiônico, e o pH foi ajustado para 4,7 com HCl 1N ou NaOH 1N, e monitorado diariamente.

Após 14 dias, as plântulas foram avaliadas quanto as seguintes caracteres: comprimento de raiz (CR) e parte aérea (CPA) em cm; número de raízes (NR); matéria seca de raízes (MSR) e de parte aérea (MSPA) em mg pesadas após secagem até peso constante em estufa com circulação de ar a 60°C . Os dados foram submetidos à análise de variância em um esquema fatorial considerando genótipos e doses como fatores fixos, análise de regressão linear simples da variável mais responsiva.

Resultados e Discussão

Os resultados do teste de dose do agente ionizante ^{60}Co indicaram a dose de 250 Gy para a indução de mutação em arroz cultivar BRS 7 Taim. Os resultados da análise de variância mostraram, efeitos significativos para doses, famílias e interações (doses x famílias), com exceção de efeito de doses para o caráter número de raízes (NR). Estes resultados indicam que a indução de mutação foi eficiente em gerar variabilidade genética para o caráter tolerância ao ácido propiônico, pois as famílias apresentaram respostas diferenciais quando submetidas aos níveis crescentes de ácido propiônico.

A variável CR foi a mais afetada pelo efeito do ácido propiônico com até 34,07% de desempenho relativo na dose de 9 mM. O CR foi a variável utilizada como dependente (y) para ajustar equações de regressão linear simples para cada família individualmente, tendo em vista presença de efeito significativo da interação entre os fatores testados, pois foi a mais responsiva a ação fitotóxica do ácido propiônico. Waisel et al. (2002) relataram que os ácidos orgânicos causam degradação das membranas celulares ocasionando inibição das funções respiratórias e conseqüente diminuição da divisão celular. Assim, plantas tolerantes devem possuir genes que confirmam maior capacidade de formação de membranas celulares que tolerem este ácido principalmente das raízes que estão em contato direto com o elemento tóxico.

Tabela 1. Desempenho relativo dos caracteres comprimento de raiz (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e matéria seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSPA), de 40 famílias mutantes M₄ de arroz, estudadas em solução nutritiva com 4 concentrações de ácido propiônico.

Variáveis	Desempenho relativo (%) *		
	3 mM	6 mM	9 mM
CR	78,17	56,60	34,07
CPA	81,65	69,66	55,42
NR	108,68	112,31	122,85
MSR	92,03	75,63	54,41
MSPA	81,53	65,14	53,16

* Reduções relativas tomando como referencial o valor absoluto no tratamento testemunha (dose 0 mM).

Os parâmetros das equações de regressão estabelecidos para a resposta das famílias frente aos níveis de ácido propiônico podem ser visualizadas na (Tabela 2). Os valores relativamente elevados obtidos para os coeficientes de determinação (R^2) permitem concluir que o ajuste de regressões lineares representa de maneira confiável o real comportamento das famílias em relação aos tratamentos utilizados. O bom ajuste de equações lineares aos dados observados em geral indica que as doses selecionadas se encontram em um intervalo de resposta da cultura frente ao efeito do ácido. As doses foram selecionadas de modo que a dosagem média utilizada proporcionasse uma redução em torno de 50 % no comprimento de raízes. Segundo resultados apresentados na Tabela 1, pode ser verificado que a escolha das doses utilizadas foi eficiente pois o desempenho relativo da variável CR foi de 56,60 %.

Pode ser observado na Tabela 2, que os coeficientes de regressão (b) da variável CR para as famílias mutantes, apresentaram valores entre -0,63 a -1,09. Esta diferença entre o comportamento das famílias foi considerada significativa através do teste F da interação doses x famílias da análise de variância. No entanto, não existe descrição de níveis de redução para considerar um genótipo tolerante, nem genótipos já classificados como tolerantes ou sensíveis para serem utilizados como testemunha. Então para avaliação da tolerância de cada família ao ácido propiônico, foi efetuado um teste t do valor do coeficiente de regressão (b) de cada família, onde os valores de coeficientes não significativos foram relacionados às famílias tolerantes, ou seja, coeficientes significativamente iguais a zero.

Tabela 2. Parâmetros das equações de regressão linear: interceptação no eixo y (a), coeficiente de regressão (b) e coeficiente de determinação (R^2) das 40 famílias mutantes M_4 e cultivar BRS 7 Taim de arroz avaliadas submetidas a quatro concentrações de ácido propiônico.

