

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



**Tese**

**Resposta de genótipos de arroz (*Oryza sativa* L.) ao estresse por ácidos orgânicos sob condições de ambiente controlado**

**Mauricio Marini Kopp**

Pelotas, 2008

**Mauricio Marini Kopp**  
**Engenheiro Agrônomo (UFPel)**

**Resposta de genótipos de arroz (*Oryza sativa* L.) ao estresse por ácidos orgânicos sob condições de ambiente controlado**

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/UFPel

Co-orientador: Rogério Oliveira de Sousa, Dr. – FAEM/UFPel

Pelotas, 2008

## **Dados de catalogação na fonte:**

( Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744 )

K83r Kopp, Mauricio Marini

Resposta de genótipos de arroz (*Oryza sativa* L.) ao estresse por ácidos orgânicos sob condições de ambiente controlado / Mauricio Marini Kopp. - Pelotas, 2008.

118f. : il.

Tese (Doutorado em Fitomelhoramento) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. - Pelotas, 2008, Antonio Costa de Oliveira , Orientador; co-orientador Rogério Oliveira de Sousa.

1. Estresse abiótico 2. *Oryza sativa* 3. Fitotoxidez  
4. Metodologia 5. Variabilidade genética 6. Recursos genéticos  
I Oliveira, Antonio Costa de (orientador) II. Sousa, Rogério Oliveira de (co-orientador) III. Título.

CDD 633.18

**Banca Examinadora:**

Professor, Ph.D. Antonio Costa de Oliveira – UFPel – (Presidente)

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

Professor, Ph.D. José Fernandes Barbosa Neto – UFRGS

Pesquisador, Dr. Velci Queiroz de Souza – UFPel

Pesquisador, Dr. Enrique Moliterno – UFPel

**A DEUS;**

A meus pais **Breno Kopp** e **Maria Elisabeth Marini Kopp**;

**Dedico**

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus por estar sempre presente.

Ao Professor Antonio Costa de Oliveira pela oportunidade, confiança e contribuição decisiva na minha formação, como orientador e amigo.

Aos Professores Fernando Irajá Félix de Carvalho e Rogério Oliveira de Sousa pela orientação, amizade, oportunidade e ensinamentos transmitidos.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia 'Eliseu Maciel' da Universidade Federal de Pelotas – FAEM-UFPeL, pela oportunidade de realização do curso.

Aos meus irmãos Luciana, Fernando e Viviane, pelo apoio e incentivo.

A todos os colegas do Centro de Genômica e Fitomelhoramento pela amizade e troca de experiências.

Aos funcionários de Centro de Genômica e Fitomelhoramento pelo auxílio técnico.

Aos grandes amigos Gaspar Malone, Luciano Carlos da Maia e Velci Queiroz de Souza pelos momentos de descontração e auxílio nos experimentos.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e suporte financeiro.

A FAPERGS, CAPES, CNPq e FAO / IAEA, pelo suporte financeiro.

## Resumo

KOPP, Mauricio Marini. **Resposta de genótipos de arroz (*Oryza sativa* L.) ao estresse por ácidos orgânicos sob condições de ambiente controlado**. 2008. 118f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Os solos do tipo hidromórfico apresentam como característica principal uma reduzida capacidade de drenagem natural, sendo utilizados principalmente para cultivo de arroz irrigado. Assim, a ocorrência de condições anaeróbias associada com a presença de matéria orgânica favorece o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios que causam a fermentação desta matéria orgânica produzindo substâncias fitotóxicas representadas principalmente pelos ácidos orgânicos alifáticos de cadeia curta. A seleção de constituições genéticas de arroz promissoras e adaptadas para utilização nestas situações requer avaliações de difícil execução a campo, sendo simplificada com a utilização de sistemas hidropônicos. A pesquisa foi composta de quatro trabalhos que tiveram como objetivo principal estabelecer uma metodologia adequada para estudos com ácidos orgânicos em arroz mediante cultivo hidropônico. O primeiro trabalho determinou a faixa de concentrações e variáveis resposta mais indicadas para avaliações de genótipos de arroz em hidroponia. Foram estudados os efeitos de seis concentrações dos três principais ácidos formados no solo: ácido acético (0; 4; 8; 12; 16 e 20 mM), ácido propiônico (0; 3; 6; 9; 12; e 15 mM) e ácido butírico (0; 2; 4; 6; 8 e 10 mM) em dois genótipos de elevada divergência (BRS 7-TAIM e SAIBAN). Os resultados indicam que as faixas de concentração mais adequadas para estudos de tolerância de arroz a ácidos orgânicos estão entre 15,8 e 8,4; 9,1 e 4,2 e 7,7 e 3,7 mM para os ácidos acético, propiônico e butírico respectivamente, e a variável mais responsiva foi comprimento de raízes. O segundo experimento teve como objetivo determinar, em hidroponia, a influência do nível de pH utilizado na solução hidropônica na fitotoxicidade causada pelos ácidos acético, propiônico e butírico em arroz, bem como o desempenho de algumas variáveis atualmente utilizadas em estudos de tolerância a estresses abióticos em sistemas hidropônicos. Neste experimento, foram avaliados três ácidos (acético, propiônico e butírico) e quatro níveis de pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0). Os resultados permitem concluir que níveis reduzidos de pH aumentam a fitotoxicidade de todos os ácidos. Os comprimentos de raízes e parte aérea têm comportamento independente do ácido utilizado, ao contrário do número de raízes e matérias secas de raízes e parte aérea. O comprimento de raízes foi a variável mais afetada pelo efeito das doses. O terceiro trabalho teve como objetivo avaliar a resposta de 25 genótipos de arroz à ação fitotóxica dos ácidos acético, propiônico e butírico individualmente. Neste trabalho foram utilizadas quatro doses para cada ácido: 0

(testemunha); 4; 8 e 12 mM para ácido acético; 0; 3; 6 e 9 mM para ácido propiônico e 0; 2; 4 e 6 mM para ácido butírico. As variáveis mensuradas foram comprimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e matéria seca de raízes (MSR) e parte aérea (MSPA). O desempenho relativo da variável CR foi o mais afetado pelos ácidos e as regressões estabelecidas para essa variável revelaram genótipos tolerantes e sensíveis aos ácidos orgânicos, com seis; seis e nove genótipos tolerantes para os ácidos acético, propiônico e butírico, respectivamente. Foi constatado ainda maior número de tolerantes no grupo japonica do que no indica. O quarto experimento teve como objetivo avaliar a resposta de 20 genótipos de arroz a ação fitotóxica interativa dos ácidos acético, propiônico e butírico. Neste trabalho foram utilizados quatro doses, 0 (testemunha); 3; 6 e 9 mM, que foram constituídos da mistura dos três ácidos (acético, propiônico e butírico) na relação 6:3:1. As variáveis mensuradas foram comprimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e matéria seca de raízes (MSR) e parte aérea (MSPA), teor de fósforo (P) e de potássio (K). Os resultados demonstraram diferenças significativas entre os genótipos avaliados nos caracteres CR, CPA, P e K. Quatro genótipos foram classificados como tolerantes. A variável CR associada a CPA, P e K são indicadas para seleção de genótipos tolerantes. Os resultados obtidos pelos trabalhos permitiram estabelecer uma metodologia adequada para utilização em seleção de genótipos de arroz mediante sistemas de hidroponia sob estresse por ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico) bem como selecionar genótipos promissores quanto a resposta à este estresse.

Palavras-chave: Estresse abiótico, *Oryza sativa*, Metodologia, Variabilidade genética.

## Abstract

KOPP, MAURICIO MARINI. **Organic acid related stress responses in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes under ambient controlled conditions**. 2008. 118f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Hydromorphic soils present as main feature a reduced natural drainage ability, being mostly used for growing irrigated rice. Thus, the occurrence of anaerobic conditions associated to the presence of organic matter enables the development of anaerobic microorganisms which, while decomposing the organic matter, generate phytotoxic substances represented mainly by short chain aliphatic organic acids. The selection of promising genotypes adapted for use in these situations requires complicated field evaluations, which can be simulated under hydroponic culture. The research was composed of four articles that had as major goals to establish an adequate methodology for growing rice under organic acid rich hydroponic culture. The first work aimed at determining the range of concentrations and response variables most indicated for evaluating rice genotypes under hydroponics. The effects of six different concentrations for the three major acids formed in the soil: acetic (0; 4; 8; 12; 16 and 20 mM), propionic (0; 3; 6; 9; 12 and 15 mM) and butyric (0; 2; 4; 6; 8 and 10 mM) acids in two genotypes of high divergence (BRS 7-TAIM and SAIBAN). The results indicated that the most adequate concentration range for organic acid studies in rice are between 15.8 and 8.4; 9.1 and 4.2 and 7.7 and 3.7 mM for acetic, propionic and butyric acids, respectively. Also, the most responsive variable was root length. The second experiment had as goal to determine, under hydroponics, the influence of the pH level used in the hydroponic solution on the phytotoxicity caused by acetic, propionic and butyric acids in rice, as well as the performance of some variables currently used in studies of abiotic stress tolerance in hydroponic systems. For this experiment, three acids (acetic, propionic and butyric) and four pH (4.0; 5.0; 6.0 and 7.0) levels were evaluated. The results allow one to conclude that reduced pH levels increase the phytotoxicity of all acids. The root and shoot lengths have independent behavior from the acid used, as opposite to root number and root and shoot dry matter. Root length was the variable most affected by the treatments. The third article had as objective to evaluate the response of 25 rice genotypes to the phytotoxic effect of acetic, propionic and butyric acids, individually. In this work, 4 treatments were used for each acid: 0 (control); 4; 8 and 12 mM for acetic; 0; 3; 6 and 9 mM for propionic and 0; 2; 4 and 6 mM for butyric acid, respectively. The variables measured were root (CR) and shoot (CPA) length, root number (NR) and root (MSR) and shoot (MSPA) dry matter. The relative performance of the variable CR was the most affected by the acids and the regressions established for this variable revealed

tolerant and sensitive genotypes to organic acids, with 6; 6 and 9 tolerant genotypes for acetic, propionic and butyric acids, respectively. It was observed a higher number of tolerant genotypes on the japonica than on the indica group. The fourth experiment had as objective to evaluate the response of 20 rice cultivars to the interactive phytotoxic effect of acetic, propionic and butyric acids. In these work, four treatments, 0 (control); 3; 6 and 9 mM were used, consisting of the mixture of three acids (acetic, propionic and butyric) at a 6:3:1 ratio. The variables measured were root (CR) and shoot (CPA) length, root number (NR) and root (MSR) and shoot (MSPA) dry matter, phosphorus (P) and potassium (K) content. The results indicated significant differences between the genotypes evaluated for the characters CR, CPA, P and K. Four genotypes were ranked as tolerant. The variable CR associated to CPA, P and K are indicated for the selection of tolerant genotypes. The results obtained allowed one to establish an adequate methodology for the selection of rice genotypes under hydroponic systems combined with organic acid stress (acetic, propionic and butyric) as well as to select promising genotypes regarding their response to this stress.

Keywords: Abiotic stress, *Oryza sativa*, Methodology, Genetic variability.

## Lista de figuras

**CAPÍTULO 2.** Níveis críticos dos ácidos acético, propiônico e butírico para avaliação da toxicidade em arroz em solução nutritiva

- Figura 1** Respostas das variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) em relação a seis concentrações de ácido acético nas cultivares BRS-7-TAIM e SAIBAN. Pelotas-RS, 2006..... 39
- Figura 2** Respostas das variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) em relação a seis concentrações de ácido propiônico nas cultivares BRS-7-TAIM e SAIBAN. Pelotas-RS, 2006..... 40
- Figura 3** Respostas das variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) em relação a seis concentrações de ácido butírico nas cultivares BRS-7-TAIM e SAIBAN. Pelotas-RS, 2006..... 41

### **CAPÍTULO 3.** Influência do pH da solução nutritiva na fitotoxidez causada por ácidos orgânicos em arroz sob cultivo hidropônico

- Figura 1** Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas das variáveis comprimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR), e matéria seca de raízes (MSR) e parte aérea (MSPA) avaliadas em 4 níveis de pH da solução nutritiva contendo os ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006..... 58

### **CAPÍTULO 4.** Tolerância a ácidos orgânicos em genótipos de arroz

- Figura 1** Efeito das concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico sobre o crescimento de raízes dos genótipos mais contrastantes em cada ácido testado. Pelotas-RS, 2006..... 79

### **CAPÍTULO 5.** Resposta de cultivares de arroz ao efeito fitotóxico interativo dos ácidos acético, propiônico e butírico

- Figura 1** Representação gráfica, ajuste das equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) da variável comprimento de raízes (CR) das 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007..... 104
- Figura 2** Representação gráfica, ajuste das equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) da variável comprimento de parte aérea (CPA) das 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007..... 105

- Figura 3** Representação gráfica, ajuste das equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) da variável teor de fósforo (P) das 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007..... 106
- Figura 4** Representação gráfica, ajuste das equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) da variável teor de potássio (K) das 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007..... 107

## Lista de tabelas

**CAPÍTULO 2.** Níveis críticos dos ácidos acético, propiônico e butírico para avaliação da toxicidade em arroz em solução nutritiva

- Tabela 1** Resumo da análise de variância (F.V.- fonte de variação e G.L.- graus de liberdade) para as variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) nos tratamentos com os ácido acético, propiônico e butírico em arroz para sistemas hidropônicos. Pelotas-RS, 2006 ..... 38
- Tabela 2** Estimativas de correlação de Pearson entre as variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) avaliadas em 6 níveis de ácido acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006..... 42

**CAPÍTULO 3.** Influência do pH da solução nutritiva na fitotoxidez causada por ácidos orgânicos em arroz sob cultivo hidropônico

- Tabela 1** Resumo da análise de variância das variáveis comprimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR), e matéria seca de raízes (MSR) e parte aérea (MSPA) avaliadas em 4 níveis de pH da solução nutritiva contendo os ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006..... 57

<b>Tabela 2</b>	Estimativas de correlação de Pearson entre as variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) avaliadas em 4 níveis de pH da solução nutritiva contendo os ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006.....	59
-----------------	--	----

#### **CAPÍTULO 4.** Tolerância a ácidos orgânicos em genótipos de arroz

<b>Tabela 1</b>	Descrição dos 25 genótipos de arroz estudados em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006.....	75
-----------------	---	----

<b>Tabela 2</b>	Análise de variância, médias e coeficiente de variação (C.V.) para as variáveis crescimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raiz (MSR) e de parte aérea (CPA) de 25 genótipos de arroz, estudados em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006.....	76
-----------------	--	----

<b>Tabela 3</b>	Desempenho relativo (%) das variáveis comprimento de raiz (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e matéria seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSPA), para os níveis dos tratamentos utilizados nos experimentos com ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006.....	77
-----------------	--	----

<b>Tabela 4</b>	Parâmetros das equações de regressão linear: interceptação no eixo y (a), coeficiente de regressão (b) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) dos 25 genótipos de arroz estudados em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico para a variável comprimento de raiz (CR). Pelotas-RS, 2006.....	78
-----------------	---	----

## **CAPÍTULO 5.** Resposta de cultivares de arroz ao efeito fitotóxico interativo dos ácidos acético, propiônico e butírico

<b>Tabela 1</b>	Relação das cultivares, grupo e sistema de cultivo dos acessos utilizados no estudo de tolerância à toxicidade por ácidos orgânicos. Pelotas-RS, 2007.....	100
<b>Tabela 2</b>	Resumo da análise de variância, médias e coeficiente de variação (C.V.) para as variáveis comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), teor de fósforo (P) e de potássio (K) de 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007.....	101
<b>Tabela 3</b>	Resumo da análise de variância do modelo de regressão para as variáveis comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), teor de fósforo (P) e de potássio (K) de 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007.....	102
<b>Tabela 4</b>	Coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), teor de fósforo (P) e de potássio (K), de 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007.....	103

