

Efeitos do ácido propiônico no desenvolvimento de plântulas mutantes de arroz

Mauricio Marini Kopp¹, Viviane Kopp da Luz², Naciele Marini³, Jefferson Luis Meirelles Coimbra⁴,
Fernando Irajá Félix de Carvalho⁵, Antonio Costa Oliveira⁵

RESUMO

Os solos do tipo hidromórfico apresentam como característica principal reduzida capacidade de drenagem natural, sendo utilizados principalmente para cultivo de arroz irrigado. Assim, a ocorrência de condições anaeróbias associada com a presença de matéria orgânica possibilita o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios que produzem substâncias fitotóxicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta de 40 famílias mutantes de arroz obtidas da indução de mutação do genótipo BRS 7 “Taim” à ação fitotóxica do ácido propiônico produzido nessas condições. O trabalho foi executado em sistema hidropônico com quatro doses de ácido propiônico (0; 3; 6 e 9 mmol/L). O delineamento utilizado foi blocos casualizados, em esquema fatorial com três repetições. As variáveis mensuradas foram comprimento de raízes e de parte aérea, número de raízes e massa seca de raízes e de parte aérea. Foram procedidos análise de variância num esquema fatorial, desempenho relativo e ajuste de regressões. Apenas o efeito de doses para o caráter número de raízes não foi significativo. O desempenho relativo do caráter comprimento de raízes foi o mais afetado pelo ácido, e as regressões estabelecidas para esse caráter mostraram que a indução de mutação com ⁶⁰Co induziu variabilidade para o caráter tolerância ao ácido propiônico no genótipo BRS 7 “Taim”.

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

ABSTRACT

Propionic acid effects on the development of rice mutant seedlings

Hydromorphic soils present as main feature a reduced natural drainage ability, being mostly used for growing irrigated rice in southern Brazil. Thus, the occurrence of anaerobic conditions associated to the presence of organic matter favors the development of anaerobic microorganisms that produce phytotoxic substances. The objective of this work was to evaluate 40 rice mutant families, obtained by mutation induction in genotype BRS 7 “Taim”, for the response to the phytotoxic action of propionic acid produced under these conditions. The experiment was performed in hydroponic culture with 4 propionic acid doses (0; 3; 6 e 9 mmol/L) arranged in a randomized block design with 3 replications. The variables root and shoot length, number of roots, root and shoot dry matter were measured. Variance analysis was performed using a factorial model, relative reduction and regression adjustment. Dose effect was not significant only for number of roots. Relative reduction for root length was the most affected by the acid and the regression established for this character showed that the mutation induction with ⁶⁰Co created variability for the character propionic acid tolerance in the genotype BRS 7 “Taim”.

Key words: *Oryza sativa*; mutation, abiotic stress.

Recebido para publicação em junho de 2007 e aprovado em outubro de 2009

¹ Engenheiro-Agrônomo, Doutor. Embrapa Gado de Leite. Rua Eugenio do nascimento, 610, Dom Bosco, 36038-330, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. kopp@cnppl.embrapa.br

² Engenheira-Agrônoma, Doutora. Centro de Genômica e Fitomelhoramento, Universidade Federal de Pelotas. Av. Eliseu Maciel, s/n, Campus Universitário, 96010-900, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. vivikp05@hotmail.com

³ Química, Pesquisadora Associada. Centro de Genômica e Fitomelhoramento, Universidade Federal de Pelotas. Av. Eliseu Maciel, s/n, Campus Universitário, 96010-900, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. nacy_marini@hotmail.com

⁴ Engenheiro-Agrônomo, Doutor. Professor do Departamento de Fitotecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina. Av. Luiz de Camões, 2090, Bairro Conta Dinheiro, 88520-000, Lages, Santa Catarina, Brasil. coimbrajefferson@cav.udesc.br

⁵ Engenheiro-Agrônomo, Ph.D. Professor do Centro de Genômica e Fitomelhoramento, Universidade Federal de Pelotas. Av. Eliseu Maciel, s/n, Campus Universitário, 96010-900, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. carvalho@ufpel.edu.br, acostol@terra.com.br

mantida por mais uma hora em água corrente. A seguir, as sementes foram semeadas em bandejas contendo areia como substrato e avaliadas quanto à germinação e presença de anomalias no sistema radicular e na parte aérea. Neste estudo foi estabelecida a dose de 250 Gy para a indução de mutação em arroz cultivar BRS 7 "Taim".

