

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



Tese

**Aspectos morfológicos e moleculares associados ao caráter tolerância ao
encharcamento em trigo**

Juliana Severo Castelo Branco

Pelotas, 2008

Juliana Severo Castelo Branco
Bióloga (UCPel)

**Aspectos morfológicos e moleculares associados ao caráter tolerância ao
encharcamento em trigo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Fitomelhoramento).

Orientador: Antonio Costa de Oliveira, Ph.D. – FAEM/UFPeI

Co-orientador: Fernando Irajá Félix de Carvalho Ph.D. – FAEM/UFPeI

Pelotas, 2008

Banca Examinadora:

Prof. Ph.D. Antonio Costa de Oliveira - UFPel (presidente)

Prof. Dr. Luciano do Amarante - UFPel

Prof. Ph.D. José Fernandes Barbosa Neto - UFRGS

Pesquisador. Dr. Enrique Moliterno - UFPel

Pesquisador, Dr. Ariano Martins de Magalhães Jr. – Embrapa Clima Temperado

Dedico este trabalho

Às pessoas que sempre estiveram e que estão ao meu lado, de forma incondicional.
Apoiando-me, estimulando, socorrendo e, que são o melhor da minha essência.

Aos meus pais Waldoir e Dinorá, aos meus irmãos Marcelo e Cátia.

Ao meu esposo Alexandre e minha Filhona Ana Júlia.

O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,
mas na intensidade com que elas acontecem.
Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas
incomparáveis.

(Fernando Pessoa)

Agradecimentos

A Deus, sempre presente, conhecedor de todos os detalhes que procuramos entender, luz primordial em nossas vidas.

Ao professor Antonio Costa de Oliveira, agradeço pela orientação, amizade e pela constante dedicação, durante todo o período que estive sob sua orientação.

Ao professor Fernando Irajá Félix de Carvalho, agradeço pelos ensinamentos, pela compreensão e pela amizade.

À Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade de realizar o curso de Pós-Graduação, junto ao Centro de Genômica e Fitomelhoramento.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos meus grandes amigos e colegas e professores que me ajudaram e me incentivaram, pela grande amizade e pelas horas de convívio durante o desenvolvimento deste trabalho, em especial à: Luciano Carlos Maia, Mauricio Marini Kopp, Velci Queiroz, Adriana Soares, Claudete Mistura, Andreza Dionello, Naciele Marini, Daniel da Rosa Farias, Profa. Denise Colares, Prof. Luciano do Amarante, Prof. José Antonio Gonzáles, Prof. Odir Dellagostin e seus orientados: Sibebe Borsuk, Fabiana Seixas, Luciano Pinto, Michel Fagundes.

Aos bolsistas de Iniciação Científica: Henrique de Souza Luche, Solange da Silveira Silveira, pela grande ajuda durante as avaliações dos experimentos.

Ao funcionário Silvesnei que sempre dedicado e atencioso de alguma forma contribui para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos pesquisadores da Embrapa Clima Temperado Arian Magalhães Junior, Paulo Ricardo Fagundes e Caroline Castro, pelo apoio e colaboração.

Se eu pudesse deixar algum presente a você,
deixaria aceso o sentimento de amor à vida dos seres humanos.
A consciência de aprender tudo o que nos foi ensinado pelo tempo afora.
Lembraria os erros que foram cometidos, como sinais para não mais se repetissem.
A capacidade de escolher novos rumos.
Deixaria para você, se pudesse, o respeito aquilo que é indispensável: além do pão,
o trabalho e a ação.
E, quando tudo mais faltasse, para você eu deixaria, se pudesse, um segredo. O de
buscar no interior de si mesmo a resposta para encontrar a saída.

(Mahatma Gandhi)

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	10
Lista de Figuras	12
Lista de Tabelas	15
1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Introdução à Cultura do Trigo	19
2.2 Origem, domesticação e descrição botânica	20
2.3 Melhoramento de trigo no Brasil	20
2.4 Ambiente para seleção	22
2.5 O excesso de água no solo	23
2.6 Efeitos morfofisiológicos em plantas sob déficit de O ₂	26
2.7 Mecanismos de tolerância ao encharcamento em plantas	28
2.8 Enzima álcool desidrogenase (<i>ADH</i>)	28
2.9 Filogenia Molecular	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Avaliações em casa de vegetação	34
3.2 Localização de seqüências nucleotídicas do gene <i>ADH</i> e Filogenia Molecular	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Análises de Regressões	41
4.2 Análise de agrupamentos	61
4.3 Filogenia Molecular	71
5. CONCLUSÃO	80
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
7. VITA	92

RESUMO

Castelo Branco, Juliana Severo. **Aspectos morfológicos e moleculares associados ao caráter tolerância ao encharcamento em trigo** 2008. 90 p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

Entre os cereais, o trigo (*Triticum aestivum* L.) é a mais importante cultura, alcançando a terceira maior produção de grãos no mundo sobrepujado apenas pelo milho e arroz. O trigo é cultivado sob diversas condições ambientais, apresentando alta capacidade de produção de grãos, qualidade nutricional e alto grau de adaptabilidade. No Estado do Rio Grande do Sul, aproximadamente 5,4 milhões de hectares são considerados solos hidromórficos e são principalmente utilizados para cultivo de arroz e pastagem, devido a sua baixa capacidade de drenagem. Anualmente, apenas um milhão de hectares está sendo utilizado para o cultivo de arroz, deixando grandes quantidades de terras para o cultivo de culturas forrageiras. Portanto, existe um forte desafio para programas de melhoramento no desenvolvimento de genótipos capazes de tolerar esse ambiente, com uma boa relação custo/benefício para os agricultores. A fim de suprimir o déficit energético provocado pelas condições de hipoxia, várias espécies redirecionam suas vias metabólicas, a fim de garantir a produção extra ATP resultantes do aumento das taxas de fermentação. Nessas espécies, um grupo de proteínas que catalisam a glicólise e metabolismo de açúcares, como a enzima álcool desidrogenase (*ADH*), é sintetizada seletivamente. O objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade de seleção de genótipos de trigo tolerantes ao estresse por alagamento, em casa de vegetação, utilizando diferentes períodos de alagamento intercalados com drenagem. Além disso, estimar o grau de conservação do gene *ADH1* em algumas espécies de plantas. Os resultados indicam que é possível a detecção de variabilidade genética para o caráter tolerância ao alagamento em casa de vegetação. A condição de oito dias de alagamento revelou que os genótipos BRS

120 e BRS 208 foram as mais tolerantes e os genótipos CD 111 e BRS 194 foram as mais sensíveis. A análise filogenética molecular obtida para o álcool desidrogenase (*ADH1*), indica que os membros *Poaceae* apresentaram um elevado grau de conservação. As espécies mais próximas foram *Saccharum officinarum* e *Zea mays*, apresentando maior identidade de nucleotídeos. A espécie modelo para plantas monocotiledôneas (*Oryza sativa*) apresenta uma maior dissimilaridade quanto ao restante das espécies de *Poaceae*, sugerindo que esta enzima tenha adquirido níveis de funções ou mutações que foram selecionadas sob a condição alagamento.

Palavras-chaves: Encharcamento, Álcool desidrogenase (ADH), *Triticum aestivum* L.

ABSTRACT

Castelo Branco, Juliana Severo. Morphological and **molecular factors associated to flooding tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.)**. 2008. 90p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

Among the cereals, wheat (*Triticum aestivum* L.) is the most important crop reaching the third largest grain production in the world. Wheat is cultivated under many different environmental conditions, presenting high grain yield capacity, nutritional quality and high degree of adaptability. In the State of Rio Grande do Sul, Brazil, approximately 5.4 million hectares are considered hydromorphic soils and are mostly used for rice farming and cattle grazing, due to its low drainage capability. Annually, only one million hectares are cultivated with rice, leaving large amounts of land without cropping or cultivated with forage crops. Therefore, there is a strong challenge for breeding programs to develop genotypes capable of tolerating this environment, with a satisfactory cost/benefit ratio for farmers. In order to suppress the energy deficit provoked by hypoxic conditions, several species redirect their metabolic pathways in order to guarantee the extra ATP production resulting from an increase in fermentation rates. In those species, a group of proteins that catalyze glycolysis and phosphate sugar metabolism such as the enzyme alcohol dehydrogenase (*ADH*), is selectively synthesized. The objective of this work was to verify the possibility of selecting wheat genotypes tolerant to flooding stress, in the greenhouse, by using different periods of flooding conditions alterned with draining periods. Also, to estimate the degree of conservation of the *ADH₁* gene in some plant species. The results indicate that it is possible to detect genetic variability for the character flooding tolerance in greenhouse. The condition of eight days of flooding revealed that the genotypes BRS 120 and BRS 208 were the most tolerant and the genotypes CD 111 and BRS 194 were the most sensitive. The molecular phylogenetic analysis obtained for the alcohol dehydrogenase (*ADH₁*), indicates that Poaceae members present a high degree of conservation. The closest species were

Saccharum officinarum and *Zea mays*, presenting higher nucleotide identity. The model species (*Oryza sativa*) presented a higher dissimilarity regarding the remaining species of the Poaceae, suggesting that this enzyme has acquired novel functions and or mutations that were selected under the flooding condition.

Keywords: Flooding, alcohol dehydrogenase,, *Triticum aestivum* L.

Lista de Figuras

Figura 1- Metodologia utilizada para manter a lâmina de água.....	34
Figura 2- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável estatura de planta (EP) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	43
Figura 3- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável N°de afilhos (NA) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	45
Figura 4- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável cor (Cor) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	47
Figura 5- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável diametro do colmo (DC) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	48
Figura 6- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável matéria fresca da raiz (MFR) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	49
Figura 7- Parâmetro da equação de regressão e respectiva representação gráfica da variável matéria seca da raiz (MSR) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	50
Figura 8- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável matéria fresca da parte aérea (MFPA) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	52
Figura 9- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável matéria seca da parte aérea (MSPA) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	54
Figura 10- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável N° de afilhos férteis (NAF) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	56

Figura 11- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável massa de espiga (ME) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.....	57
Figura 12- Parâmetro da equação de regressão e respectiva representação gráfica da variável nº de grãos por espiga (NGP/E) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.	58
Figura 13- Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável rendimento de planta (RP) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS,	59
Figura 14- Parâmetro da equação de regressão e respectiva representação gráfica da variável massa média de grãos (MMG) avaliada em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS,	60
Figura 15- Dendrograma obtido a partir da análise dos dados morfológicos de plantas de trigo submetidas a diferentes tempos de inundação do solo, por meio da distância de Mahalanobis e método de agrupamento UPGMA.....	69
Figura 16- Genótipos de trigo submetidos aos tratamentos de encharcamento e inundação. Pelotas-RS,.....	70
Figura 17 – A) estrutura gênica da <i>ADH1</i> em arroz, B) estrutura gênica do gene <i>ADH1</i> em Arabidopsis. Pelotas RS.....	71
Figura 28 – Alinhamento entre a seqüência do gene <i>ADH1</i> do arroz contra somente as regiões de CDS (regiões expressas) Pelotas - RS.....	72
Figura 19 – Alinhamento entre as seqüência expressas do gene <i>ADH1</i> do arroz contra mRNA do trigo. Pelotas - RS.....	73
Figura 20 – Árvore filogenética da seqüência da álcool desidrogenase depositado no NCBI e TIGR construída com auxílio do programa MEGA, previamente alinhadas com o programa Clustal-W. Os valores representam porcentagem(%) de vezes que as seqüências agruparam juntas em 1000 ciclos de autoamostragem (bootstrapping). Pelotas – RS, 2008	75
Figura 21 – Alinhamento global dos genes da <i>ADH1</i> em espécies de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas, pelo programa Clustal - W. Pelotas - RS, 2008.....	76

Lista de Tabelas

Tabela 1- Lista dos genótipos utilizados no estudo. Pelotas – RS, 2008.....	31
Tabela 2- Análise de variância, média e coeficiente de variação (CV) para as variáveis: estatura de planta (EP), número de afilhos (NA), cor, diâmetro do colmo (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), número de afilhos férteis (NAF), rendimento de planta (RP), massa de espiga (ME), número de grãos por espiga (NGP/E), massa média de grãos (MMG) de 12 genótipos de trigo, estudados quanto a tolerância ao encharcamento. Pelotas – RS, 2007.....	36
Tabela 3- Análise de porcentagem de plantas sobreviventes de 12 genótipos de trigo, estudados quanto a tolerância ao encharcamento em diferentes dias de inundação. Pelotas – RS, 2007.....	37
Tabela 4- Agrupamento dos genótipos de trigo no tratamento controle pelo método de otimização de Tocher, com base em nos 12 caracteres morfológicos. Pelotas –RS. 2007.....	60
Tabela 5-Contribuição relativa dos caracteres para o cálculo da distância genética entre os genótipos de trigo no tratamento condição de campo, baseada na estatística de SINGH (1981). Pelotas – RS, 2007	61
Tabela 6- Agrupamento dos genótipos de trigo no tratamento 2 dias de inundação pelo método de otimização de Tocher, com base em nos 12 caracteres morfológicos. Pelotas –RS, 2007.....	62
Tabela 7- Contribuição relativa dos caracteres para o calculo da distancia genética entre os genótipos de trigo no tratamento 2 dias de inundação, baseada na estatística de SINGH (1981). Pelotas – RS, 2007	62
Tabela 8- Agrupamento dos genótipos de trigo no tratamento 4 dias de inundação pelo método de otimização de Tocher, com base em 12 caracteres morfológicos. Pelotas –RS. 2007.....	63

Tabela 9- Agrupamento dos genótipos de trigo no tratamento 8 dias de inundação pelo método de otimização de Tocher, com base em nos 12 caracteres morfológicos. Pelotas –RS. 2007	64
Tabela 10- Contribuição relativa dos caracteres para o cálculo da distância genética entre os genótipos de trigo no tratamento 4 dias de inundação, baseada na estatística de SINGH (1981). Pelotas – RS, 2007	65
Tabela 11- Contribuição relativa dos caracteres para o calculo da distancia genética entre os genótipos de trigo no tratamento 8 dias de inundação, baseada na estatística de SINGH (1981). Pelotas – RS, 2008	66

1. INTRODUÇÃO

Entre os cereais, o trigo (*Triticum aestivum* L.) é a cultura de maior importância econômica, sendo cultivado sob as mais variadas condições de ambientes, apresentando grande capacidade de produtividade de grãos, qualidade nutricional e elevado grau de adaptabilidade. Esta adaptabilidade deve-se provavelmente ao nível de ploidia do seu genoma, que é hexaplóide (SCHIFFINO-WITTMANN, 2004). A cultura do trigo, segundo dados do departamento da FAO (*Food And Agriculture Organization Of The United Nations*), detém a terceira maior produção de grãos em nível mundial, sobrepujado apenas pelo milho e arroz, alcançando a produção de 605 milhões de toneladas na safra de 2006 (FAO, 2007).

No Brasil, a produção anual oscila entre 5 e 6 milhões de toneladas, sendo cultivado nas regiões Sul (RS, SC e PR), Sudeste (MG e SP) e Centro-oeste (MS, GO e DF). O consumo anual no país tem se mantido em torno de 10 milhões de toneladas e cerca de 90% da produção de trigo está no Sul do Brasil. Entretanto, o cereal vem sendo introduzido paulatinamente na região do cerrado (EMBRAPA Trigo, 2007).

Estes dados reforçam a demanda tecnológica no Brasil para garantir aumento na produção da cultura do trigo, principalmente na obtenção de novas constituições genéticas, mais adaptadas e com alto potencial de produtividade a diferentes regiões de cultivo.

As grandes perdas nas lavouras de trigo sejam por fatores bióticos e/ou abióticos foram relatadas por CAETANO (1977), como sendo uma das maiores dificuldades para o melhor desempenho da cultura no sul do Brasil. Isto é devido principalmente, à redução de área verde da planta, pois segundo este autor as folhas do trigo são fortemente atacadas por moléstias biotróficas e necrotróficas, oportunistas de ambiente úmidos. Além disto, o desenvolvimento e a produção de espécies vegetais que são cultivadas em solos mal drenados são prejudicados devido à falta de oxigênio livre no solo (VARTAPETIAN; JACKSON, 1997).

A extensão de danos decorrentes do encharcamento do solo depende de vários fatores, incluindo a duração do período de saturação, o estágio de desenvolvimento da planta, a espécie e as condições de ambiente. O alagamento temporário ou contínuo dos solos é resultado de períodos prolongados de chuvas e da irrigação e drenagem inadequada, limitando espécies à sobrevivência com baixa produtividade.

Aproximadamente 5,4 milhões de hectares no Rio Grande do Sul são consideradas áreas de solos hidromórficos, fazendo com que a exploração, na maioria dos casos, fique em torno do binômio arroz-pecuária.

Estes solos apresentam um “Horizonte B” com características que dificultam a drenagem natural mantendo a água no solo por longos períodos, trazendo prejuízos para outras culturas cultivadas após o arroz (MATTOS, 2004). Além disto, a área ocupada anualmente com a cultura do arroz está estimada aproximadamente em um milhão de hectares (IRGA, 2007). O restante destas áreas permanece em pouso ou é utilizada com pastagens, resultando em sub-aproveitamento destes solos para a produção de grãos (SCHOLLES, 2004).

Portanto, existe uma forte necessidade que programas de melhoramento venham a desenvolver constituições genéticas tolerantes ao encharcamento, com capacidade de manter relação custo/benefício e que possibilite retorno econômico da cultura nessas áreas.

A fim de suprimir o déficit de energia promovido pela hipoxia, com a paralisação da respiração aeróbica, algumas espécies redirecionam as vias metabólicas para garantirem a produção extra de ATP pelo aumento na taxa de fermentação (DAVIES, 1980; SETTER; ELLA, 1994). Nessas espécies, um grupo de proteínas que catalisam reações da glicólise e do metabolismo de açúcares fosfatados, notadamente, a enzima Álcool Desidrogenase (*ADH*), é seletivamente sintetizada (SACHS et al., 1980), determinando ser, em certos casos, essencial para a sobrevivência de plantas sob hipoxia (LEMKE-KEYES; SACHS, 1989).

A capacidade das plantas tolerarem baixos índices de oxigênio é variável conforme a espécie e compreende desde o milho, que não sobrevive por mais de 72 h, quando suas raízes estão em anoxia (SACHS et al., 1980), até aquelas que são capazes de germinar, crescer e permanecerem viáveis por várias semanas sob o estresse, como algumas espécies do gênero *Echinochloa*, *Oryza sativa* L. e *Acorus*

calamus L. (BUCHER; KUHLEMEIER, 1993; MUJER et al., 1993; FOX et al., 1994; ZHANG et al., 1994), dentre outras.

O objetivo do presente trabalho foi verificar a possibilidade da seleção de genótipos de trigo tolerantes ao estresse por inundação, em casa de vegetação, através do emprego de solo característico de várzea com distintos tempos de exposição a inundação. Ainda, estimar o grau de conservação em nível de sequência de nucleotídeos da enzima Álcool Desidrogenase (*ADH₁*) de algumas espécies vegetais de importância agronômica.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Introdução à Cultura do Trigo

O trigo é o cereal mais cultivado no mundo sobrepujado pelo milho e arroz, considerado o principal grão comestível, representando 20% do total de calorias consumidas atualmente pela humanidade. É uma planta anual, autógama e que apresenta uma enorme variabilidade (mais de 25.000 cultivares diferentes).

O trigo possui uma ampla adaptação, sendo cultivado em áreas com 65° latitude norte até 45° latitude sul. Entretanto, apresenta maiores dificuldades de adaptação em zonas tropicais.

O Brasil já foi o principal produtor de trigo da América Latina, sendo um grande exportador deste cereal até a primeira década do século XIX (LAGOS, 1983). Por uma série de razões econômicas, comerciais, técnicas e especialmente a susceptibilidade à ferrugem do colmo, o país passou a ser um importador sistemático de grãos de trigo.

A cultura do trigo tem se caracterizado por ciclos bem definidos de expansão e retração, seguindo as políticas governamentais de estímulo e desestímulo, favorecendo com que a área semeada com o cereal oscile constantemente. Entretanto, os rendimentos de grãos obtidos com o trigo têm sido crescentes, demonstrando a eficiência dos programas de melhoramento genético em desenvolver variedades com alto potencial de rendimento e com qualidade de panificação similares a dos trigos argentinos e canadenses.

Com o atual potencial de rendimento das novas variedades, o Brasil tem condições técnicas de produzir todo o trigo necessário para o seu consumo interno, basta estabelecer uma política de estímulo contínua e o desenvolvimento de genótipos ajustados às distintas regiões de cultivo.

2.2 Origem, domesticação e descrição botânica

O trigo é uma das espécies mais antigas, essencial para o desenvolvimento da agricultura e da civilização atual.

A domesticação do trigo foi fundamental para a produção de uma grande quantidade de alimento em virtude do seu grande valor nutricional.

O centro de origem do trigo localiza-se no centro Asiático, “Oriente próximo”, vai das montanhas de Zagro (Irã e Iraque) até as montanhas Taurim na Turquia e as montanhas a sudoeste do mar Mediterrâneo, local aonde representa também o centro de maior diversidade da espécie.

Pertence a tribo *Triticeae*, grupo economicamente importante da família *Poaceae*, a hibridação entre gêneros dentro da tribo possibilitou a troca de constituições genéticas e deu origem a espécies poliplóides.

O trigo forma uma série de poliplóides, com número básico de cromossomos igual a sete, diplóides ($2n = 2x = 14$), tetraplóides ($2n = 4x = 28$) e hexaploides ($2n = 6x = 42$). O trigo cultivado (*Triticum aestivum* L.) é um hexaplóide ($2n=6x=42$), formado por três genomas distintos AA, BB e DD. O conjunto cromossômico A teve origem a partir de *Triticum monococcum*, o D de *Triticum tauschii* (MORRIS; SEARS, 1967).

2.3 Melhoramento de trigo no Brasil

Nos séculos XVI começaram os trabalhos voltados para o melhoramento de plantas cultivadas, através de intercâmbio de material genético, hibridações artificiais e seleções planejadas.

O Brasil jamais deixou de produzir trigo desde o início da colonização. Os genótipos de trigo trazidos para o Brasil, pelos imigrantes, e por iniciativas governamentais foram fatores de grande incentivo do cultivo deste cereal.

Em 1909, o governo de São Paulo criou o campo experimental para a cultura de trigo, em Itapetininga. Várias ações do governo começaram a apoiar a implementação da cultura no Brasil.

O melhoramento genético no Brasil começou, com a criação, pelo Ministério da Agricultura, de estações experimentais em Alfredo Chaves (hoje Veranópolis), RS, e em Ponta Grossa-PR (ALVES DE SOUZA; ROSA, 1985). A iniciativa do engenheiro químico Jorge Polysú representa um marco histórico para o melhoramento deste cereal no país. Em 1914 ele selecionou dois sacos de sementes em Guaporé-RS e no Paraná desenvolveu a cultivar Polysú.