## Sumário

<b>Resumo</b> .....	5
<b>Abstract</b> .....	7
<b>Lista de Figuras</b> .....	9
<b>Lista de Tabelas</b> .....	12
<b>Sumário</b> .....	15
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	18
<b>2. NÍVEIS CRÍTICOS DOS ÁCIDOS ACÉTICO, PROPIÔNICO E BUTÍRICO PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM ARROZ EM SOLUÇÃO NUTRITIVA</b> .....	23
2.1. Resumo .....	24
2.2. Palavras-chave .....	24
2.3. Abstract .....	24
2.4. Keywords .....	25
2.5. Introdução .....	25
2.6. Material e Métodos .....	27
2.7. Resultados .....	29
2.8. Discussão .....	32
2.9. Conclusões .....	34

2.10. Referências Bibliográficas .....	34
<b>3. INFLUÊNCIA DO PH DA SOLUÇÃO NUTRITIVA NA FITOTOXIDEX CAUSADA POR ÁCIDOS ORGÂNICOS EM ARROZ SOB CULTIVO HIDROPÔNICO .....</b>	<b>43</b>
3.1. Resumo .....	44
3.2. Palavras-chave .....	44
3.3. Abstract .....	44
3.4. Keywords .....	44
3.5. Introdução .....	45
3.6. Material e Métodos .....	47
3.7. Resultados e Discussão .....	49
3.8. Conclusões .....	54
3.9. Referências Bibliográficas .....	54
<b>4. TOLERÂNCIA A ÁCIDOS ORGÂNICOS EM GENÓTIPOS DE ARROZ .....</b>	<b>60</b>
4.1. Resumo .....	61
4.2. Palavras-chave .....	61
4.3. Introdução .....	61
4.4. Material e Métodos .....	64
4.5. Resultados e Discussão .....	65
4.6. Conclusões .....	70
4.7. Abstract .....	71
4.8. Keywords .....	71
4.9. Referências Bibliográficas .....	72

<b>5. RESPOSTA DE CULTIVARES DE ARROZ AO EFEITO FITOTÓXICO INTERATIVO DOS ÁCIDOS ACÉTICO, PROPÔNICO E BUTÍRICO .....</b>	<b>80</b>
5.1. Resumo .....	81
5.2. Palavras-chave .....	81
5.3. Abstract .....	81
5.4. Keywords .....	82
5.5. Introdução .....	82
5.6. Material e Métodos .....	85
5.7. Resultados e Discussão .....	87
5.8. Conclusões .....	95
5.9. Referências Bibliográficas .....	96
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>108</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>114</b>
<b>8. VITA .....</b>	<b>118</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Cultivado e consumido em todos os continentes, o arroz (*Oryza sativa* L.) destaca-se pela produção e área de cultivo, justificado pelo papel estratégico que desempenha tanto no aspecto econômico quanto social. Atualmente, cerca de 154 milhões de hectares de arroz são cultivados anualmente no mundo, produzindo 618,5 milhões de toneladas (FAO, 2006). É considerado a espécie de maior importância alimentar em muitos países em desenvolvimento, principalmente na Ásia e Oceania, onde vivem 70% da população total dos países em desenvolvimento e cerca de dois terços da população subnutrida mundial. É alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas e, segundo estimativas, até 2050, haverá uma demanda para atender ao dobro desta população (IRRI, 2006).

O arroz é um dos alimentos com melhor balanceamento nutricional, fornecendo 20% da energia e 15% da proteína per capita necessária ao homem (FAO, 2006), sendo uma cultura extremamente versátil, que se adapta a diferentes condições de solo e clima, e considerada a espécie que apresenta maior potencial para o combate a fome no mundo.

Aproximadamente 90% de todo o arroz do mundo é cultivado e consumido na Ásia (IRRI, 2006). A América Latina ocupa o segundo lugar em produção e o terceiro em consumo. Assim como na Ásia, o arroz é um produto importante na economia de muitos dos países latino-americanos pelo fato de ser item básico na dieta da população, como nos casos do Brasil, Colômbia e Peru, ou por ser um produto importante no comércio internacional, a exemplo de Uruguai, Argentina e Guiana, como exportadores, e Brasil, México e Cuba, entre outros, como importadores.

A produção mundial de arroz não vem acompanhando o crescimento do consumo. Nos últimos seis anos, a produção mundial aumentou cerca de 1,09% ao

ano, enquanto a população cresceu 1,32% e o consumo 1,27%, havendo grande preocupação em relação a estabilização da produção mundial (FAO, 2006).

O Brasil se destaca como o maior produtor de fora do continente Asiático. Em 2001, a produção brasileira representou 1,8% do total mundial, e cerca de 50% da América Latina. O Brasil está entre os dez principais produtores mundiais de arroz, com cerca de 13 milhões de toneladas para um consumo de 11,7 milhões de toneladas base casca (IRGA, 2006).

A lavoura orizícola tem grande importância econômica para o Brasil. No ano 2004 a produção no valor de R\$ 2,5 bilhões, representou 1,3% do valor bruto da produção agrícola nacional (R\$ 191 bilhões) segundo a Confederação Nacional da Agricultura e Pecuária (CNA, 2006). Apenas a soja, milho, café e cana-de-açúcar demonstram valor bruto maior do que a orizicultura.

A orizicultura irrigada é responsável por 65% da produção nacional, porém, com baixa rentabilidade, devido ao alto custo de produção e distorções de mercado. O cultivo do arroz irrigado presente em todas as regiões brasileiras, destaca-se na Região Sul que é responsável, atualmente, por cerca de 60% da produção total deste cereal.

A lavoura de arroz irrigado no Rio Grande do Sul produz anualmente cerca de 6,3 milhões de toneladas (IRGA, 2006), sendo considerado estabilizador da safra nacional (RIGATTO e KOHLZ, 1998), responsável por quase 50% da produção brasileira, a maior entre os Estados da Federação. Esta produção representa 3,1% do PIB (Produto Interno Bruto) e gera R\$ 175 milhões em ICMS (Imposto para Circulação de Mercadorias e Serviços) e 280 mil empregos no Estado. Cultivado em cerca de 1 milhão de hectares, apresenta uma produtividade média em torno de 6300 kg ha<sup>-1</sup>, próxima das obtidas em países tradicionais no cultivo de arroz irrigado, ficando pouco abaixo das obtidas nos EUA e países da Ásia.

No Rio Grande do Sul o arroz irrigado é cultivado nas seguintes regiões: Fronteira Oeste, Depressão Central, Campanha, Litoral Sul, Planície Costeira Externa da Lagoa dos Patos e Planície Costeira Interna da Lagoa dos Patos. Essas regiões apresentam diferenças quanto a topografia, clima, solos, disponibilidade de água para irrigação, tamanho de lavoura, etc, determinando variações em termos de produção e produtividade média de grãos.

Estas regiões destacam-se por terem seus sistemas produtivos alicerçados na cultura de arroz e na criação extensiva de gado (PORTO, 1997). Nestes solos, a

maioria das espécies cultivadas tem seu desenvolvimento e produção prejudicados devido a má drenagem natural, pois o encharcamento, propicia uma condição anaeróbia que associado à presença de matéria orgânica favorece a atividade de microrganismos anaeróbios (SOUSA e BORTOLON, 2002). Estes microrganismos promovem a decomposição da matéria orgânica sob forma de fermentação (PONNAMPERUMA, 1965), formando produtos intermediários, entre os quais destacam-se os ácidos orgânicos alifáticos de cadeia curta e baixo peso molecular, que podem causar fitotoxidez às plantas, dependendo de suas concentrações (CAMARGO et al., 2001).

Com a introdução dos sistemas de semeadura direta e cultivo mínimo, que prevêm a manutenção de resíduos vegetais sobre a superfície do solo, ocorre maior produção destes ácidos orgânicos, que podem estar limitando o crescimento e a produtividade das culturas nesses sistemas (SOUSA, 2001). A toxidez por ácidos orgânicos manifesta-se nas fases iniciais de desenvolvimento da cultura, diminuindo a germinação, o crescimento radicular, peso e estatura de plântulas (SOUSA, 2001). Em casos de toxidez mais severa, os prejuízos ao crescimento das plantas podem se refletir em outras fases, prejudicando o afilhamento, a absorção de nutrientes e o rendimento de grãos (CAMARGO et al., 2001).

O arroz irrigado sofre potencialmente maior prejuízo devido à ocorrência dos ácidos orgânicos, pois está submetido, na maior parte de seu desenvolvimento, à inundação, reduzindo ainda mais a quantidade de oxigênio no solo (SOUSA e BORTOLON, 2002). Os estudos de tolerância de arroz à presença de ácidos orgânicos no solo, propiciarão uma maior adesão ao sistema de semeadura direta, que atualmente só é realizado em apenas 5,46% da área cultivada de arroz no Rio Grande do Sul (IRGA, 2006). O sistema de semeadura direta preconiza acréscimos de produtividade, redução dos impactos ambientais do cultivo convencional e dos custos de produção.

O uso de cultivares melhoradas constitui a tecnologia de menor custo para o produtor, e portanto, a de mais fácil adoção, proporcionando retornos econômicos em curto prazo. O melhoramento de plantas é a arte e a ciência de modificar a estrutura genética de populações (ALLARD, 1960). Desde o início do século XX, várias técnicas têm sido utilizadas para avaliar e melhorar populações de plantas. O melhoramento do arroz irrigado obteve grandes avanços nos últimos anos, principalmente após o descobrimento da importância e utilidade das variedades

semi-anãs (GUIDOLIN, 1993; RANGEL et al., 1996). Apesar da utilização de cultivares melhoradas ser uma excelente alternativa para a redução das perdas ocasionadas por condições adversas, uma diminuição dos incrementos de produtividade (ganho genético) tem sido observada nos principais programas de melhoramento de cereais nos últimos anos.

O principal objetivo dos programas de melhoramento genético de arroz é a quebra de patamares de produtividade (MAGALHÃES Jr et al., 2003; 2004), dificultados principalmente pela estreita base genética das populações utilizadas acarretando em menor adaptabilidade das cultivares a condições de ambiente adversas. A utilização de germoplasma geneticamente diverso pelos programas é limitada por problemas relacionados ao arraste de genes deletérios associados a locos de interesse (*linkage drag*), determinando maior tempo de recuperação de linhagens avançadas e introgressão de regiões indesejadas do genoma do germoplasma doador (BOHNERT et al., 1995). Estes problemas podem potencialmente ser minimizados pelo uso combinado de ferramentas biotecnológicas e de indução de variabilidade genética (GROVER et al., 2001; KANAMORI et al., 2004). Entretanto, apesar destas dificuldades relacionadas com a utilização de germoplasma diverso, até hoje o processo com maior repercussão na obtenção de cultivares superiores é devido a utilização destas metodologias. O passo inicial e de fundamental importância para o melhoramento genético de algum caráter da planta é a identificação e caracterização de variabilidade genética.

Estudos sobre variabilidade genética para o caráter tolerância a ácidos orgânicos são escassos e relativamente antigos (SOUSA e BORTOLON, 2002), desenvolvidos com genótipos de pouco interesse pelo melhoramento genético de plantas atualmente. Outro fator referente aos trabalhos disponíveis sobre este estresse em plantas de arroz são os métodos de pesquisa utilizados pelos autores. Atualmente, a utilização de ambientes controlados com o uso de soluções nutritivas têm sido amplamente utilizados para caracterização de genótipos a diversos estresses (DUNCAN e BALIGAR, 1990). A avaliação de genótipos em ambientes artificiais não leva em consideração as reais pressões do meio, e as avaliações a campo reúnem grande número de variáveis não controladas (WRIGHT, 1989). BILINSKI e FOY (1987) demonstraram correlações significativas entre parâmetros coletados em testes de campo e em ambientes artificiais, com solo ou solução nutritiva em gramíneas. Assim, um modo eficiente de avaliação de genótipos para

tolerância à presença de ácidos orgânicos em meio de cultivo pode ser realizado em sistemas de hidroponia sob condições controladas.

A tese teve como objetivo geral estabelecer uma metodologia adequada para estudos de tolerância aos ácidos orgânicos em arroz, e caracterizar o comportamento de genótipos de arroz sob estresse por ácidos orgânicos. E como objetivos específicos determinar as variáveis resposta e doses adequadas para estudos com ácidos orgânicos em arroz sob sistema hidropônico; determinar a influencia do pH da solução hidropônica sob a toxicidade dos ácidos orgânicos em arroz sob sistema hidropônico; avaliar a resposta de genótipos de arroz sob estresse por cada ácido orgânico e avaliar a resposta de genótipos de arroz sob efeito interativo dos ácidos orgânicos.

Em função disto, foi realizado um trabalho relacionado a metodologias e avaliações do desempenho de genótipos de arroz submetidas a estresse por ácidos orgânicos. Os genótipos utilizados pertencem a coleção de trabalho do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), e os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Duplo-Haplóides e Hidroponia do CGF/FAEM/UFPel.

**2. NÍVEIS CRÍTICOS DOS ÁCIDOS ACÉTICO, PROPIÔNICO E  
BUTÍRICO PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM ARROZ EM  
SOLUÇÃO NUTRITIVA**

**(Acta Botanica Brasilica - ISSN: 0102-3306)**

## **NÍVEIS CRÍTICOS DOS ÁCIDOS ACÉTICO, PROPIÔNICO E BUTÍRICO PARA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM ARROZ EM SOLUÇÃO NUTRITIVA**

**(Níveis críticos dos ácidos acético, propiônico e butírico para estudos de toxicidade em arroz em solução nutritiva)**

**RESUMO** – A ocorrência de condições anaeróbias nos solos hidromórficos, associada com a presença de matéria orgânica, favorece o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios que produzem substâncias fitotóxicas, principalmente ácidos orgânicos de cadeia curta. A seleção de constituições genéticas de arroz promissoras para utilização nestes ambientes requer avaliações de difícil execução em campo, sendo simplificada pela utilização de sistemas hidropônicos. O objetivo deste trabalho foi determinar a faixa de concentração e as respostas mais apropriadas para serem utilizadas em seleção de genótipos de arroz para tolerância a ácidos orgânicos em sistemas hidropônicos. Foram testados seis concentrações dos três principais ácidos formados no solo: ácido acético (0; 4; 8; 12; 16 e 20 mM), ácido propiônico (0; 3; 6; 9; 12; e 15 mM) e ácido butírico (0; 2; 4; 6; 8 e 10 mM) em dois genótipos de elevada divergência (BRS 7-TAIM e SAIBAN). Os resultados indicam que as faixas de concentração mais adequadas para estudos de tolerância a ácidos orgânicos em arroz estão entre 15,8 e 8,4; 9,1 e 4,2 e 7,7 e 3,7 mM para os ácidos acético, propiônico e butírico respectivamente, e a variável mais responsiva foi comprimento de raízes.

**Palavras-chave:** *Oryza sativa*; estresse abiótico; ácidos orgânicos.

**(Critical levels of acetic, propionic and butyric acids for evaluation of toxicity in rice in nutrient solution)**

**ABSTRACT** – The occurrence of anaerobic conditions in hydromorphic soils, associated with the presence of organic matter favors the development of anaerobic microorganisms that

produce phytotoxic substances, especially short chain organic acids. Selection of promising rice genotypes for use under these conditions requires complex field evaluations, which may be simplified with the use of hydroponic culture. The objective of this work was to determine the range of concentrations and the dependent variables more appropriated to selecting rice genotypes for tolerance to organic acids in hydroponic culture. Six concentrations of the three main acids formed in the soil: acetic acid (0; 4; 8; 12; 16 and 20 mM), propionic acid (0; 3; 6; 9; 12; and 15 mM) and butyric acid (0; 2; 4; 6; 8 and 10 mM) and two genotypes of high divergence (BRS 7-TAIM and SAIBAN) were used. The results indicate that the more adequate concentration range for studies of rice tolerance to organic acids is: 15.8 and 8.4; 9.1 and 4.2 and 7.7 and 3.7 mM for the acids acetic, propionic and butyric, respectively, and the most responsive variable was root length.