A seguir, 3000 sementes previamente hidratadas, conforme descrito anteriormente, foram irradiadas na dose de 250 Gy, constituindo a população M_1 . Essas sementes, após lavagem em água corrente por uma hora, foram semeadas em campo experimental para avanço de geração. Durante as gerações M_2 e M_3 foram selecionados mutantes para diversas características, dando origem às famílias utilizadas neste estudo (Zimmer *et al.*, 2003) (Tabela 1).

Para avaliação das famílias M_4 quanto a suas respostas ao ácido propiônico, 40 foram selecionadas do Banco de Germoplasma do CGF/UFPel de maneira a melhor representar as principais mutações identificadas em estudos anteriores (Tabela 1). Além das famílias utilizadas, foi avaliado também o cultivar não mutado BRS 7 "Taim". Para constituição das parcelas experimentais, 160 sementes de cada genótipo foram germinadas a 25 ± 1 °C por 72 horas em papel de filtro embebido em água, das quais foram selecionadas 120 plântulas com comprimento homogêneo de raiz de aproximadamente 5 mm e transferidas para o sistema hidropônico. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial com três repetições, sendo a unidade experimental constituída de 10 plântulas para cada repetição.

O sistema hidropônico utilizado foi composto de potes com capacidade de 5,5 L, com 10 divisões, o que permitiu a alocação de 10 unidades experimentais, ou seja, 10 plântulas de 10 famílias por pote (100 plântulas por pote), proporcionando uma relação de 55 mL de solução por plântula. Nesses potes foi adaptada uma tela de náilon que permitia a sustentação das plântulas e o crescimento do sistema radicular para o meio de cultivo. Os potes permaneceram em tanque tipo "banho-maria", com temperatura de 25 ± 1 °C, aeração da solução nutritiva para suprimento de oxigênio e iluminação artificial controlada ($160 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 14 horas).

A concentração da solução nutritiva utilizada foi: nitrato de cálcio – $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 4 mmol/L, sulfato de magnésio – MgSO_4 2 mmol/L, nitrato de potássio – KNO_3 4 mmol/L, sulfato de amônio – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,435 mmol/L, fosfato de potássio monobásico – KH_2PO_4 0,5 mmol/L, ácido bórico – H_3BO_3 10 $\mu\text{mol/L}$, molibdato de sódio – Na_2MoO_4 0,10 $\mu\text{mol/L}$, cloreto de sódio – NaCl 30 $\mu\text{mol/L}$, sulfato de zinco – ZnSO_4 0,8 $\mu\text{mol/L}$, sulfato de cobre – CuSO_4 0,3 $\mu\text{mol/L}$, sulfato de manganês – MnSO_4 2 mmol/L e ferro EDTA – $\text{FeSO}_4 + \text{Na}_2\text{EDTA}$ 10 $\mu\text{mol/L}$ (Camargo & Oliveira, 1981).

As doses foram constituídas por quatro concentrações para o ácido propiônico: zero (testemunha); 3; 6; e 9 mmol/L, com base em estudos anteriores de Rao & Mikkelsen (1977a), Camargo *et al.* (1993) e Sousa & Bortolon (2002), de modo que a dose média utilizada proporcionasse redução em torno de 50% no comprimento das raízes. O pH foi ajustado para 4,7 com HCl 1 mol/L ou NaOH 1 mol/L e monitorado diariamente, pois, segundo Rao & Mikkelsen (1977a) e Kopp *et al.* (2007b), o pH da solução nutritiva em experimentos com ácidos orgânicos é variável e interfere na toxicidade dos ácidos.