Em 1922, o governo brasileiro convidou o eminente geneticista sueco Hermann Nilson-Ehle para trabalhar no melhoramento de trigo no Brasil. Como o professor Nilson-Ehle já tinha idade avançada, indicou seu assistente, Dr. Iwar Beckman, que chegou ao Brasil em 1924 e foi para estação experimental de Alfredo Chaves. Em 1925 Beckman realizou os primeiros cruzamentos de trigo no país e logo foi transferido para São Luis Gonzaga e depois para Estação Experimental de Bagé. Lá Beckman, deu continuidade aos seus trabalhos e fez uma série de estudos em genética e desenvolveu diversas variedades mais precoces, com excelente rendimento de grãos (SOUZA, 2004).

Uma de suas variedades foi um marco não só para o Brasil, mas como para inúmeros programas de melhoramento no exterior. A variedade Frontana é consagradamente a variedade brasileira de trigo mais utilizada para cruzamentos no exterior, desde seu lançamento em 1942, porque possui entre outras características, dois genes de resistência à ferrugem-da-folha, em plantas adultas. Esta variedade combinou na época uma série de características importantes, como ciclo precoce, resistência ao alumínio tóxico do solo, porte mais baixo e resistência as principais moléstias.

Na estação experimental de Bagé os trabalhos de Beckman foram conduzidos até a sua morte em 1971. Beckman foi inovador buscando soluções antecipadas para os problemas, profundo conhecedor da genética e da planta de trigo, desenvolveu variedades que mudaram o patamar do rendimento e do tipo agrônômico do trigo.

Em 1934, a Secretaria da Agricultura do Estado de Minas Gerais criou o Instituto Agrônômico em Belo Horizonte, onde trabalhos de melhoramento de trigo foram desenvolvidos por Idelfonso Correa. Os principais trigos criados em Belo Horizonte foram BH1146 e Horto, ambos originados do mesmo cruzamento (Fronteira X Mentana) (LAGOS,1983).

A partir de 1937 o Governo Federal voltou a investir na pesquisa com trigo e criou estações experimentais em diversos estados da federação.

Já a década de 1970 foi muito fértil em termos de iniciativas para o desenvolvimento de trabalhos de melhoramento de trigo, propiciando a criação de centros de pesquisas por cooperativas agrícolas no Rio Grande do Sul e no Paraná, além da criação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).

Na década de 1970, a cultura do trigo no Brasil apresentou grande expansão na área de cultivo. Antes, a produção limitava-se, praticamente, aos estados do RS, SC, PR, expandindo a partir de então, para as regiões norte e oeste do PR, fazendo com que esse estado se tornasse o maior produtor da cultura do trigo no Brasil no ano de 1977, após longa hegemonia do estado do RS, nas décadas anteriores. O trigo também alcançou expressivas áreas em SP, MS, MG, DF.

Atualmente, os programas de melhoramento genético de trigo no Brasil têm alcançado grandes progressos no aumento da produtividade, da tolerância/resistência a moléstias, estresses de ambiente, melhoria dos caracteres agrônômicos e de qualidade industrial.

Os principais objetivos dos programas de melhoramento de trigo são: resistência a moléstias e pragas como ferrugem e pulgão respectivamente, melhor qualidade nutricional, melhor adaptação aos diferentes ambientes, sistemas de cultivos e incremento no rendimento de grãos (SOUZA, 2004).

2.4 Ambiente para seleção

O melhoramento de plantas consiste em criar variabilidade, selecionar genótipos desejáveis e com testes em diferentes ambientes, para um ajuste que permita a expressão máxima do seu potencial produtivo.

A existência de respostas diferenciadas de genótipos, aos efeitos de ambiente, tem sido freqüentemente constatada no trigo cultivado. Esta interação, além de influenciar os ganhos genéticos, dificulta a recomendação de genótipos para ambientes distintos.

Deste modo, o melhor ambiente para o incremento na eficiência do programa de melhoramento, principalmente em função do rendimento de grãos (caráter quantitativo), tem sido um grande obstáculo dos melhoristas (HILL et al., 1998;

BENIN et al., 2005), basicamente pelos custos deste processo (ALLEN et al., 1977) e da dificuldade de identificar constituições genéticas com adaptabilidade e estabilidade a todas as áreas de cultivo no Sul do Brasil. Uma estratégia de seleção em ambientes que promovam a maximização da variação e ganho genético, a partir do incremento na herdabilidade e testes em ambientes representativos do local de cultivo da espécie a ser melhorada, tem sido sugerida por Byrne et al. (1995) e Carvalho et al. (2002).

Hoje, mesmo evidenciando todos esses benefícios, a cultura do trigo encontra dificuldades para se consolidar em regiões que apresentam condições de ambiente prejudicadas por solos hidromórficos de difícil drenagem, que conseqüentemente, limitam o desenvolvimento da cultura, fazendo com que a exploração de áreas na maioria dos casos fique em torno do binômio arroz-pecuária (MATTOS, 2004).

Neste sentido, a existência de variabilidade genética para o caráter tolerância a inundação e seleção sob esses ambientes de cultivo, podem permitir a identificação de constituições genéticas portadoras de genes de estresse, principalmente em solos que apresentam um horizonte B com características que dificultam a drenagem natural e trazem prejuízos para outras espécies cultivadas após o arroz.

2.5 O excesso de água no solo

De uma maneira geral, as plantas para se desenvolverem necessitam de um ponto de equilíbrio entre a quantidade de água disponível no solo e o espaço ocupado pelo ar no solo.

A composição do ar no solo é semelhante à da atmosfera, porém, são observadas algumas diferenças, principalmente, no teor de O_2 e CO_2 . No solo, a concentração de CO_2 é maior devido aos processos metabólicos. Já, a concentração de O_2 é menor do que na atmosfera devido ao consumo por microorganismos e pelo sistema radicular das plantas. Contudo, as concentrações desses elementos não são constantes. Os teores de O_2 e de CO_2 podem variar de acordo com a distribuição das chuvas, as atividades biológicas do solo, a espécie cultivada, a profundidade e o tipo de solo, e das práticas de manejo e cultivo (BAVER; GARDENER, 1973; LARCHER, 2000).

Em solos bem drenados, a respiração aeróbia do sistema radicular das plantas e dos microorganismos consome cerca de 5 a 24 g O₂ m⁻² dia⁻¹ (JACKSON; DREW, 1984). Nessas condições, a transferência interna do O₂ das folhas para raízes não é suficiente para suprir as necessidades de O₂ nos tecidos das raízes na maioria das plantas. Para evitar deficiência de O₂ ou excesso de CO₂ na rizosfera as trocas gasosas entre a atmosfera e o solo devem ocorrer rapidamente (REICHARDT, 1996). O movimento dos gases entre a atmosfera e o solo resulta do fluxo de massa ocasionado por variações de temperatura, da pressão atmosférica, da velocidade do vento, das precipitações e também do fluxo por difusão (PONNAMPERUMA, 1972).

Dentre estes processos, a difusão é considerada o principal mecanismo responsável pelo movimento de gases entre os meios. Fatores como a compactação do solo, a incorporação de matéria orgânica e o excesso de água no solo podem afetar significativamente este intercâmbio (STEPNIEWSKI, et al, 1994).

Nos solos hidromórficos que apresentam topografia plana evitando a drenagem superficial, freqüentemente ocorrem inundações e oscilações da profundidade do lençol freático ocasionados por problemas de drenagem, precipitações intensas, cheias de rios ou lagos e da irrigação excessiva. Nessas condições, o espaço poroso do solo é totalmente preenchido pela água, interrompendo o intercâmbio gasoso existente entre a atmosfera e o solo. Isso porque, as trocas gasosas em solos saturados, são menores do que em solos não saturados, pois a difusão do oxigênio na água é 10.000 vezes mais lenta do que no ar (PATRICK; MAHAPATRA, 1968; SANCHEZ, 1976). Como conseqüências ocorrem modificações nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, que afetam o desenvolvimento e a produtividade das plantas (VOESENEK et al., 1992).

Com a saturação do solo, a respiração das raízes das plantas torna-se significativamente comprometida, devido à diminuição (hipoxia) ou falta de oxigênio (anoxia). A atividade respiratória constitui uma das mais importantes e necessárias rotas metabolismo vegetal, com sua diminuição, torna-se o fator mais importante para a redução do desenvolvimento das culturas. O suprimento de O₂ utilizado na respiração vegetal em condições normais difunde-se do ar do solo até as raízes, fenômeno drasticamente reduzido quando ocorre a saturação do meio com água (CRUCIANI, 1981). Com o excesso de água, freqüentemente as condições do solo

tornam-se adversas por duas razões: 1) redução e até eliminação do ar e das alterações gasosas do solo e 2) redução de nutrientes.

As alterações da composição gasosa do solo são caracterizadas pela redução do oxigênio, resultando na formação de uma grande quantidade de compostos reduzidos, especialmente de manganês e ferro. Ocorre também o aumento da quantidade de CO₂, e com isso a disponibilidade de cálcio se altera. O equilíbrio entre os hidróxidos e carbonatos de cálcio é mantido pelo ácido carbônico no solo. A quantidade de microorganismos aeróbicos do solo, que participam da oxidação do material orgânico, sofre diminuição. Em consequência da desintegração das substâncias orgânicas, ao invés dos produtos finais das atividades microbianas sob condição aeróbica (CO₂, nitratos, fosfatos entre outros, compostos de metano, hidrogênio, sulfeto, amônia, aldeídos e formas mais reduzidas de compostos de ferro) são observados de nitritos, ácidos carboxílicos e etileno (MEYER, 1960).

A concentração de Fe⁺² na solução aumenta rapidamente após a inundação do solo, atinge um valor máximo após duas a quatro semanas e depois decresce. Essa alta concentração de Fe⁺² influi como uma toxidez indireta, por reduzir a absorção de P, K, Ca e Mg pelas plantas (BACHA, 1987). Quando a quantidade de O₂ torna se insuficiente, devido ao excesso de água, ocorre redução na intensidade do processo de oxirredução e da respiração reduzindo os níveis energéticos das células radiculares. Ocorre também a redução da absorção de substâncias nutritivas e a capacidade de retenção de água pelas raízes aumenta (KOZLOWSKI, 1976).

A quantidade de etileno aumenta, fortalecida pela inundação. Em condições anaeróbicas, após 7 dias, a concentração de etileno varia de 9,3 a 10,6 mg kg⁻¹ enquanto em condições aeróbicas, a profundidade do solo de 15 cm, esta concentração é de 0,07 mg kg⁻¹ e a uma profundidade do solo de 60 cm, de 0,14 mg kg⁻¹. A crescente concentração de etileno causa afinamento das hastes, senescência e queda das folhas (LANGE, 1953; NOBEL, 1974).

A deficiência de O₂ causada pela inundação provoca alterações no estado de respiração das folhas e no nível de energia. É provavelmente uma resposta à adaptação, que tende a estabelecer um equilíbrio entre o balanço de energia na planta como um todo. A capacidade de retenção da água pelas folhas é reduzida e como resultado o regime de água se desorganiza, ocorrendo então a murcha, a senescência e a queda de folhas (ROBERTS, 1961).

2.6 Efeitos morfofisiológicos em plantas sob déficit de O₂

O decréscimo da concentração de O₂ no solo pode afetar a respiração radicular e provocar efeitos adversos no desenvolvimento das plantas (HARRIS; BAVEL, 1957). Em plantas de girassol, algodão e feijão submetidas a baixa concentrações de oxigênio no solo, foi observada uma redução no crescimento das raízes e da parte aérea das plantas (LETEY, et al., 1962). Também em plantas de milho, sérios danos ao desenvolvimento foram observados quando as plantas foram submetidas aos níveis de oxigênio abaixo de 10% (AUBERTIN; KARDOS, 1965).

Em plantas de soja, o crescimento radicular não foi restringido até que a concentração de oxigênio no solo atingisse níveis inferiores a 10% (HUCK, 1970). A taxa de crescimento do sistema radicular de soja “Wayne” não foi afetada por níveis de oxigênio abaixo de 2,5% quando cultivada em câmara úmida (YENTUR; LEOPOLD, 1976).

Plantas de milho submetidas a uma concentração de 1% de oxigênio no solo por dois dias não apresentam sintomas significativos em relação ao crescimento das plantas; porém em períodos superiores a dois dias, severos danos nas plantas foram observados (PURVIS; WILLIAMSON, 1972). O decréscimo de oxigênio de 15% para 2% em 48 horas de inundação do solo ocasionou severos prejuízos ao desenvolvimento de plantas de ervilha (BELFORD et al., 1980). Em plantas de trigo, o crescimento radicular foi interrompido após 48h de inundação do solo devido à baixa concentração de oxigênio no solo e reduziu substancialmente a produtividade de grãos (MAYER et al., 1985).

A redução da taxa de crescimento radicular é a primeira resposta ao estresse por excesso de água no solo (JACKSON; DREW, 1984). O metabolismo das raízes é rapidamente restringido quando a concentração de oxigênio no solo diminui a níveis críticos, o que não ocorre na parte aérea das plantas. Na parte aérea, a assimilação e o metabolismo respondem lentamente a inundação do solo (MUSGRAVE; VANHOY, 1989). Em lentilha, a inundação do solo por doze dias reduziu a massa seca de raízes em 91% e a massa seca de parte aérea em 47% (ASHRAF; CHISTI, 1993). Deste modo a deficiência de oxigênio pode ser mais prejudicial ao crescimento radicular do que ao crescimento da parte aérea da planta.

A inundação dos solos provoca um rápido decréscimo na taxa de fotossíntese em muitas espécies de angiospermas e gimnospermas e, alguns estudos, têm demonstrado que a fotossíntese pode ser reduzida imediatamente após a inundação (CHILDERS; WHITE, 1942; BAZZAS; PETERSON, 1984; BECKAMN et al., 1992; MATTOS, 2004).

Neste sentido, Pezeshki et al., (1996) sugere que a redução na taxa de fotossíntese de plantas alagadas está relacionada com o fechamento dos estômatos, resultando na redução da absorção de gás carbônico pelas folhas (PEZESHKI et al., 1996). Como consequência, à medida que a respiração aeróbica pára, o nível de energia cai drasticamente, causando um declínio muito intenso na captação e transporte de íons (HUANG et al., 2003; VARTAPETIAN et al., 2003) uma vez que o oxigênio é oceptor de elétrons no sistema de fosforilação oxidativa.

A partir do momento em que as plantas estão sob condições de alagamento, vários produtos de seu metabolismo são produzidos. O controle dos produtos finais do metabolismo anaeróbico como o etanol, que é produzido quando o suprimento de oxigênio é limitado, foi demonstrado por Boulter et al. (1963) em rizomas de *Iris pseudacorus*. A tolerância às condições hidrofóbicas/anaeróbicas é feita através de enzimas adaptativas, como por exemplo, a álcool desidrogenase (*ADH*), enzima que catalisa a redução do acetaldeído para etanol, permitindo a continuação da glicólise e produção de ATP e NAD^+ .

A rápida estimulação da *ADH* pelo alagamento em arroz, anteriormente mantido em um solo drenado, sugere que a fermentação alcoólica pode incrementar temporariamente a produção de ATP para manter funções metabólicas essenciais até o desenvolvimento do aerênquima, o que possibilita o transporte de oxigênio e posterior restabelecimento do metabolismo aeróbico (PEDRAZZINI; MACKEE, 1984). Além dos efeitos citados, a deficiência de oxigênio no solo ocasiona uma série de modificações químicas e bioquímicas nas plantas, dentre as quais podem ser citadas: redução na síntese de fitorreguladores como giberilinas, citocininas, aumento de auxinas, como ácido indolacético (IAA) e do ácido abscísico (ABA) (SMIT; NEUMANN; STACHOWIAK, 1990; REID; BRADFORD, 1984)

2.7 Mecanismos de tolerância ao alagamento em plantas

Os mecanismos pelos quais as plantas sobrevivem ao alagamento são complexos e envolvem interações das adaptações morfológicas, anatômicas e fisiológicas (KOZLOWSKI, 1997).

Entretanto as alterações morfológicas que podem ser observadas são: a diminuição da área foliar e o aumento de ramificações radiculares. Enquanto que, anatomicamente, a principal adaptação é o aumento de espaços aerênquimatosos. O aerênquima é considerado uma das principais adaptações de plantas alagadas para suportarem condições anaeróbicas associadas com alagamento, pois, o tecido permite através de seus espaços parenquimatosos, transporte de oxigênio necessário para a respiração, além da remoção de dióxido de carbono e vapores de etanol (CRAWFORD, 1967; ASCHI-SMITI et al., 2003).

O alagamento do solo também afeta a absorção de água e nutrientes pela planta. A translocação de elementos minerais no tecido vegetal é reduzida quando o oxigênio é deficiente para as raízes. Logo, a inundação do solo provoca o aparecimento de sintomas como murchamento e amarelecimento das folhas, semelhantes aos danos provocados pela deficiência de nitrogênio (BARRETO, 1995).

2.8. Enzima álcool desidrogenase (*ADH*)

As plantas somente conseguem sobreviver à anoxia caso consigam manter a produção de ATP e reciclagem do poder redutor (MIERNYK, 1990). Inúmeros autores relatados por DREW (1997) têm associado essa adaptação metabólica a aumentos na taxa de fermentação, em função de incrementos na atividade das enzimas álcool desidrogenase (*ADH*) e lactato desidrogenase (*LDH*). Entre as possíveis causas da elevada capacidade de adaptação das plantas a solos inundados, está conferida a enzima álcool desidrogenase (*ADH*), a responsabilidade pelo bom desempenho de muitas espécies frente a esse estresse.

A álcool desidrogenase (*ADH*) é uma enzima dimérica está envolvida na conversão de acetaldeído a etanol. Ela está presente na segunda etapa da conversão de piruvato a etanol, o que proporciona uma oxidação de NAD^+ para

manter a glicólise em condições anaeróbias. O estímulo da atividade da enzima álcool desidrogenase (*ADH*), pelo alagamento, em determinadas espécies, sugere que a fermentação pode aumentar temporariamente a produção de adenosina trifosfato (ATP) para manter funções metabólicas essenciais, até o desenvolvimento do aerênquima, o qual será utilizado para o transporte de oxigênio e posterior restabelecimento do metabolismo aeróbico (PEDRAZZINI; MACKEE, 1984).

2.9 Filogenia Molecular

A explicação da história evolutiva das espécies e os seus possíveis relacionamentos são preocupações centrais na biologia. Esses aspectos podem ser verificados pela construção de árvores filogenéticas, também conhecidas como filogenias (ARAUJO; ALMEIDA, 2000).

Filogenia é o estudo da evolução dos seres vivos. O seu objetivo é encontrar uma árvore evolucionária das espécies de seres vivos, assumindo que diferentes espécies derivam de um ancestral comum. Os primeiros estudos de filogenia tentavam encontrar a árvore de evolução pelo fenótipo das espécies. Contudo, esse método pode levar a erros, tendo em vista que nada impede que duas espécies sem um ancestral comum venham a desenvolver uma característica em comum.

Ao mesmo tempo em que a teoria filogenética passava a ser mais amplamente empregada, o surgimento de técnicas de análise de DNA como a análise de produção de fragmentos gerados por enzimas de restrição, a clonagem gênica, a reação em cadeia da polimerase, e o seqüenciamento de DNA, permitiu se compreender melhor a estrutura molecular dos genes e genomas.

Estas técnicas de estudo do DNA permitiram ampliar os estudos de evolução molecular em duas áreas principais que se interrelacionam intimamente: (1) o estudo dos mecanismos e padrão de evolução de ácidos nucleicos e de proteínas, fundamental para idealizar modelos para a inferência das relações entre os organismos e (2) a reconstrução da história evolutiva dos organismos, também conhecida como filogenia molecular, permite traçar hipóteses de origem, datação e evolução dos organismos e possibilita determinar e compreender a ordem das mudanças dos caracteres (PEREIRA, 2000).

Com advento das técnicas de seqüenciamento de genomas, o DNA inteiro de espécies está disponível em bases de dados. Com toda essa informação gerada é possível estudo de filogenia por genótipo dos indivíduos.

A homologia é a ferramenta básica para o estudo de filogenia, permite a comparação entre pares de espécies distintas. Características conhecidas como homólogas são aquelas herdadas de uma característica ancestral comum, podendo ser qualquer uma recebida por herança. Características herdadas de um ancestral distante são compartilhadas pela maioria ou por todas as espécies de uma linhagem e são conhecidas como características ancestrais. Tais características são condições pré-existentes de uma estrutura que foi alterada resultando em condições novas, que são homólogas e diferentes entre si (PURVES, 2001).

A inferência da árvore evolutiva de um grupo de taxa a partir da comparação entre as seqüências de genes homólogos requer que estas seqüências estejam alinhadas. O alinhamento nada mais é do que uma hipótese de homologia e como tal, consiste em trabalhar com seqüências homólogas e definir posições ao longo destas seqüências. Assim sendo, um outro conceito de homologia se faz necessário: a homologia posicional. Uma vez que para uma dada seqüência cada posição ou sítio é tratado como um caracter, pressupõe-se que essas posições sejam homólogas. Frequentemente o conceito de homologia é confundido com o conceito de similaridade. Se dois genes são sabidamente homólogos e as posições homólogas foram definidas, podemos estabelecer a quantidade de sítios iguais entre as seqüências destes dois genes. Assim se as seqüências deles apresentam 100 sítios, dos quais 92 são idênticos e 8 deles são variáveis, eles ainda continuam sendo homólogos e apresentam 92% de similaridade entre si, e não 92% de homologia (PEREIRA, 2000).

Já para a reconstrução de filogenias baseadas em dados moleculares, costuma-se usar o método da máxima verossimilhança. Este método baseia-se na reconstrução filogenética através da busca por uma árvore que maximize a probabilidade dos dados observados. Os algoritmos computacionais empregados nesses métodos são desenvolvidos para lidar com o fato de que mutações que resultam na substituição de nucleotídeos são comuns, mas que suas freqüências podem ser estimadas independentemente por meio de outras informações genéticas (PURVES, 2001).

O princípio básico do método de verossimilhança é estimar a probabilidade relativa dos dados obtidos se adequarem a uma árvore e perante um modelo que descreve a evolução do processo em estudo. Em termos de evolução de seqüências de DNA, o método irá calcular a probabilidade de que aquelas seqüências em estudo tenham sido geradas, seguindo as premissas do modelo evolutivo escolhido. Neste caso, a topologia e o comprimento dos ramos de uma árvore são os parâmetros a serem estimados, dados as seqüências finais nos topos dos ramos (PEREIRA, 2000).

A *ADH* (álcool desidrogenase) é um gene essencial para o metabolismo anaeróbico, participando da via glicolítica, e a superação das plantas diante a condições de hipoxia, já relatado em vários estudos com milho, arroz, *Arabidopsis* e em outras espécies vegetais. Três locos (*ADH1*, *ADH2* e *ADH3*) são observados tanto em plantas monocotiledôneas como em dicotiledôneas (BRIAN et al., 1996). Este gene tem sido minuciosamente estudado na família Poaceae, pelo fato de estar intimamente ligado ao metabolismo anaeróbico, e respostas das plantas frente a este estresse.

A análise das seqüências do gene e o estudo de filogenia são importantes para compreender a história evolutiva deste gene diante as espécies estudadas, ajudar no desenvolvimento de primers para futuros estudos do gene *ADH* em Poaceae e estudo de sintenia entre espécie modelo para monocotiledôneas (arroz) com trigo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório e Casa de Vegetação pertencentes ao Centro de Genômica e Fitomelhoramento do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas.