Família	Acesso CGF*	Parâmetros de regressão			Desempenho relativo***		
		a	b	R^2	3 mM	6 mM	9 mM
1	CGF-M ₄ -Ar-10	11,81	-0,96	0,87	70,74	41,66	32,45
2	CGF-M ₄ -Ar-12-1	11,55	-0,70**	0,77	75,43	90,39	33,53
3	CGF-M ₄ -Ar-12-2	12,87	-1,03	0,77	98,89	42,37	32,97
4	CGF-M ₄ -Ar-12-3	11,77	-0,87	0,82	63,97	56,35	33,25
5	CGF-M ₄ -Ar-12-4	12,33	-1,03	0,92	67,06	40,72	29,72
6	CGF-M ₄ -Ar-13	11,10	-0,77**	0,90	77,85	51,81	40,13
7	CGF-M ₄ -Ar-16	11,62	-0,72**	0,67	75,51	84,11	34,76
8	CGF-M ₄ -Ar-17	13,31	-1,05	0,79	100,21	46,48	32,97
9	CGF-M ₄ -Ar-18	11,81	-0,77**	0,72	67,36	76,24	32,84
10	CGF-M ₄ -Ar-19	13,59	-1,09	0,82	99,60	43,95	32,21
11	CGF-M ₄ -Ar-20-1	11,81	-0,79	0,72	61,01	69,61	33,92
12	CGF-M ₄ -Ar-20-2	10,50	-0,78	0,87	69,01	46,12	37,17
13	CGF-M ₄ -Ar-23	11,28	-0,91	0,79	57,81	39,86	33,44
14	CGF-M ₄ -Ar-24	10,63	-0,80	0,90	66,71	45,93	36,17
15	CGF-M ₄ -Ar-27	10,82	-0,80	0,81	57,56	50,99	34,93
16	CGF-M ₄ -Ar-44	11,35	-0,63**	0,93	82,57	92,33	39,39
17	CGF-M ₄ -Ar-50	13,18	-1,06	0,83	97,34	49,66	29,21
18	CGF-M ₄ -Ar-51	11,68	-0,89	0,89	79,33	44,75	35,67
19	CGF-M ₄ -Ar-68	10,69	-0,81	0,87	67,08	47,32	35,20
20	CGF-M ₄ -Ar-78	11,42	-0,81	0,93	76,68	52,78	38,02
21	CGF-M ₄ -Ar-87	11,81	-1,00	0,83	54,91	40,11	28,76
22	CGF-M ₄ -Ar-92	11,87	-0,91	0,91	78,78	52,23	32,12
23	CGF-M ₄ -Ar-105	10,99	-0,88	0,85	55,38	44,91	31,29
24	CGF-M ₄ -Ar-108	11,78	-0,70**	0,69	87,11	89,48	35,41
25	CGF-M ₄ -Ar-125	12,81	-1,02	0,81	100,40	49,06	30,20
26	CGF-M ₄ -Ar-208	11,39	-0,95	0,89	58,52	43,12	28,74
27	CGF-M ₄ -Ar-213-1	12,07	-1,05	0,84	52,02	39,04	26,81
28	CGF-M ₄ -Ar-213-2	12,55	-0,73**	0,76	99,82	87,16	40,42
29	CGF-M ₄ -Ar-237	13,35	-1,05	0,89	85,24	47,02	32,66
30	CGF-M ₄ -Ar-238	11,74	-0,67**	0,76	86,59	89,17	38,56
31	CGF-M ₄ -Ar-240	12,36	-0,90	0,80	101,24	54,87	35,84
32	CGF-M ₄ -Ar-245	11,77	-0,82	0,93	86,94	56,97	37,95
33	CGF-M ₄ -Ar-247	11,32	-0,82	0,88	80,31	48,20	38,91
34	CGF-M ₄ -Ar-252	12,57	-0,94	0,86	90,39	46,88	36,94
35	CGF-M ₄ -Ar-253	12,23	-0,92	0,90	80,70	58,81	30,25
36	CGF-M ₄ -Ar-300	11,55	-0,68**	0,66	88,46	90,82	35,92
37	CGF-M ₄ -Ar-309	12,71	-1,02	0,87	87,24	43,01	32,20
38	CGF-M ₄ -Ar-436	12,31	-1,04	0,87	56,10	38,46	29,88
39	CGF-M ₄ -Ar-444-1	11,17	-0,69**	0,57	64,75	87,60	31,47
40	CGF-M ₄ -Ar-444-2	12,21	-0,89	0,63	123,53	48,43	41,20
BRS 7	-	12,18	-0,92	0,97	74,71	51,90	33,25

* Referência do acesso no Banco de Germoplasma do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (UFPEL).

** Não significativo pelo teste t ao nível de ($p \leq 0,05$) para o modelo de regressão em 4 níveis de tratamento.

*** Desempenho relativo tomando como referencial o valor absoluto no tratamento testemunha (dose 0 mM).

Segundo os resultados apresentados na Tabela 2, pode ser constatado que as famílias 2; 6; 7; 9; 16; 24; 28; 30; 36 e 39 se mostraram tolerantes, apresentando coeficientes de regressão não significativos para o caráter comprimento de raiz submetidas a quatro níveis de ácido propiônico, totalizando 25% de famílias com mutações responsáveis pela melhoria no índice de tolerância relativa ao ácido. Na mesma tabela, também pode ser visualizado uma diminuição no índice de tolerância para as famílias 1, 3, 5, 8, 10, 17, 21, 25, 26, 27, 29, 34, 37 e 38 que apresentaram comportamento mais sensível que cultivar BRS 7 Taim não irradiada com ^{60}Co .