**Key words:** *Oryza sativa*; abiotic stress; organic acids.

## **Introdução**

A Região Sul do Brasil apresenta uma área de 6,8 milhões de hectares constituída por solos hidromórficos, representando 20% da área total do estado do Rio Grande do Sul (Pinto *et al.* 2004). Nestes solos, a maioria das espécies cultivadas tem seu desenvolvimento e produção prejudicados devido à má drenagem natural que provoca um ambiente anaeróbico, favorecendo a formação de substâncias tóxicas (Camargo *et al.* 2001). Nestas áreas, onde o solo está praticamente submerso em água, o suprimento de O<sub>2</sub> é cerca de 10.000 vezes mais lento que no solo seco (Ponnamperuma 1972). Devido à cultura do arroz irrigado ter como característica principal a manutenção de uma lâmina de água sobre o solo durante a maior parte do seu desenvolvimento, o O<sub>2</sub> presente é consumido e os microorganismos aeróbios deixam de atuar, proliferando microorganismos anaeróbios, predominantemente bactérias, que utilizam a energia fornecida pela matéria orgânica. Durante a decomposição anaeróbica,

formam-se produtos intermediários, resultantes principalmente da fermentação, dentre os quais destacam-se os ácidos orgânicos alifáticos de baixo peso molecular (acético, propiônico e butírico), que ocorrem na faixa de concentração de 0,1 a 14 mM (Sousa 2001) e, geralmente, na proporção de 6:3:1, respectivamente (Bohnen *et al.* 2005). Estes ácidos atingem valor máximo poucos dias após o alagamento, podendo promover toxidez às plantas (Sousa & Bortolon 2002).

A introdução do sistema de semeadura direta, prevê a manutenção de resíduos vegetais sob a superfície do solo, ocorrendo maior produção de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, principalmente em áreas de difícil drenagem natural, o que pode limitar o crescimento e a produtividade do arroz cultivado neste sistema, nestas áreas. A toxidez por ácidos orgânicos manifesta-se nas fases iniciais de desenvolvimento, ocasionando uma menor germinação, menor crescimento radicular, menor peso e estatura de plântulas (Sousa & Bortolon 2002). Em casos de toxidez mais severa, os prejuízos no desenvolvimento das plantas podem se refletir em outras fases, ocorrendo menores afilamento, absorção de nutrientes e rendimento de grãos (Camargo *et al.* 2001).

Bortolon *et al.* (2002) demonstraram que a concentração de 5 mM de ácido acético, propiônico e butírico reduziu o crescimento radicular de arroz em 52, 75 e 92%, respectivamente. Wallace & Whitehand (1980) verificaram em trigo, que os ácidos quando adicionados em conjunto na solução tratamento apresentam efeito interativo, aumentando a fitotoxidez final. No entanto, até hoje não foram realizados estudos com o objetivo de verificar o efeito diferencial de um grupo de constituições genéticas frente ao efeito fitotóxico dos ácidos orgânicos.

A identificação e a caracterização da variabilidade genética representa o passo inicial para o melhoramento genético vegetal. Técnicas de avaliação de genótipos em ambientes controlados com o uso de soluções nutritivas têm sido amplamente utilizados para

caracterização de genótipos a diversos estresses (Duncan & Baligar 1990). Entretanto a avaliação de genótipos em ambientes artificiais não leva em consideração as reais pressões do meio (Duncan & Baligar 1990). Por outro lado, a seleção em ensaios de campo reúne grande número de variáveis não controladas, tais como tolerâncias diferenciais a estresses climáticos, bióticos ou nutricionais (Wright 1989). Correlações significativas entre parâmetros coletados em testes de campo e em ambientes artificiais com solo ou solução nutritiva foram relatados por Bilinski & Foy (1987) para diversas gramíneas. Assim, um modo eficiente de avaliação de genótipos para tolerância à presença de ácidos orgânicos em meio de cultivo pode ser realizada em sistemas de hidroponia sob condições controladas.

A carência bibliográfica evidencia a necessidade de mais estudos com relação a metodologia para avaliação da toxicidade por ácidos orgânicos, pois, a maior parte dos trabalhos são antigos e desenvolvidos com técnicas que não refletem as atuais condições experimentais utilizadas nestes tipos de estudos. Assim, o objetivo do trabalho foi identificar a faixa de concentração e as variáveis resposta mais eficientes para estudos de tolerância aos ácidos acético, propiônico e butírico em arroz; e avaliar o desempenho de dois genótipos geneticamente distintos ao estresse causado por cada um dos ácidos.

## **Material e Métodos**

Foram realizados três experimentos independentes; cada um deles tendo o objetivo de avaliar o efeito dos três principais ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico), formados durante a decomposição anaeróbia da matéria orgânica durante a fermentação no solo (Camargo *et al.* 1993).

Os experimentos foram conduzidos em sistema hidropônico, mediante a aplicação de seis doses de cada ácido orgânico e utilização de dois genótipos geneticamente distintos (BRS 7-TAIM *indica* e SAIBAN *japonica*). Foram utilizados potes com capacidade de 5,5 L

nos quais foi adaptada uma tela de náilon à tampa para permitir a sustentação das plântulas e o crescimento do sistema radicular no meio de cultivo. Os potes permaneceram em tanque tipo “banho-maria”, com temperatura de  $25 \pm 1$  °C e iluminação artificial controlada.

A solução nutritiva utilizada apresentou a seguinte composição: nitrato de cálcio -  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  4 mM, sulfato de magnésio -  $\text{MgSO}_4$  2 mM, nitrato de potássio -  $\text{KNO}_3$  4 mM, sulfato de amônio -  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,435 mM, fosfato de potássio -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5 mM, ácido bórico -  $\text{H}_3\text{BO}_3$  10  $\mu\text{M}$ , molibdato de sódio -  $\text{NaMoO}_4$  0,10  $\mu\text{M}$ , cloreto de sódio -  $\text{NaCl}$  30  $\mu\text{M}$ , sulfato de zinco -  $\text{ZnSO}_4$  0,8  $\mu\text{M}$ , sulfato de cobre -  $\text{CuSO}_4$  0,3  $\mu\text{M}$ , sulfato de manganês -  $\text{MnSO}_4$  2 mM, Ferro EDTA -  $\text{Fe SO}_4 + \text{Na}$  10  $\mu\text{M}$  (Camargo & Oliveira 1981).

As sementes de cada genótipo de arroz foram desinfetadas com hipoclorito de sódio a 10% (produto comercial) por 5 minutos, lavadas em água destilada e colocadas para germinação a  $25 \pm 1$  °C por 72 horas em papel filtro embebido em água. Após germinação, as plântulas foram selecionadas quanto ao vigor e uniformidade para constituir o experimento. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, e a unidade experimental consistiu de 20 plântulas de cada genótipo no bloco. As doses consistiram de seis concentrações para cada um dos ácidos orgânicos testados (acético, propiônico e butírico). As concentrações utilizadas foram 0 (testemunha); 4; 8; 12; 16 e 20 mM, para ácido acético; 0; 3; 6; 9; 12 e 15 mM, para ácido propiônico e 0; 2; 4; 6; 8 e 10 mM, para ácido butírico. O pH foi ajustado para 4,7 com HCl 1N ou NaOH 1N, sendo monitorado diariamente e ajustado quando necessário, pois segundo Rao & Mikkelsen (1977a) o pH da solução nutritiva em experimentos com ácidos orgânicos é variável e interfere na toxicidade dos ácidos.

As plântulas permaneceram em solução nutritiva sob as doses por quatorze dias. Após esse período, elas foram avaliadas quanto aos seguintes caracteres: comprimento de raiz (CR) e parte aérea (CPA), em cm; número de raízes (NR); matéria seca de raízes (MSR) e de

parte aérea (MSPA), em mg, após secagem até massa constante em estufa com circulação forçada de ar a 60°C.

Os dados foram submetidos à análise de variância, ajuste de regressão para cada variável pelo procedimento *glm* (generalized linear models) (McCullagh & Nelder 1989) e teste de correlação de Pearson entre as variáveis estudadas em cada experimento. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System 2002).

## **Resultados**

A análise de variância revelou efeitos significativos da interação genótipo x dose para todas as variáveis estudadas no experimento relativo ao ácido acético (Tab. 1), indicando que os genótipos apresentaram variações significativas e de magnitudes distintas frente as doses utilizadas. Para o experimento relativo ao efeito do ácido propiônico, apenas a variável CR apresentou efeito de interação significativo; no entanto, para todas as outras variáveis pode ser verificada uma variação significativa para efeito de genótipos e doses (Tab. 1). O fato de algumas variáveis não apresentarem interação genótipo x dose significativa, determina que a variação causada pelo efeito das doses em ambos os genótipos foi de magnitude semelhante, porém não significa que esta variação deva ser desprezada, visto que apresentou efeito significativo para a causa de variação dose. Para o ácido butírico, as variáveis CR e CPA apresentaram variação significativa para interação genótipo x dose. A variável NR, além de não apresentar diferenças quanto a interação, não evidenciou efeito significativo para efeito de dose, indicando que para este ácido, esta variável não é eficiente em discriminar o efeito fitotóxico do elemento estudado. Para as demais variáveis foi constatada significância para efeito de dose, indicando serem responsivas ao efeito do ácido, porém, com mesmo comportamento para ambos os genótipos.

Uma variável apropriada para estudos de divergência genética pode ser considerada aquela que apresentar maior magnitude da variação, ou seja, a variável mais responsiva, e que também apresente efeito significativo para interação genótipo x dose, pois discrimina de maneira mais eficiente às diferentes respostas das constituições genéticas frente as doses utilizadas (Camargo & Oliveira 1981; Camargo & Ferreira 1992; Freitas 2003). Com base neste estudo, a variável que satisfaz estas condições é CR, que apresentou interação significativa em todos os experimentos e elevada variação (Fig. 1, 2 e 3). No entanto, a utilização de apenas dois genótipos pode estar mascarando possíveis resultados de interação e responsividade nas demais variáveis. O objetivo principal do experimento, porém, foi determinar faixas de concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico, para auxiliar a escolha de doses em experimentos de seleção de constituições genéticas com elevado desempenho para tolerância a ácidos orgânicos.

A Fig. 1 ilustra a responsividade das variáveis analisadas frente à ação fitotóxica do ácido acético nos genótipos utilizados. Pode ser verificado que os genótipos apresentaram respostas diferenciais ao efeito das doses em todas as variáveis analisadas, corroborando os resultados obtidos na análise de variância, que demonstraram efeito significativo para interação genótipo x dose. A variável CR foi a que apresentou maior redução relativa no seu desempenho frente as doses utilizadas com redução média de até 82,4% na dose mais elevada. A variável NR foi a única que apresentou acréscimos no seu valor, mostrando também respostas diferentes dos genótipos estudados. Para as variáveis CPA, MSR e MSPA também foi verificada resposta diferencial dos genótipos frente ao estresse (Tab. 1). No entanto, as reduções relativas foram muito similares entre si com índices variando de 31,4 a 37,4% de redução para as variáveis MSPA e MSR, respectivamente, na dose mais elevada.

No experimento relativo à ação fitotóxica do ácido propiônico, os ajustes de regressão (Fig. 2) demonstram que o comportamento médio das variáveis foi similar ao

evidenciado com ácido acético. A variável CR foi a de maior responsividade, com redução média de até 84,5% na dose mais elevada, seguida de CPA com redução relativa de 58,2%, MSPA, com 29,2% e MSR 25,8%. A variável NR, também, apresentou acréscimos de valor quando submetida a níveis crescentes de ácido propiônico. Pode ser constatado, analisando a Fig. 2, que os genótipos apresentaram respostas diferenciais apenas para a variável CR, segundo já constatado pela análise de variância, porém com efeitos significativos para a fonte de variação doses e genótipos.

No caso do ácido butírico, mais uma vez a variável CR foi a que apresentou maior redução média no seu desempenho relativo, chegando neste caso, a uma redução de 78,3% na dose mais elevada, e respostas diferenciais entre os genótipos utilizados (Fig. 3). A variável CPA, também apresentou efeito de interação entre genótipo x dose porém com reduções relativas médias de aproximadamente 30,4%. A variável NR, neste caso, não apresentou variação significativa para efeito de “interação” ou “dose” (Tab. 1) como pode ser observado na Fig. 3, no entanto, apresenta diferenças entre os genótipos estudados, provavelmente de natureza genética entre eles, pois na ausência de efeito de “dose” e de “interação”, pode-se presumir que as diferenças entre genótipos seja unicamente de cunho genético. Assim como a variável CR, as variáveis MSR e MSPA tiveram reduções relativas médias menores quando comparadas aos outros ácidos testados, com reduções de 14,0 e 11,4% para MSR e MSPA, respectivamente. Também pode ser evidenciado nesta figura que apenas para as variáveis CR e CPA a interação entre genótipos e doses foi significativa, indicando respostas diferenciais entre os genótipos frente as doses utilizadas.

Na Tab. 2 são apresentadas as estimativas de correlação simples entre as variáveis estudadas. Como já era esperado, devido a sua resposta diferencial na análise de regressão, a variável NR apresentou correlação negativa com as demais, além de ser a única variável que

não apresentou correlação significativa com MSR e MSPA no tratamento com ácido butírico. As demais variáveis apresentaram correlação significativa entre si em todos os experimentos.

## **Discussão**

Armstrong & Armstrong (2001) estudaram os sintomas fisiológicos relacionados à toxidez destes mesmos ácidos orgânicos em arroz e relataram que eles causam degradação da parede celular, inibição das funções respiratórias e, conseqüente, diminuição da divisão celular do sistema radicular que está em contato direto com o elemento tóxico, indicando assim a razão principal para o menor crescimento radicular. Camargo *et al.* (2001) e Armstrong & Armstrong (2001) observaram que as raízes adventícias diminuíam o seu crescimento, promovendo a proliferação de calos na base do coleótilo, aumentando o número de raízes laterais, sendo esta a provável causa do aumento do número de raízes em arroz quando submetidos a tratamentos com os ácidos acético, propiônico e butírico.

Os níveis utilizados neste estudo foram selecionados a partir de estudos anteriores, que concluíram que a fitotoxidez dos ácidos orgânicos aumenta na ordem acético, propiônico e butírico, ou seja, quanto maior o tamanho da cadeia de carbonos do ácido, mais tóxico ele é (Takijima 1964; Rao & Mikkelsen 1977a,b; Krogmeier & Bremner 1990). Os resultados sugerem que o ácido acético, de fato, se mostrou menos tóxico, pois para promover uma redução de 50% no comprimento de raízes (variável mais afetada) foi necessária uma concentração de 10,9 mM. No entanto, para os ácidos propiônico e butírico, concentrações de 5,6 e 5,3 mM, respectivamente, foram suficientes para promover reduções de 50% no comprimento de raízes. Assim, pode ser constatado que, de fato, o ácido butírico é o mais fitotóxico, no entanto com pouca diferença em relação ao ácido propiônico, ou seja, seus índices de toxidez são muito semelhantes, contrariando os dados encontrados na literatura,

que indicam a necessidade de níveis até 30% mais elevados de ácido propiônico para promover o mesmo efeito do ácido butírico.

A faixa de concentração sugerida como a mais indicada para produção de estresse em estudos de tolerância a fatores abióticos está entre valores que causem reduções no desempenho das variáveis entre 30% e 60% (Jones & Jones 1992). Estimativas por meio de regressão para a variável mais responsiva (CR) indicam que estes valores estão entre 15,8 e 8,4 mM para o ácido acético, 9,1 e 4,2 mM para o ácido propiônico e 7,7 e 3,7 mM para o ácido butírico. A utilização de doses que ocasionem reduções muito acentuadas na variável de interesse podem acarretar danos muito acentuados, inibindo totalmente o crescimento de raízes dos genótipos avaliados. Este nível de estresse é indesejável, pois os genótipos não se diferenciam entre si, ocasionando agrupamento de todos eles numa mesma classe de tolerância. Segundo Freitas (2003) a intensidade do tratamento que deve ser utilizado para classificar genótipos quanto à tolerância a estresse por alumínio deve ser tal que promova a distribuição dos genótipos em maior número de classes, possibilitando a discriminação ampla da variabilidade genética entre os acessos avaliados.