3.1 Caracterização de genótipos quanto à tolerância e sensibilidade a inundação

Foram utilizados no estudo, 12 genótipos de trigo, consistindo de linhagens e cultivares obtidos de diferentes programas de melhoramento genético da espécie, de modo a avaliar seu desempenho em estresse por inundação.

Tabela 1- Lista dos genótipos utilizados no estudo. Pelotas – RS

Nº	Genótipo
1	Sonora 64
2	BR 18
3	BRS 208
4	BRS 120
5	CD111
6	BR 35
7	BRSFigueira
8	BRS 177
9	BH1146
10	CEP24
11	BRS 194
12	PF950354

Os genótipos foram conduzidos em casa de vegetação, em baldes com solo e submetido às condições de inundação.

Com base nas análises do solo, foram determinadas as quantidades necessárias para correção de nutrientes, segundo as Recomendações de Adubação e de Calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO RS/SC, 2004). Também foi efetuado controle de moléstias e pragas, através da aplicação de fungicida e inseticida, de acordo com as indicações técnicas da Comissão Sul - Brasileira de Pesquisa de Trigo (RCSBPT, 2005)

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com três repetições, onde cada unidade de observação foi composta por um balde com três plantas.

No trabalho foram empregados cinco tratamentos (dias de inundação alternados com períodos de drenagem) repetindo-se durante todo o ciclo de desenvolvimento da cultura, até o estágio de maturação conforme o esquema a seguir:

T1 - Tratamento controle (testemunhas);

T2 - dois dias de inundação e cinco dias de drenagem natural;

T3 - quatro dias de inundação e cinco dias de drenagem natural;

T4 - oito dias de inundação e cinco dias de drenagem natural;

T5 – Inundação permanente.

Os tratamentos que estiveram sob estresse hídrico por inundação apresentaram uma lâmina de água com cerca de 2 a 4 cm acima do nível do solo e, sempre quando necessário, os níveis de água foram devidamente repostos. Para impedir a drenagem natural foram utilizados vasos de mesmo volume e sem furos por meio de encaixe de forma a se manter uma lâmina de água sobre a superfície do solo (BADINELLI, 2007). A lâmina de água foi colocada pela primeira vez 10 dias após a emergência da plântula.



Figura 1. Metodologia utilizada para manter a lâmina de água.

3.2 Avaliações em casa de vegetação

Foram avaliados os seguintes caracteres durante o período de maturação total: (EP(cm)) estatura de planta (mensurada da superfície do solo até a extremidade final da planta), (N°A (unidade)) número de afilhos (contagem do número de afilhos de cada planta do balde), (DC, (cm)) Diâmetro do colmo (mensurado apos o período de alagamento), Cor (foi realizado uma escala de cor para as plantas sensíveis (1,2,3), intermediárias (4,5,6) e resistentes (7,8,9)), (MSPA (g)) Matéria seca da parte aérea (colmo,folhas e espigas), (MSR (g)) matéria seca da raiz, (MFPA (g)) matéria fresca da parte aérea (colmo, folhas e espigas), (MFR(g)) matéria fresca da raiz, (N°AF (unidade)) número de afilhos férteis (afilhos que produziram espigas com grãos), (RP(g)) rendimento de planta (massa dos grãos da espiga), (ME (g)) massa da espiga, (N°GP/E (unidade)) número de grãos por espiga, (MMG (g)) massa média de grãos. Os resultados deste experimento foram submetidos à análise de variância e análise de regressão (SAS, 2002). O método de agrupamento Tocher foi calculado através do programa computacional GENES (CRUZ,2006).

3.3 Localização de Seqüências nucleotídicas do gene *ADH₁* e Filogenia Molecular

Um grupo de seqüências da enzima ADH1 foram extraídas dos bancos de dados NCBI *National Center for Biotechnology information* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e TIGR *The Institute for Genomic Research* (<http://www.tigr.org/>), todas descritas como pertencentes a importantes espécies agrícolas.

Foi realizado um alinhamento local entre *Adh₁* do arroz para com todas as seqüências das demais espécies extraídas. Do banco de dados TIGR foram extraídas seqüências de RNAs transcritos da família *Poaceae* (26 espécies). Posteriormente foi realizado um alinhamento global entre todas as seqüências extraídas, a fim de selecionar as regiões mais conservadas entre as espécies estudadas.

As seqüências selecionadas foram submetidas a alinhamentos múltiplos gerado pelo programa Clustal-W e foram submetidas ao programa MEGA (<http://www.megasoftware.net/>), utilizando o método de agrupamento (*Maximum Likelihood*) método de verossimilhança (MV) para a construção da árvore filogenética, e o programa *Bootstrapping* (Teste estatístico para medir o grau de suporte dos nós nas árvores filogenéticas pelo alinhamento das seqüências).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados pela análise de variância (Tabela 2) possibilitaram identificar a existência de interação significativa (5% de probabilidade de erro pelo teste F) entre os fatores de tratamento e genótipos para os caracteres EP, NA, Cor, MSPA, MFPA, NAF, RP e ME. Além disso, foram detectadas diferenças para os caracteres EP, NA, COR e ME avaliados em relação ao fator genótipo, bem como para os caracteres EP, DC, MSPA, MSR, MFPA, MFR, NAF, RP, ME, NGP/E, e MMG para o fator de tratamento (dias de inundação), representando um indicativo da existência de variabilidade genética, mensurada através do comportamento dos caracteres estudados. Portanto, fica evidente que há modificações nos caracteres avaliados pelo aumento dos dias de inundação para os genótipos de trigo avaliados.

Estes resultados iniciais corroboram com a literatura, evidenciando que o estresse por hipoxia é um fenômeno que afeta tanto o sistema radicular, como os caracteres de parte aérea, atribuindo a redução imediata nas trocas gasosas entre planta e ambiente (ARMSTRONG et al., 1994; KOZLOWSKI, 1997). A hipoxia sofrida pelo sistema radicular em plantas inundadas provoca queda imediata na respiração de raízes (LIAU; LIN, 2001). Tal condição provoca inibição da atividade metabólica e conseqüentemente, da produção de ATP. A queda na produção de ATP restringe o suprimento de energia para o crescimento das raízes, causando redução no desenvolvimento geral da planta.

Analisando as fontes de variações individualmente, é possível verificar que o fator Genótipo evidenciou elevado valor de quadrado médio para o caráter Cor em relação aos outros caracteres estudados, evidenciando forte efeito sobre os genótipos estudados. Já para o fator de tratamento (dias de inundação) o caráter

NGP/E foi o de maior magnitude, expressando de forma direta o maior efeito dos dias de inundação neste caráter.

Os coeficientes de variações apresentaram valores entre 0,08 para a variável DC até 33,88 para NGP/E. Esta variação pode ocorrer devido a interferências de fatores externos do ambiente não controlado.

Tabela 2- Valores de quadrado médio (QM), coeficiente de variação (CV), graus de liberdade (GL) para as variáveis: estatura de planta (EP), número de afilhos (NA), Cor, diâmetro do colmo (DC), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), número de afilhos férteis (NAF), rendimento de planta (RP), massa de espiga (ME), número de grãos por espiga (NGP/E), massa média de grãos (MMG) de 12 genótipos de trigo, estudados quanto a tolerância a inundação. Pelotas – RS.

Fonte de Variação	GL	EP (m)	NºA(Unid.)	Cor (escala)	DC (mm)	MSPA (g)	MSR (g)	MFPA (g)	MFR (g)	NºAF (Unid.)	RP (g)	ME (g)	NºGP/E (Unid.)	MMG (g)
Genótipo (G)	11	0,012*	0,12*	0,18*	3,8 ^{10-7ns}	0,14 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,019*	1,97 ^{ns}	1,6 ^{10-4ns}
Tratamento (T)	3	1,13*	22,71 ^{ns}	30,5 ^{ns}	2,09 ^{10-5*}	31,1*	1,97*	60,13*	11,96*	14,22*	3,94*	1,52*	154,74*	2,5 ^{10-3*}
G x T	33	9,59 ^{10-3*}	0,06*	0,25*	3,7 ^{10-7ns}	0,22*	0,02 ^{ns}	0,52*	0,12 ^{ns}	0,10*	0,06*	0,017*	1,46 ^{ns}	1,08 ^{10-4ns}
Erro	94	5,53 ¹⁰⁻³	0,08	0,16	3,2 ¹⁰⁻⁷	0,12	0,02	0,32	0,09	0,06	0,03	0,01	1,10	9,9 ¹⁰⁻⁵
Repetição	2	0,009	0,16	0,15	5,1 ¹⁰⁻⁷	0,10	0,08	0,12	0,15	0,02	0,006	0,002	0,05	2,03 ¹⁰⁻³
CV%		7,79	18,85	21,48	0,08	23,07	17,88	28,04	22,9	18,72	20,54	11,21	33,88	1,38

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F

Observando a Tabela 3, foi possível verificar uma redução drástica na porcentagem de plantas, de acordo com o aumento de dias de inundação até o tratamento de quatro dias de inundação. Quando comparados quatro com oito dias de inundação, foi observado um aumento na porcentagem de plantas sobreviventes de 17% para 50% respectivamente, reduzindo novamente a 3% para o tratamento de inundação permanente.

Tabela 3- Valores percentuais de sobrevivência de plantas em 12 genótipos de trigo, estudados quanto a tolerância a inundação em diferentes dias de inundação. Pelotas – RS

Genótipo	% de Sobreviventes				
	Condição de campo	Tratamentos			
		2 dias de Inundação	4 dias de Inundação	8 dias de Inundação	Inundação Permanente
1)BH1146	100%	100%	55%	66%	0%
2)BR18	100%	100%	0%	44%	11%
3)BR35	100%	100%	11%	77%	0%
4)BRS120	100%	77%	11%	88%	0%
5)BRS177	100%	100%	33%	33%	0%
6)BRS194	100%	88%	0%	22%	0%
7)BRS208	100%	100%	11%	100%	11%
8)BRSEFIGUEIRA	100%	100%	11%	22%	0%
9)CD111	100%	100%	44%	33%	11%
10)CEP24	100%	100%	11%	44%	0%
11)PF950354	100%	100%	11%	33%	0%
12)SONORA64	100%	100%	11%	33%	0%
Média	100%	97%	17%	50%	3%

Este aumento na porcentagem de plantas sobreviventes Do tratamento quatro dias de inundação para o tratamento de oito dias, pode ser atribuído ao período em que a planta necessita para alterar a expressão de genes, levando em alguns casos, há um ajuste metabólico, anatômico ou morfológico, que permitem as plantas sobreviverem nessas condições desfavoráveis (ALVES et al ., 2000).

Além disto, o período inicial da recuperação após o estresse por falta de oxigênio pode ser crucial na sobrevivência das plantas. Apesar da maioria das injúrias acontecerem durante o período de estresse, danos ocorrem no retorno das plantas às condições normais de oxigênio (VANTOAI; BOLLES, 1991).

O acúmulo das espécies reativas de oxigênio (*EROs*) nos primeiros minutos da restauração da oxigenação do meio provoca injúrias pós-anóxicas, como peroxidação de lipídeos em espécies intolerantes, tem sido amplamente documentado (BLOKHINA, 2003).

Embora a natureza dessas injúrias nessas espécies comumente leve a morte da planta, o fenômeno que desencadeia tal resposta ainda não é bem conhecido.

A toxidez por oxigênio tem sido apontada como o principal mecanismo de injúrias pós-anoxia (VAN TOAI et al., 1991). Ainda, tem sido mostrado que sob condições de hipoxia, a síntese protéica é limitada, ocorrendo variações consideráveis na qualidade das enzimas que estão sendo sintetizadas (SACKS et al., 1980). Nesse contexto, a síntese de algumas enzimas é aumentada e de outras diminuídas e até mesmo inibidas. De maneira geral, aquelas proteínas que tem sua síntese aumentada ou diminuída/inibida, naquelas condições, estão relacionadas ao metabolismo aeróbico e anaeróbico, respectivamente.

Em condições de estresse por inundação há uma imediata repressão na síntese de proteínas preexistentes e, posteriormente, há síntese seletiva de aproximadamente 20 polipeptídeos. Muitos desses são proteínas anaeróbicas (*ANP's*) envolvidas com o processo da glicólise (SACKS et al., 1996).

Dentre as *ANP's* estão a álcool desidrogenase (*ADH*), lactato desidrogenase (*LDH*), (SACKS et al.,1980, SACKS et al., 1996), aldolase (KELLEY; TOLAN,1999), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (RUSSEL; SACHS, 1991, PINTO,2004), sacarose sintase (SPRINGER et al., 1986), enolase e glicose – 6- fosfato isomerase (KELLEY; FREELING, 1996).

A fim de suprir o déficit de energia promovido pela paralisação da respiração aeróbica, algumas espécies redirecionam suas vias metabólicas para garantirem a produção extra de ATP pelo aumento na taxa de fermentação (DAVIS, 1984; SETTER; ELLA, 1994). Na ausência de oxigênio, a respiração aeróbica onde a planta produz para cada mol de hexose respirada, 36 ATP deixa de funcionar e, portanto este ATP deve ser produzido por meio de processos de fermentação onde apenas 2 ATP são produzidos para cada mol de hexose respirada.

Nesse momento, as raízes começam a fermentar o piruvato resultante do processo de glicólise para produzir lactato. Essa acumulação do lactato produz uma importante queda no pH citosólico, então a lactato desidrogenase é inibida e ativada a piruvato descarboxilase que estimula a síntese de etanol, sendo que o acetaldeído é convertido em etanol pela síntese da álcool desidrogenase, assim liberando NAD^+ para dar continuidade a glicólise e conseqüentemente manter a produção de ATP durante o período de estresse. Assim, a planta produz energia necessária para suprir o seu metabolismo nestas condições, e assim superar o estresse (VERTAPETIAN et al., 1996).

Atualmente a enzima álcool desidrogenase tem sido muito estudada, pois é uma enzima que está intimamente relacionada com a anaerobiose. Em resposta ao estresse anaeróbico, a atividade da *ADH* aumenta na maioria das plantas durante a hipoxia (VERTAPETIAN et al., 1996).

4.1 Análises de regressões

O efeito da interação significativa na análise de variância (Tabela 2) implica no ajuste de regressão individual para cada genótipo estudado (Figuras 2,3,4,8,9,10,11 e 13). No entanto, quando a variável considerada só apresentou significância para a fonte de variação tratamento (dias de inundação), foram considerados os valores médios de todos os genótipos para o cálculo da equação de regressão e obtenção da curva correspondente (Figuras 5,6,7,12,14).

Para a variável estatura de planta (EP) (Figura 2) os resultados apresentados pela análise de variância possibilitaram identificar a existência de interação significativa (5% de probabilidade de erro pelo teste F) entre os tratamentos e genótipos. Além disso, foram detectadas diferenças para o caráter avaliado em

relação ao fator genótipo, bem como em relação ao fator de tratamento (dias de inundação), o que serve como indicativo da existência de variabilidade genética, mensurada por meio da resposta do caráter estudado. Pôde ser verificada uma pequena variação, para a variável estatura de planta (EP) (Figura 2), entre as plantas sob condição controle e as submetidas a dois dias de inundação. Quando comparados os tratamentos de dois dias com quatro dias de inundação a variação foi bem mais expressiva.

As plantas submetidas a oito dias de inundação demonstraram uma melhor adaptação em relação àquelas com quatro dias de estresse, determinando uma equação de regressão cúbica para a maioria dos genótipos, exceto para a cultivar CD111 que, ao contrário dos demais, apresentou um decréscimo linear da estatura de planta.

Conforme indicação dos gráficos (Figura 2), levando em consideração o desempenho crítico (4 dias de inundação) e a adaptação dos genótipos em 8 dias de inundação, os genótipos BRS208 e BR120 resultaram ser os mais tolerantes ao estresse por inundação obtendo uma expressiva adaptação aos oito dias de tratamento. O genótipo CD111 demonstrou-se o mais sensível sob a condição de estresse seguido de BRS194 para o caráter estatura de planta.

É comum uma redução na estatura de planta devido ao fato de que ocorre uma redução da fotossíntese resultante do decréscimo da transpiração provocada pelo alagamento do solo (SÁ, CRUCIANI, PEREIRA, 2005). Com a inundação temporária, o movimento de gases e a concentração de oxigênio resultam em uma série de mudanças químicas, bioquímicas e morfológicas o que inclui a formação de elementos como gás carbônico e etileno, ácidos orgânicos e outros hormônios, atingindo níveis tóxicos para as plantas. Aos os oito dias de estresse, quando comparado com quatro dias, a maioria dos genótipos apresentaram uma melhor adaptação, o que se pode atribuir ao período que a planta necessita para alterar a expressão de genes, levando em alguns casos, a um ajuste metabólico, anatômico ou morfológico, que permite às plantas sobreviverem nessas condições desfavoráveis (ALVES et al ., 2000).

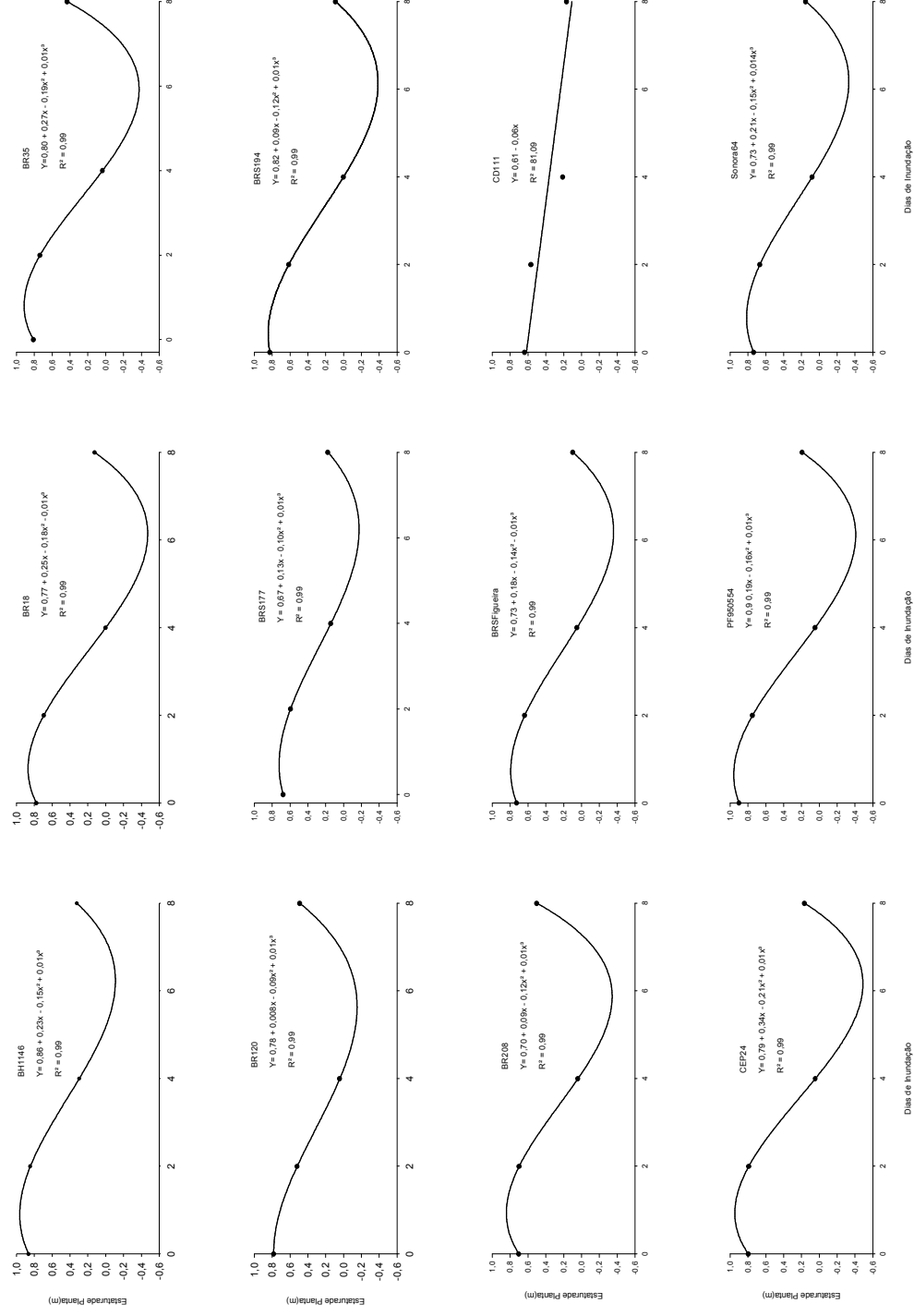


Figura 2 - Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável estatura de planta (EP) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

Analisando as regressões ajustadas para a variável número de afilhos (NA) (Figura 3), foi observado um comportamento uniforme na variação, ou seja regressões quadráticas para a maioria dos genótipos testados. Exceto para a cultivar BRS177 que apresentou uma equação de regressão cúbica. Observando mais detalhadamente a Figura 3 podemos verificar as diferenças do desempenho inicial para cada genótipo, isto sugere que o número de afilhos é geneticamente determinado, mas que a condição de estresse reduz de forma significativamente esta variável. Este resultado concorda com relatos em que o caráter número de afilhos é dito geneticamente determinado e condicionado pelos fatores do meio, assim determinando características estruturais tais como número, tamanho e densidade dos afilhos. Além disso, em solos alagados ocorre a formação de ácidos orgânicos que em casos de toxidez mais severa, causam prejuízo ao crescimento da planta, prejudicando o afilhamento a absorção de nutrientes e o rendimento de grãos (CAMARGO et al., 2001).

Considerando o desempenho crítico (4 dias de inundação) e a melhor condição de adaptação (oito dias de inundação), os genótipos BRS208 e BR120 resultaram ser os mais tolerantes ao estresse por inundação tendo uma expressiva adaptação aos oito dias de tratamento. O genótipo BRS194 demonstrou-se o mais sensível sob a condição de estresse, conforme já visto para o caráter estatura de plantas.

