



## IDENTIFICAÇÃO DA TOLERÂNCIA A BAIXA TEMPERATURA DE MUTANTES DE ARROZ (*Oryza sativa*)

### COLD TOLERANCE IDENTIFICATION OF RICE MUTANTS (*Oryza sativa*)

**Autores:** Adelino do AMARAL, Jaqueline Souza Lima, Felipe ESTEVÃO, Jackson Pereira KORB, Jamille Santos da SILVA, Giselle Camargo MENDES.

**Identificação autores:** Bolsista PIBIT/CNPq, Estudante de Especialização em Agronomia, IFC - campus Rio do Sul, Bolsista CNPq, Bolsista CNPq, Co-Orientadora IFC-Campus Rio do Sul, Orientadora IFC-Campus Rio do Sul.

### RESUMO

O arroz apresenta sensibilidade a baixas temperaturas, assim a utilização da mutação induzida pode ser uma alternativa para a geração de cultivares com alta variabilidade genética. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da mutação (dose) em resposta ao estresse por baixa temperatura. Inicialmente foi verificado o tempo de exposição ao frio (12°C por 8 dias) e mutantes foram selecionados, com maior e menor produtividade, em M2 de cada tratamento: controle, 250, 275 e 300 Gy. Os resultados mostraram que no tratamento 250 Gy os acessos apresentaram maior percentual de germinação quando comparado aos outros tratamentos.

**Palavras-chave:** Engenharia Genética. Variabilidade Genética. Estresse abiótico

### ABSTRACT

Rice is sensitive to low temperatures, so the use of induced mutation may be an alternative for the generation of cultivars with high genetic variability. The objective of this study was to verify the effect of mutation in response to low temperature stress. Initially the cold exposure time (12 ° C for 8 days) was verified and mutants were selected, with higher and lower productivity, in M2 of each treatment: control, 250, 275 and 300 Gy. The results showed that in the 250 Gy treatment the accessions presented higher germination percentage when compared to the other treatments.

**Keywords:** Genetic Engineering. Genetic variability. Abiotic Stress

### INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O arroz está entre os cereais mais consumidos do mundo e no Brasil, e constitui o alimento básico da população. O seu consumo *per capita* se situa em 25 kg/ano (CONAB, 2015). O país é o nono maior produtor mundial e a região sul do Brasil, especialmente nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, é a maior produtora. A área ocupada com a cultura do arroz representa mais da metade da área cultivada nacional (cerca de 1,3 milhão de hectares nas últimas safras) e responde por mais de 77% da produção de arroz do país, ao considerar a média dos últimos cinco anos (CONAB, 2015).

O arroz irrigado em Santa Catarina é cultivado em aproximadamente 149.000 hectares, distribuído em cinco regiões distintas por suas condições geográficas e edafoclimáticas: Alto, Médio e Baixo Vale do Itajaí, Litoral Norte e região Sul de Santa Catarina (EPAGRI 2017). A orizicultura catarinense é conduzida em 100% da área no sistema conhecido como pré-germinado, no qual a semeadura é efetuada em lâmina de água, com sementes pré-germinadas. E o estado de Santa Catarina detém um dos maiores índices de produtividade do Brasil, 7,1 t/ha (EPAGRI 2017).

A temperatura limite tolerada pelo arroz na fase reprodutiva é 15-17°C (SOUZA, 2015; SOSBAI, 2016). Com esta ampla área geográfica utilizada para cultivos de arroz, temperaturas não favoráveis ao desenvolvimento das plantas podem ocorrer em um ou mais estádios de desenvolvimento. A faixa de temperatura ótima para a cultura se encontra entre 25°C e 30°C, e temperaturas inferiores a 20° C, dependendo do estágio de desenvolvimento, são prejudiciais (YOSHIDA,1981), sendo comuns em áreas temperadas e subtropicais ou nas regiões de altitude elevada nos trópicos (NANDA & SESHU, 1979).

O quarto relatório científico do IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change* ou Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas) AR4 apresenta evidências de mudanças de clima que podem afetar significativamente o planeta, especialmente nos extremos climáticos, com maior rigor nos países menos desenvolvidos na região tropical. Assim, as alterações climáticas poderão afetar, em grandes proporções, a agricultura em todo o planeta. Neste contexto, ferramentas biotecnológicas podem ser empregadas para desenvolver cultivares de arroz que sejam tolerantes aos efeitos da mudança climática global, e que possam ser adaptadas para a região do Alto Vale do Itajaí. A utilização de mutação induzida em sementes de arroz poderá desenvolver plantas que venham a desenvolver características de interesse genético adaptáveis as mudanças climáticas que vem ocorrendo ao longo dos anos.