Como a variável mais indicada para avaliação das plântulas foi CR, as variáveis que apresentarem correlação significativa com ela, e também efeito de interação, podem ser utilizadas como forma alternativa ou conjuntamente em seleção indireta para o caráter. Dessa forma, considerando que todas as variáveis se correlacionaram e apresentaram efeitos de interação no tratamento com ácido acético, qualquer variável estudada pode ser utilizada para discriminar genótipos com tolerância a este ácido. No entanto, nenhuma outra variável apresentou efeito de interação no tratamento com ácido propiônico. Assim, apenas a variável CR é indicada para estudos de divergência genética frente ao estresse causado pelo ácido propiônico. E para ácido butírico, apenas a variável CPA apresentou efeito de interação e

correlação com a variável CR, podendo também ser adotada simultaneamente para avaliação de genótipos com tolerância ao ácido butírico.

### **Conclusões**

As doses para estudos de divergência genética para o caráter tolerância a ácidos orgânicos está entre as faixas de 15,8 e 8,4 mM para ácido acético, 9,1 e 4,2 mM para ácido propiônico e 7,7 e 3,7 mM para ácido butírico. O ácido acético apresenta índice de fitotoxidez inferior ao dos ácidos propiônico e butírico.

A variável comprimento de raízes é a mais eficiente em discriminar a resposta das constituições genéticas frente ao estresse causado pelos ácidos acético propiônico e butírico. As variáveis comprimento de parte aérea, número de raízes, matéria seca de raízes e matéria seca de parte aérea também são indicadas para estudos com ácido acético e a variável comprimento de parte aérea, em estudos com ácido butírico.

O genótipo de arroz do grupo *indica* BRS 7-TAIM é mais sensível ao efeito dos ácidos acético, propiônico e butírico quando comparado ao genótipo *japonica* SAIBAN.

### **Referências Bibliográficas**

- Armstrong, J. & Armstrong, W. 2001. Rice and *Phragmites*: effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere. **American Journal of Botany** 88(8):1359-1370.
- Bilinski, J.J. & Foy, C.D. 1987. Differential tolerances of oat cultivars to aluminum in nutrient solutions and in acid soils of plant. **Journal of Plant Nutrition** 10:129-141.
- Bohnen, H.; Silva, L.S.; Macedo, V.R.M. & Marcolin, E. 2005. Ácidos orgânicos na solução de um gleissolo sob diferentes sistemas de cultivo com arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 29(3):475-480.

- Bortolon, L.; Sousa, R.O. & Vahl, L.C. 2002. Crescimento de plântulas de arroz em solução nutritiva submetidas a diferentes doses dos ácidos acético, propiônico e butírico pp.134. **In I Congresso da Cadeia Produtiva do Arroz / VII RENAPA**, Florianópolis, 2002. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás.
- Camargo, de O.C.E. & Ferreira, A.W.P. 1992. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de manganês em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 27(3):417-422.
- Camargo, de O.C.E. & Oliveira, O F. 1981. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia** 49(1):21-23.
- Camargo, F.A.; Santos, G. de A. & Rossiello, R.O.P. 1993. Efeito dos ácidos acético e butírico sobre o crescimento de plântulas de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 28(9):1011-1018.
- Camargo, F.A.; Zonta, E.; Santos, G. de A. & Rossiello, R.O.P. 2001. Aspectos fisiológicos e caracterização de toxidez a ácidos orgânicos voláteis em plantas. **Ciência Rural** 31(3):523-529.
- Duncan, R.R. & Baligar, V.C. 1990. Genetics, breeding, and physiological mechanisms of nutrient uptake and use efficiency: an overview. *In* V.C. Baligar & R.R. Duncan (ed.). **Crops as Enhancers of Nutrient Use**. San Diego: Academic Press. pp.3-35.
- Freitas, F.A. 2003. **Dissimilaridade genética em arroz (*Oryza sativa* L.) quanto à toxicidade ao alumínio**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 69p.
- Jones, H.G. & Jones, M.B. 1992. Introduction: Some terminology and common mechanisms. *In* H.G. Jones; T.J. Flowers & M.B. Jones (ed.). **Plants Under Stress**. Cambridge: University Press. pp.1-10.

- Krogmeier, M.J. & Bremner, J.M. 1990. Effects of aliphatic acids on seed germination and seedling growth in soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 21(7):547-555.
- McCullagh, P. & Nelder, J.A. 1989. **Generalized Linear Models**, Second Edition. London: Chapman and Hall.
- Pinto, L.F.E.; Laus, J.A. & Pauletto, E.A. 2004. Solos de várzea no sul do Brasil. In A.S. Gomes & A.M. Magalhães Jr. (ed.). **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília: Embrapa-Informação Tecnológica. pp.75-95.
- Ponnamperuma, F.M. 1972. The chemistry of submerged soils. **Advances in Agronomy** 24(1):29-96.
- Rao, D.N. & Mikkelsen, D.S. 1977a. Effect of acetic, propionic, and butyric acids on young rice seedlings growth. **Agronomy Journal** 69(6):923-928.
- Rao, D.N. & Mikkelsen, D.S. 1977b. Effect of acetic, propionic, and butyric acids on rice seedlings growth. and nutrition. **Plant and Soil** 47(6):323-334.
- Sousa, R.O. 2001. **Oxirredução em solos alagados afetada por resíduos vegetais**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 164p.
- Sousa, R.O. & Bortolon, L. 2002. Crescimento radicular e da parte aérea do arroz (*Oryza sativa* L.) e absorção de nutrientes em solução nutritiva com diferentes concentrações de ácido acético. **Revista Brasileira de Agrociência** 8(3):231-235.
- Statistical Analysis System. 2002. **SAS: Statistical Analysis System-Getting Started with the SAS Learning Edition**. Cary, NC: SAS Institute inc. 86p.
- Takijima, Y. 1964. Growth inhibiting action of organic acids and absorption and decomposition of them by soils. **Soil Science Plant Nutrition** 10(5):204-211.

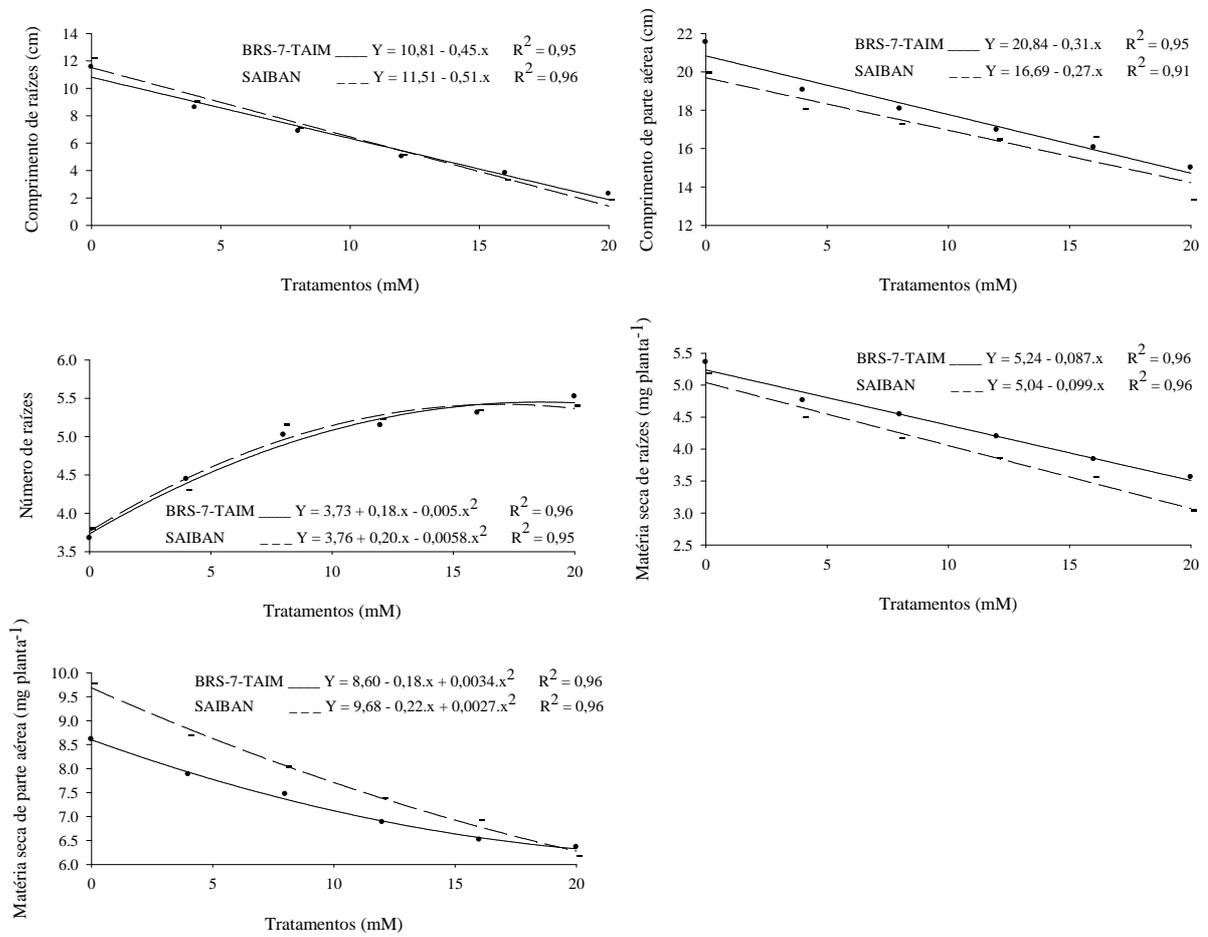
Wallace, J.M. & Whitehand, L.C. 1980. Adverse synergistic effects between acetic, propionic, butyric and valeric acids on the growth of wheat seedling roots. **Soil Biology Biochemistry** 12:445-446.

Wright, R.J. 1989. Soil aluminum toxicity and plant growth. **Communications in Soil Science and Plant Analysis** 20:1479-1497.

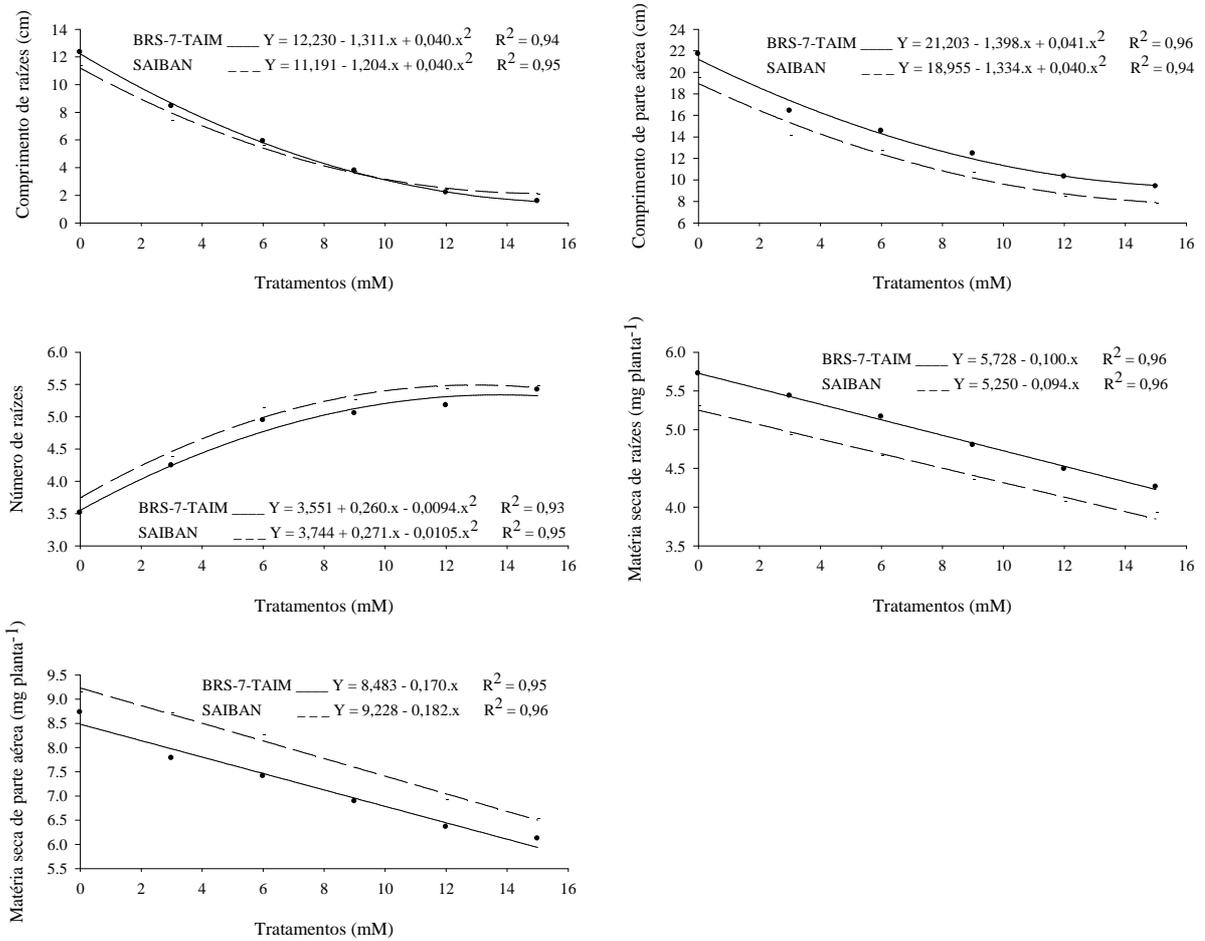
**Tabela 1.** Resumo da análise de variância (F.V.- fonte de variação e G.L.- graus de liberdade) para as variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) nos tratamentos com ácido acético, propiônico e butírico em arroz para sistemas hidropônicos. Pelotas – RS, 2006.