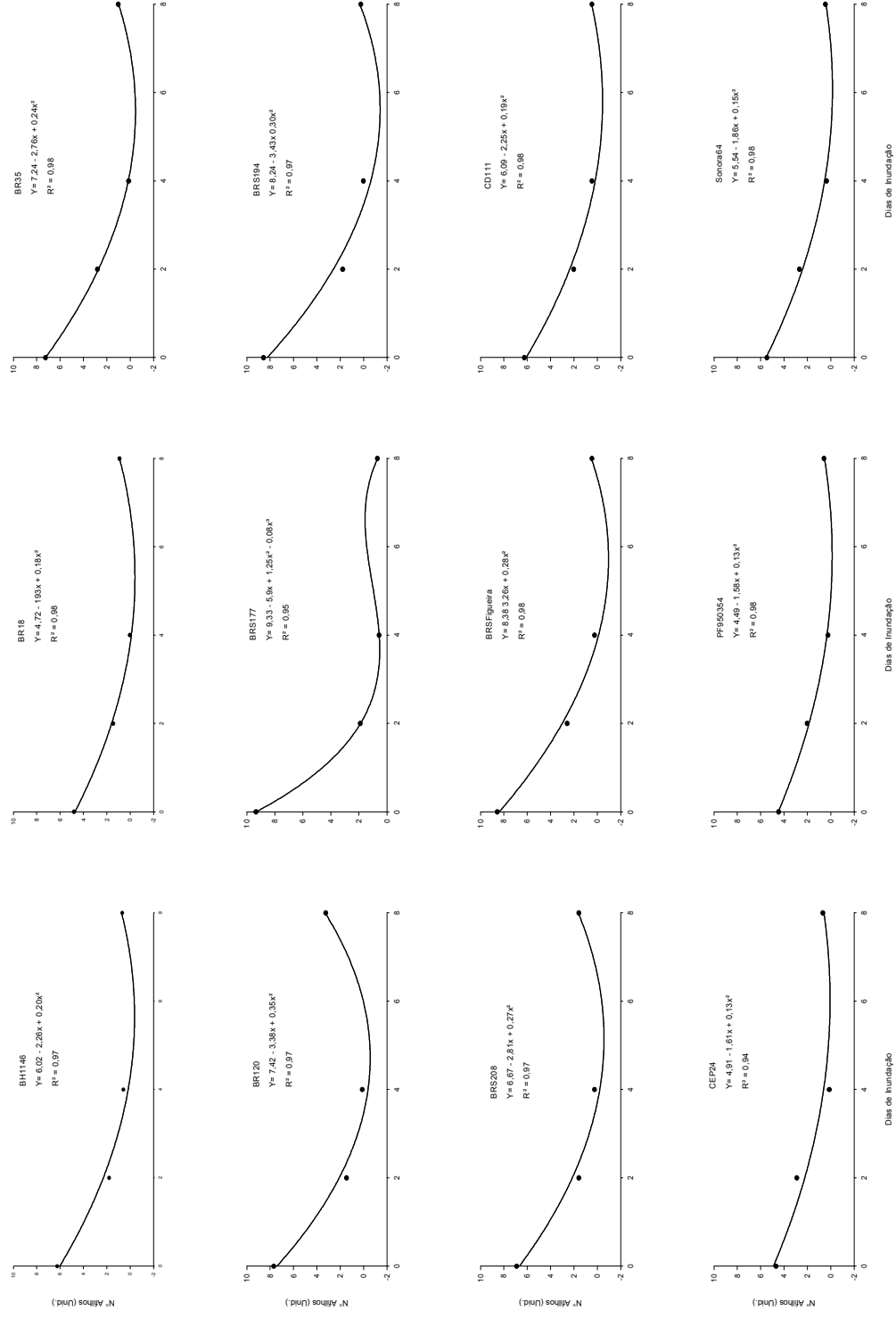


Figura 3 - Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável N° de afilhos (NA) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

De modo geral, analisando a figura 4, é verificada uma redução na cor das plantas com o aumento dos dias de inundação. Levando em consideração o desempenho individual das constituições genéticas estudadas de acordo com a estimativa do modelo matemático (equação de regressão). Os genótipos BH1146, BR35, BR120 e PF950354 apresentaram uma elevada redução na coloração quando comparada a condição de campo com dois dias de inundação, o que determinou uma equação de regressão do tipo quadrática para estas constituições genéticas. Já para os demais genótipos a equação que melhor se ajustou foi cúbica, pois estes genótipos apresentaram uma pequena redução entre condição controle e dois dias de inundação, ocorrendo, no entanto o estresse com maior efeito em quatro dias.

A manifestação do efeito de clorose pode ser interpretada como efeito da prática do período de inundação. A literatura sugere que ela corre por causa da degradação de clorofilas quando em condição de inundação (HUANG et al., 1994), o sistema radicular já fortemente afetado causa deficiências nutritivas, provocando o amarelecimento das folhas. Outros autores sugerem, além disso, redução na sua síntese em consequência do acúmulo de etileno (SENA GOMES; KOZLOWSKI, 1988) e/ou redução na síntese de citocininas (ZHANG et al., 2000).

Considerando o desempenho crítico (aos quatro dias de inundação) e a adaptação em oito dias de inundação, os genótipos BRS208 e BR120 resultaram ser os mais tolerantes ao estresse. O genótipo BRS194 demonstrou-se o mais sensível sob a condição de estresse por hipoxia.

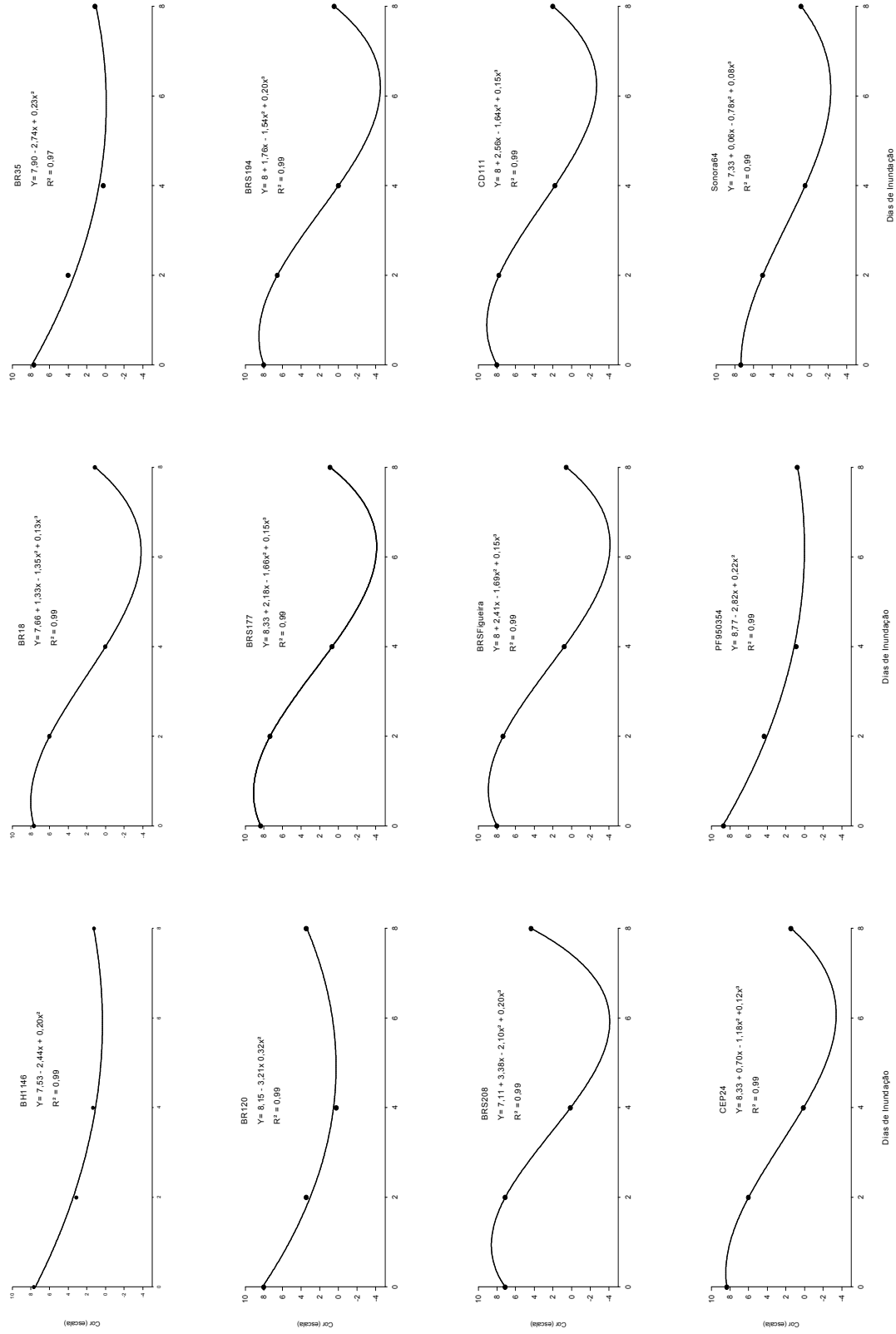


Figura 4 - Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável cor) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

Analisando a Tabela 3 é possível observar que para a fonte de variação interação (tratamento x genótipo) não houve graus de significância para as variáveis DC, MSR, MFR, NGP/E e MMG. Mas por elas apresentarem significância para o fator tratamento, verificamos o comportamento geral dos genótipos diante dos dias de inundação para cada variável. A maioria destas variáveis apresentou equação de regressão cúbica, exceto para a variável MSR que apresentou um comportamento quadrático.

Para a variável DC (figura 5) é observada uma redução no diâmetro do colmo com o aumento dos dias de inundação mensurado após o período de inundação. O que comumente ocorre é uma especialização dos tecidos parenquimáticos onde se desenvolvem grandes espaços intracelulares, acarretando o engrossamento da estrutura do colmo no período submetido ao estresse. A hipoxia estimula a produção de aerênquima para armazenar oxigênio em suas estruturas respondendo favoravelmente a falta de oxigênio por hipoxia. Também diante da intensidade do estresse, pode ocorrer uma forte constrição responsável pelo tombamento e até mesmo a morte da planta (ALVES et al.,2002).

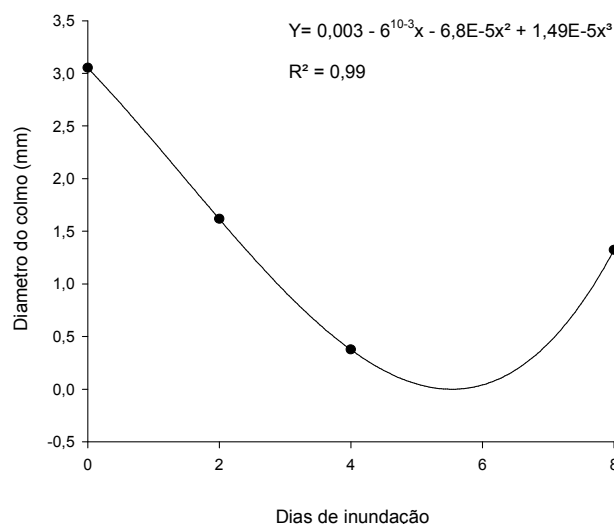


Figura 5 - Parâmetro da equação de regressão e respectiva representação gráfica da variável diâmetro do colmo (DC) avaliada em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

Para as variáveis massas fresca de raízes (MFR) (Figura 6) e massa seca de raízes (MSR) (Figura 7) é verificada uma redução da massa em condições de estresse, isso pode ter ocorrido devido ao fato que o estresse por inundação pode ocasionar a poda natural dos pelos absorventes, formação de ácidos orgânicos que limitam o crescimento das raízes (SOUSA, 2001), e até o apodrecimento das mesmas.

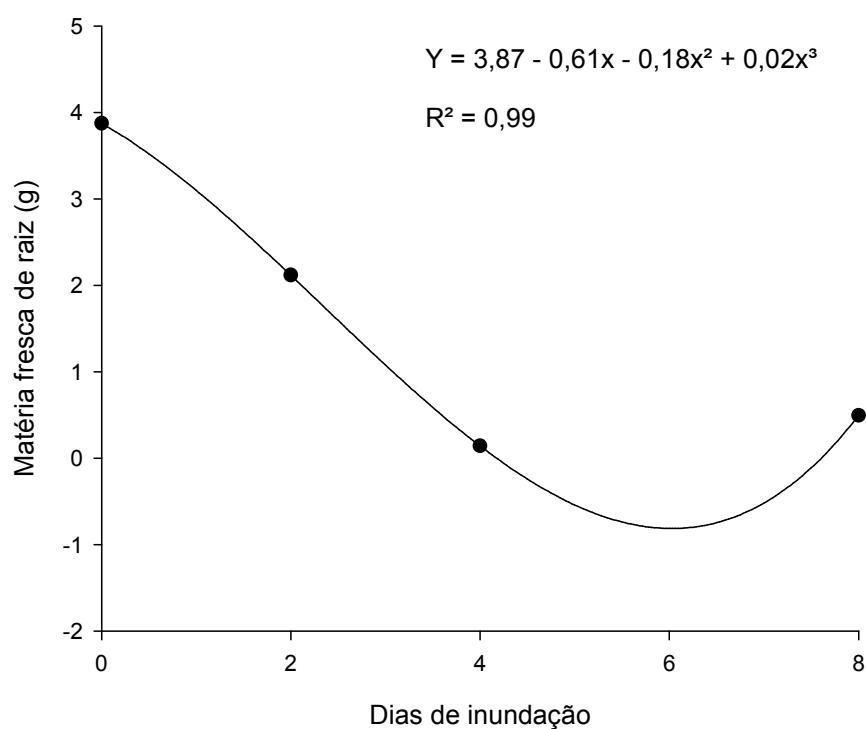


Figura 6 - Parâmetro da equação de regressão e respectiva representação gráfica da variável matéria fresca da raiz (MFR) avaliada em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

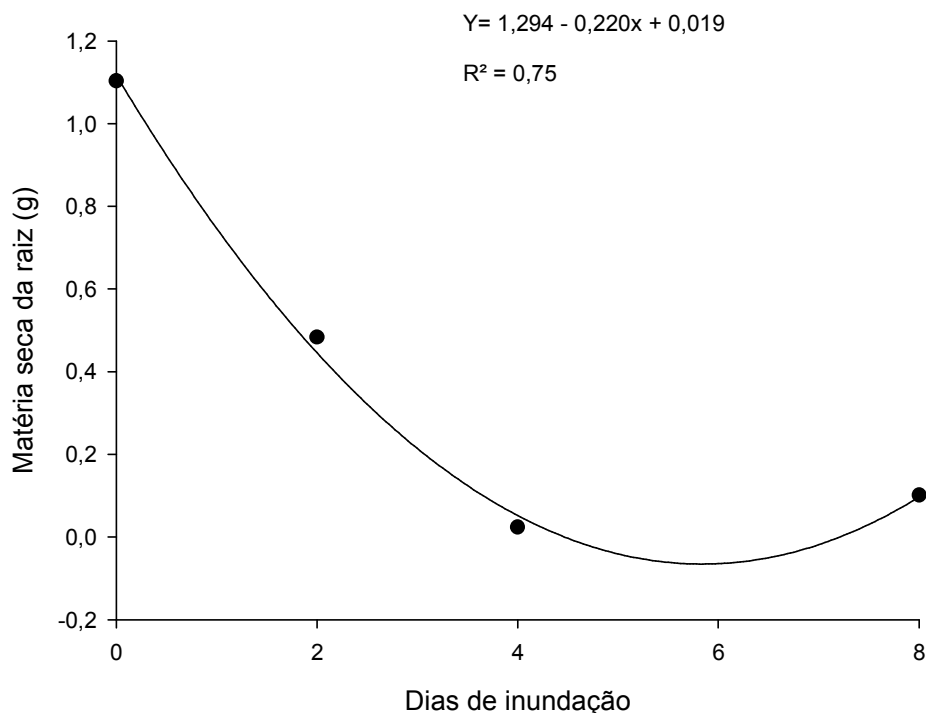


Figura 7 - Parâmetro da equação de regressão e respectiva representação gráfica da variável matéria seca da raiz (MSR) avaliada em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

A redução da massa fresca da parte aérea (MFPA) pode ser observada na Figura 8, onde a grande maioria dos genótipos apresentou um comportamento quadrático e linear, demonstrando uma pequena variação para este caráter diante dos tratamentos. No entanto o genótipo BRS194 apresentou elevada variação em relação a condição controle apresentando um comportamento cúbico e pequena variação entre condições de estresse.

Em plantas de trigo, a redução de MFPA foi atribuída ao menor número de afilhos e redução da taxa de alongamento das folhas quando submetidas ao estresse (SOJKA, STOLZY e KAUFMANN, 1975; TROUGHT e DREW 1980).

A inibição da expansão foliar é uma resposta comum das plantas a deficiência de oxigênio ocasionada pelo excesso de água no solo. Este efeito deve-se a redução do tamanho e do número de folhas e também ao aumento da abscisão foliar (KOZLOWSKI, 1980). Para tanto, o resultado observado pode estar relacionado a

intensificação do processo de senescência das folhas ocasionado pela deficiência de oxigênio no solo. A inundação do solo influencia indiretamente na senescência foliar devido a uma alteração na distribuição de solutos das raízes para a parte aérea das plantas. Com isso, vários hormônios são estimulados e transportados para as folhas, causando a senescência prematura das folhas em poucos dias. Dentre os hormônios estão o etileno, a citocinina, a giberelina e o ácido abscísico (REID, BRANDFORD, 1984; STIEGER, FELLER, 1994).

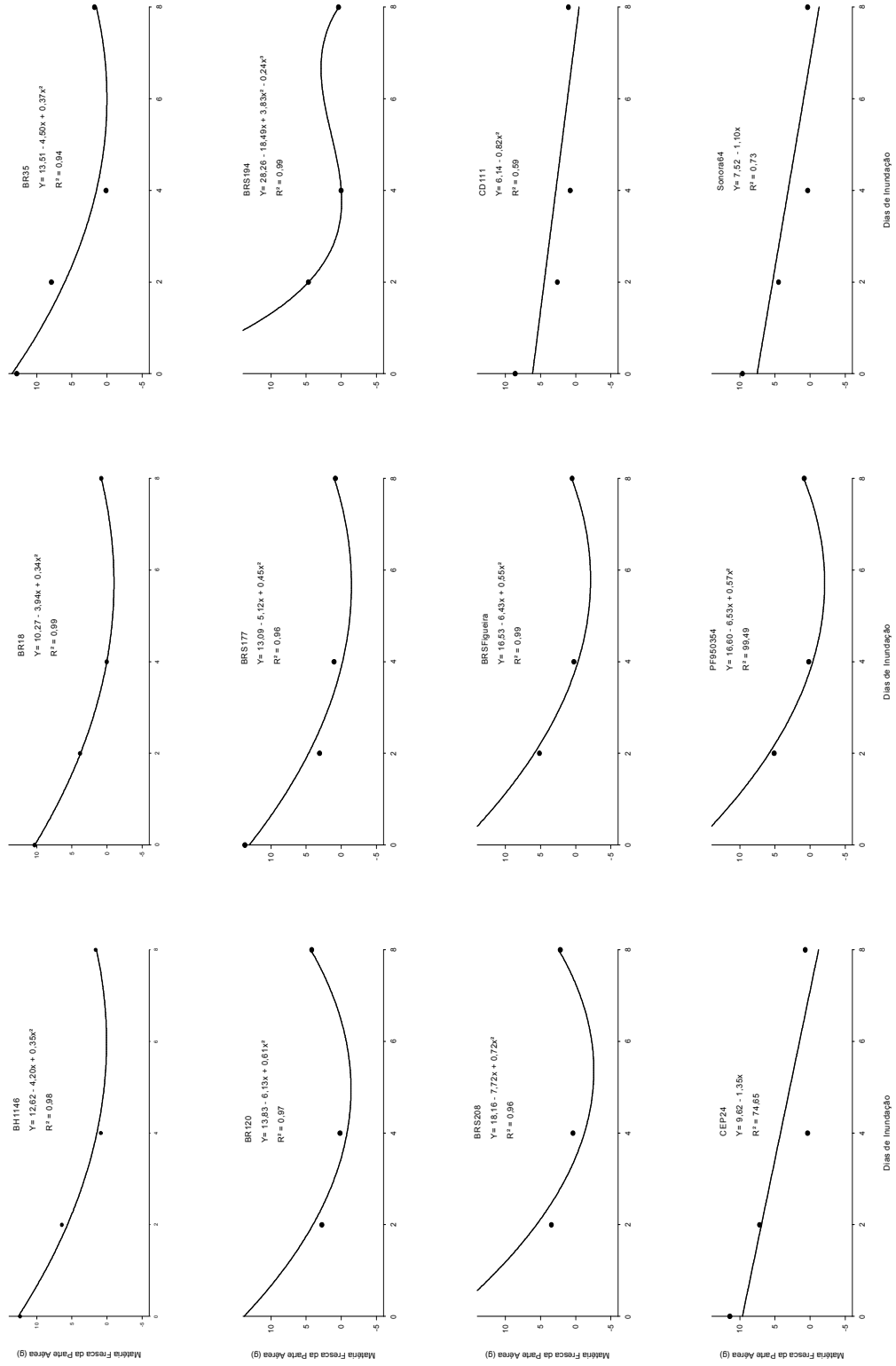


Figura 8 - Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável matéria fresca da parte aérea (MFPA) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

A massa seca da parte aérea (MSPA) (Figura 9) foi reduzida significativamente em todos os genótipos, formando comportamento quadrático e linear para maioria deles exceto para o genótipo BRS194 que apresentou uma elevada redução da massa seca em dois dias de inundação quando comparado com a condição de campo, apresentando uma equação de regressão cúbica para esta variável. O comportamento dos genótipos para esta variável foi similar aos resultados apresentados pela variável MFPA.

Queda na massa seca da parte aérea também foi encontrada em estudos realizados com gramíneas (DIAS-FILHO; CARVALHO, 2002; LIZASO et al., 2001) espécies arbóreas (ANDRADE et al., 1999; DANVASO et al., 2002) e herbáceas (CHEN et al., 2002).

O acúmulo de matéria seca aérea foi significativamente afetado, comportamento semelhante foi constatado em experimentos com lentilha e soja (KOZLOWSK, 1984; PEZESHKI, 1994). Segundo esses autores, a redução no acúmulo de massa seca da parte aérea da planta são efeitos característicos do estresse ocasionado pelo excesso de água no solo, geralmente observado em espécies sensíveis à deficiência de oxigênio no solo. No entanto, a severidade dos danos ocasionados pela inundação do solo ao desenvolvimento das plantas pode variar de acordo com a espécie, genótipo, idade das plantas e condições edafoclimáticas.

Decréscimo na massa seca da parte aérea de plantas de trigo submetida à inundação do solo foi constatado por Calheiros et al., (2000).

Considerando o desempenho crítico (aos quatro dias de inundação) e a adaptação em oito dias de inundação para as variáveis MFPA e MSPA, os genótipos BRS208 e BR120 resultaram ser novamente os mais tolerantes ao estresse. O genótipo CD 111 e BRS194 foram os mais sensíveis sob a condição de estresse.