As plântulas permaneceram em solução nutritiva com doses de ácido propiônico por 14 dias. Após esse período, elas foram retiradas da tela de náilon e avaliadas quanto aos seguintes caracteres: comprimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), medidos da base do colmo até a extremidade da raiz ou folha de maior comprimento, em cm; número de raízes (NR); e massa de matéria seca de raízes (MSR) e de parte aérea (MSPA), em mg, pesados 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 (Steel & Torrie, 1980), análise de regressão linear simples da variável mais responsiva segundo método proposto por Camargo & Ferreira (1992) e cálculo do desempenho relativo de cada variável avaliada, tomando-se como referencial o valor absoluto no tratamento-testemunha (Freitas, 2003). Todas as análises foram realizadas com o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, 2002).

Como não se encontrou na literatura um percentual de redução nas características de crescimento que permita considerar um genótipo tolerante, e tampouco se encontraram genótipos já classificados como tolerantes ou sensíveis para serem utilizados como testemunha, para a avaliação da tolerância de cada família ao ácido propiônico foi efetuado um teste t do valor do coeficiente de regressão (b), em que os valores de coeficientes não significativos foram relacionados às famílias tolerantes, ou seja, coeficientes significativamente iguais a zero.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância (dados não apresentados) mostraram, pelo teste F, efeitos significativos, a 5 % de probabilidade, para doses, famílias e interações (doses x famílias), com exceção de efeito de doses para o caráter número de raízes (NR). Esses 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 de ácido propiônico utilizados neste trabalho.

Tabela 2. Desempenho relativo médio (%) dos caracteres comprimento de raiz (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e massa de matéria seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSPA) de 40 famílias mutantes M_4 e cultivar BRS 7 “Taim” de arroz cultivadas em solução nutritiva com quatro concentrações de ácido propiônico

Variáveis	Desempenho relativo (%) *		
	3 mmol.L ⁻¹	6 mmol.L ⁻¹	9 mmol.L ⁻¹
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 mmol.L⁻¹).

co, indicando, assim, a razão principal para o menor crescimento radicular e acúmulo de matéria seca.

Os resultados da avaliação do desempenho relativo, associados aos resultados da análise de variância, permitem concluir que as famílias apresentam respostas diferenciais em relação ao efeito das doses, devido a suas interações significativas para todos os caracteres avaliados. Dessa forma, foram ajustadas equações de regressão linear simples para cada família individualmente, tomando como variável dependente (y) o caráter comprimento de raiz (CR), que foi o mais responsivo à ação fitotóxica do ácido propiônico (Tabela 2).

Os parâmetros das equações de regressão estabelecidos para a responsividade das famílias frente aos níveis de ácido propiônico no experimento podem ser visualizados na Tabela 3. Os valores relativamente elevados obtidos para os coeficientes de determinação (R^2) permitem concluir que o modelo linear simples apresentou bom ajuste em relação aos dados observados. O bom ajuste de equações lineares aos dados observados em geral indica que as doses selecionadas encontram-se em um intervalo de resposta da cultura frente ao efeito do ácido (Camargo & Ferreira, 1992).

Pode ser observado na Tabela 3 que os coeficientes de regressão (b) para o grupo de famílias utilizadas apresentaram valores com variação entre -0,63 a -1,09. Essa amplitude de variação no decréscimo do valor de CR para os genótipos avaliados quando submetidos às doses com ácido propiônico foi considerada significativa pelo teste F da interação doses x famílias na análise de variância.

Segundo os resultados apresentados na Tabela 3, pode-se constatar que as famílias 2, 6, 7, 9, 16, 24, 28, 30, 36 e 39 mostraram-se mais tolerantes, apresentando coeficientes de regressão não significativos para o caráter comprimento de raiz, quando submetidas a quatro níveis de ácido propiônico, totalizando 25% de famílias com mutações responsáveis pela melhoria do índice de tolerância relativa ao ácido propiônico.

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 do cultivar BRS 7 “Taim” não mutado. Os resultados mostraram maior inclinação da reta representativa da regressão linear simples para a família 10 em relação ao cultivar BRS 7 “Taim”, confirmando sua maior sensibilidade às concentrações do ácido. Para a família 16 pode ser constatada menor inclinação da reta em relação ao cultivar utilizado, demonstrando sua maior tolerância ao aumento das doses 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 maior efeito sobre a plântula, diminuindo consideravelmente seu desenvolvimento de raiz. No caso da família 16, obtiveram-se 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 maior comprimento radicular na dose 9 mmol/L em relação à família 10, inicialmente superior em crescimento de raiz.