Ácido	F.V	G.L.	Quadrados Médios				
			CR	CPA	NR	MSR	MSPA
Acético	Genótipos	1	0,142	8,120*	0,0066	1,220*	3,668*
	Doses	5	103,512*	39,438*	3,579*	3,896*	9,212*
	Interação	5	0,428*	1,318*	0,0289*	0,0264*	0,395*
	Resíduo	18	0,0434	0,283	0,052	0,0082	0,0350
	Média		6,398	17,367	4,862	4,214	7,557
	C.V.		3,256	3,063	1,483	2,142	2,476
Propiônico	Genótipos	1	0,623*	42,0650*	0,422*	2,214*	5,105*
	Doses	5	116,884*	155,468*	3,939*	2,374*	7,857*
	Interação	5	0,766*	0,160	0,0100	0,0081	0,0922
	Resíduo	18	0,130	0,401	0,0106	0,0382	0,0351
	Média		5,577	13,178	4,815	4,763	7,536
	C.V.		6,455	4,807	2,133	4,106	2,485
Butírico	Genótipos	1	3,725*	0,569	0,0771*	0,0544*	2,664*
	Doses	5	102,834*	38,876*	0,0349	0,638*	1,216*
	Interação	5	0,532*	1,710*	0,0035	0,0135	0,0027
	Resíduo	18	0,0244	0,155	0,0018	0,0064	0,0403
	Média		6,283	16,224	3,582	4,779	8,579
	C.V.		2,485	2,426	1,167	1,670	2,340

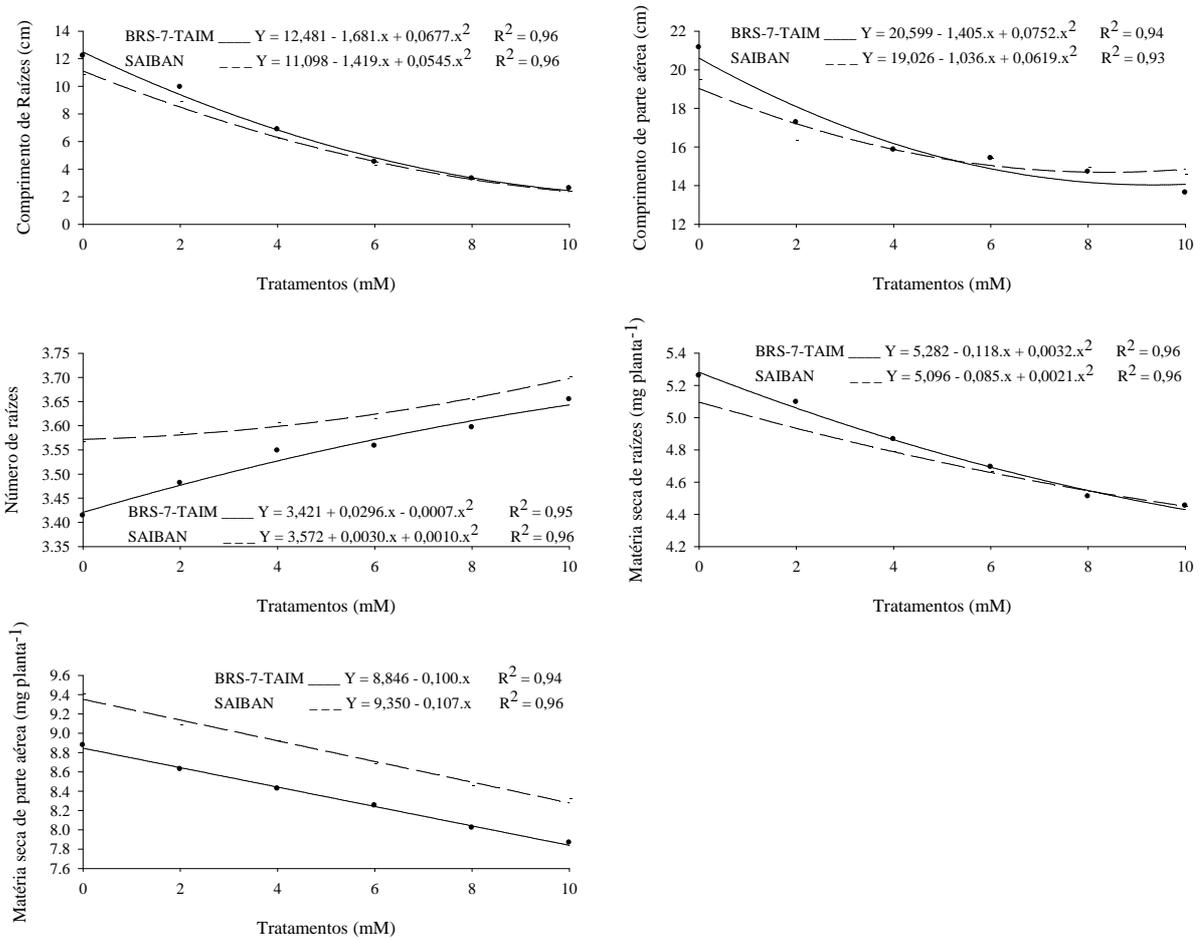
\* Significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro.



**Figura 1.** Respostas das variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) em relação a seis concentrações de ácido acético nas cultivares BRS 7-TAIM e SAIBAN. Pelotas – RS, 2006.



**Figura 2.** Respostas das variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) em relação a seis concentrações de ácido propiônico nas cultivares BRS 7-TAIM e SAIBAN. Pelotas – RS, 2006.



**Figura 3.** Respostas das variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) em relação a seis concentrações de ácido butírico nas cultivares BRS 7-TAIM e SAIBAN. Pelotas – RS, 2006.

**Tabela 2.** Estimativas de correlação de Pearson entre as variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) avaliadas em seis níveis de ácido acético, propiônico e butírico. Pelotas – RS, 2006.

Ácido	Variáveis	CR	CPA	NR	MSR	MSPA
Acético	CR	1	0,84*	-0,85*	0,85*	0,81*
	CPA		1	-0,77*	0,83*	0,70*
	NR			1	-0,79*	-0,77*
	MSR				1	0,75*
	MSPA					1
Propiônico	CR	1	0,86*	-0,86*	0,77*	0,78*
	CPA		1	-0,84*	0,81*	0,68*
	NR			1	-0,77*	-0,69*
	MSR				1	0,57*
	MSPA					1
Butírico	CR	1	0,65*	-0,32*	0,79*	0,56*
	CPA		1	-0,62*	0,43*	0,46*
	NR			1	-0,098	-0,095
	MSR				1	0,54*
	MSPA					1

\* Significativo a 5% de probabilidade e de erro pelo teste t.  
Número de observações = 48.

**3. INFLUÊNCIA DO pH DA SOLUÇÃO NUTRITIVA NA FITOTOXIDEZ  
CAUSADA POR ÁCIDOS ORGÂNICOS EM ARROZ SOB CULTIVO  
HIDROPÔNICO**

**(Magistra - ISSN: 0102-5333)**

## **INFLUÊNCIA DO pH DA SOLUÇÃO NUTRITIVA NA FITOTOXIDADE CAUSADA POR ÁCIDOS ORGÂNICOS EM ARROZ SOB CULTIVO HIDROPÔNICO**

**RESUMO:** A ocorrência de condições anaeróbicas nos solos hidromórficos, associada com a presença de matéria orgânica favorece o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios que produzem substâncias fitotóxicas representadas principalmente pelos ácidos orgânicos de cadeia curta. A seleção de constituições genéticas de arroz promissoras e adaptadas para utilização nestas situações requer avaliações de difícil execução a campo, sendo simplificada com a utilização de sistemas hidropônicos. O objetivo deste trabalho foi determinar, em hidroponia, a influência do nível de pH utilizado na solução hidropônica na fitotoxicidade causada pelos ácidos acético, propiônico e butírico em arroz, bem como o desempenho de algumas variáveis atualmente utilizadas em estudos de tolerância a estresses abióticos em sistemas hidropônicos. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Sementes da cultivar BRS 7 TAIM foram alocadas em potes contendo solução hidropônica e os tratamentos. Foram avaliados três ácidos (acético, propiônico e butírico) e quatro níveis de pH (4,0; 5,0; 6,0 e 7,0). Os resultados permitem concluir que níveis reduzidos de pH aumentam a fitotoxicidade de todos os ácidos. Os comprimentos de raízes e parte aérea tem comportamento independente do ácido utilizado, ao contrário do número de raízes e matérias secas de raízes e parte aérea. O comprimento de raízes é a variável mais afetada pelo efeito dos tratamentos.

Palavras-chave: *Oryza sativa*, condições anaeróbicas, estresse abiótico.

## **NUTRITIVE SOLUTION pH INFLUENCE ON PHYTOTOXICITY CAUSED BY ORGANIC ACIDS IN RICE UNDER HYDROPONIC CULTURE**

**ABSTRACT:** The occurrence of anaerobic conditions in hydromorphic soils, associated to the presence of organic matter favors the development of anaerobic microorganisms which produce phytotoxic substances represented mainly by short chain organic acids. The selection of promising rice genotypes adapted to these situations requires cumbersome field evaluations that can be replaced by simpler hydroponic culture evaluations. The objective of this work was to determine, in hydroponics, the pH level influence on the phytotoxicity caused by acetic, propionic and butyric acids to rice, as well as the performance of some variables currently used in abiotic stress tolerance studies in hydroponic systems. The experimental design used was random blocks with four replications. Seeds from cultivar BRS 7 TAIM were placed on plastic pots containing hydroponic solution and the treatments. Three acids (acetic, propionic and butyric) and four pH levels (4.0, 5.0, 6.0 and 7.0) were evaluated. The results indicate that reduced pH levels increase the phytotoxicity of all acids. Root and Shoot length have responses independent of the acid used, an inverse response being found for root number, root dry matter and shoot dry matter. Root length was the variable most influenced by the treatments.

Key words: *Oryza sativa*, anaerobic conditions, abiotic stress.

## INTRODUÇÃO

A região sul do Brasil apresenta uma área de 6,8 milhões de hectares constituída por solos hidromórficos, representando 20% da área total do estado do Rio Grande do Sul (Pinto et al., 2004). Nestes solos, a maioria das espécies cultivadas tem seu desenvolvimento e produção prejudicados devido a má drenagem natural que provoca um ambiente anaeróbio, favorecendo a formação de substâncias tóxicas (Camargo et al., 2001). Nestas áreas, onde o solo está praticamente submerso em água, o suprimento de O<sub>2</sub> é cerca de 10.000 vezes mais lento que no solo seco (Ponnamperuma, 1972). Como a cultura do arroz irrigado tem como característica principal a manutenção de uma lâmina de água sobre o solo durante a maior parte do seu desenvolvimento, o O<sub>2</sub> presente é consumido e os microorganismos aeróbios deixam de atuar, e os microorganismos anaeróbios, representados predominantemente por bactérias, proliferam a custa de energia fornecida pela matéria orgânica. Durante a decomposição anaeróbia, formam-se produtos intermediários, resultantes principalmente da fermentação, entre os quais destacam-se os ácidos orgânicos alifáticos de baixo peso molecular (acético, propiônico e butírico), que ocorrem na faixa de concentração de 0,1 a 14 mM (Sousa, 2001) e geralmente na proporção de 6:3:1, respectivamente (Bohnen et al., 2002). Estes ácidos atingem um valor máximo em poucos dias após o alagamento, podendo ocorrer toxidez às plantas (Sousa & Bortolon, 2002).

Com a introdução do sistema de semeadura direta, que prevê a manutenção de resíduos vegetais sob a superfície do solo, ocorre maior produção de ácidos orgânicos de baixo peso molecular, principalmente em áreas de difícil drenagem natural, que podem estar limitando o crescimento e a produtividade do arroz cultivado neste sistema nestas áreas. A toxidez por ácidos orgânicos manifesta-se, nas fases iniciais de desenvolvimento, por uma menor germinação, um menor crescimento radicular, menor peso e estatura de plântulas

(Sousa & Bortolon, 2002). Em casos de toxidez mais severa, os prejuízos ao crescimento das plantas podem se refletir em outras fases, ocorrendo menor afilhamento, absorção de nutrientes e rendimento de grãos (Camargo et al., 2001).

A identificação e caracterização da variabilidade genética é o passo inicial e de fundamental importância para o melhoramento genético vegetal. Técnicas de avaliações de genótipos em ambientes controlados com o uso de soluções nutritivas tem sido amplamente utilizados para caracterização de genótipos à diversos estresses (Duncan & Baligar, 1990). Enquanto a avaliação de genótipos em ambientes artificiais não leva em consideração as reais pressões do meio (Duncan & Baligar, 1990), a seleção em ensaios de campo reúne grande número de variáveis não controladas, tais como tolerâncias diferenciais a estresses climáticos, bióticos ou nutricionais (Wright, 1989). Correlações significativas entre variáveis coletadas em testes de campo e em ambientes artificiais, com solo ou solução nutritiva são relatados por Bilski & Foy, (1987) em diversas gramíneas. Assim, uma maneira eficiente de avaliação de genótipos para tolerância a presença de ácidos orgânicos em meio de cultivo pode ser realizada em sistemas eficientes de hidroponia sob condições controladas.

Rao & Mikkelsen (1977a) e Armstrong & Armstrong (1999) concluíram que níveis reduzidos de pH da solução nutritiva onde os ácidos orgânicos estão diluídos aumentam sua fitotoxidez. O principal sintoma fisiológico descrito para os ácidos orgânicos, se refere ao seu poder de lipossolubilidade das membranas celulares, que é aumentado quando estes ácidos encontram-se na forma não dissociada (Marschner, 1995). A forma não dissociada destes ácidos está intimamente relacionada com o pH do meio onde se encontram, sendo que cerca de 63 a 70% destes ácidos encontra-se nesta forma a um pH de 4,5 (Jackson & Taylor, 1970 e Lynch, 1978), aumentando seu poder de lipossolubilidade das membranas celulares e conseqüentemente sua fitotoxidez.

A escassa bibliografia disponível evidencia a necessidade de maiores estudos com relação aos materiais e métodos utilizados para avaliação da toxicidade por ácidos orgânicos, pois, a maior parte dos trabalhos são antigos e desenvolvidos com materiais e métodos ultrapassados. Assim, o objetivo do trabalho foi determinar, em hidroponia, a influência do nível de pH utilizado na solução hidropônica na fitotoxicidade causada pelos ácidos acético, propiônico e butírico em arroz, bem como o desempenho de algumas variáveis atualmente utilizadas em estudos de tolerância a estresses abióticos em sistemas hidropônicos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Di-haplóides e Hidroponia do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), localizado no município de Pelotas - RS.

Para constituição do experimento, foram utilizados potes com capacidade de 5,5 L nos quais foi adaptada uma tela plástica a tampa de cada pote permitindo a sustentação das plântulas e o crescimento do sistema radicular para o meio de cultivo. Os potes permaneceram em tanque tipo “banho maria” com temperatura de  $25 \pm 1$  °C, e iluminação artificial controlada.

A concentração da solução nutritiva utilizada foi: Nitrato de cálcio -  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  4 mM, Sulfato de magnésio -  $\text{MgSO}_4$  2 mM, Nitrato de potássio -  $\text{KNO}_3$  4 mM, Sulfato de amônio -  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,435 mM, Fosfato de potássio -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5 mM, Acido bórico -  $\text{H}_3\text{BO}_3$  10  $\mu\text{M}$ , Molibdato de sódio -  $\text{NaMoO}_4$  0,10  $\mu\text{M}$ , Cloreto de sódio -  $\text{NaCl}$  30  $\mu\text{M}$ , Sulfato de zinco -  $\text{ZnSO}_4$  0,8  $\mu\text{M}$ , Sulfato de cobre -  $\text{CuSO}_4$  0,3  $\mu\text{M}$ , Sulfato de manganês -  $\text{MnSO}_4$  2 mM, Ferro EDTA -  $\text{Fe SO}_4 + \text{Na}$  10  $\mu\text{M}$  (Camargo & Oliveira, 1981).

Para constituição do experimento, 8400 sementes da cultivar BRS 7 TAIM foram colocadas para germinação a  $25 \pm 1$  °C por 72 horas em papel filtro embebido em água, das quais foram selecionadas 3840 com comprimento de raiz de 5 mm e uniformes para constituir o experimento. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições, em um esquema fatorial, sendo que a unidade experimental consistiu de 80 sementes para cada repetição de cada ácido testado. Após a realização do sorteio, as unidades experimentais foram alocadas nas telas de náilon adaptadas às tampas dos recipientes contendo solução hidropônica normal adicionada de uma concentração fixa de cada ácido. Foram utilizadas concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico que causam aproximadamente 50 % de redução no crescimento do sistema radicular. Segundo Rao & Mikkelsen (1977b) os níveis de 4,2; 2,2 e 1,7 para os ácidos acético, propiônico e butírico respectivamente, causam uma redução de 50% no crescimento de raízes em arroz a um nível de pH de 4,7, sendo estes, utilizados para compor os experimentos. Os tratamentos foram constituídos de 4 níveis de pH: 4, 5, 6 e 7 para cada um dos ácidos testados na suas respectivas doses. Os níveis de pH foram monitorados diariamente e corrigidos quando necessário com HCl 1N ou NaOH 1N, pois segundo Rao & Mikkelsen (1977a), o pH da solução nutritiva em experimentos com ácidos orgânicos sofre muitas variações.

As plântulas se desenvolveram em solução nutritiva adicionada dos tratamentos por 14 dias. Após esse período elas foram retiradas da tela de náilon e avaliadas quanto as seguintes caracteres: comprimento de raiz (CR) e parte aérea (CPA) em cm; número de raízes (NR); matéria seca de raízes (MSR) e de parte aérea (MSPA) em mg pesadas após secagem até peso constante em estufa.