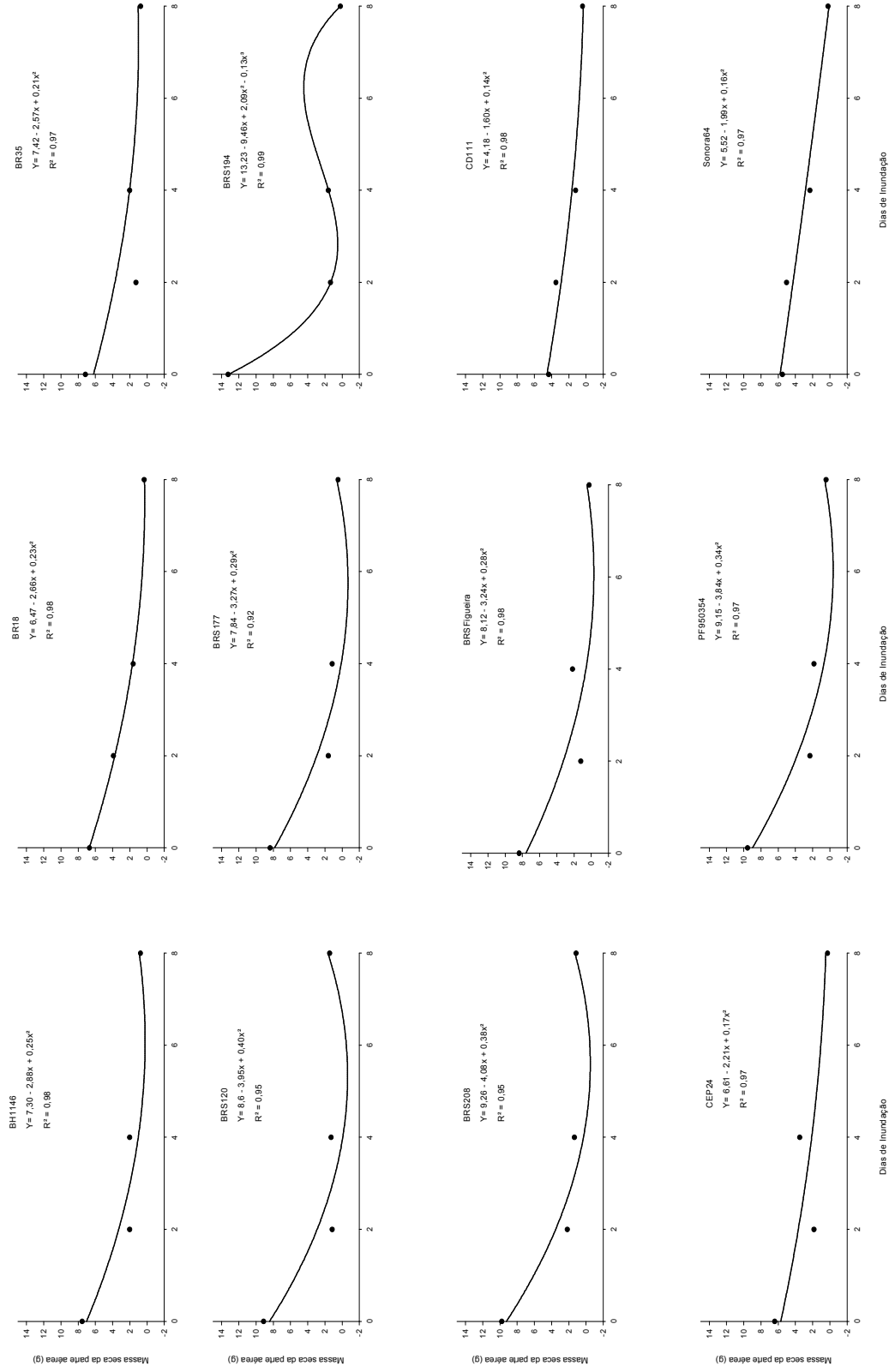


Figura 9 - Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável matéria seca da parte aérea (MSPA) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

Os efeitos negativos da inundação do solo também foram observados na produção de grãos, com o estudo das variáveis números de afixhos férteis (NAF) (Figura 10), massa de espiga (ME) (Figura 11), números de grãos por espiga (NGP/E) (Figura 12), rendimento de planta (RP) (Figura 13), e massa média de grãos (MME) (Figura 14).

As plantas submetidas aos dias de inundação apresentaram reduções significativas em relação às testemunhas, independentemente do tratamento. Neste caso a inundação do solo provavelmente afetou o número de afixhos férteis e consequentemente a produção de grãos.

A interferência do estresse no rendimento de grãos da planta poderia ser explicada de acordo com observações em outras espécies tais como milho, trigo e ervilha (EGLI et al., 1989; CALLAKU; HARRISON, 2002; ALMEIDA et al., 2002). Nestas espécies, a taxa de crescimento de sementes foi afetada pela redução de assimilados durante o período de floração e enchimento de grãos. A redução da matéria fresca da parte aérea, provavelmente prejudica a fotoassimilação intervindo negativamente na produtividade.

A cultura do trigo, durante o seu desenvolvimento, apresenta necessidades distintas quanto a disponibilidade de água (SOUZA; TUBELIS, 1982). Na fase de afixamento no início da floração a cultura exige um suprimento abundante de água. Na segunda metade do florescimento durante o início de estágio de grão leitoso, o suprimento de água é prejudicial (GILL; SINGH, 1992).

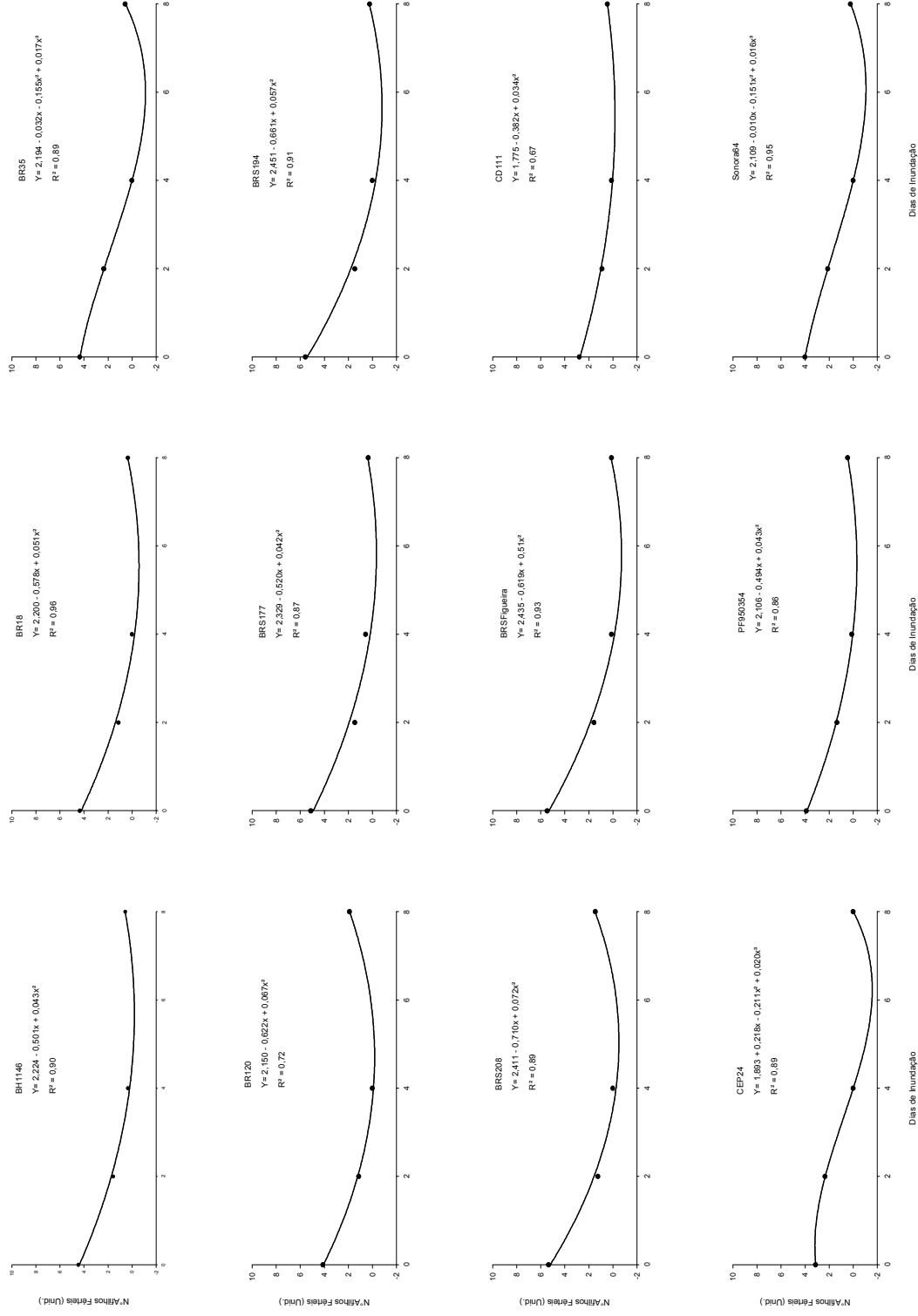


Figura 10 - Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável N° de afilhos férteis (NAF) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

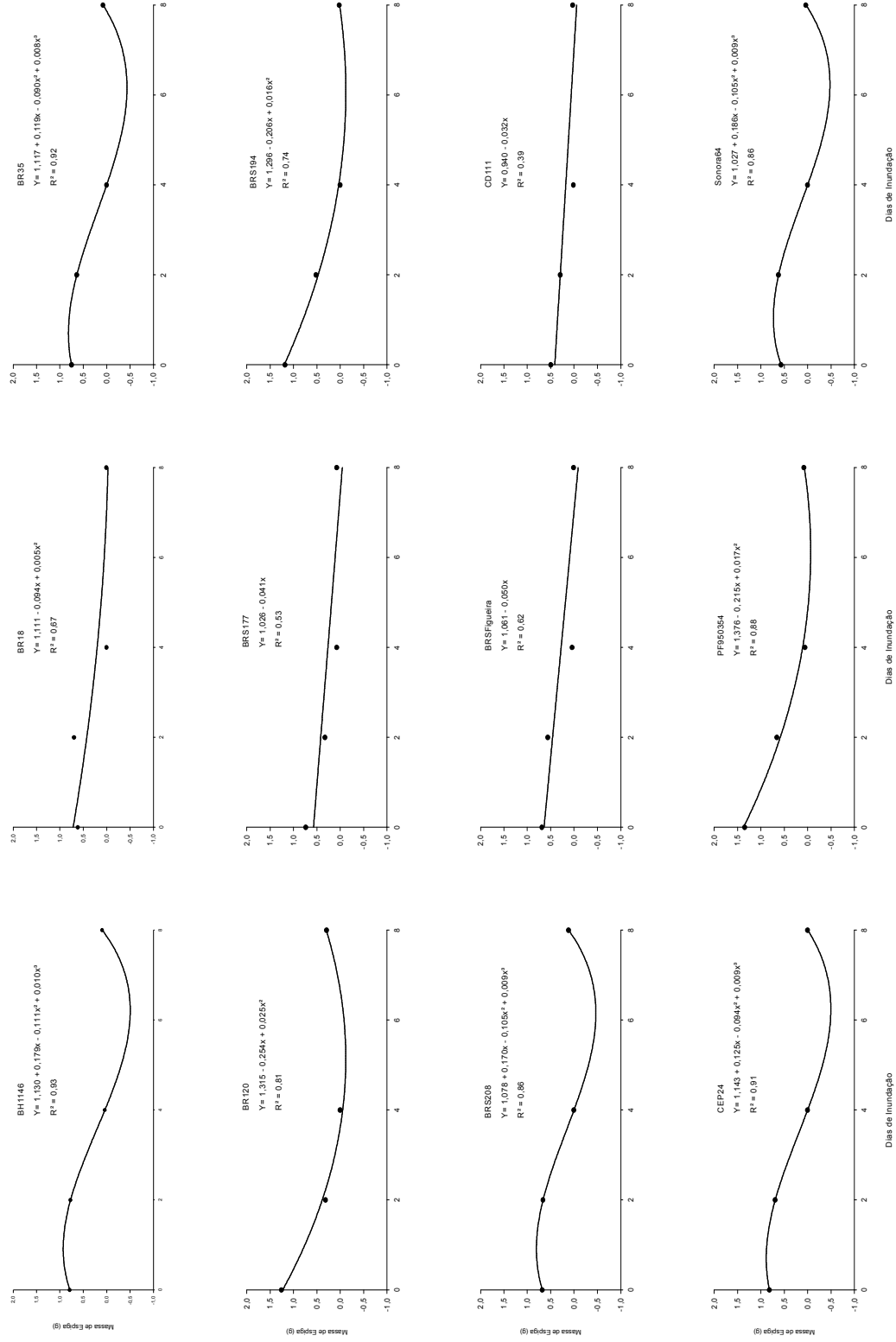


Figura 11 - Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável massa de espiga (ME) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

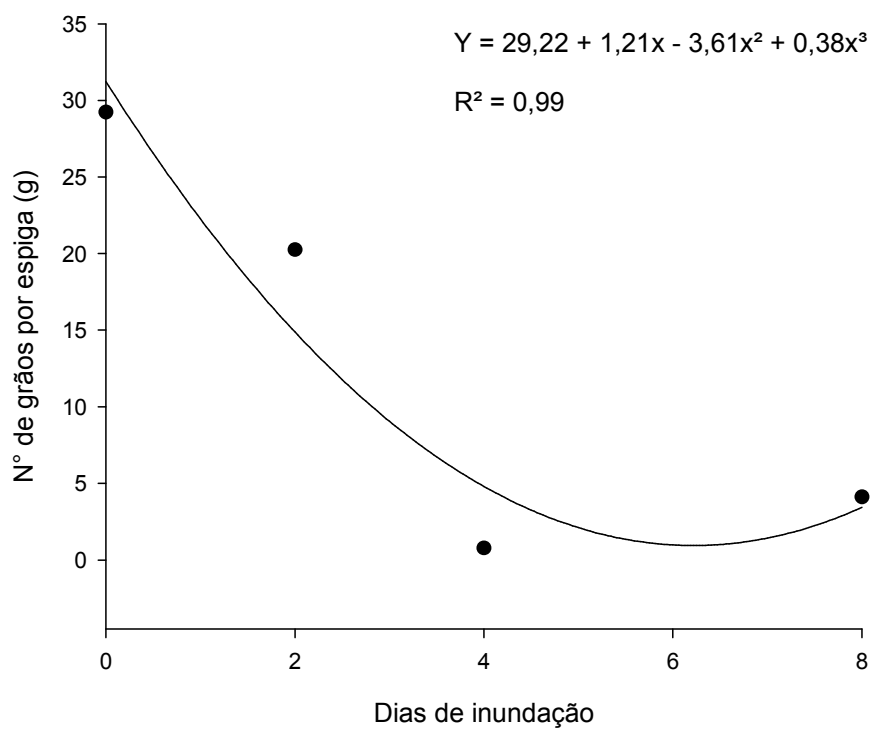


Figura 12 - Parâmetro da equação de regressão e respectiva representação gráfica da variável n  de gr os por espiga (NGP/E) avaliada em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS.

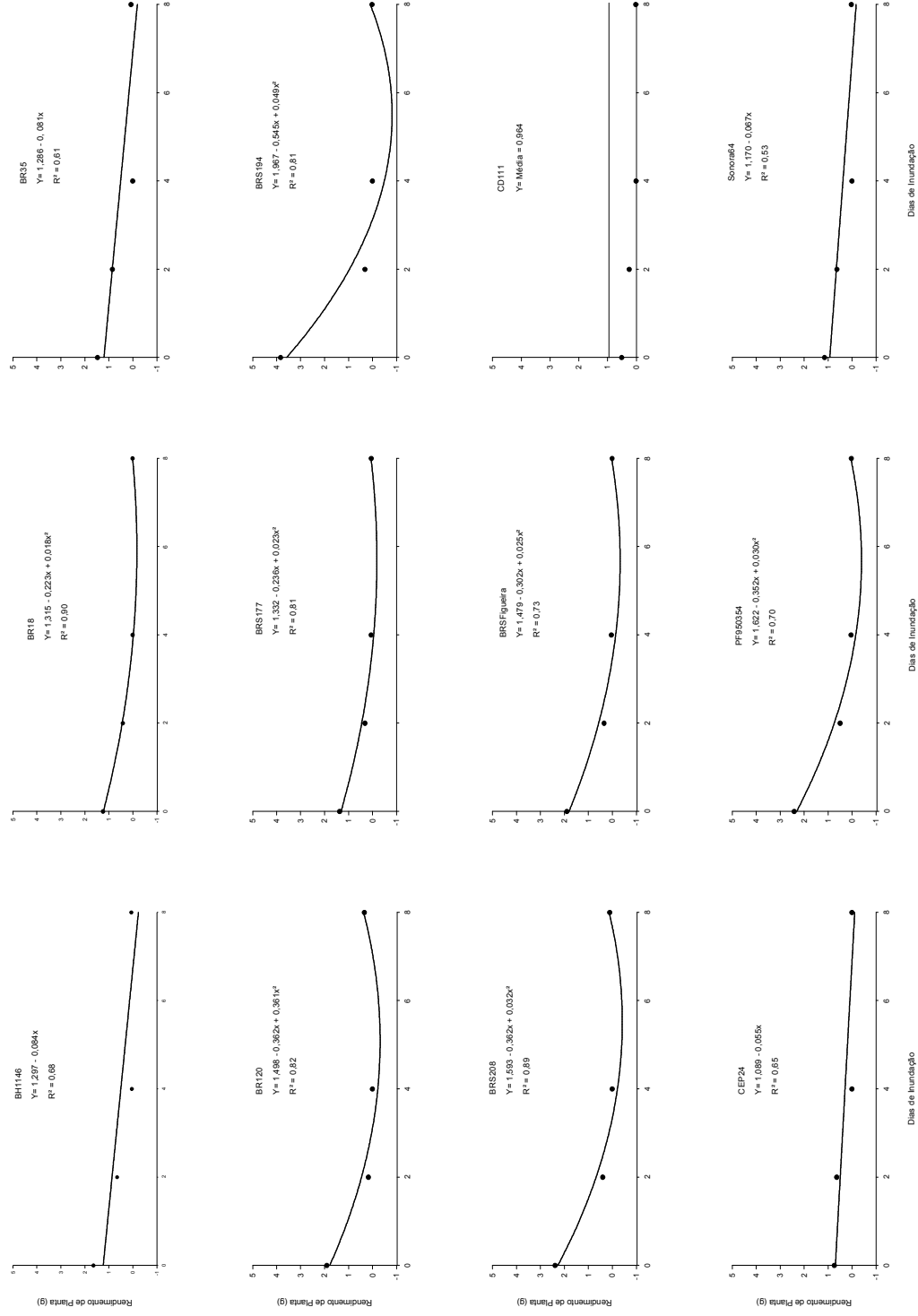


Figura 13 - Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas da variável rendimento de planta (RP) avaliadas em 4 tempos de inundação. Pelotas – RS, 2007.

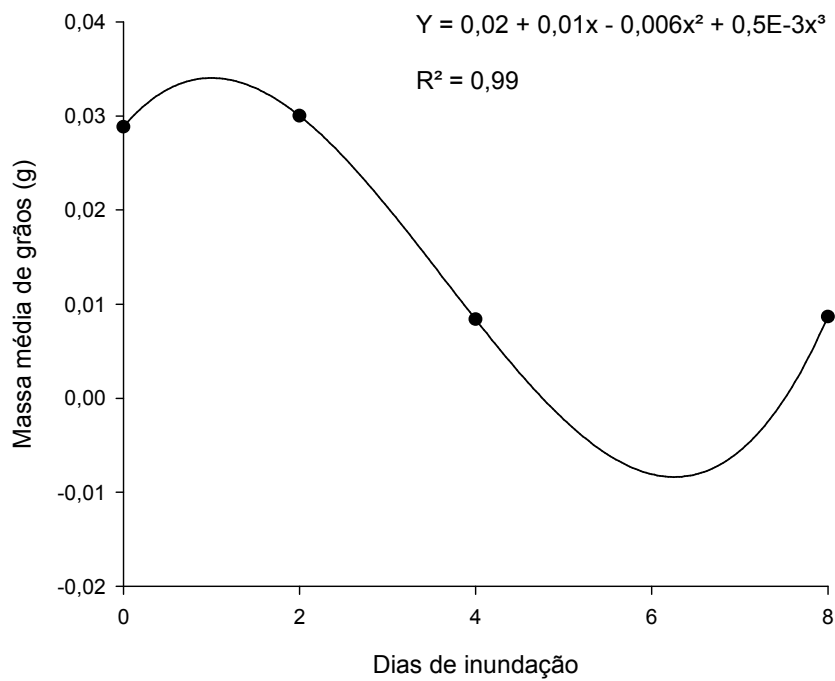


Figura 14 - Parâmetro da equação de regressão e respectiva representação gráfica da variável massa média de grãos (MMG) avaliada em quatro condições de inundação. Pelotas – RS.

Os danos observados no desenvolvimento das plantas de trigo sob estresse por inundação do solo podem estar relacionados a interrupções de trocas gasosas entre a planta, solo e atmosfera.

Com a inundação temporária, o movimento de gases e a concentração de oxigênio resultam em uma série de mudanças químicas, bioquímicas e morfológicas, o que incluem a formação de elementos como gás carbônico e etileno, ácidos orgânicos e outros hormônios atingindo níveis tóxicos às plantas. Ocorre um redirecionamento das vias metabólicas para superar o período de estresse, assim como formação de espécies reativas de oxigênio na retomada a respiração aeróbica.

Diante as variáveis analisadas relacionadas ao rendimento de grãos, e levando em consideração o desempenho crítico, os genótipos BRS208 e BR120 resultaram ser os mais tolerantes ao estresse por inundação obtendo uma expressiva recuperação aos oito dias de tratamento. O genótipo BRS194 demonstrou-se o mais sensível sob a condição de estresse.

4.2 Análise de agrupamentos

O método de agrupamento de Tocher foi aplicado para os 4 tratamentos de forma a visualizar a formação de grupos entre genótipos submetidos a condições de estresse. Este método leva a um estabelecimento de grupos de forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos. Além disso, é uma técnica de otimização que agrupa os indivíduos mantendo o critério de que as distâncias intragrupos sejam menores do que intergrupos (CRUZ; REGAZZI, 1997).

Desta maneira, a formação destes grupos possibilita informações para seleção de genitores dentro de programas de melhoramento, pois as novas populações a serem formadas devem ser baseadas na amplitude de suas distâncias e na potencialidade dos genitores.

A estimativa das distâncias genéticas perante o tratamento controle permitiu a formação de 5 grupos distintos pelo método Tocher (Tabela 4). O primeiro grupo reuniu os genótipos 2, 12, 1, 7, 10 e 11. O segundo foi formado pelos genótipos 3, 5 e 8. O terceiro, quarto e quinto grupos ficaram apenas com um genótipo em cada, sendo respectivamente, 6, 9, e 4.

A separação destes grupos possibilitou visualizar a similaridade entre genótipos levando em consideração os caracteres morfológicos dos genótipos em condições normais de cultivo.

Tabela 4- Agrupamento dos genótipos de trigo no tratamento controle pelo método de otimização de Tocher, com base em 12 caracteres morfológicos. Pelotas – RS, 2007

GRUPO	INDIVÍDUOS
< 1 >	2 12 1 7 10 11
< 2 >	3 5 8
< 3 >	6
< 4 >	9
< 5 >	4

1)BH1146, 2)BR18, 3)BR35, 4)BRS120, 5)BRS177, 6)BRS194, 7)BRS208, 8)BRSFigueira, 9)CD111, 10)CEP24, 11)PF950354, 12)Sonora64.

Já para o tratamento 2 dias de inundação, foi novamente realizado um agrupamento de Tocher (Tabela 5), onde a estimativa das distâncias genéticas permitiu a formação de 4 grupos distintos. O primeiro grupo reuniu os genótipos: 5, 7, 8 e 6. O segundo foi formado pelos genótipos: 3, 4 e 2. O terceiro foi formado pelos genótipos: 9, 10, 11, e 12 e o quatro com apenas o genótipo 1.

A separação destes grupos possibilitou visualizar a similaridade entre genótipos levando em consideração os caracteres morfológicos dos genótipos em condições de dois dias de inundação. Nesta análise pode-se verificar uma variação nos agrupamentos quando comparados com o tratamento controle. Podendo inferir que as condições de estresse agiram sobre as características morfológicas da planta de modo a interferir no cálculo de distância genética entre os genótipos estudados, mas a condição de estresse neste tratamento não foi suficiente para separar os genótipos 10 e 11 que tinham agrupados juntos diante da análise de agrupamento para a dose controle. Mostrando que sob este nível de estresse, estes genótipos não apresentam comportamento diferenciado.