Contrastando os resultados obtidos nas regressões com os dados apresentados na Tabela 1, foi possível associar a essas famílias (tolerantes e sensíveis) sua caracterização morfológica previamente realizada no sistema de raízes, em que, as famílias 2 e 28 apresentaram excesso de pilosidade, as famílias 6, 7, 24 e 36 crescimento desuniforme e as famílias 9, 30 e 39 ausência de raiz principal (excesso de raízes secundárias). Assim, pode-se supor que estes caracteres estejam correlacionados com a tolerância ao ácido, principalmente com relação à maior capacidade de emissão de raízes secundárias e de pilosidade, sendo necessários estudos futuros relacionados à fisiologia e bioquímica do efeito do ácido no siste-

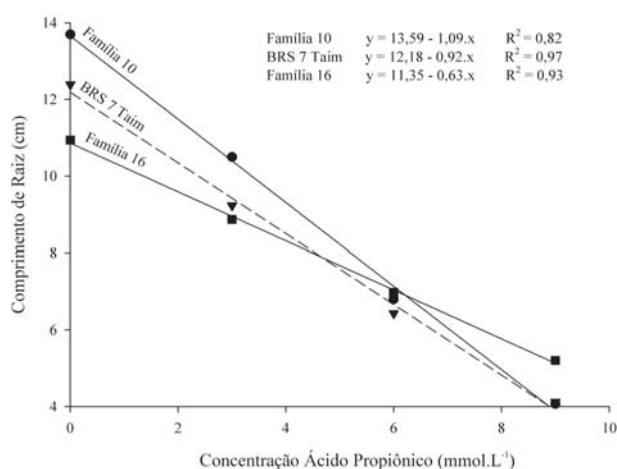


Figura 1. Efeito das concentrações de ácido propiônico sobre o comprimento de raízes das famílias 10 (sensível), 16 (tolerante) e do cultivar origem BRS 7 “Taim” não mutada.

CONCLUSÕES

A indução de mutação com ^{60}Co na dose de 250 Gy gerou variabilidade na resposta ao ácido propiônico em famílias mutantes de arroz cultivar BRS 7 “Taim”, aumentando e diminuindo o desempenho do cultivar frente à ação fitotóxica do ácido propiônico.

Dez famílias M_4 (25%) apresentaram tolerância superior ao ácido propiônico e 14 famílias M_4 (35%) foram menos eficientes em tolerar as concentrações do ácido em relação ao cultivar BRS 7 “Taim” não mutado.

A variável comprimento de raiz é a mais afetada pelo efeito fitotóxico do ácido propiônico. Os níveis de até 9 mmol/L de ácido propiônico causam redução relativa apropriada para estudos de tolerância ao ácido propiônico em sistema hidropônico.