Os dados foram submetidos à análise de variância num esquema fatorial e ajuste de regressão para cada variável (Steel & Torrie, 1980) propiciando a verificação da influência do pH da solução nutritiva na toxicidade causada por cada ácido orgânico utilizado. Também foi

realizada uma análise de correlação de Pearson entre as variáveis analisadas. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, 2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância (Tabela 1) demonstraram efeito significativo pelo teste F para a fonte de variação tratamento em todas as variáveis analisadas exceto para número de raízes (NR). Estes resultados indicam que as variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento da parte aérea (CPA), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) são influenciadas pelo nível do pH da solução nutritiva para um nível fixo de ácido utilizado. No entanto, o efeito significativo da interação tratamento x ácido para as variáveis número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) indicam, da mesma forma, variação significativa para estas variáveis, porém esta variação é dependente do ácido utilizado (acético, propiônico ou butírico). Outro fator importante é que independente do nível de pH utilizado, as variáveis apresentam valores diferenciados para cada ácido testado nas variáveis comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA), pois apresentaram efeito significativo para fonte de variação “ácido”. Resultados similares foram obtidos em um experimento avaliando o efeito do pH na fitotoxidez causada pelos ácidos acético, propiônico e butírico, em que cada ácido respondeu diferencialmente quanto ao seu nível de fitotoxidez em relação ao pH da solução em que se encontravam (Rao & Mikkelsen, 1977a).

Os coeficientes de variação (Tabela 1) apresentaram valores entre 3,4 para a variável matéria seca de parte aérea (MSPA) até 10,25 para comprimento de raízes (CR). Em ambos os casos o valor pode ser considerado baixo. Estes valores, relativamente baixos, eram esperados

uma vez que a unidade experimental foi constituída da avaliação de 80 plântulas proporcionando maior homogeneização dos valores médios.

Observando a Figura 1 pode ser constatado que todas as variáveis apresentaram acréscimos de valor com o aumento do nível de pH para todos os ácidos, com exceção da variável número de raízes (NR) para os ácidos propiônico e butírico que sofreram redução em função do aumento do nível de pH.

O efeito de interação significativa na análise de variância implica no ajuste de regressão individual para a variável em cada ácido testado. No entanto, aquelas variáveis que não apresentaram interação significativa, apresentaram significância para a causa de variação “ácido” e/ou “tratamento”, implicando em diferenças nos valores médios da variável para cada ácido testado. Assim foram ajustadas regressões para cada variável em cada ácido utilizado para que seja possível visualizar o comportamento médio da variação de cada variável em cada ácido testado.

Para a variável comprimento de raízes (CR) pode ser verificado que a melhor equação ajustada foi quadrática e linear, respectivamente, para o ácido acético e para os demais ácidos (Figura 1). Nestes três casos, a variação é muito similar com coeficientes de regressão semelhantes, como já constatado na análise de variância pela não significância do efeito de interação, além de possuir médias dos valores de cada ácido muito similares, não implicando em variação para o fator “ácido”. Pode ser verificado que o comprimento de raízes (CR) foi a variável mais afetada pelo efeito dos tratamentos, e que níveis elevados de pH reduzem drasticamente a fitotoxidez para os ácidos orgânicos avaliados. Além de apresentar maior redução relativa, a raiz também está em contato direto com as moléculas responsáveis pela fitotoxidez, o que é consistente com a constatação de que estes ácidos causam degradação da parede celular, inibição das funções respiratórias e conseqüente diminuição da

divisão celular do sistema radicular que está em contato direto com o elemento tóxico (Armstrong & Armstrong, 2001).

Analisando as regressões ajustadas para a variável comprimento de parte aérea (CPA) (Figura 1) percebe-se um comportamento uniforme na variação, ou seja, regressões lineares para todos os ácidos testados. Mesmo havendo menor amplitude relativa da variação para esta variável, pode-se visualizar o efeito significativo da causa de variação “tratamento” (Figura 1). Assim como para a variável comprimento de raízes (CR), esta variável tem mesmo comportamento para os três ácidos avaliados, apresentando acréscimos significativos de valor com o aumento do nível de pH da solução hidropônica, evidenciando que níveis baixos de pH aumentam a fitotoxicidade causada pelos ácidos. No entanto, pode ser verificado que as médias dos valores de cada ácido avaliado foi diferente, sendo que o ácido butírico foi o que apresentou os menores valores de CPA em relação aos demais ácidos avaliados.

A variável número de raízes (NR) foi entre todas, a que apresentou maiores diferenças nas respostas entre cada ácido avaliado (efeito de interação “ácido x tratamento”). Em plântulas de arroz sob estresse por ácidos orgânicos as raízes adventícias diminuem o seu crescimento, promovendo uma proliferação de calos na base do coleóptilo, aumentando o número de raízes laterais (Armstrong & Armstrong, 2001). No entanto, percebe-se que para o ácido acético o comportamento do número de raízes (NR) foi similar ao das demais variáveis analisadas, com acréscimos significativos de valor com o aumento do nível de pH da solução nutritiva. Entretanto, para os ácidos propiônico e butírico, ocorreu o contrário, ou seja, reduções do número de raízes com o aumento do nível de pH da solução nutritiva (Figura 1). Pelo fato de outros estudos terem utilizado os ácidos adicionados em conjunto (Armstrong & Armstrong, 2001), algumas diferenças podem ser observadas nos resultados obtidos, pois estes ácidos apresentam efeito interativo quando presentes simultaneamente na solução nutritiva (Sousa & Bortolon, 2002). Entretanto, a vantagem do presente estudo está no fato de

se poder verificar o efeito de cada ácido isoladamente. Contrariando estes resultados, foi verificado que com aumento da toxidez causada por ácidos orgânicos (em função do menor nível de pH da solução nutritiva), somente os ácidos propiônico e butírico tiveram o comportamento de aumento no número de raízes, e para o ácido acético ocorreu uma redução no número de raízes das plântulas avaliadas.

A variável matéria seca de raízes (MSR), assim como as demais, apresentou aumento no valor com aumento do nível de pH da solução nutritiva (Figura 1). No entanto, nesta variável, tal variação pode ser considerada de baixa amplitude, uma vez que as regressões revelaram baixos coeficientes de regressão (b), porém ainda significativos. Outro fato que pode ser visualizado na Figura 1 é o efeito de interação entre os fatores “ácido” e “tratamento”, pois para cada ácido estudado verifica-se uma resposta diferente desta variável. Para o ácido propiônico foi verificado o maior acréscimo de valor na matéria seca de raízes (MSR) em relação aos demais ácidos testados. O menor acúmulo de matéria seca foi relatado por Armstrong & Armstrong (2001) como conseqüência da perda de conteúdo intracelular para o meio em função da degradação das membranas celulares e estruturas da parede celular. Assim fica evidente, mais uma vez, que níveis baixos de pH, aumentam a fitotoxicidade causada por estes ácidos.

O mesmo comportamento pode ser visualizado para a variável matéria seca de parte aérea (MSPA), onde para todos os ácidos testados houve acréscimos de valor com aumento do nível de pH da solução nutritiva (Figura 1). Assim como para a variável matéria seca de raízes (MSR), o ácido que sofreu maior influência do nível de pH da solução foi o propiônico. Possivelmente, este ácido tem seu efeito mais acentuado no sistema de membranas celulares, o que causa extravasamento do conteúdo celular e menor acúmulo de matéria seca, no entanto, esta hipótese deve ser melhor estudada.

Níveis reduzidos de pH aumentam a forma não dissociada dos ácidos acético, propiônico e butírico, tornando-os mais tóxicos às plantas, pois na forma não dissociada estes ácidos aumentam sua lipossolubilidade causando efeitos diretos no sistema de raízes e indiretos na parte aérea das plantas sob estresse (Armstrong & Armstrong, 1999). Em pH de 4,5 aproximadamente 63-70% destes ácidos encontram-se na forma não dissociada, e quando este pH é elevado a 6,0 mais de 92% encontram-se na forma dissociada (Jackson & Taylor, 1970; Lynch, 1978). Outro fator importante é que o valor no qual 50% do ácido encontra-se na forma dissociada e 50% na forma não dissociada, ou seja, o pK de cada ácido testado é muito similar. Os valores de pK para os ácidos acético, propiônico e butírico são de 4,74; 4,87 e 4,81, respectivamente (Armstrong & Armstrong, 1999). Assim fica evidente o comportamento similar de cada ácido frente ao nível de pH utilizado na solução nutritiva, pois para avaliação da fitotoxicidade de cada ácido, deve ser levado em consideração principalmente a proporção da forma não dissociada do ácido.

Analisando a Tabela 2 pode ser verificado que as variáveis estudadas apresentam correlações significativas entre si, com exceção da variável número de raízes. Esta variável, como já constatado, apresentou comportamento diferencial frente aos ácidos propiônico e butírico, com acréscimos consideráveis nos valores médios. Este comportamento diferencial foi o responsável pela associação inversa (correlação negativa) verificado nos resultados, além de sua não significância. Carvalho et al., (2004) comentou a importância da análise de correlação para seleção indireta de constituições genéticas de caracteres de difícil mensuração. Em geral, avaliações do sistema de raízes das plantas são de difícil execução. Os resultados obtidos sugerem que o comprimento de raízes foi a variável mais indicada para selecionar genótipos promissores quanto à tolerância a ácidos orgânicos, porém, as correlações significativas indicam que as variáveis comprimento de parte aérea e matéria seca tanto de raízes quanto de parte aérea podem ser utilizadas como critério auxiliar de seleção.

## CONCLUSÕES

1. Níveis baixos de pH provocam drástica redução no comprimento de raízes e afetam em menor intensidade o comprimento de parte aérea, matéria seca de raízes e matéria seca de parte aérea. Estes níveis reduzidos de pH da solução nutritiva contendo ácido acético promovem reduções no número de raízes e aumento para os demais ácidos estudados.

2. As variáveis comprimento de raízes e comprimento de parte aérea apresentam mesma variação independente do ácido utilizado. As variáveis matéria seca de raízes, matéria seca de parte aérea e número de raízes apresentam comportamento dependente do ácido utilizado.

3. A forma não dissociada dos ácidos avaliados afeta de forma mais elevada o acúmulo de matéria seca e o número de raízes para os ácidos propiônico e butírico, respectivamente, em relação aos demais ácidos testados.

4. As variáveis comprimento de parte aérea, matéria seca de raízes e de parte aérea apresentam correlação com comprimento de raízes sendo utilizadas como critério auxiliar na determinação da toxidez de ácidos orgânicos causado em arroz.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARMSTRONG, J.; ARMSTRONG, W. *Phragmites* die-back: toxic effects of propionic, butyric and caproic acids in relation to pH. **New Phytologist**, New York, v.142, n.2, p.201-217. 1999.

ARMSTRONG, J.; ARMSTRONG, W. Rice and *Phragmites*: effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere. **American Journal of Botany**, Columbus, v.88, n.8, p.1359-1370. 2001.

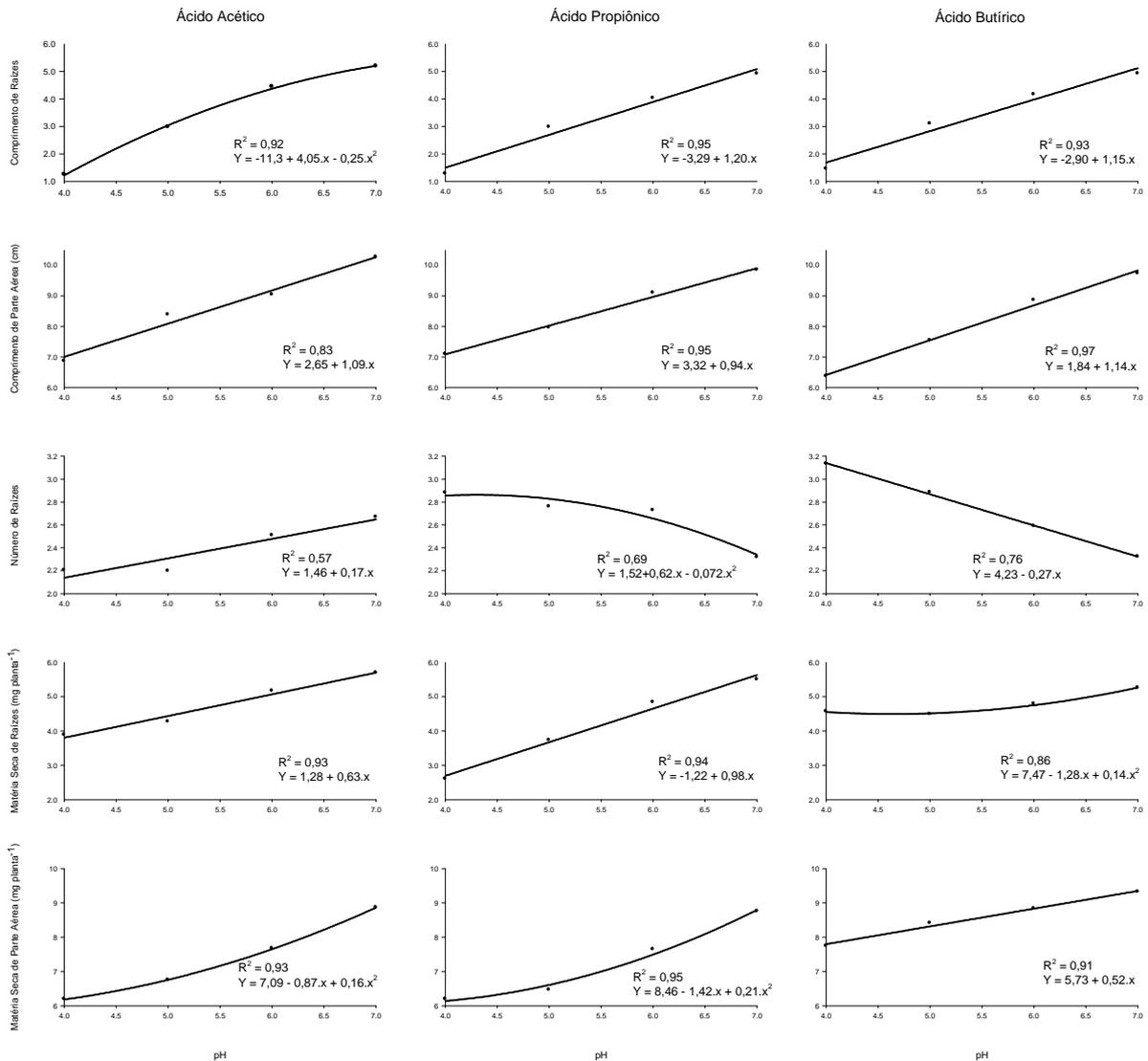
- BILSKI, J.J.; FOY, C.D. Differential tolerances of oat cultivars to aluminum in nutrient solutions and in acid soils. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.10, n.2, p.129-141. 1987.
- BOHNEN, H.; SILVA, L.S.; MACEDO, V.R.M.; MARCOLIN, E. Ácidos orgânicos em sistemas de cultivo com arroz irrigado. In: IV Reunião Sul Brasileira de Ciências do Solo, 2002. Porto Alegre – RS, **Anais...**, p.14-16, 2002.
- CAMARGO, de O.C.E; OLIVEIRA, O F. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia**, Campinas, v.49, n.1, p.21-23. 1981.
- CAMARGO, F.A.; SANTOS, G. de A.; ROSSIELO, R.O.P. Efeito dos ácidos acético e butírico sobre o crescimento de plântulas de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.28, n.9, p.1011-1018. 1993.
- 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.
- CARVALHO, F.I.F.; LORENCETTI, C.; BENIN, G. **Estimativas e Implicações da Correlação no Melhoramento Vegetal**. Pelotas-RS: Editora e Gráfica Universitária, 2004. 142p.
- DUNCAN, R.R.; BALIGAR, V.C. Genetics, breeding, and physiological mechanisms of nutrient uptake and use efficiency: an overview. In: BALIGAR, V.C.; DUNCAN, R.R. (Eds.). **Crops as Enhancers of Nutrient Use**. San Diego: Academic Press, 1990. p.3-35.
- JACKSON, P.C.; TAYLOR, J.M. Effects of organic acids on ion uptake and retention in barley roots. **Plant Physiology**. Rockville, v.46, n.4, p.538-542. 1970.
- LYNCH, J.M. Production and phytotoxicity of acetic acid in anaerobic soils containing plant residues. **Soil Biology Biochemistry**. Oxford, v.10, n.2, p.131-135. 1978.
- MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press, 1995, 889p.
- PINTO, L.F.E.; LAUS, J.A.; PAULETTO, E.A. Solos de várzea no sul do Brasil. In: A.S. GOMES; A.M. MAGALHÃES Jr eds., **Arroz irrigado no sul do Brasil**, Embrapa-Informação Tecnológica, Distrito Federal, Brasília, 2004. p.75-95.
- PONNAMPERUMA, F.M. The chemistry of submerged soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.24, n.1, p.29-96, 1972.