A utilização de mutações como fonte de variabilidade constitui, desde a metade do século XX, ferramenta adicional na busca de novas variedades (GAUL, 1970). A radiação gama é considerada um dos principais indutores de mutação e de aberrações cromossômicas estruturais (PIMENTEL, 1990). Este trabalho teve como objetivo a identificação de acesso de arroz (*Oryza sativa* L.), dentro de um banco de germoplasma, oriundos da tecnologia de mutação induzida, que seja tolerante a temperaturas baixas, podendo futuramente ser utilizadas por produtores de Santa Catarina.

## **METODOLOGIA**

### **Obtenção do banco de germoplasma**

O experimento foi conduzido no Instituto Federal Catarinense – IFC Campus de Rio do Sul em Santa Catarina. Sementes de arroz das cultivar CL 121 foram cedidas pela EPAGRI estação experimental de Itajaí. Tais sementes foram utilizadas para a indução de mutação, com raios gama. As diferentes dosagens foram: 0 (controle: cultivar SCS 121 CL sem exposição à radiação), 250, 275 e 300 Gy com taxa de 15,24 Gy por minuto. As sementes foram então semeadas a lanço em campo e foram coletados 1500 acessos (M1), sendo cada acesso resultante das

sementes produzidas por uma planta, as quais apresentaram melhores características, tais como alto teor de clorofila, porte ereto, ciclo tardio e ciclo precoce.

### **Implantação e condução da geração M2**

Para a implantação da geração M2 foram utilizadas sementes oriundas da M1, ao todo eram 1500 acessos (plantas) por bloco, em 3 blocos, gerando 3 repetições de cada acesso (planta). A implantação se iniciou com a produção das mudas nas bandejas em ambiente protegido. Já em campo as mudas foram colocadas no espaçamento de 10 cm entre plantas e 25 entre linhas, cada bloco tinha a área de total de 40 m<sup>2</sup> (8x5).

### **Determinação do tempo de exposição ao frio**

Foi realizado um experimento preliminar com o objetivo de determinar o tempo de exposição ao frio que reduza a taxa de germinação no tratamento testemunha (cultivar SCS 121 CL não mutada). Assim, as sementes foram submetidas a cinco tratamentos mais a testemunha. Todos os tratamentos foram submetidos a 28 °C por 48 hs para simular o efeito da pré-germinação que é realizado no sistema de produção de Santa Catarina. Posteriormente, os tratamentos foram submetidos ao frio de 12°C por 4, 8, 12, 16 e 20 dias, com posterior retorno a temperatura de 28 °C. Ao final do experimento foi realizada a análise da taxa de germinação dos tratamentos, da presença de plantas normais e anormais.

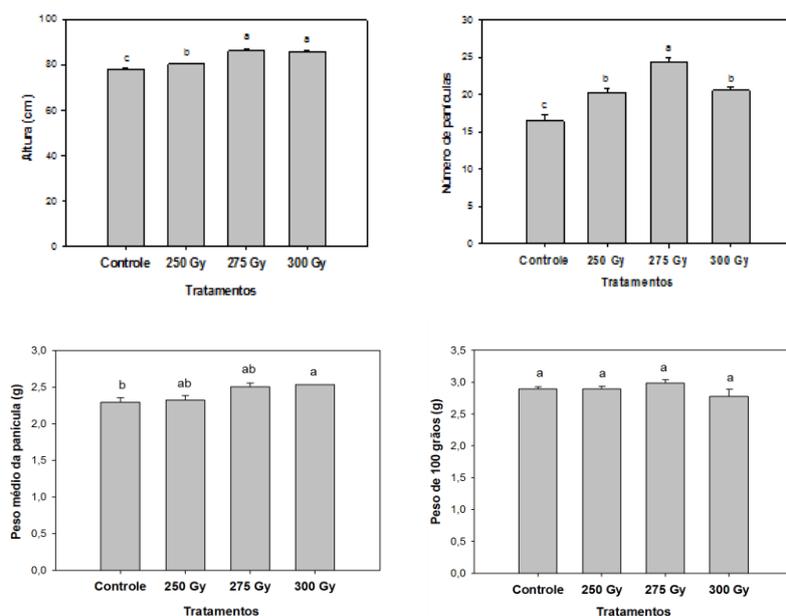
### **Identificação de acessos de arroz tolerantes ao frio**