Tabela 5- Agrupamento dos genótipos de trigo no tratamento dois dias de inundação pelo método de otimização de Tocher, com base em 12 caracteres morfológicos. Pelotas –RS, 2007.

GRUPO	INDIVÍDUOS
< 1 >	5 7 8 6
< 2 >	3 4 2
< 3 >	9 10 11 12
< 4 >	1

1)BH1146, 2)BR18, 3)BR35, 4)BRS120, 5)BRS177, 6)BRS194, 7)BRS208, 8)BRSFigueira, 9)CD111, 10)CEP24, 11)PF950354, 12)Sonora64.

Aos 4 dias de inundação (Tabela 6) o agrupamento dos genótipos possibilitou a formação de 5 grupos distintos. O primeiro grupo reuniu os genótipos: 1, 4, 5, 7, 9, 6, 11, 2 o segundo, terceiro, quarto e quinto foram formados pelos genótipos: 3, 8,12 e 10 respectivamente. Perante este tratamento a variação dos caracteres morfológicos foi maior devido ao estresse, de modo a separar os genótipos 10 e 11 que já haviam agrupados junto tanto no tratamento controle como no tratamento 2 dias de inundação. Assim também foi verificado o agrupamento para o tratamento 8 dias de inundação. Diante deste tratamento, houve a separação de 5 grupos distintos (Tabela 7). O primeiro grupo reuniu os genótipos: 5, 7, 8, 9, 12, 4, 2 e 3. O segundo, terceiro, quarto e quinto grupos foram formados pelos genótipos: 1, 6,10 e 11 respectivamente. Novamente os genótipos 10 e 11 formaram grupos separados, sugerindo que este tratamento, assim como o tratamento com quatro dias de inundação, foi estressante o suficiente para produzir respostas diferenciadas destes genótipos. Esta diferenciação sugere que os genótipos apresentam diferenças quanto a tolerância ao estresse, pois são similares na condição controle e diferentes sob estresse.

Tabela 6- Agrupamento dos genótipos de trigo no tratamento 4 dias de inundação pelo método de otimização de Tocher, com base em 12 caracteres morfológicos. Pelotas –RS, 2007.

GRUPO	INDIVÍDUOS											
< 1 >	1	4	5	7	9	6	11	2				
< 2 >	3											
< 3 >	8											
< 4 >	12											
< 5 >	10											

1)BH1146, 2)BR18, 3)BR35, 4)BRS120, 5)BRS177, 6)BRS194, 7)BRS208, 8)BRSFigueira, 9)CD111, 10)CEP24, 11)PF950354, 12)Sonora64.

Tabela 7- Agrupamento dos genótipos de trigo no tratamento 8 dias de inundação pelo método de otimização de Tocher, com base em 12 caracteres morfológicos. Pelotas –RS, 2007.

GRUPO	INDIVÍDUOS											
< 1 >	1	4	5	7	9	6	11	2				
< 2 >	3											
< 3 >	8											
< 4 >	12											
< 5 >	10											

1)BH1146, 2)BR18, 3)BR35, 4)BRS120, 5)BRS177, 6)BRS194, 7)BRS208, 8)BRSFigueira, 9)CD111, 10)CEP24, 11)PF950354, 12)Sonora64.

O método de SINGH (1981) foi utilizado para avaliar a importância relativa dos 13 caracteres dentro de cada tratamento (tabelas 8,9,10,11). Para a dose controle (tabela 8) pode ser determinado que as variáveis que mais contribuíram para o cálculo da distância genética foram: ME (21,77%), MMG (12,85%), NA (10,87%), enquanto que as variáveis COR e DC contribuíram apenas com 1,30% e 2,88% respectivamente.

Tabela 8- Contribuição relativa dos caracteres para o cálculo da distância genética entre os genótipos de trigo no tratamento controle, baseada na estatística de SINGH (1981). Pelotas – RS, 2007

VARIÁVEL	VALOR EM %
x 1 (EP)	6.2156
x 2 (N°A)	10.8787
x 3 (Cor)	1.3072
x 4 (DC)	2.8854
x 5 (MSPA)	8.3823
x 6 (MSR)	5.2618
x 7 (MFPA)	8.1954
x 8 (MFR)	4.4799
x 9 (N°AF)	8.9071
x 10 (RP)	3.2234
x 11 (ME)	21.7701
x 12 (N°GP/E)	8.5243
x 13 (MMG)	12.854

(x1) Estatura de planta (EP), (x2) número de afilhos (NA), (x3) cor, (x4) diâmetro do colmo (DC), (x5) massa seca da parte aérea (MSPA), (x6) massa seca da raiz (MSR), (x7) massa fresca da parte aérea (MFPA), (x8) massa fresca da raiz (MFR), (x9) número de afilhos férteis (NAF), (x10) rendimento de planta (RP), (x11) massa de espiga (ME), (x12) número de grãos por espiga (NGP/E), (x13) massa média de grãos (MMG).

Para o tratamento dois dias de inundação (tabela 9) as variáveis que mais contribuíram para o cálculo da distancia genética foram: NGP/E (30,42%) e EP (15,67%), enquanto que as variáveis MFPA e NAF contribuíram apenas com 1,38% e 2,09% respectivamente.

Tabela 9- Contribuição relativa dos caracteres para o cálculo da distancia genética entre os genótipos de trigo no tratamento dois dias de inundação, baseada na estatística de SINGH (1981). Pelotas – RS, 2007.

VARIÁVEL	VALOR EM %
x 1	15.6791
x 2	4.3944
x 3	2.4095
x 4	2.1271
x 5	12.7874
x 6	4.8115
x 7	1.3866
x 8	8.1522
x 9	2.0987
x 10	2.1071
x 11	8.5283
x 12	30.4253
x 13	7.22

(x1) Estatura de planta (EP), (x2) número de afilhos (NA), (x3) cor, (x4) diâmetro do colmo (DC), (x5) massa seca da parte aérea (MSPA), (x6) massa seca da raiz (MSR), (x7) massa fresca da parte aérea (MFPA), (x8) massa fresca da raiz (MFR), (x9) número de afilhos férteis (NAF), (x10) rendimento de planta (RP), (x11) massa de espiga (ME), (x12) número de grãos por espiga (NGP/E), (x13) massa média de grãos (MMG).

Em 4 dias de inundação (Tabela 10) o método de SINGH (1981), demonstrou que as variáveis que mais contribuíram para o cálculo da distancia genética foram: NGP/E (23,81%), MFPA (12,85%), enquanto que as variáveis EP e RP contribuíram apenas com 0.003% e 0.62% respectivamente.

Tabela 10- Contribuição relativa dos caracteres para o cálculo da distância genética entre os genótipos de trigo no tratamento 4 dias de inundação, baseada na estatística de SINGH (1981). Pelotas – RS, 2007.

VARIÁVEL	VALOR EM %
x 1	.003
x 2	12.8532
x 3	10.4536
x 4	1.8032
x 5	6.8534
x 6	5.4228
x 7	22.2079
x 8	2.5994
x 9	7.2802
x 10	.6248
x 11	4.9486
x 12	23.8176
x 13	2.9355

(x1) Estatura de planta (EP), (x2) número de afilhos (NA), (x3) cor, (x4) diâmetro do colmo (DC), (x5) massa seca da parte aérea (MSPA), (x6) massa seca da raiz (MSR), (x7) massa fresca da parte aérea (MFPA), (x8) massa fresca da raiz (MFR), (x9) número de afilhos férteis (NAF), (x10) rendimento de planta (RP), (x11) massa de espiga (ME), (x12) número de grãos por espiga (NGP/E), (x13) massa média de grãos (MMG).

Para o tratamento 8 dias de inundação (Tabela 11) as variáveis que mais contribuíram para o cálculo da distância genética foram: EP (22.13%), NAF (17,26 %), enquanto que as variáveis MMG e COR contribuíram apenas com 0.09% e 3,68 % respectivamente.

Tabela 11- Contribuição relativa dos caracteres para o cálculo da distância genética entre os genótipos de trigo no tratamento 8 dias de inundação, baseada na estatística de SINGH (1981). Pelotas – RS, 2007.

VARIÁVEL	VALOR EM %
x 1	22.1387
x 2	6.521
x 3	3.6898
x 4	3.7947
x 5	5.1512
x 6	8.6174
x 7	14.6405
x 8	3.9003
x 9	17.2644
x 10	5.1415
x 11	4.5562
x 12	8.2842
x 13	.0947

(x1) Estatura de planta (EP), (x2) número de afilhos (NA), (x3) cor, (x4) diâmetro do colmo (DC), (x5) massa seca da parte aérea (MSPA), (x6) massa seca da raiz (MSR), (x7) massa fresca da parte aérea (MFPA), (x8) massa fresca da raiz (MFR), (x9) número de afilhos férteis (NAF), (x10) rendimento de planta (RP), (x11) massa de espiga (ME), (x12) número de grãos por espiga (NGP/E), (x13) massa média de grãos (MMG).

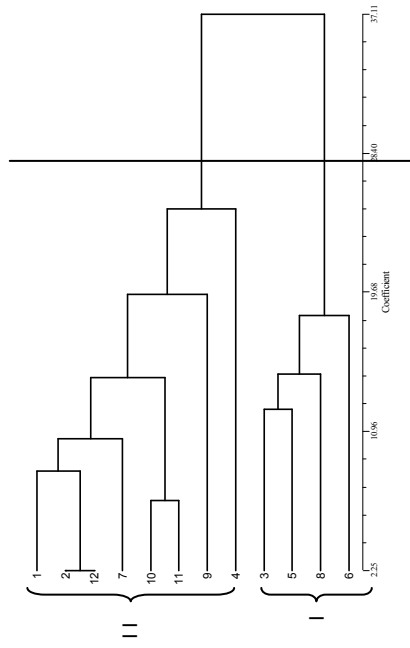
Outro método de agrupamento utilizado foi o UPGMA (Método não ponderado por médias aritméticas, originado do inglês *Unweighted pair-group arithmetic average*) (Figura 17).

O dendrograma gerado com os dados obtidos no tratamento controle, utilizando a distância média entre genótipos como critério para a separação dos grupos propiciou a formação de 2 grupos distintos: I) genótipos 1,2,12,7,10,11,9 e 4; II) genótipos 3,5,8 e 6. Sendo que no primeiro grupo os genótipos mais similares foram os genótipos 2 e 12, seguido dos genótipos 10 e 11, como já havia sido relatado pelo método de agrupamento Tocher. Já para o tratamento 2 dias de inundação houve uma alteração nos grupos quando comparados com o tratamento controle, evidenciando que a condição de estresse pode alterar os agrupamentos, assim como as caracteres que mais contribuem para a estimativa da distância genética. Para este tratamento foi possível visualizar a formação de 3 grupos distintos: I) genótipos 5, 7,6 e 8; II) genótipos 9, 10,11 e 12; III) genótipos 1,2,3, e 4. Novamente foi possível visualizar a similaridade entre os genótipos 10 e 11 podendo inferir que em 2 dias de tratamento o estresse não foi suficiente para separar os genótipos 10 e 11. Também foi possível observar neste tratamento um similaridade

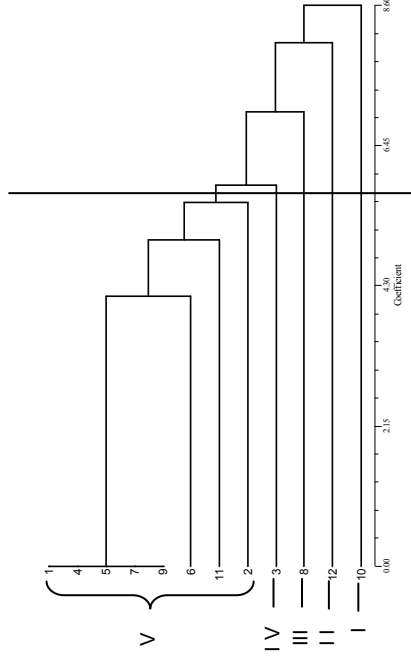
entre os genótipos 5 e 7, que foi bem representativo pois tanto em 4 dias de inundação como em 8 não os separaram, revelando estes como genótipos mais similares após condições de estresse. Os dados do método de agrupamento UPGMA para estes genótipos concordam com as análises de agrupamento Tocher.

No tratamento 4 dias de inundação, a condição de estresse foi mais intensa alterando as características morfológicas avaliadas de modo a interferir na estimativa da distância genética, sendo possível visualizar a formação de 5 grupos distintos: I) 10; II) 12; III) 8; IV) 3; V) genótipos 1,4,5,7,9,6,11 e 2. Perante este tratamento os genótipos 10 e 11 deixaram de agrupar junto passando a formar grupos isolados. No entanto para o agrupamento obtido em 8 dias de inundação, tratamento o qual mais se aproxima com as condições reais de campo, pois 10 a 20 mm de chuvas no inverno em região de várzea (solos hidromórficos) já causam alagamento do solo e conseqüentemente condições anaeróbicas, levando em torno de 8 a 10 dias para a drenagem natural do solo e retorno as condições aeróbicas. Neste tratamento utilizando a distancia media entre genótipos como critério para a separação dos grupos foi possível visualizar a formação de 5 grupos distintos: I) 11; II) 6; III) 10; IV) 2,4,5,7,8,9,12 e 3; V) 1. Novamente genótipos 10 e 11 apresentara-se em grupos isolados e os genótipos 5 e 7 demonstram maior similaridade genética entre os genótipos estudados agrupando sempre juntos em condições de estresse.

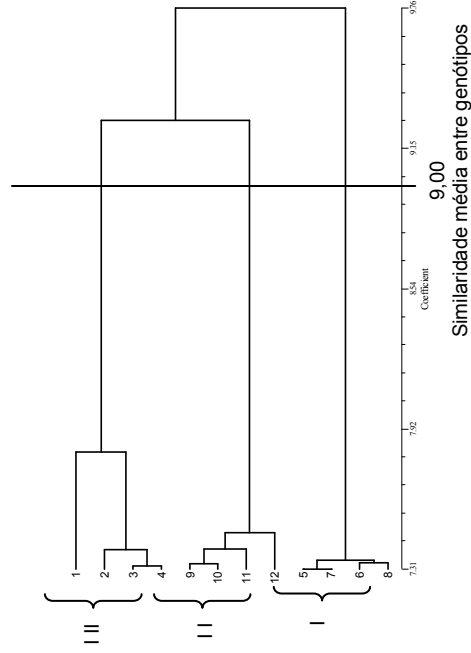
Tratamento condição de campo



Tratamento 4 dias de inundação



Tratamento 2 dias de inundação



Tratamento 8 dias de inundação

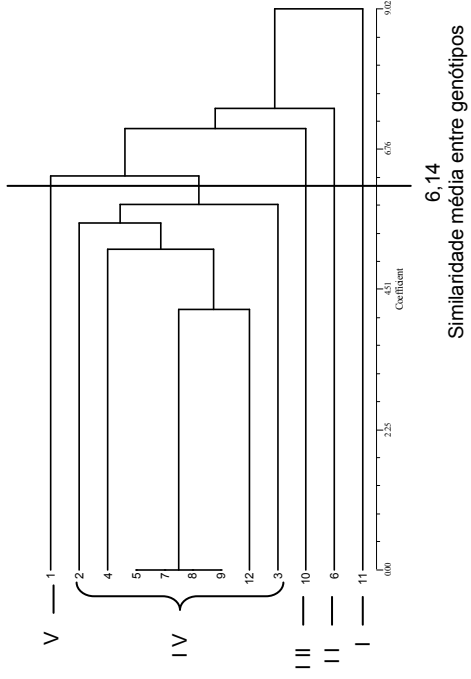


Figura 15 - Dendrograma obtido a partir da análise dos dados morfológicos de plantas de trigo submetidas a diferentes tempos de inundação do solo, por meio da distância de Mahalanobis e método de agrupamento UPGMA. O coeficiente de correlação cofenética (r) foi de 0,68 para tratamento controle, $r=0,92$ para 2 dias de inundação, $r=0,79$ para 4 dias de inundação e $r=0,76$ para 8 dias de inundação. Pelotas-RS



Figura 16 – Genótipos de trigo submetidos aos tratamentos de inundação. Pelotas-RS.

4.3 Filogenia Molecular

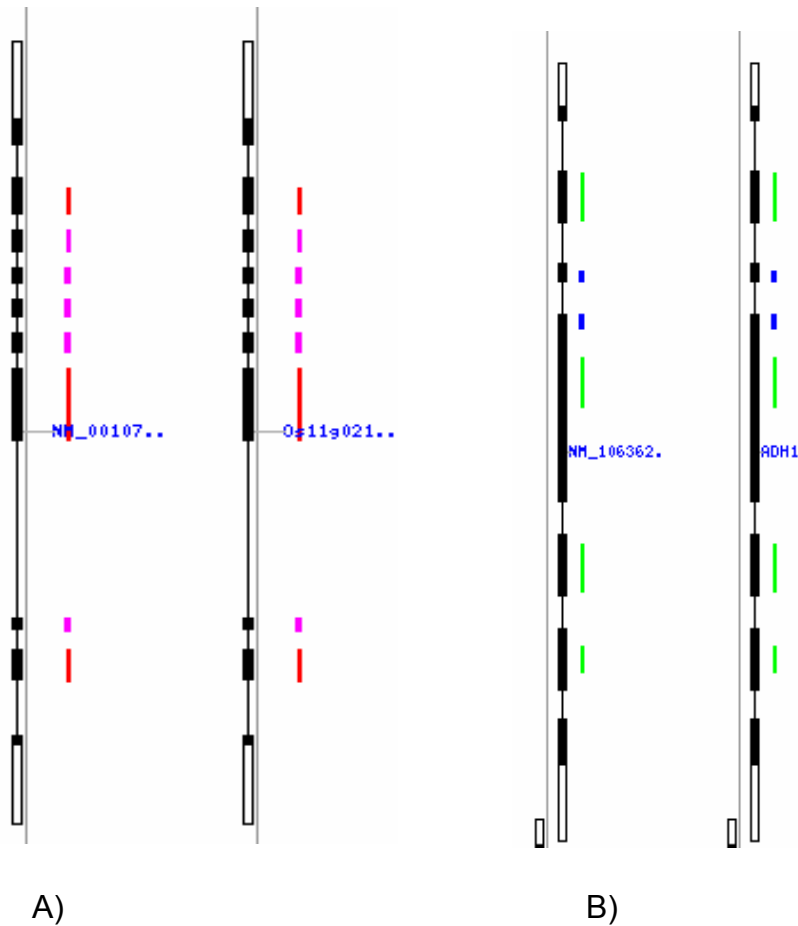


Figura 19 – A) estrutura gênica da ADH1 em arroz, B) estrutura gênica do gene ADH1 em Arabidopsis. Pelotas RS.

Primeiramente foi realizado um estudo da estrutura gênica do gene *ADH1* na espécie modelo para as monocotiledôneas e para as dicotiledôneas (Figura 17).

Foi observada uma variação na organização do gene para as diferentes espécies, o que indica que mesmo este gene sendo muito conservado em termos evolutivos, houve uma alteração na sua estrutura gênica.

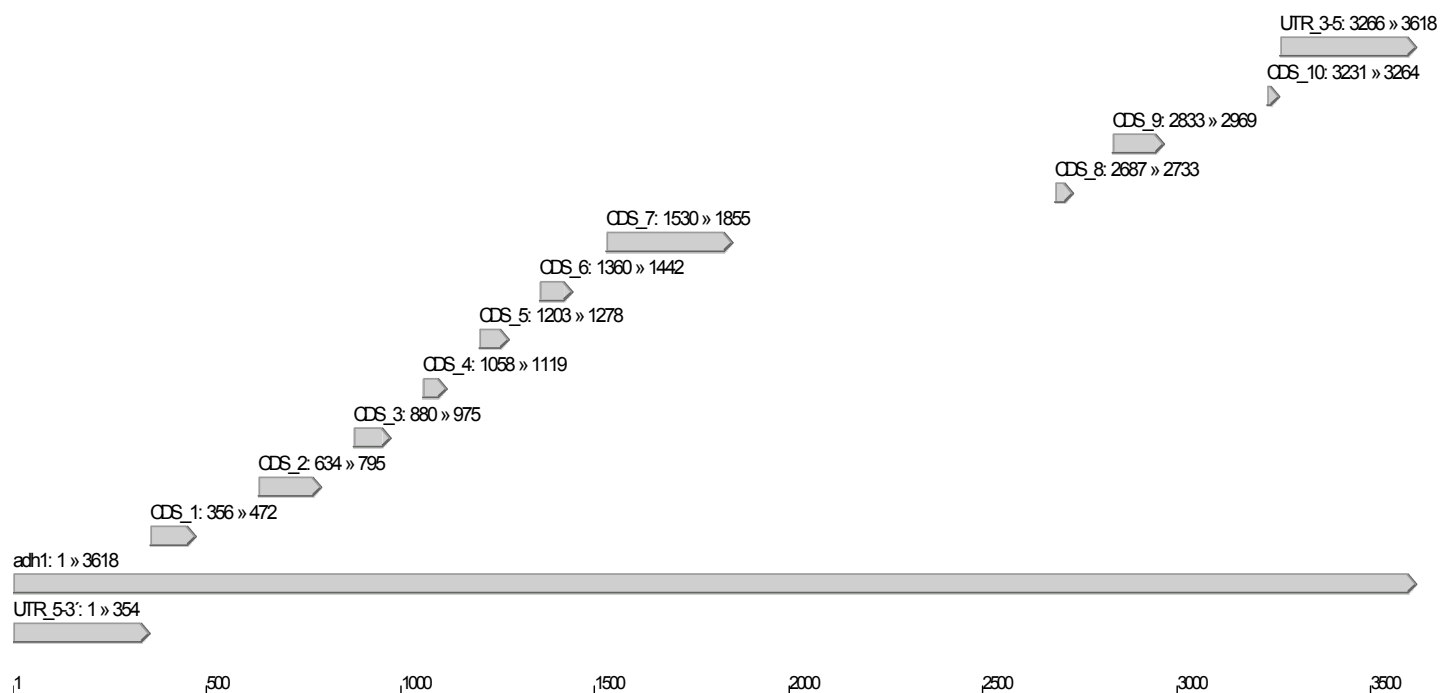


Figura 20 – Alinhamento entre a sequência do gene ADH1 do arroz contra somente as regiões de CDS (regiões expressas) Pelotas - RS.

Um alinhamento entre a sequência do gene *ADH1* do arroz e suas regiões expressas (*CDS*) foi realizado (Figura 20) de modo a verificar o local destas regiões na sequência do gene. Também foi realizado um alinhamento entre as regiões expressas do gene *ADH1* do arroz e o mRNA de *ADH1* em trigo (Figura 21). Neste alinhamento foi possível verificar que dos dez *CDS* encontrados no arroz, apenas 6 alinharam contra o mRNA do trigo. Isto indica que ao longo da evolução entre estas espécies houve ganho e perda de regiões do gene. Este fato pode estar relacionado em parte com o nível de tolerância a inundações na espécie *Oryza sativa* L.