- RAO, D.N.; MIKKELSEN, D.S. Effect of acetic, propionic, and butyric acids on young rice seedlings growth. **Agronomy Journal**, Madison, v.69, n.6, p.923-928, 1977a.
- RAO, D.N.; MIKKELSEN, D.S. Effect of acetic, propionic, and butyric acids on rice seedlings growth and nutrition. **Plant and Soil**, The Hague, v.47, n.2, p.323-334, 1977b.
- 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.
- SOUSA, R.O.; BORTOLON, L. Crescimento radicular e da parte aérea do arroz (*Oryza sativa* L.) e absorção de nutrientes em solução nutritiva com diferentes concentrações de ácido acético. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.8, n.3, p.231-235, 2002.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS: Statistical Analysis System-Getting Started with the SAS Learning Edition**. 2002. Cary, NC: SAS Institute inc. 2002. 86p.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics**. 2.ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 633p.
- WRIGHT, R.J. Soil aluminum toxicity and plant growth. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.20, n.15, p.1479-1497, 1989.

**Tabela 1-** Resumo da análise de variância das variáveis comprimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR), e matéria seca de raízes (MSR) e parte aérea (MSPA) avaliadas em quatro níveis de pH da solução nutritiva contendo os ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas – RS, 2006.

F.V.	G.L.	Quadrados Médios				
		CR	CPA	NR	MSR	MSPA
<b>Ácido</b>	2	0,086	0,852*	0,390*	1,437*	6,385*
<b>Tratamento</b>	3	23,068*	16,813*	0,140	5,728*	8,912*
<b>Ácido x Tratamento</b>	6	0,059	0,128	0,287*	0,758*	0,325*
<b>Resíduo</b>	22	0,120	0,203	0,064	0,050	0,069
<b>Média</b>		3,39	8,42	2,60	4,56	7,73
<b>CV</b>		10,25	5,35	9,71	4,88	3,40

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



**Figura 1-** Parâmetros das equações de regressão e respectivas representações gráficas das variáveis comprimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR), e matéria seca de raízes (MSR) e parte aérea (MSPA) avaliadas em 4 níveis de pH da solução nutritiva contendo os ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas – RS, 2006.

**Tabela 2-** Estimativas de correlação de Pearson entre as variáveis comprimento de raízes (CR), comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) avaliadas em 4 níveis de pH da solução nutritiva contendo os ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas – RS, 2006.

<b>Variáveis</b>	<b>CR</b>	<b>CPA</b>	<b>NR</b>	<b>MSR</b>	<b>MSPA</b>
<b>CR</b>	-	0,903*	-0,260	0,814*	0,758*
<b>CPA</b>		-	-0,377*	0,705*	0,634*
<b>NR</b>			-	-0,203	-0,022
<b>MSR</b>				-	0,795*
<b>MSPA</b>					-

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste T.  
Número de observações = 48.

## **4. TOLERÂNCIA A ÁCIDOS ORGÂNICOS EM GENÓTIPOS DE ARROZ**

**(Crop Breeding and Applied Biotechnology – ISSN: 1518-7853)**

## Tolerância a Ácidos Orgânicos em Genótipos de Arroz

**Resumo** – Os solos do tipo hidromórfico apresentam como característica principal uma reduzida capacidade de drenagem natural, sendo utilizados principalmente para cultivo de arroz irrigado. Assim, a ocorrência de condições anaeróbias associada com a presença de matéria orgânica possibilita o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios que produzem substâncias fitotóxicas. Foram desenvolvidos três trabalhos com o objetivo de avaliar a resposta de 25 genótipos de arroz a ação fitotóxica dos ácidos acético, propiônico e butírico produzidos nestas condições. Os trabalhos foram executados em sistema de hidroponia com 4 tratamentos para cada ácido e o delineamento utilizado foi blocos casualizados com 3 repetições por tratamento. As variáveis mensuradas foram comprimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e matéria seca de raízes (MSR) e parte aérea (MSPA). Foram procedidas análise de variância num esquema fatorial, desempenho relativo e ajuste de regressões. Apenas o efeito de interação entre doses x genótipos para as variáveis CPA, NR e MSPA nos três experimentos não revelaram significância. O desempenho relativo da variável CR foi o mais afetado pelos ácidos e as regressões estabelecidas para essa variável revelaram genótipos tolerantes e sensíveis para tolerância aos ácidos orgânicos, com 6; 6 e 9 genótipos tolerantes para os ácidos acético, propiônico e butírico respectivamente. Foi constatado ainda maior número de tolerantes no grupo japonica do que no indica.

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

### Introdução

O incremento na produtividade tem sido o objetivo final da maioria dos programas de melhoramento genético. Algumas vezes este incremento tem sido obtido pelo desenvolvimento de constituições genéticas mais produtivas, não devido a melhoramento

específico, como resistência a moléstias, por exemplo, mas como resultado de uma maior eficiência fisiológica geral (Allard, 1999). Contudo, outros caracteres são de interesse como a qualidade industrial do produto, resistência a pragas e moléstias (estresses bióticos), tolerância a frio, estiagens, encharcamento, toxidez por ferro ou ácidos orgânicos (estresses abióticos).

A cultura do arroz irrigado tem como característica principal a manutenção de uma lâmina de água sobre o solo durante a maior parte do seu desenvolvimento, estabelecendo um ambiente anaeróbio. Esta condição favorece a atividade de microrganismos anaeróbios que em presença de matéria orgânica promovem sua fermentação (Ponnamperuma, 1965). Durante a fermentação anaeróbia, formam-se produtos intermediários, entre os quais destacam-se os ácidos orgânicos alifáticos de cadeia curta e baixo peso molecular, como o acético, o propiônico e o butírico, que ocorrem usualmente na faixa de concentração de 0,1 a 14 mM (Camargo et al., 1993) e relação de 6:3:1 respectivamente (Bohnen et al., 2002).

Com a introdução dos sistemas de semeadura direta e cultivo mínimo de arroz irrigado, que prevêm a manutenção de resíduos vegetais sob a superfície do solo, ocorre maior produção de ácidos orgânicos de cadeia curta, que podem estar limitando o crescimento e a produtividade do arroz cultivado nesses sistemas (Sousa, 2001). A toxidez por ácidos orgânicos manifesta-se, nas fases iniciais de desenvolvimento do arroz, por uma menor germinação, um menor crescimento radicular, menor peso e estatura de plântulas (Sousa e Bortolon, 2002). Em casos de toxidez mais severa, os prejuízos ao crescimento das plantas podem se refletir em outras fases, ocorrendo menor afilhamento, menor absorção de nutrientes e menor rendimento de grãos (Camargo et al., 2001).

A identificação e caracterização da variabilidade genética para o caráter tornam-se uma excelente alternativa para o melhoramento genético deste cereal. Técnicas de avaliação de genótipos em ambientes controlados com o uso de soluções nutritivas têm sido amplamente empregadas para caracterização de genótipos a diversos estresses (Duncan e

Baligar, 1990). Enquanto a avaliação de genótipos em ambientes artificiais não leva em consideração as reais pressões do meio (Duncan e Baligar, 1990), a seleção em ensaios de campo reúne grande número de variáveis não controladas, tais como tolerâncias diferenciais a estresses climáticos, bióticos ou nutricionais (Wright, 1989). Correlações significativas entre parâmetros obtidos em testes de campo e em ambientes artificiais, com solo ou solução nutritiva são relatados por Bilinski e Foy, (1987) em diferentes espécies de gramíneas. Assim, uma maneira eficiente de avaliação de genótipos para tolerância a presença de ácidos orgânicos em meio de cultivo pode ser realizada em sistemas de hidroponia sob condições controladas.

A identificação de genótipos tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos tornará possível a realização de estudos genéticos através da aplicação de técnicas de marcadores moleculares e incorporação de genes em constituições genéticas superiores. A identificação de marcadores associados a caracteres agrônômicos tem sido utilizada para aumentar a eficiência dos programas de melhoramento na incorporação dos genes responsáveis pela tolerância em cultivares de alta produtividade, podendo, neste caso, contribuir para o incremento da área cultivada no sistema de semeadura direta de arroz irrigado, e conseqüentemente aumentar a produtividade, reduzindo os impactos de ambiente do cultivo convencional e os custos de produção do cereal.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o desenvolvimento inicial de plântulas de arroz submetidas à ação fitotóxica dos ácidos acético, propiônico e butírico, comparar o efeito fitotóxico destes ácidos, determinar a variável mais responsiva a fitotoxidez nas plântulas e avaliar a variabilidade genética para o caráter tolerância a ácidos orgânicos em arroz.

## Material e Métodos

Foram realizados três experimentos para verificar a responsividade de 25 genótipos de arroz frente aos ácidos acético, propiônico e butírico, os quais, segundo Camargo et al. (1993) são os principais ácidos orgânicos formados pela decomposição anaeróbia da matéria orgânica durante a fermentação. Os genótipos utilizados pertencem a coleção de trabalho do Banco de Germoplasma de Arroz do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF) da Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizadas cultivares do grupo indica e japonica, e dos sistemas de cultivo irrigado e sequeiro (Tabela 1).

Os experimentos foram conduzidos em sistema hidropônico onde foram utilizados potes com capacidade de 5,5 L nos quais foi adaptada uma tela de náilon a tampa de cada pote permitindo a sustentação das plântulas e o crescimento do sistema radicular para o meio de cultivo. Os potes permaneceram em tanque tipo “banho maria” com temperatura de  $25 \pm 1$  °C, aeração da solução nutritiva para suprimento de oxigênio, permitindo o desenvolvimento do sistema radicular e iluminação artificial controlada.

A concentração da solução nutritiva utilizada foi: Nitrato de cálcio -  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  4 mM, Sulfato de magnésio -  $\text{MgSO}_4$  2 mM, Nitrato de potássio -  $\text{KNO}_3$  4 mM, Sulfato de amônio -  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,435 mM, Fosfato de potássio -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5 mM, Acido bórico -  $\text{H}_3\text{BO}_3$  10  $\mu\text{M}$ , Molibdato de sódio -  $\text{NaMoO}_4$  0,10  $\mu\text{M}$ , Cloreto de sódio -  $\text{NaCl}$  30  $\mu\text{M}$ , Sulfato de zinco -  $\text{ZnSO}_4$  0,8  $\mu\text{M}$ , Sulfato de cobre -  $\text{CuSO}_4$  0,3  $\mu\text{M}$ , Sulfato de manganês -  $\text{MnSO}_4$  2 mM, Ferro EDTA -  $\text{Fe SO}_4 + \text{Na}$  10  $\mu\text{M}$  (Camargo e Oliveira, 1981).

Para cada experimento 120 sementes de cada cultivar foram postas para germinação a  $25 \pm 1$  °C por 72 horas em papel filtro embebido em água, das quais foram selecionadas 60 com comprimento de raiz de 5 mm e uniformes para constituir o experimento.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com três repetições, sendo que a unidade experimental consistiu de cinco sementes para cada repetição.

Após realização do sorteio, as unidades experimentais foram alocadas nas telas de náilon adaptadas às tampas dos recipientes de solução hidropônica contendo os tratamentos. Os tratamentos foram constituídos por quatro concentrações para cada um dos ácidos orgânicos testados (acético, propiônico e butírico). As concentrações utilizadas foram 0 (testemunha); 4; 8 e 12 mM para ácido acético; 0; 3; 6 e 9 mM para ácido propiônico e 0; 2; 4 e 6 mM para ácido butírico. O pH foi ajustado para 4,7 com HCl 1N ou NaOH 1N, e monitorado diariamente, pois o pH da solução nutritiva em experimentos com ácidos orgânicos é variável e interfere na toxicidade dos ácidos (Rao e Mikkelsen 1977a; Kopp et al 2006).

As plântulas permaneceram em solução nutritiva adicionada dos tratamentos por 14 dias. Após esse período estas plântulas foram retiradas da tela plástica e avaliadas quanto as seguintes variáveis: comprimento de raiz (CR) e parte aérea (CPA) em cm; número de raízes (NR); matéria seca de raízes (MSR) e de parte aérea (MSPA) em mg pesadas após secagem até peso constante em estufa.

Os dados de cada experimento foram submetidos à análise de variância em um esquema fatorial, cálculo do desempenho relativo de cada variável avaliada e análise de regressão linear simples da variável mais responsiva segundo técnica proposta por Camargo e Ferreira (1992) para avaliação da toxicidade por manganês em trigo.

## **Resultados e Discussão**

Os resultados da análise de variância (Tabela 2) revelou, pelo teste F, efeitos significativos, a 5 % de probabilidade, para doses, genótipos e interações (doses x genótipos), com exceção do efeito de interação para comprimento de parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e matéria seca de parte aérea (MSPA) nos três experimentos. Estes resultados demonstram que as cultivares respondem de forma diferencial frente a variação das doses principalmente para caracteres relacionados ao sistema de raízes.

Na Tabela 3 são apresentadas as reduções relativas médias das variáveis CR, CPA, NR, MSR e MSPA, para cada dose em cada experimento. A maior redução relativa foi observada para a variável CR, demonstrando ser a mais suscetível à toxicidade para os ácidos orgânicos testados. Estes resultados concordam com os obtidos por Rao e Mikkelsen (1977b) em arroz, que constataram que o comprimento de raiz é a variável mais afetada pelos tratamentos com ácidos orgânicos. A matéria seca de raiz (MSR) também apresentou elevada redução nos valores com aumento das concentrações utilizadas nos tratamentos. Armstrong e Armstrong (2001), estudaram os sintomas fisiológicos relacionados à toxidez destes ácidos em arroz e relataram que estes ácidos causam degradação da parede celular, inibição das funções respiratórias e conseqüente diminuição da divisão celular do sistema radicular que está em contato direto com o elemento tóxico, indicando assim, a razão principal para o menor crescimento radicular e acúmulo de matéria seca.

Os resultados da avaliação do desempenho relativo, associados aos resultados da análise de variância permitem concluir que os genótipos apresentam respostas diferenciais em relação ao efeito dos tratamentos, devido a suas interações significativas para as variáveis comprimento de raiz (CR) e matéria seca de raiz (MSR). Desta forma, devem ser ajustadas equações de regressão linear simples para cada genótipo individualmente, tomando como variável dependente (y) comprimento de raiz (CR) que foi o que se demonstrou mais responsivo a ação fitotóxica dos ácidos orgânicos, apresentando maiores índices de redução (Tabela 3).

As regressões estabelecidas para os três ácidos orgânicos utilizados podem ser visualizadas na Tabela 4. Os valores relativamente elevados obtidos para os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) permitem concluir que o modelo linear simples apresentou um bom ajuste em relação aos dados observados. No experimento realizado com ácido propiônico, os valores de ( $R^2$ ) expressaram valores abaixo dos obtidos nos outros experimentos, isto pode ser

devido, principalmente a três motivos: i) maior erro experimental, ii) escolha inadequada dos tratamentos, o que causaria um melhor ajuste de regressões de maior grau ou iii) efeito diferencial do ácido, que causaria reduções diferenciais em determinada faixa de concentração dentro da faixa escolhida de 0 a 9 mM para ácido propiônico.

Os coeficientes de regressão (b) estimados nos experimentos apresentam valores médios em ordem crescente para os ácidos acético, propiônico e butírico, respectivamente. Assim, pode se constatado que os ácidos acético, propiônico e butírico apresentam diferentes índices de fitotoxidez em plântulas de arroz. As doses utilizadas para constituir os experimentos foram previamente selecionadas de modo que as reduções relativas da variável comprimento de raiz (CR) utilizado para ajuste das equações fossem relativamente similares (Tabela 3). Assim, ácidos com menores doses e que causaram uma mesma redução relativa, apresentaram maiores coeficientes de regressão, demonstrando serem mais fitotóxicos como o caso do ácido butírico que na concentração de 6 mM causou redução relativa similar aos demais ácidos em concentrações superiores. Estes resultados concordam com os obtidos por Rao e Mikkelsen (1977a) que constataram toxicidade crescente para os ácidos acético, propiônico e butírico, respectivamente.