Após a determinação do tempo de exposição ao frio, foram escolhidos 50 acessos do banco de germoplasma sendo 8 acessos com menor produtividade e 8 acessos com maior produtividade em M1 de cada tratamento 250, 275 e 300 Gy, totalizando 48 acessos irradiados (verificado no campo na fase M1 em experimento já realizado) juntamente com dois materiais não irradiados como testemunha (cultivar SCS 121 CL não mutada). Esses 50 acessos foram submetidos a 28 °C por dois dias, com posterior exposição ao frio de 12°C durante o tempo determinado no experimento e retorno para 28 °C até completar 22 dias de experimento.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **Obtenção do banco de germoplasma**

Para a obtenção da geração M2, a geração M1 foi implantada em quatro tratamentos: 0 (controle: cultivar SCS 121 CL sem exposição à radiação), 250, 275 e 300 Gy, visando a coleta das plantas com melhor desempenho visual. No final do ciclo da cultura foram coletadas as plantas com as melhores características, alto teor de clorofila, porte ereto, ciclo tardio e ciclo precoce, e demais características desejáveis para o cultivo da região.



**Figura 1.** Altura de planta e número de panículas por planta com relação ao tratamento.

**FONTE:** Korb et al. (2018)

Podemos observar nas figuras acima disponibilizado por Korb, 2019, que no quesito altura de planta os tratamentos com maior indução de radiação obtiveram melhores resultados, que 275 e 300 Gy não tiveram diferença significativa entre si, porém teve-se diferença deles com os demais. Em relação ao número de panículas o tratamento de 275 Gy demonstrou-se com melhor desempenho, apresentando diferença significativa entre os demais. Tanto em peso médio da panícula como peso de 100 grãos não teve-se resultado com muita diferença entre os tratamentos, ou seja, esse fator independe da concentração de radiação. Ainda segundo Korb, 2018, as produtividades de acordo com cada tratamento foram: controle de 7,6 toneladas/ha, 250 Gy 9,5 toneladas/há, 275 Gy 12,2 toneladas/há, 300 Gy 10,4 toneladas/há, mostrando que na medida que aumentou a concentração da radiação até 275 Gy, aumentou-se também a produtividade do acesso, porém em 300 Gy já se obteve uma certa redução de produtividade (dados não mostrados).

## Determinação do tempo de exposição ao frio

Após a obtenção do banco de germoplasma, acessos mutantes foram selecionados a fim de identificar a melhor temperatura e tempo de exposição, que poderá ter interferência efetiva na pré-germinação da sementes de arroz.

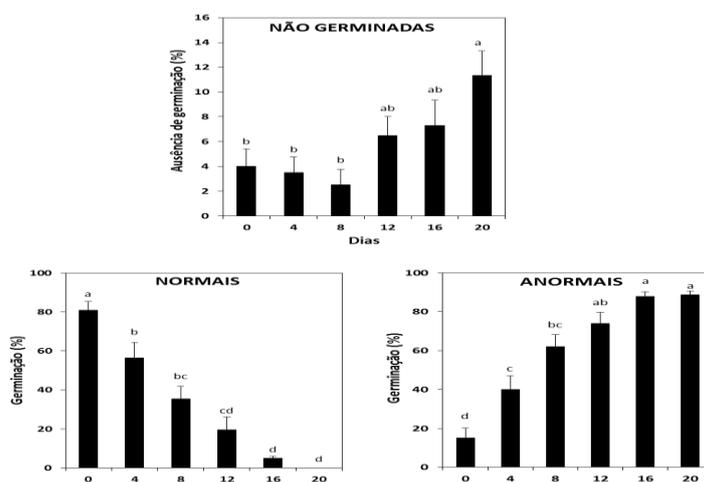
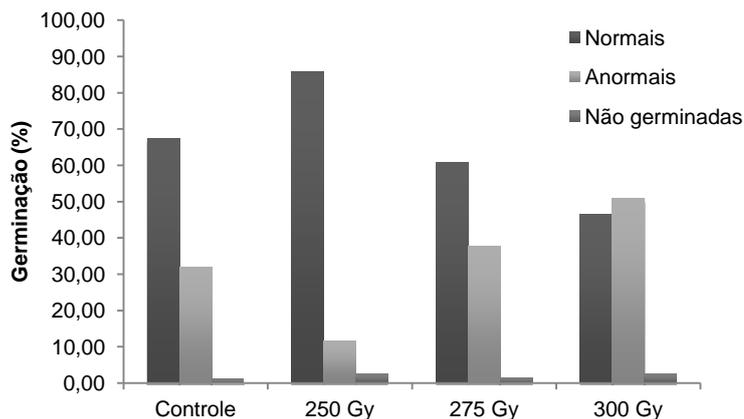