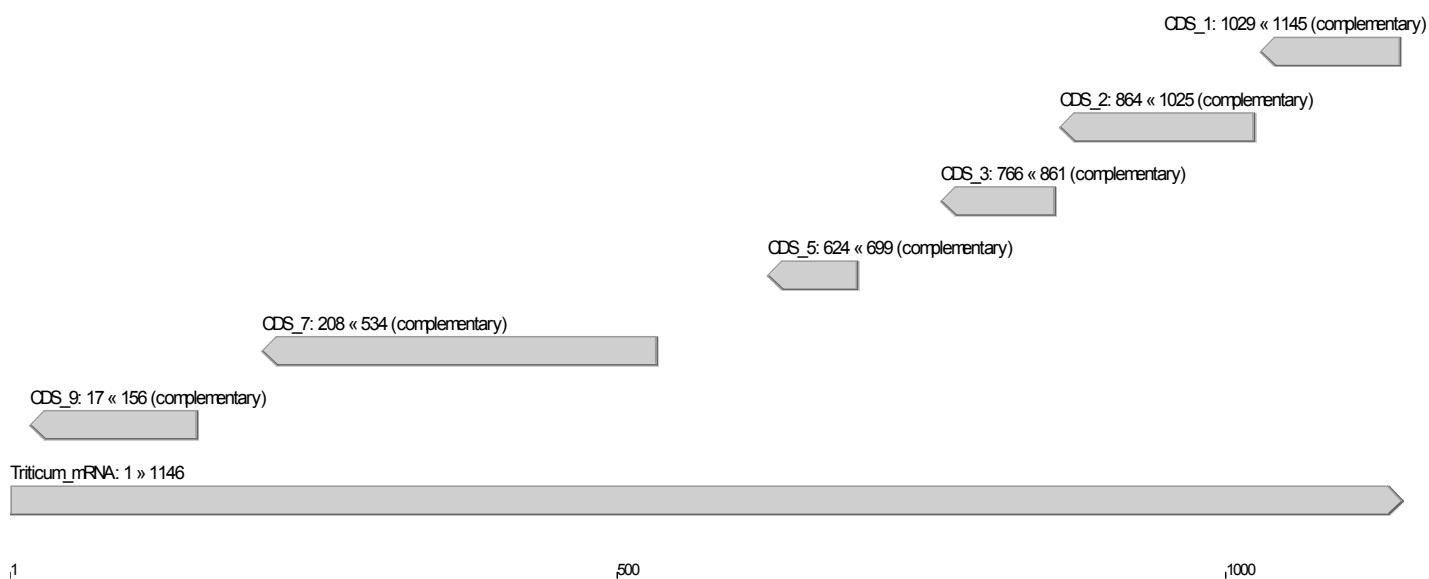


Figura 21 – Alinhamento entre as seqüência expressas do gene ADH1 do arroz contra mRNA do trigo. Pelotas - RS.

No entanto, analisando a árvore filogenética obtida para álcool desidrogenase (*Adh1*), observa-se que as espécies da família Poaceae apresentam um alto grau de conservabilidade para o gene *Adh1* agrupando-as no mesmo “ramo” da árvore filogenética com um alto valor de autoamostragem 99%, demonstrando que evolutivamente são originadas de um ancestral comum (Figura 22).

Uma análise de genes de plantas indicou que os genes *Adh1* divergiram de seqüências de monocotiledôneas e dicotiledôneas. Este resultado possibilita inferir que a família deste gene não surgiu de um único evento de duplicação no início da evolução das angiospermas (YOKOYAMA et al., 1993).

As espécies mais similares pertencentes à família Poaceae são *Saccharum officinarum* e *Zea mays*, representado então maior identidade entre as seqüências de nucleotídeos.

A espécie modelo (*Oryza sativa*) apresentou uma maior dissimilaridade em relação ao restante das espécies da família Poaceae, apresentando uma menor identidade entre as sua seqüências com as demais espécies.

Uma constatação decorrente da interpretação da árvore filogenética foi que a espécie *Elaeis guineenses* pertencente à família das *Aracales* agrupou mais próximo

da família *Poaceae*, com 58% de autoreamostragem, o que indica a possibilidade do gene *Adh1* da família *Poaceae* ter divergido de um evento ocorrido por alguma irradiação no início da evolução das monocotiledôneas. Há dados de que a família *Aracales* emergiu a 80 milhões de anos atrás e a família das *Poaceae* surgiu, bem mais tarde, cerca de 60 milhões, e foi intensamente estudada devido a sua importância econômica (BRIAN et al., 1996). As seqüências alinhadas são mostradas na Figura 23 sendo possível visualizar as regiões que se mantiveram conservadas para todas as espécies estudadas, sendo esta própria para futuros desenhos de primers, pois esta região mais conservada apresenta pouca variação entre seus nucleotídeos o que facilita a transferabilidade destes *primers* entre arroz e trigo.

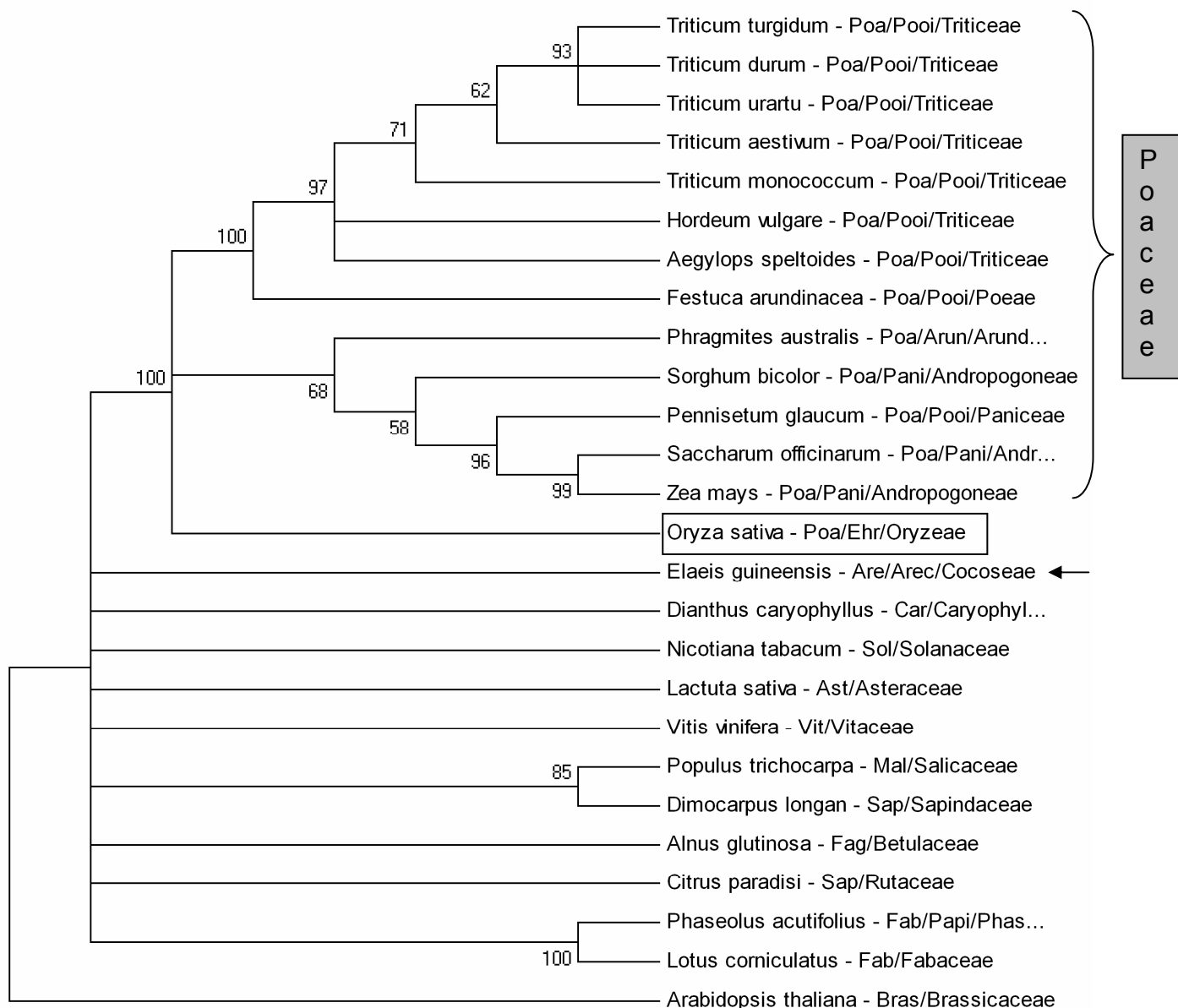


Figura 22 – Árvore filogenética da sequência da álcool desidrogenase depositado no NCBI e TIGR construída com auxílio do programa MEGA, previamente alinhadas com o programa Clustal-W. Os valores representam porcentagem (%) de vezes que as seqüências agruparam juntas em 1000 ciclos de autoamostragem (bootstrapping). Pelotas – RS.

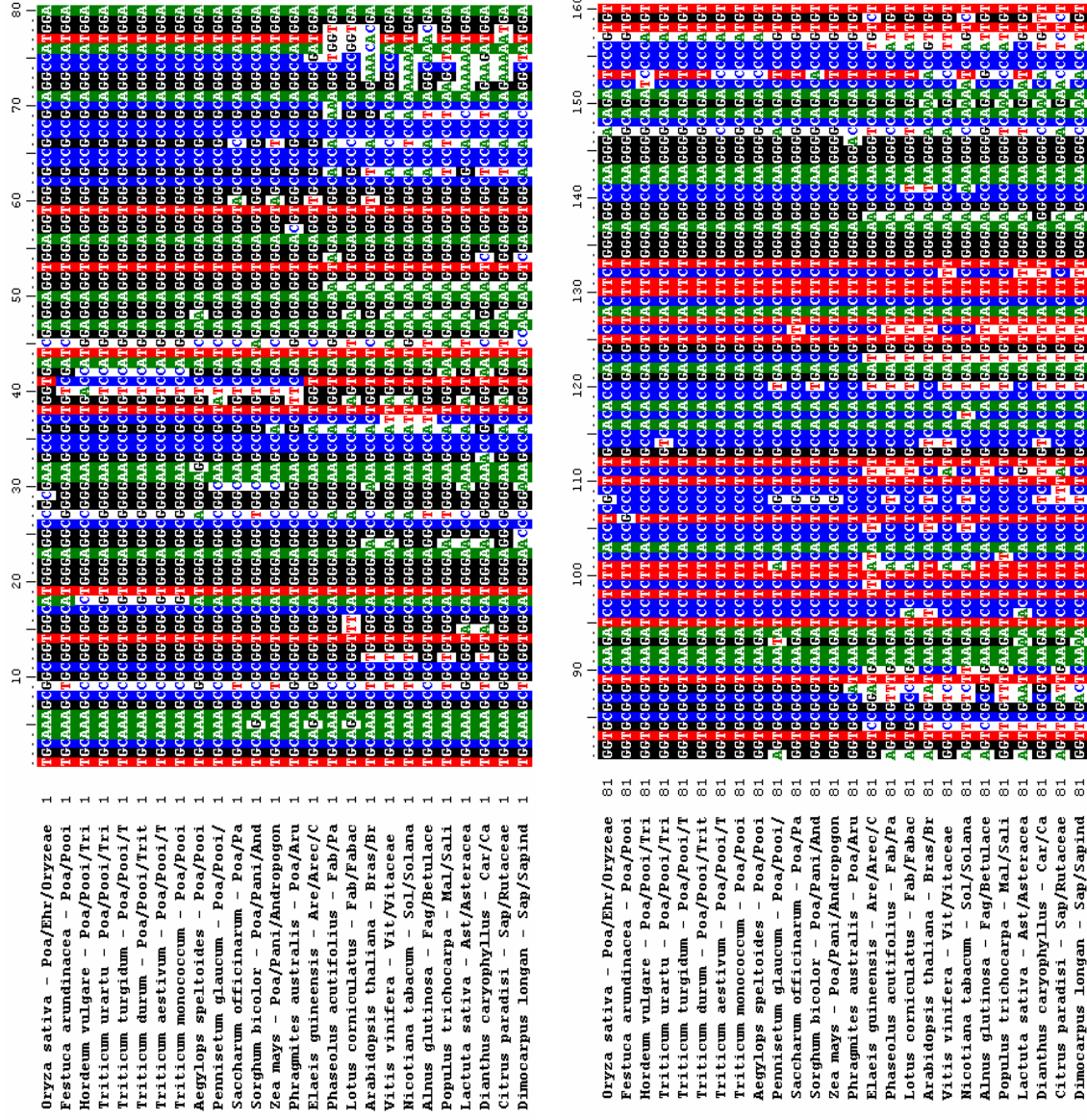


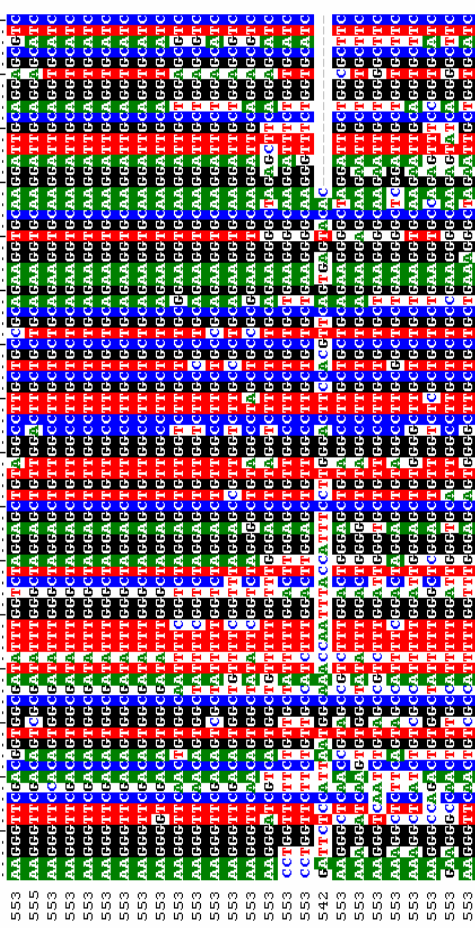
Figura 23 – Alinhamento global dos genes *Adh1* em espécies de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas, pelo programa Clustal - W. Pelotas - RS.

(continuação da Figura 23)

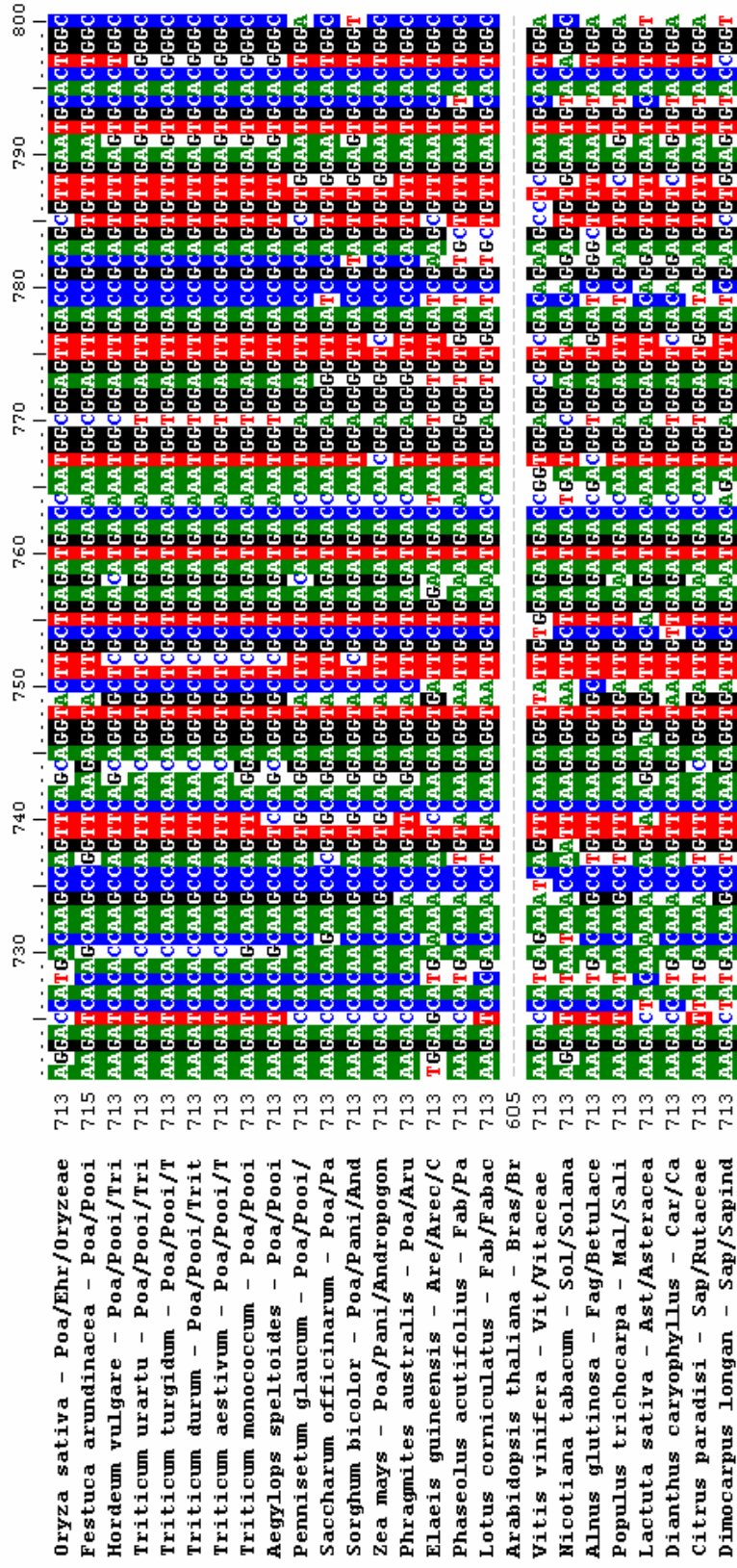
Oryza sativa - Poa/Ehr/Oryzeae
 Festuca arundinacea - Poa/Pooi
 Hordeum vulgare - Poa/Pooi/Tri
 Triticum urartu - Poa/Pooi/Tri
 Triticum turgidum - Poa/Pooi/T
 Triticum durum - Poa/Pooi/Trit
 Triticum aestivum - Poa/Pooi/T
 Triticum monococcum - Poa/Pooi
 Aegilops speltoides - Poa/Pooi
 Pennisetum glaucum - Poa/Pooi/
 Saccharum officinarum - Poa/Pa
 Sorghum bicolor - Poa/Pani/And
 Zea mays - Poa/Pani/Andropogon
 Phragmites australis - Poa/Ar
 Elea guineensis - Are/Arec/C
 Phaseolus acutifolius - Fab/Pa
 Lotus corniculatus - Fab/Fabac
 Arabidopsis thaliana - Bras/Br
 Vitis vinifera - Vit/Vitaceae
 Nicotiana tabacum - Sol/Solana
 Alnus glutinosa - Fag/Betulace
 Populus trichocarpa - Mal/Sali
 Lactuca sativa - Ast/Asteracea
 Dianthus caryophyllus - Car/Ca
 Citrus paradisi - Sap/Rutaceae
 Dimocarpus longan - Sap/Sapind



Oryza sativa - Poa/Ehr/Oryzeae
 Festuca arundinacea - Poa/Pooi
 Hordeum vulgare - Poa/Pooi/Tri
 Triticum urartu - Poa/Pooi/Tri
 Triticum turgidum - Poa/Pooi/T
 Triticum durum - Poa/Pooi/Trit
 Triticum aestivum - Poa/Pooi/T
 Triticum monococcum - Poa/Pooi
 Aegilops speltoides - Poa/Pooi
 Pennisetum glaucum - Poa/Pooi/
 Saccharum officinarum - Poa/Pa
 Sorghum bicolor - Poa/Pani/And
 Zea mays - Poa/Pani/Andropogon
 Phragmites australis - Poa/Ar
 Elea guineensis - Are/Arec/C
 Phaseolus acutifolius - Fab/Pa
 Lotus corniculatus - Fab/Fabac
 Arabidopsis thaliana - Bras/Br
 Vitis vinifera - Vit/Vitaceae
 Nicotiana tabacum - Sol/Solana
 Alnus glutinosa - Fag/Betulace
 Populus trichocarpa - Mal/Sali
 Lactuca sativa - Ast/Asteracea
 Dianthus caryophyllus - Car/Ca
 Citrus paradisi - Sap/Rutaceae
 Dimocarpus longan - Sap/Sapind



(continuação da Figura 23)



(Continuação da Figura 23).

5. CONCLUSÃO

É possível identificar variabilidade genética para o caráter tolerância a inundação em casa de vegetação. Em condições de alagamento do solo, as cultivares BRS208 e BRS120 apresentaram os melhores desempenhos, constituindo os genótipos mais tolerantes ao estresse por inundação. O genótipo CD 111 e BRS194 mostraram-se os mais sensíveis à hipoxia.

Diante os estudos de distância genética os genótipos BRS 177 (5) e BRS 208 (7) demonstraram ser os mais similares em condições de estresse por inundação e os genótipos CEP 24 (10) e PF950354 (11) os mais dissimilares.

Através da análise de Filogenia Molecular foi possível observar a formação de um grupo bem consistente com as espécies da família Poaceae indicando um alto grau de identidade entre as seqüências dos genes *Adh1* das espécies da família Poaceae. O gene do arroz é o mais dissimilar entre os membros de espécies de Poaceae, sugerindo que o acúmulo de mutações e/ou o ganho de funções podem estar associadas a maior tolerância ao encharcamento presente no arroz. O entendimento da similaridade entre os genes de Poaceae permitirá estudar melhor a relação entre variações neste gene e o caráter.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, F.L.; COMSTOCK, R.E.; RASMUSSEN, D.C. Optimal environments for yield testing. *Crop Science*, Madison, v.17, p.747-751, 1977.

ALMEIDA, R.E.; CARLESSO, R.; MARCHEZAN, E.; FRIZZO, Z.; MICHELON, C.J. Índice de estresse por excesso hídrico para a cultura do milho em sol de várzea. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 31., 2002 Salvador

ALVES, J. D.; MAGALHÃES, M. M.; GOULART, P. F. P.; DANTAS, B. F.; GOUVÊA, J. A.; PURCINO, R. P.; MAGALHÃES, P. C.; FRIES, D. D.; LIVRAMENTO, D. E.; MEYER, L. E.; SEIFFERT, M.; SILVEIRA, T. Mecanismos de tolerância da variedade de milho "Saracura" (BRS 4154) ao alagamento. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 33-40, 2002.

ALVES, J.D.; MAGALHÃES, M.M; OLIVEIRA, L.E.M.; VITORINO, P.G. Mecanismo de tolerância de plantas ao alagamento. *Universa*, Brasília, v.8, p.221-242, 2000

ANDRADE, A. C. S. DE.; RAMOS, F.N.; SOUZA, A. F. DE.; LOUREIRO, M. B.; BASTOS, R. Flooding effects in seedlings of *Cytherexylum myrianthum* charm. And *Genipa Americana* L.; responses of two neotropical lowland tree species. *Revta Brasil. Bot*, São Paulo, v.22, n. 2 , p. 281-285, 1999.

ARMSTRONG, W.; BRÄNDLE, R.; JACKSON, M.B. Mechanisms of flood tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica*, Oxford, v.43, n.4, p.307-358, Dec. 1994.

ASHRAF, M.; CHISTI, S. N. Watwelogging tolerance of some accessions of lentil. *Tropical Agriculture*, Trinidad & Tabago, v. 70, n.1, p. 60-67, nov1993.