REFERÊNCIAS

- Ahloowalia BS & Maluszynski M (2001) Induced mutations - a new paradigm in plant breeding. *Euphytica*, 119: 167-173.
- Armstrong J & Armstrong W (2001) Rice and *Phragmites*: effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere. *American Journal of Botany*, 88: 1359-1370.
- Bilinski JJ & FOY CD (1987) Differential tolerances of oat cultivars to aluminum in nutrient solutions and in acid soils of plant. *Journal of Plant Nutrition*, 10: 129-141.
- Bohnen H, Silva LS, Macedo VRM & Marcolin E (2005) Ácidos orgânicos na solução de um gleissolo sob diferentes sistemas de cultivo com arroz irrigado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 29: 475-480.
- Camargo OCE & Ferreira AWP (1992) Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de manganês em solução nutritiva. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 27: 417-422.
- Camargo OCE & Oliveira OF (1981) Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. *Bragantia*, 49: 21-23.
- Camargo FA, Santos GA & Rossiello ROP (1993) Efeito dos ácidos acético e butírico sobre o crescimento de plântulas de arroz. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 28: 1011-1018.
- Camargo FA, Zonta E, Santos GA & Rossiello ROP (2001) Aspectos fisiológicos e caracterização de toxidez a ácidos orgânicos voláteis em plantas. *Ciência Rural*, 31: 523-529.
- Coimbra JLM, Carvalho FIF & Oliveira AC (2004) Genetic variability induced by chemical and physical mutagenic agents in oat genotypes. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 4: 1-7.
- Duncan RR & Baligar VC (1990) Genetics, breeding, and physiological mechanisms of nutrient uptake and use efficiency: an overview. In: Baligar VC & Duncan RR (Eds.) *Crops as Enhancers of Nutrient Use*. San Diego, Academic Press, p.3-35.
- Freitas FA (2003) Dissimilaridade genética em arroz (*Oryza sativa* L.) quanto a toxicidade ao alumínio. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 69p.
- Kahl G & Lavi U (2001) Mutant germplasm characterisation using molecular markers. Viena, FAO-IAEA. 77p.
- Kopp MM, Luz VK, Coimbra JLM, Sousa RO, Carvalho FIF & Oliveira AC (2007a) Níveis críticos dos ácidos acético, propiônico e butírico para estudos de toxicidade em arroz em solução nutritiva. *Acta Botanica Brasílica*, 21: 147-154.
- Kopp MM, Luz VK, Silva VN, Coimbra JLM, Maia LC, Carvalho FIF & Oliveira AC (2007b) Efeito do pH da solução nutritiva na fitotoxidez causada por ácidos orgânicos em arroz. *Magistra*, 19: 40-46.
- Maki H (2002) Origins of spontaneous mutations: Specificity and directionality of base-substitution, frameshift, and sequence-substitution mutageneses. *Annual Reviews Genetics*, 36: 279-303.
- Maluszynski M, Ahloowalia A, Ashri A, Nichterlein K & Van Zanten L (1998) Induced mutations in rice breeding and germplasm enhancement. In: 19TH Session of the International Rice Commission, Baltimore. Proceedings, IRRI. p.7-9.
- Pandini F, Carvalho FIF & Barbosa Neto JF (1997) Plant height reduction in populations of triticale (*X triticosecale* Wittmack) by induced mutations and artificial crosses. *Brazilian Journal of Genetics*, 20: 483-488.
- Ponnamperuma FN (1965) Dynamic aspects of flooded soils and the nutrition of the rice plant. In: Symposium on the Mineral Nutrition of the Rice Plant, Baltimore. Proceedings, IRRI. p.295-328.
- Rao DN & Mikkelsen DS (1977a) Effect of acetic, propionic, and butyric acids on young rice seedlings growth. *Agronomy Journal*, 69: 923-928.
- Rao DN & Mikkelsen DS (1977b) Effects of acetic, propionic, and butyric acids on rice seedlings growth and nutrition. *Plant and Soil*, 47: 323-334.
- Sousa RO (2001) Oxirredução em solos alagados afetada por resíduos vegetais. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Pelotas. 164p.
- Sousa RO & Bortolon L (2002) Crescimento radicular e da parte aérea do arroz (*Oryza sativa* L.) e absorção de nutrientes em solução nutritiva com diferentes concentrações de ácido acético. *Revista Brasileira de Agrociência*, 8: 231-235.
- Statistical Analysis System (2002) SAS: Statistical Analysis System - Getting Started with the SAS[®] Learning Edition. Cary, NC, SAS Institute. 86p.
- Steel RGD & Torrie JH (1980) Principles and procedures of statistics: a biometric approach. 2.ed. New York, McGraw-Hill. 633p.
- Tulmann Neto A, Camargo CEO, Alves MC, Santos RR & Freitas JG (1995a) Indução de mutação visando obtenção de resistência a doenças na cultivar de trigo IAC-24. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 30: 497-504.
- Tulmann Neto A, Peixoto T, Alves MC, Oliveira JCV, Menten JOM & Athayde M (1995b) Indução de mutação na cultivar de soja IAC-8 visando à obtenção de precocidade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 30: 237-244.
- Wright RJ (1989) Soil aluminum toxicity and plant growth. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 20: 1479-1497.
- Zimmer PD, Mattos LAT, Oliveira AC, Carvalho FIF, Magalhães Júnior A, Kopp MM & Freitas FA (2003) Identification of rice mutants (*Oryza sativa* L.) for agronomical and root system traits. *Revista Brasileira de Agrociência*, 9: 195-199.