Figura 2. Temperatura e tempo de exposição ao frio.

Aos 8 dias foi onde ocorreu menor porcentagem de plantas não germinadas, e com 20 dias um maior número de plantas não germinadas (Figura 2). Em plantas normais em 0 dias de exposição ao frio obteve-se aproximadamente 80% de germinação se destacando e apresentando diferença significativa entre as demais. Já para as plantas anormais a taxa de germinação foi alta somente quando se aproximou-se dos 20 dias. Podemos verificar que próximo aos 8 dias além de ter uma boa germinação de plantas normais e anormais, temos também resultados bastante reduzidos para plantas não germinadas. Desta forma, experimentos futuros que visam identificar acessos tolerantes serão realizados.

Após o experimento inicial em que foi determinado o tempo de exposição ao estresse por frio (8 dias) a 12°C foram verificados o percentual da germinação dos acessos em relação a mutação. Assim, o resultado mostra que a mutação induzida na dose 250 Gy favoreceu uma maior porcentagem de germinação, e baixa porcentagem de anormalidade no processo de germinação. (Figura 3).



**Figura 3.** Porcentagem de germinação de acessos mutantes de arroz em relação as doses.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da mutação induzida permitiu gerar um banco de germoplasma com a obtenção de plantas da geração M1, conforme o trabalho de Korb (2018). A realização de experimentos na casa de vegetação foram imprescindíveis para a obtenção de possíveis acessos (plantas) que apresentem tolerância ao estresse por frio. Assim, diante da continuidade deste projeto, será possível tentar identificar o mecanismo de tolerância destas plantas ao estresse abiótico utilizado, visando obtenção de plantas tolerantes ao cenário de mudanças climáticas globais.

### REFERÊNCIAS

- Aggarwal, P. K., & Mall, R. K. Climate change and rice yields in diverse agro-environments of India. II. Effect of uncertainties in scenarios and crop models on impact assessment. *Climatic Change*, 52, 331–343. 2002.
- Broertjes, C.; Harten, A.M. van. Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops. Amsterdam: Elsevier. 1988.
- Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. 2000.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento (Org.). ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA, GRÃOS: Monitoramento agrícola. Brasília, 2019. V. 6 - SAFRA 2018/19- N. 6 - Sexto levantamento | MARÇO 2019. Disponível em: <[https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/25183\\_cb54efd57f6232cedcc6c0c7f53522a](https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/25183_cb54efd57f6232cedcc6c0c7f53522a)>. Acesso em: 05 jun. 2019.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento (Ed.). Acompanhamento da safra brasileira, grãos: Monitoramento agrícola. Brasília, 2018. V. 5 - SAFRA 2017/18- N. 10 - Décimo levantamento | JULHO 2018. Disponível em: <[https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/21088\\_8ca248b277426bb3974f74efa00abab6](https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/21088_8ca248b277426bb3974f74efa00abab6)>. Acesso em: 05 jun. 2019.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. A cultura do arroz / organizador Aroldo Antonio de Oliveira Neto. – Brasília: Conab, 2015.

EBERHARDT, D.S.; SCHIOCCHET, M.A. (Orgs.). *Recomendações para a produção de arroz irrigado em Santa Catarina (Sistema pré-germinado)*. Florianópolis: Epagri, 2015. 92p. Disponível em: <[http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao\\_tecnico\\_cientifica/DOC\\_36829.pdf](http://intranetdoc.epagri.sc.gov.br/producao_tecnico_cientifica/DOC_36829.pdf)>. Acesso em: 05 jun. 2018.

European Environmental Agency (EEA) *Global and European temperature (CSI 012/CLIM 001), Assessment May 2011*. Copenhagen (Disponível: <http://www.eea.europa.eu/data-and-maps/indicators/global-and-european-temperature/global-and-european-temperature-assessment-4>: Acesso 10.02.2016). 2011.