AUBERTIN, G. M.; KARDOS, L. T. Root growth through porous media under controlled conditions II. Effect of aeration levels and rigidity. *Soil Science Society of America Proceedings*, Madison, v. 29, n. 1, p. 363-365, jan./dec. 1965.

BACHA, R. E. Principios básicos para adubação de arroz irrigado. In BACHA, R. E. Curso Nacional da Cultura do Arroz Irrigado, 1. Araranguá: Embrapa- Acoresc, 1987, 14p.

BADINELLI, P. G.; AMARANT, L.; COLARES, D.S.; BERNARDI, E. Influencia do ambiente hipóxico sobre o crescimento de soja nodulada em diferentes estágios fenológicos. In XV congresso de iniciação Científica, UFPel. 2006.

BARRETO, J.F. Avaliação de progênies de meio irmãos do composto de milho CMS-54 em duas condições de várzea do RS. Pelota; UFPel, 1995. 145p. Dissertação (Mestrado).

BAVER, L. D.; GARDNER, W.H.; GARDNER, W.R. Aeracion del suelo. In Física de Suelos. Mexico: Centro Regional de ayuda Técnica, 1973. p. 243-250.

BAZZAS, F.A. & PETERSON, D.L. Photosynthetic and growth responses of silver maple (*Acer saccharinum* L.) seedlings to flooding. *Am. Midl. Nat.*, 112: 261-272, 1984.

BECKMAN, C.; PERRY R.L. & FLORE J.A. Short-term flooding affects gas exchange characteristics of containerized sour cherry trees. *Hortscience*, 27:1297-1301, 1992.

BELFORD, R. K.; CANNELL, R. Q.; THOMSON, R. J.; DENNIS, C. W. Effects of waterlogging at different stages of development on the growth and yield of peas (*Pisum sativum* L.) *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v.31, n.4, p. 857-869, apr.1980.

BENIN, G., CARVALHO, F.I.F., OLIVEIRA, A.C., LORENCETTI, C., VIEIRA, E.A., COIMBRA, J.L.M., VALÉRIO, I.P., FLOSS, E.L., BERTAN, I., SILVA, G.O. Adaptabilidade e estabilidade em aveia em ambientes estratificados. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 2, 2005.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals of Botany*, London, v. 91, p. 179-194, Jan. 2003. Espetial.

BOREM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa: UFV, 817p. 1999.

BOULTER, D.; COULT, D.A. & HENSHAW, G.G. Some effects of gas concentrations on metabolism of the rhizome of *Iris pseudocorus* (L.). *Physiology. Pl.*, 16: 541-548, 1963.

BUCHER, M.; KUHLEMEIER, C. Long term anoxia tolerance. *Plant Physiology*, Rockville, v.103, n.2, p.:441-448, Oct.1993.

BYRNE, P.F.; BOLANÖS, J.; EDMÉADES, G.O. et al. Gain from selection under drought versus multilocation testing in related tropical maize populations. *Crop Science*, Madison, v.35, p.63-69, 1995.

BRIAN R., MORTON T., BRANDON S., GAU T., MICHAEL T. Evolution of alcohol dehydrogenase genes in the Palm and Grass. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* v.93, p. 11735-11739 outubro 1996

CAETANO, V.R.; LUZ, W.C. Observações no sistema radicular de trigo em solo encharcado. In: Reunião Anual Conjunta de Pesquisa de Trigo, 9., 1977, Londrina. Sanidade... Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, v.4, p.171-175, 1977.

CALHEIROS, R. DE O. Efeito do manejo da água de drenagem na adaptação fisiomorfológica de plantas mesófitas ao encharcamento 2000. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2000.

CAMARGO, F.A.; ZONTA, E.; SANTOS, G. de A.; ROSSIELO, R.O.P. Aspectos fisiológicos e caracterização de toxidez a ácidos orgânicos voláteis em plantas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n.3, p.523-529. 2001.
Cambridge, v. 20, n. 3, p. 761-767, 1980.

CARVALHO, F. F.; KUREK, A. J.; OLIVEIRA, A. C.; CARGNIN, A.; MARCHIORO, V. S.; LORENCETTI, C. Coeficiente de Correlação entre Caracteres Agronômicos e de Qualidade do Grão e sua utilidade na Seleção de Plantas em Aveia. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 3, p. 371-376, 2002.

CARVALHO, F.I.F. Comentários e informações pessoais. FAEM/UFPel. 2005.

CHEN, H.; QUALLS, R.G.; MILLER, G.C. Adaptative responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding: biomass allocation, adventitious rooting, aerenchyma formation and ethylene production. *Environmental and Experimental Botany*, 48:119-128, 2002.

CHILDERS, N.F. & WHITE D.G. Influence of submersion of roots on transpiration, apparent photosynthesis, and respiration of young apple. *Trees. Plant. Physiol.*, 17: 603-618, 1942.

COLLAKU, A.; HARRISON, S.A. Losses in wheat due to waterlogging. *Crop Science*, Madison, v. 42, n.2, p. 444-450, mar./apr.2002.
Comissão de Química e Fertilidade do Solo. Manual de adubação e de calagem para os estados do RS e SC. 10.ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - Núcleo Regional Sul, 2004. 394p.

CRAWFORD, R.M.M. Alcohol dehydrogenase activity in relation to flooding tolerance in roots. *J. Exp. Bot.* 18: 458-464, 1967.

CRAWFORD, R.M.M. & ZOCHOWSKI, Z.M. Tolerance of anoxia and ethanol toxicity in chickpea seedlings. *J. Exp. Bot.*, 35: 1472-1480. 1984.

CRUCIANI, D. E. Caracterização de coeficiente de drenagem com base nos parâmetros de produção das culturas. Piracicaba, 1981. p.99 Tese (Livre Docência) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

CRUZ CD and REGAZZI AJ (1997) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 2º Ed, Editora UFV, Viçosa, 390p.

CRUZ, C.D. Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2006.

DAVANO, V. M.; SOUZA, L. A. DE.; MEDRI, M. E.; PIMENTA, J. A.; BIANCHINI, E. Photosynthesis, growth and development of *tabebuia avellaneda* Lor. Ex. Griseb. (Bignoniaceae) in flooded soil. *Braz.arch.biol. technol*, Curitiba, v.45, n.3, 2002.

DAVIES, D.D. Anaerobic metabolism and the production of organic acids. In: DAVIES, D.D. ed. *The biochemistry of plants: a comprehensive treatise*. New York: Academic Press, v.2, p.581-611, 1980.

DIAS-FILHO, M.B.; Tolerance to flooding in five *Brachiaria brizantha* accessions. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.37, p.439-447, 2002.

DREW, M.C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v.48, p.223-250, 1997.

DREW, M.C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v.48, p.223-250, 1997.

ELSTNER, E. F. Metabolism of activated oxygen species. In: DAVIES, D. D. *Biochemistry of plants*. Londres: Academic Press, 1987. v. 11, p. 4253-315.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa trigo em: <http://www.cnpt.embrapa.br/> acesso em 15 de Agosto de 2007, 11:15:46.

FAO (Food And Agriculture Organization Of The United Nations) em: <http://www.fao.org/> acesso em 15 de Agosto de 2007, 10:46:30.

FERREIRA, M.E., GRATTAPAGLIA, D., *Introdução ao Uso de Marcadores em Análise Genética*. 2 ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1998. 220p.

FOX, T.C.; KENNEDY, R.A.; RUMPHO, M.E. Energetics of plant growth under anoxia: Metabolic adaptations of *Oryza sativa* and *Echinochloa phyllopogon*. *Annals of Botany*, London, v.74, n.5, p.445-455, Nov.1994.

GILL, K.S.; QADAR, A.; SINGH, K.N. Response of wheat genotypes to sodicity in association with waterlogging at different stages of growth. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, v. 62, n.2, p.124-128, 1992 In: CAB on CD-ROM 1993-94.

GUINDON, S.; GASCUEL, O. A simple, fast and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematics Biologists*, v. 52, n. 5, p. 639-704, 2003.

HARRIS, D.G.; BAVEL, C.H. M. Growth, yield, and water absorption of tobacco plants as affected by composition of the root atmosphere. *Agronomy Journal*, Madison, v.49, n. 1, p. 11-14, jan. 1957.

HILL, J.; BECKER, H.C.; TIGERSTEDT, P.M.A. *Quantitative and ecological aspects of plant breeding*. London: Chapman & Hall, 1998. 288p.

HUANG, S., et al. Responses of coleoptiles of intact rice seedlings to anoxia: K⁺ net uptake from the external solution and translocation from the caryopses. *Annals of Botany*. v.91, p.227-278.

HUANG, B.; JOHNSON, J. W.; NESMITH, S. e BRIDGES, D. C. Growth, physiological and anatomical responses of two wheat genotypes to waterlogging and nutrient supply. *Journal of Experimental Botany*. Oxford, v. 45, n. 271, p. 193-202. 1994.

HUCK, M. G. Variation in taproot elongation rate as influenced by composition of the soil air. *Agronomy Journal*, Madison, v. 62, n. 6, p. 815-818, nov./dec. 1970.
indian *Journal of Genetic Plant Breeding*, New York, v.41, n.2, p.237-245, July 1981.
IRGA - Instituto Rio Grandense do Arroz em: <http://www.irga.rs.gov.br/> acesso em 15 de Agosto de 2007, 10:30:20.

JACKSON, M. B. DREW, M. C. Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In KPZLOWSKI, T.T. (Ed). *Flooding and plant growth*. Orlando: Academic Press, 1984. chap. 3.p. 47-113

KELLEY, M. P.; TOLAN, D. R. The complete amino acid sequence for the anaerobically induced aldolase from maize derived from cDNA clones. *Plant Physiology*, Rockville, v. 82, n. 1, p. 199-203, Jan. 1999.

KELLEY, P. M.; FREELING, M. Anaerobic expression of maize fructose-1-6 diphosphate aldolase. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, v. 259, n. 22, p. 14180-14183, 1984.

KOZLOWSKI, T. T. Water deficit and plant growth. New York: Academic Press. Cap. 4, p. 191-233, 1976.

KOZLOWSKI, T.T. & PALLARDY, S.G. Growth control in wood plants. *Academy Press*, San Diego. 1997.

KOZLOWSKI, T.T. Extent, cause and impacts of flooding. In: *Flooding and plant growth*. Orlando: Academic Press, 1984. chap. 1, p. 1-5.

LAGOS, M. B.; Boletim Técnico. Instituto de Pesquisas Agronômicas. Departamento de Pesquisa. Secretaria da Agricultura. Porto Alegre, RS – Brasil, 1977

LANGE, O.L. *Flora*, v.140, p. 39-97, 1953

LARCHER, w. A planta sob estresse. In *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: Rima, 2000, p. 341-437.

LEMKE-KEYES, C.A.; SACHS, M.M. Anaerobic tolerant null: mutant that allows Adh1 nulls to survive anaerobic treatment. *Journal of Heredity*, Washington, v.80, n.4, p.316-319, July/Aug.1989.

LETEY, J.; STOLZY, H.; BLANK, G. B. effect of duration and timing of low soil oxygen content on shoot and root growth. *Agronomy Journal*, Madison, v.54, n. 1, p. 34-37, jan/fev. 1962

LIAO, C.T.; LIN, C.H. Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. Proc. Natl. Sci. Counc. v.25, p.148-157, 2001.

LIÒ, P.; GOLDMAN, N. Models of molecular evolution and phylogeny. Genome Research, v. 8, p. 1233-1244, 1998.

LIZASO, J. I.;MELENDEZ, L. M.;RAMIREZ, R. Early flooding of two cultivars of tropical maize. I. Shoot and root growth. Journal of Plant Nutrition, v.24, p.979-995, 2001.

MATTOS, L.A.T. Análise estrutural e funcional de seqüências genômicas e de cDNA sob hipoxia - Pelotas, 2004. – 60f. – Tese (Doutorado). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2004.

MAYER, W. S.; BARRS, H.D. SMITH, R.C. G.; WHITE, N. S.; HERITAGE, A. D.; SHORT, D. L. Effect of irrigation on soil oxygen status and root and shoot growth of wheat in clay soil. Australian Journal of Agricultural Research, Melbourne, v.36, n. 7, p. 171-185, 1985.

MEYER, B.C.; ANDERSON D.B. Introduction to Plant Ecology. New Jersey, Princeton: Nostrand Company, 1960. 217p.

MIERNYK, J.A. Glycolysis, the oxidative pentose phosphate pathway and anaerobic respiration. In: DENNIS, D.T.;TURPIN, D.H. (ed). Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. London, Logman Scientific & Technical,1990, p.77-100.

MILACH, S.C.K. Marcadores moleculares em plantas. Porto Alegre: S.C.k. Milach, 1998. 141p.

MUJER, C.V.; RUMPHO, M.E.; LIN, J.; KENNEDY, R.A. Constitutive and inducible aerobic and anaerobic stress proteins in the Echinochloa complex and rice. Plant Physiology, Rockville, v.101, n.1, p.217-226, Jan. 1993.

MUSGRAVE, M.E.;VANHOY, M.A. A growth analysis of waterlogging damage in mung bean. Canadian Journal of Botany, Ottawa, v. 76, n. 8, p. 2391-2395, aug.1989.

National Center for Biotechnology Information (NCBI) em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> acessado em: 20 de Agosto de 2007 as 16:52:16.

NOBEL, P.S. Introduction to biophysical plant ecology. San Francisco: Freeman, p.480, 1974

PATRICK, W.M.H.; MAHAPATRA, I. C. Transformation and availability to rice of itrogen and phosphorus in waterlogged soils. Advances in Agronomy, New York, v.20, p. 323-359, 1968.

PEDRAZZINI, F.R. & MCKEE, K.L. Effect of flooding on activities of soil dehydrogenases and alcohol dehydrogenase in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 30 (3): 359-366, 1984.

PEREIRA, Sérgio Luiz, Filogenia Molecular e Evolução em Cracidae (Aves), Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Biologia. P.184, 2000.

PEZESHKI, S.R., PARDUE, J.H.; DeLAUNE, R.D. Leaf gas exchange and growth of flood-tolerance and flood-sensitive tree species under low soil redox conditions. *Tree Physiology*, Victoria, v.16, p.453-458, 1996.

PINTO, A. C. Genes induzidos por tratamento com cálcio em raízes do milho (*Zea mays* L.) - BRS 4154 em condições de hipoxia. 2004. 55 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PONNAMPERUMA, F. N. The chemistry of submerged soils. *Advances in Agronomy*, New York, v. 24, p. 274-309, 1972.

PURVIS, A. C.; WILLIAMSON, R. E. Effects of flooding and gaseous composition of the root environment on the growth of corn. *Agronomy Journal*, Madison, v. 64, n. 6, p. 674-678, nov./dec 1972.

PURVES, et al. *Vida: A ciência da Biologia*. 6. ed, Porto Alegre: Artmed Editora, 2001.

REICHARDT, K. Dinâmica da material e da energia em ecossistemas. Piracicaba ESALQ/USP, 1996. 505p.

REID, D.M.; BRADFORD, K.J. Effects of flooding on hormone relations. In: KOZLOWSKI, T.T. (Ed.) *Flooding and plant growth*. Orlando: Academic Press, 1984. chap. 6, p. 195-212.

REUNIÃO DA COMISSÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO, 37., Cruz Alta. Indicações técnicas da Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de Trigo: trigo e triticales - 2005. Cruz Alta : FUNDACEP, 2005.

ROBERTS, J. W. J. *Geophysics Research*, v.66, p.3308-3312, 1961.

RUSSELL, D. A.; SACHS, M. M. The maize glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene family: organ-specific expression and genetic analysis. *Molecular and General Genetics*, New York, v. 229, n. 2, p. 219-228, Oct. 1991.

SÁ, J. S.; CRUCIANI, D. E.; NASCIMENTO, S. D. ; PEREIRA, J.R.B. Sensibilidade de plantas de soja ao rebaixamento do nível freático. *Irriga, Botucatu*, v. 10, n. 2, p. 135-145, maio/jul. 2003.

SACHS, M.M.; FREELING, M.; OKIMOTO, R. The anaerobic proteins of maize. *Cell*, Cambridge, v.20, p.761-767, 1980.

- SACKS, M. M.; FREELING, M.; OKIMOTO, R. The anaerobic protein of maize. *Cell*, 1996.
- SACKS, M. M.; SUBBAIAH, C.; SAAB, I. Anaerobic gene expression and flooding tolerance in maize. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 47, n. 294, p. 1-15, Jan. 1996.
- SAGHAI-MAROOF, M.A.; SOLIMAN, K.M.; JORGENSEN, R.A.; ALLARD, R.W. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosome location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, v.89, n.2, p.1477-1481, 1984.
- SAMBROOK, J. & RUSSEL, D. W. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*, 3TH ed. New York, 2001.
- SANCHEZ, P. A. *Properties and management of soils in the tropics*. New York: John Wiley, 1976. 618.
- SCHOLLES, D.; VARGAS, L.K. Viabilidade da inoculação de soja com estirpes de *Bradyrhizobium* em solo inundado. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.28, n.6, 2004.
- SCHIFINO-WITTMANN, M.T. Poliploidia e seu impacto na origem e evolução das plantas silvestres e cultivadas *Revista Brasileira de Agrociência*, v.10, n. 2, p. 151-157, abr-jun, 2004
- SENA GOMES, A. R.; KOZLOWSKI, T. T. Physiological and growth responses to flooding of seedlings of *Hevea brasiliensis*. *Biotropica*, Washington, v. 20, p. 286-296, 1988.
- SETTER, T.L.; ELLA, E.S. Relationship between coleoptile elongation and alcoholic fermentation in rice exposed to anoxia. I. Importance of treatment conditions and different tissues. *Annals of Botany*, London, v.74, n.3, Sep. p.65-271, 1994.
- SILVA, J.A.G.; OLIVEIRA, A.; SILVA, S.A.; MARCHIORO, V.S; LORENCETTI, C.; SCHMIDT, D.A.M.; HARTWIG, I. Trigos di-haplóides com potencial para tolerância a toxicidade ao alumínio e a sensibilidade ao ácido giberélico em cultivo hidropônico. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v. 10, n. 1, p.37-41, 2004.
- SINGH, D.; The relative importance of characters affecting genetic divergence. The SMIT, K. A.; NEUMANN, D. S.; STACHOWIAK, M. L. Root hypoxia leaf growth. Role of factors in the transpiration stream. *Plant Physiology*, New York, v. 92, n.4, p. 1021-1028, apr. 1990.
- SOJKA, R. E.; STOLZY, L. H. L. KAUFMANN, M. R. Wheat growth related to rhizosphere temperature and oxygen levels. *Agronomy Journal*, Madison, v.67, p. 591-596, sept./oct 1975.

SOUSA, R.O. Oxirredução em solos alagados afetada por resíduos vegetais. Porto Alegre, 2001. 164 p. Tese, Doutorado em Ciência do Solo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2001.

SOUZA, F.G.A.; TUBELIS, A. Determinação do período crítico de irrigação na cultura de trigo. Pesquisa Agropecuária Brasileira. V.17, n.8, p. 1193-1198, ago, 1982

SPRINGER, B.; WERR, W.; STALINGER, P.; BENNET, D. C.; ZOKOLICA, M.; FREELING, M. The shunken gene on chromosome 9 of Zea mays L. is expressed in various plant tissue and encodes an anaerobic protein. Molecular and General Genetics, New York, v. 205, n. 3, p. 461- 468, 1986.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2002 SAS:Statistical Analysis system Getting Started with the SAS learnig Edition Cary, NC SAS Institute Inc. 86p.

STEPNIEWSKI, W.; GLINSKI, J.; BALL, B.C. Effects of comparaction on soil aeration properties. In: SOANE, B.D.; VAN OUWERKERK, C. Soil comparaction in crop production. London: Elsevier, 1994. p. 265-286.

TAIZ, L., ZEIGER, E. In Fisiologia Vegetal. 3 ed. Porto AlegreÇ Artmed, 2004

TANKSLEY, S.D.; YOUNG, N.D.; PATERSON, A.H.; BONIERBALE, M.W. RFLP mapping in plant breeding: new tools for na old science. Biotechnology, 7:257-264. 1989.

VANTOAI, T. T.; BOLLES, C. S. Postanoxic injury in soybean (Glycine max) seedlings. Plant Physiology, Rockville, v. 97, n. 2, p. 588-592, Oct. 1991.

VARTAPETIAN, B.B., et al. Functional electron microscopy in studies of plant response and adaptation to anaerobic stress. Annals of Botany. v.91, p.155-172, 2003.

VARTAPETIAN, B.B., JACKSON MB. Plant adaptation to anaerobic stress. Annals of Botany. v.79, p.3-20, 1997.

VARTAPETIAN, B.B.; JACKSON, M.B. Plantadaptation to anaerobic stress Annals of Botany, London, v.79 (Supplement A):p.3-20, 1996.

VOESENEK, L. A. C. J.; SMAN, A. J. M.; VAN-DER HARREN, F.J.M.; BLOM, C.W.P. M. An amalgamation between hormone physiology and plant ecology: a review on flooding resistance and ethylene. Jornal of plant Growth Regulation, New York, v.11 n. 3, p. 171-188, June 1992.Vol 442 n.10 p.705-708, Aug. 2006

YENTUR, S.; LEOPOLD, A. C.; Respiration transition during seed germination. Plant Physiology, New York, v. 57, n.2, p. 274-276, feb. 1976.

ZHANG, F.; LIN, J.J.; FOX, T.C.; MUJER, C.V.; RUMPHO, M.E.; KENNEDY, R.A. Effect of aerobic priming on the response of Echinochloa crus-pavonis to anaerobic stress. Plant Physiology, Rockville, v.105, n.4 p.1149-1157, Aug.1994.

ZHANG, J.; TOAI, T. van; HUYNH, L.; PREISZNER, J.; van TOAI T. Development of flooding-tolerant *Arabidopsis thaliana* by autoregulated cytokinin production. *Molecular Breeding*, Dordrecht, v. 6, n. 2, p. 135-144, 2000.

7. VITA

Juliana Severo Castelo Branco nasceu no dia 10 de julho de 1978 em Pelotas, Rio Grande do Sul (RS). No período de 1993 a 1996 cursou o segundo grau, com habilitação profissional Plena de Magistério, no Instituto de Educação Assis Brasil – Escola Estadual de 1º e 2º Graus, Pelotas (RS). Ingressou no Curso de Ciências Biológicas da Universidade Católica de Pelotas (UCPel) em 1998, obtendo o título de Bióloga em dezembro de 2001. Foi estagiária do Centro de Genômica e Fitomelhoramento FAEM/UFPel de Maio de 2002 a Fevereiro de 2003, sob orientação do professor Antônio Costa de Oliveira, participando ativamente em projetos de pesquisas, como Genoma do Arroz e técnicas de biologia molecular. Em 2003 ingressou no programa de Mestrado do Centro de Genômica e Fitomelhoramento da FAEM/UFPel. Em 2005 ingressou no programa de doutorado do Centro de Genômica e Fitomelhoramento da FAEM/UFPel. Entre trabalhos como autora e co-autora publicou dez artigos em revistas científicas e cerca de 100 resumos em congressos e reuniões técnicas. Participou ainda de vários projetos de pesquisas relacionados ao melhoramento genético do arroz, aveia e trigo.