Na Figura 1, foram representadas graficamente e apresentadas as equações de regressão de duas famílias com elevado contraste no índice de tolerância ao ácido (10-sensível e 16-tolerante), além da

cultivar BRS 7 Taim não irradiada. Os resultados mostraram uma maior inclinação da reta representativa da regressão linear simples para a família 10 em relação a cultivar BRS 7 Taim confirmando sua maior sensibilidade as concentrações do ácido. Para a família 16 pode ser constatada uma menor inclinação da reta em relação a cultivar utilizada, demonstrando sua maior tolerância ao aumento dos níveis de ácido propiônico. Pode ser constatado que apesar da família 10 apresentar um crescimento médio de raízes superior (13,59 cm) na ausência do ácido (dose 0), o acréscimo na concentração do ácido ocasionou um maior efeito sob a plântula, diminuindo consideravelmente seu desenvolvimento de raiz. No caso da família 16 foi observado 11,35 cm de raiz na ausência do ácido (dose 0), e seu crescimento não foi tão reduzido pelo aumento da concentração do ácido, resultando em um maior comprimento radicular na dose 9 mM em relação a família 10, inicialmente superior em crescimento de raiz.

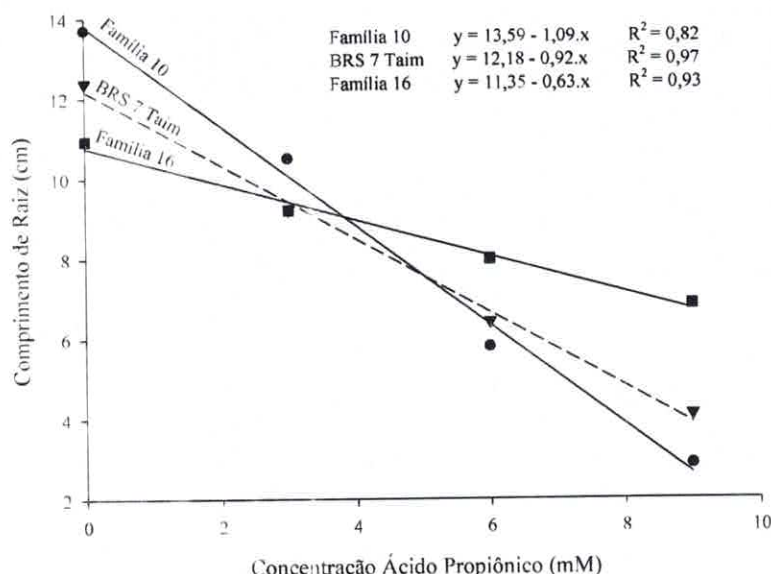


Figura 1. Efeito das concentrações de ácido propiônico sobre o crescimento de raízes das famílias 10 (sensível), 16 (tolerante) e da cultivar origem BRS 7 Taim não irradiada.

Conclusões

A indução de mutação com ^{60}Co na dose de 250 Gy gerou variabilidade na cultivar de arroz BRS 7 Taim com 25% e 35% de mutantes mais eficientes e menos eficientes, respectivamente, em tolerar o estresse por ácido propiônico.

A variável comprimento de raiz e doses de 3, 6 e 9 mM foram eficientes para estudos de tolerância ao ácido propiônico em sistema hidropônico.

Referências Bibliográficas

- AHLOOWALIA, B.S.; MALUSZYNSKI, M. Induced mutations - a new paradigm in plant breeding. *Euphytica*, v.119, p.167-173, 2001.
- BOHNEN, H.; SILVA, L.S.; MACEDO, V.R.M.; MARCOLIN, E. Ácidos orgânicos na solução de um gleissolo sob diferentes sistemas de cultivo com arroz irrigado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.29, p.475-480, 2005.
- CAMARGO, F.A.; ZONTA, E.; SANTOS, G.A.; ROSSIELLO, R.O.P. Aspectos fisiológicos e caracterização de toxidez a ácidos orgânicos voláteis em plantas. *Ciência Rural*, v.31, p.523-529, 2001.
- KÖPP, M. M.; LUZ, V.K.; COIMBRA, J.L.M.; MAIA, L.C.; SOUSA, R.O.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C. Evaluation of rice genotypes under propionate stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.39, p.1375-1384, 2008.
- MALUSZYNSKI, M.; AHLOOWALIA, A.; ASHRI, A.; NICTERIEIN, K.; VAN ZANTEN, L. Induced mutations in rice breeding and germplasm enhancement. In: 19TH Session of the International Rice Commission, Cairo. *Proceedings...*, Baltimore: IRRI, 1998, p.7-9.
- WASEL, Y.; ESHEL, A.; KAFKAFI, U. *Plant Roots: The Hidden Half*, New York: Marcel Dekker, 2002. 1120p.

VI CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO

Porto alegre, RS – Brasil
11 a 14 de agosto de 2009-07-20

Estresses e sustentabilidade: desafios para a lavoura arrozeira

ANAIS





**Estresses e sustentabilidade:
desafios para a lavoura arrozeira.**

ANAIIS