EPAGRI –Empresa Agropecuária e Extensão Rural do Estado de Santa Catarina. Disponível: <http://www.epagri.sc.gov.br/> Acesso em: 05 de janeiro de 2018.

FAO/IAEA. *Mutant Varieties databases*. Disponível em: <<http://www.iaea.org/MDV/>>. Acesso em: 17 dez 2009.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Santa Catarina. Disponível em <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/uf.php?lang=&coduf=42&search=santa-catarina>>. Acesso e 26 de dezembro de 2017.

IPCC *Climate change 2007: the physical science basis*. In: Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt K, Tignor MMB, Miller HL (eds) *Working group 1 contribution to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change (IPCC)*. Chapters 3 (observations: surface and atmospheric climate change), 10 (global climate projections), 11 (regional climate projections). Cambridge University Press, Cambridge. 2007.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. *IPCC: Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. Working Group I contribution to the IPCC Fifth Assessment Report (AR5). Thirty -sixth session of the IPCC Stockholm, 26 Sept. 2013. 37 p.

KORB, Jacson Pereira et al. *Utilização de mutação induzida em sementes de arroz (oryza sativa) visando a obtenção de um banco de germoplasma nas condições de cultivo na região do ALTO VALE DO ITAJAÍ-SC.: Anais da XIX FETEC*. Feira de Conhecimento Tecnológico e Científico 29 e 30 de agosto de 2018.

Li, T., Hasegawa, T., Yin, X. Y., Zhu, Y., Boote, K., Adam, M., Gaydon, D. (2015). *Uncertainties in predicting rice yield by current crop models under a wide range of climatic conditions*. *Global Change Biology*, 21, 1328–1341.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. *Projeções do Agronegócio Brasil 2014/15 a 2024/25. Projeções de Longo Prazo*. AGE/MAPA. Brasília. 2015b, 133a.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. *Valor Bruto da Produção Agropecuária*. Disponível em < <http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso e 26 de dezembro de 2017.

Matthews, R. B., Kropff, M. J., & Bachelet, D. D. *Modeling the impact of climate change on rice production in Asia*. Wallingford, CT: CAB International. 1995.

Matthews, R. B., Kropff, M. J., Horie, T., & Bachelet, D. *Simulating the impact of climate change on rice production in Asia and evaluating options for adaptation*. *Agricultural Systems*, 54, 399–425. 1997.

SILVA, Jamille Santos da; LIMA, Jaqueline Souza. TOLERÂNCIA A TEMPERATURAS BAIXAS DE ACESSOS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) EM UM GERMOPLASMA INDUZIDO POR MUTAÇÃO NAS CONDIÇÕES DE CULTIVO NA REGIÃO DO ALTO VALE DO ITAJAÍ-SC. 2019. Instituto Federal Catarinense – Campus Rio do Sul, 2019.

Ramalho, M.A.P.; Santos, J.B.; Pinto, C.A.B.P. Genética na agropecuária. São Paulo: Globo. 359p. 1994.

Tao, F., Hayashi, Y., Zhang, Z., Sakamoto, T., & Yokozawa, M. Global warming, rice production, and water use in China: Developing a probabilistic assessment. *Agricultural and Forest Meteorology*, 148,94–110. 2008.

Tran L S, Quach TN, Guttikonda SK, Aldrich DL, Kumar R, Neelakandan A, Valliyodan B, Nguyen H. Molecular characterization of stress-inducible *GmNAC* genes in soybean. *Molecular Genetics Genomics*.281(6):647-64. 2009.

Tran L.S.; Mochidas, K. Identification and prediction of abiotic stress responsive transcription factors involved in abiotic stress signaling in soybean. *Plant Signal Behavior*.5(3):255-7. 2010.

Tulmann Neto, A.; Latado, R. R.; Cesar dos Santos, P.; Boliani, A. Use of *in vitro* mutation induction for resistance to *Fusarium* wilt in the banana. In: *The Use of Induced Mutations and Molecular Techniques for Crop Improvement*. IAEA, Vienna. p.641-642. 1995.

USDA 2015. World Agricultural Supply and Demand Estimates <http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>. Acesso em 26 de dezembro 2017.

Van Harten, A. M. Mutation breeding: Theory and practical applications. Cambridge: Cambridge University Press, 353p. 1998.