Para avaliação da tolerância de cada genótipo foi efetuado um teste t do valor do coeficiente de regressão (b) de cada genótipo em cada experimento, onde, valores de coeficientes não significativos determinam genótipos tolerantes, ou seja, coeficientes significativamente iguais a zero. Segundo os resultados apresentados na Tabela 4, pode-se constatar que os genótipos 6; 10; 11; 13; 16 e 20 foram os que apresentaram coeficientes de regressão não significativos para a variável comprimento de raiz quando submetidos a quatro níveis de ácido acético, totalizando 24% de genótipos tolerantes ao ácido dentro do conjunto de genótipos utilizados neste estudo. No experimento relativo ao ácido propiônico os genótipos 4; 6; 16; 18; 20 e 24 se mostraram mais tolerantes. Assim como no experimento

relativo ao ácido acético, 24% dos genótipos estudados apresentaram bons índices de crescimento quando submetidos a tratamentos com ácido propiônico. Os genótipos 4; 6; 10; 11; 13; 16; 18; 20 e 23 se mostraram tolerantes ao ácido butírico, representando 36% dos genótipos estudados com resposta positiva para o caráter tolerância ao ácido butírico.

A maior quantidade de genótipos tolerantes ao ácido butírico pode ter como base diversos fatores. A maior pressão exercida pelo maior efeito fitotóxico do ácido butírico pode ter sido uma das causas que determinaram uma seleção indireta mais eficiente para este ácido. Outro fator determinante na classificação de genótipos quanto a sua resposta a determinados estresses é a escolha dos níveis dos tratamentos, ou seja, os tratamentos escolhidos podem não ter sido de mesma magnitude em dano para as variáveis analisadas que os utilizados para os outros ácidos. Armstrong e Armstrong (2001) estudando o efeito dos ácidos orgânicos em arroz relataram que os ácidos causam principalmente degradação das membranas celulares e perda do conteúdo celular para o meio, além de inibição das funções de translocação de nutrientes, inibição da fotossíntese, entre outros. Assim, plantas tolerantes devem possuir genes que confirmam maior capacidade de formação de membranas celulares que tolerem estes ácidos. Entretanto, diferentes efeitos podem ser atribuídos a cada ácido testado, implicando em danos diferenciais ao sistema de raízes dos genótipos.

Comparando as respostas ao efeito fitotóxico apresentadas na Figura 1 com os parâmetros obtidos nas equações de regressão (Tabela 4), pode se concluir que os genótipos que apresentaram coeficientes de regressão (b) com valores significativamente diferentes de zero foram os genótipos que apresentaram maior inclinação da reta representativa da regressão linear simples ajustada para cada genótipo em função do aumento da dose de cada ácido orgânico testado, ou seja, tiveram o comprimento de raiz significativamente reduzido em relação ao tratamento controle (dose 0 mM).

Três genótipos (6; 16 e 20) apresentaram tolerância para os três ácidos testados. Dois genótipos (4 e 18) apresentaram tolerância aos ácidos propiônico e butírico, enquanto três genótipos (10; 11 e 13) foram tolerantes aos ácidos acético e butírico. Os demais genótipos tolerantes responderam positivamente apenas a ação fitotóxica de um ácido. Baseado nestas observações pode ser possível inferir que os genótipos possivelmente apresentam mecanismos diferenciais de tolerância para cada um dos ácidos, ou seja, cada ácido pode agir de maneira diferente em relação ao estresse na planta, o que deve ser comprovado em estudos futuros.

Associando os resultados dos genótipos tolerantes e sensíveis (Tabela 4) com as descrições dos genótipos utilizados no estudo (Tabela 1) pode ser constatado que seis dos dez genótipos que apresentaram tolerância a pelo menos um ácido pertence ao grupo Japonica, este fato pode ser explicado devido aos genótipos do grupo Japonica utilizados neste trabalho apresentarem uma maior rusticidade em relação aos genótipos Indica. Em geral, os genótipos tolerantes a muitos tipos de estresse abiótico são do grupo Japonica, que podem ser utilizados pelos programas de melhoramento na forma de cruzamentos com cultivares de elevada produtividade e valor comercial. O cruzamento entre estes dois grupos geralmente acarreta em recombinações insatisfatórias ao ideotipo focado nos programas de melhoramento de arroz no Brasil, principalmente no que diz respeito à qualidade de grãos. De forma mais clara, plantas do grupo Japonica apresentam grãos curtos com baixos teores de amilose, tornando-os glutinosos durante o processo de cocção. Outro fato que pode ser comprovado, é que todos os genótipos tolerantes com exceção do BRS-Bonança, pertencem ao sistema de cultivo de irrigação por inundação. Provavelmente o processo de melhoramento de genótipos sob sistema de inundação propiciou um ambiente com maiores concentrações de ácidos orgânicos, e desta maneira, uma seleção indireta para o caráter pode ter sido decisiva para que um maior número de genótipos tolerantes fosse evidenciado dentro deste grupo de cultivares.

A utilização dos genótipos tolerantes ao efeito fitotóxico dos ácidos orgânicos em programas de melhoramento poderá contribuir de maneira substancial no desenvolvimento de cultivares com maior germinação e estabelecimento inicial de plântulas na lavoura de arroz irrigado sob semeadura direta ou cultivo mínimo. Isto reduziria significativamente os custos de produção e danos ambientais advindos do sistema de semeadura convencional de arroz, bem como aumentaria a produtividade final do cereal consideravelmente.

### **Conclusões**

As variáveis comprimento de raiz e matéria seca de raiz em genótipos de arroz, são as mais afetadas pelo efeito fitotóxico dos ácidos orgânicos. Os ácidos acético, propiônico e butírico apresentam índices de fitotoxidez em ordem crescente, respectivamente.

Há variabilidade genética para o caráter tolerância a ácidos orgânicos nos genótipos de arroz utilizados. As cultivares Toride 1, CICA 8, Daw Dam, Rusip, Delmont e Taipei apresentam bom desempenho quando submetidas a estresse por ácido acético. As cultivares Nippombare, Toride 1, Delmont, Oryzica, Taipei e Awini são as que revelam melhor desempenho quando submetidas a estresse por ácido propiônico. E para ácido butírico, as cultivares Nippombare, Toride 1, CICA 8, Daw Dam, Rusip, Delmont, Oryzica, Taipei e BRS-Bonança apresentam melhores resultados.

Todos os genótipos classificados em pelo menos um dos ácidos testados pertencem ao grupo de genótipos desenvolvidos em sistema de irrigação por inundação, com exceção do genótipo BRS-Bonança que tem seu sistema de cultivo tradicionalmente de sequeiro. Grande parte dos genótipos tolerantes pertencem ao grupo Japonica.

## Organic Acids Tolerance in Rice Genotypes

**Abstract** – Hydromorphic soils present as main feature a reduced natural drainage ability, being mostly used for growing irrigated rice. Thus, the occurrence of anaerobic conditions associated to the presence of organic matter enables the development of anaerobic microorganisms that produce phytotoxic substances. Three experiments were performed aiming to evaluate the response of 25 rice genotypes to the phytotoxic action of acetic, propionic and butyric produced under these conditions. The experiments were carried out in hydroponic system with four treatments for each acid and the experimental design used was randomized blocks with three replications. The measured variables were root (CR) and shoot (CPA) length, number of roots (NR) and root (MSR) and shoot (MSPA) dry matter. An analysis of variance was performed as factorial scheme, relative performance and regression adjustments. The effect of treatments for the variable NR in the experiment with acetic acid and the interaction effect between treatment vs. families for the variables CPA, NR and MSPA in the three experiments did not reveal significance. The relative performance of the variable CR was the most affected by the acids and the regressions established for this variable showed tolerant and sensitive genotypes for organic acid tolerance, with 6; 6 and 9 tolerant genotypes for acetic, propionic and butyric acid, respectively. It was observed a higher number of tolerant genotypes in the japonica than in the indica group.

**Key words:** *Oryza sativa*; abiotic stress; phytotoxicity.

## Referências Bibliográficas

- Allard RW (1999) **Principles of plant breeding**. New York: J. Wiley, 485 p.
- Armstrong J e Armstrong W (2001) Rice and *Phragmites*: effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere. **American Journal of Botany** 88: 1359-1370.
- Bilinski JJ e Foy CD (1987) Differential tolerances of oat cultivars to aluminum in nutrient solutions and in acid soils of plant. **Journal of Plant Nutrition**, 10: 129-141.
- Bohnen H, Silva LS, Macedo VRM e Marcolin E (2002) Ácidos orgânicos em sistemas de cultivo com arroz irrigado. In: **IV Reunião Sul Brasileira de Ciências do Solo**. Porto Alegre – RS, p.14-16.
- Camargo de OCE e Ferreira AWP (1992) Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de manganês em solução nutritiva. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 27: 417-422.
- Camargo de OCE e Oliveira OF (1981) Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia**, 49: 21-23.
- Camargo FA, Santos GA e Rossiello ROP (1993) Efeito dos ácidos acético e butírico sobre o crescimento de plântulas de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 28: 1011-1018.
- Camargo FA, Zonta E, Santos GA e Rossiello ROP (2001) Aspectos fisiológicos e caracterização de toxidez a ácidos orgânicos voláteis em plantas. **Ciência Rural**, 31: 523-529.
- Duncan RR e Baligar VC (1990) Genetics, breeding, and physiological mechanisms of nutrient uptake and use efficiency: an overview. In: Baligar VC, Duncan RR (eds.) **Crops as Enhancers of Nutrient Use**. San Diego: Academic Press, p.3-35.
- Kopp MM, Luz VK, Silva VN, Carvalho FIF e Oliveira AC (2007) Influência do pH da solução nutritiva na fitotoxidez causada por ácidos orgânicos em arroz sob cultivo hidropônico. **Magistra**, 19(1): 40-46.

Maluszynski M (1998a) Crop germoplasm enhancement through mutation techniques. In: Rutger JN, Robinson JF, Dilday RH (eds.) **Proceedings of the International Symposium on Rice Germplasm Evaluation and Enhancement**. Arkansas, USA.

Maluszynski M, Ahloowalia A, Ashri A, Nichteriein K e Van Zanten L (1998b) Induced mutations in rice breeding and germplasm enhancement. In: **Proceedings of the 19<sup>th</sup> Session of the International Rice Commission**. Cairo, Egypt, p.7-9.

Pandini F, Carvalho FIF e Barbosa Neto JF (1997) Plant height reduction in populations of triticale (*X triticosecale* Wittmack) by induced mutations and artificial crosses. **Brazilian Journal of Genetics**, 20: 483-488.

Ponnamperuma FN (1965) Dynamic aspects of flooded soils and the nutrition of the rice plant. In: **Symposium on the mineral nutrition of the rice plant**. Los Baños. Baltimore: IRRI, p.295-328.

Rao DN e Mikkelsen DS (1977a) Effect of acetic, propionic, and butyric acids on young rice seedlings growth. **Agronomy Journal**, 69: 923-928.

Rao DN e Mikkelsen DS (1977b) Effects of acetic, propionic, and butyric acids on rice seedlings growth and nutrition. **Plant and Soil**, 47: 323-334.

Sousa RO (2001) **Oxirredução em solos alagados afetada por resíduos vegetais**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 164 p.

Sousa RO e Bortolon L (2002) Crescimento radicular e da parte aérea do arroz (*Oryza sativa* L.) e absorção de nutrientes em solução nutritiva com diferentes concentrações de ácido acético. **Revista Brasileira de Agrociência**, 8: 231-235.

Tulmann Neto A, Camargo CE de O, Alves MC, Santos RR e Freitas JG (1995a) Indução de mutação visando obtenção de resistência a doenças na cultivar de trigo IAC-24. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 30: 497-504.

Tulmann Neto A, Peixoto T, Alves MC, Oliveira JCV, Menten JOM e Athayde M (1995b) Indução de mutação na cultivar de soja IAC-8 visando à obtenção de precocidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 30: 237-244.

Wright RJ (1989) Soil aluminum toxicity and plant growth. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, 20: 1479-1497.

Zimmer PD, Mattos LAT, Oliveira AC, Carvalho FIF, Magalhães Júnior A, Kopp MM e Freitas FA (2003) Identification of rice mutants (*Oryza sativa* L.) for agronomical and root system traits. **Revista Brasileira de Agrociência**, 9: 195-199.

**Tabela 1.** Descrição dos 25 genótipos de arroz estudados em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006.

<b>N°</b>	<b>Genótipo</b>	<b>Grupo</b>	<b>Sistema de Cultivo</b>
1	Tokiwa Nishiki	Japonica	Sequeiro
2	Supremo - 1	Indica	Irrigado
3	Gohykuman Goku	Japonica	Sequeiro
4	Nippombari	Japonica	Irrigado
5	Texmont	Indica	Irrigado
6	Toride 1	Japonica	Irrigado
7	BRS-Firmeza	Japonica	Irrigado
8	BRS-Pelota	Indica	Irrigado
9	Caloro	Indica	Sequeiro
10	CICA 8	Indica	Irrigado
11	Daw Dam	Japonica	Irrigado
12	Taquari	Japonica	Irrigado
13	Rusip	Japonica	Irrigado
14	IAS 12-9 Formoza	Japonica	Irrigado
15	Yamada Nishiki	Japonica	Sequeiro
16	Delmont	Japonica	Irrigado
17	IAC – 47	Indica	Sequeiro
18	Oryzica	Indica	Sequeiro
19	Diamante	Japonica	Sequeiro
20	Taipei	Japonica	Irrigado
21	IPSL – 462	Indica	Sequeiro
22	Jaguarí – ESAV/IAMG – 19	Indica	Sequeiro
23	BRS-Bonança	Japonica	Sequeiro
24	Awini	Japonica	Irrigado
25	BRS 7-Taim	Indica	Irrigado

**Tabela 2.** Análise de variância, médias e coeficiente de variação (C.V.) para as variáveis crescimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raiz (MSR) e de parte aérea (CPA) de 25 genótipos de arroz, estudados em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006.

Ácido	F.V	G.L.	Quadrados Médios				
			CR	CPA	NR	MSR	MSPA
Acético	Genótipos	24	3,21 *	3,77 *	11,97 *	0,39 *	4,19 *
	Doses	3	867,84 *	838,88 *	2,50 *	117,82 *	401,92 *
	Interação	72	1,29 *	0,47	0,060	0,36 *	0,21
	Resíduo	198	0,090	0,66	0,31	0,032	0,24
	Média		7,79	13,86	3,60	3,74	9,50
	C.V.		3,84	5,88	15,45	4,79	5,14
Propiônico	Genótipos	24	0,84 *	3,43 *	12,97 *	0,82 *	2,66 *
	Doses	3	832,18 *	750,89 *	19,08 *	82,60 *	573,86 *
	Interação	72	0,85 *	0,45	0,075	0,38 *	0,26
	Resíduo	198	0,34	0,74	0,34	0,035	0,29
	Média		7,79	13,91	3,76	3,49	8,99
	C.V.		7,45	6,17	15,59	5,43	5,98
Butírico	Genótipos	24	2,97 *	2,94 *	12,02 *	0,26 *	4,05 *
	Doses	3	884,17 *	805,14 *	7,79 *	86,29 *	402,91 *
	Interação	72	1,37 *	0,53	0,059	0,18 *	0,30
	Resíduo	198	0,23	0,75	0,32	0,045	0,35
	Média		7,86	13,83	3,64	3,59	9,65
	C.V.		6,08	6,28	15,43	5,92	6,12

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

**Tabela 3.** Desempenho relativo (%) das variáveis comprimento de raiz (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR) e matéria seca de raiz (MSR) e parte aérea (MSPA), para os níveis dos tratamentos utilizados nos experimentos com ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2006.

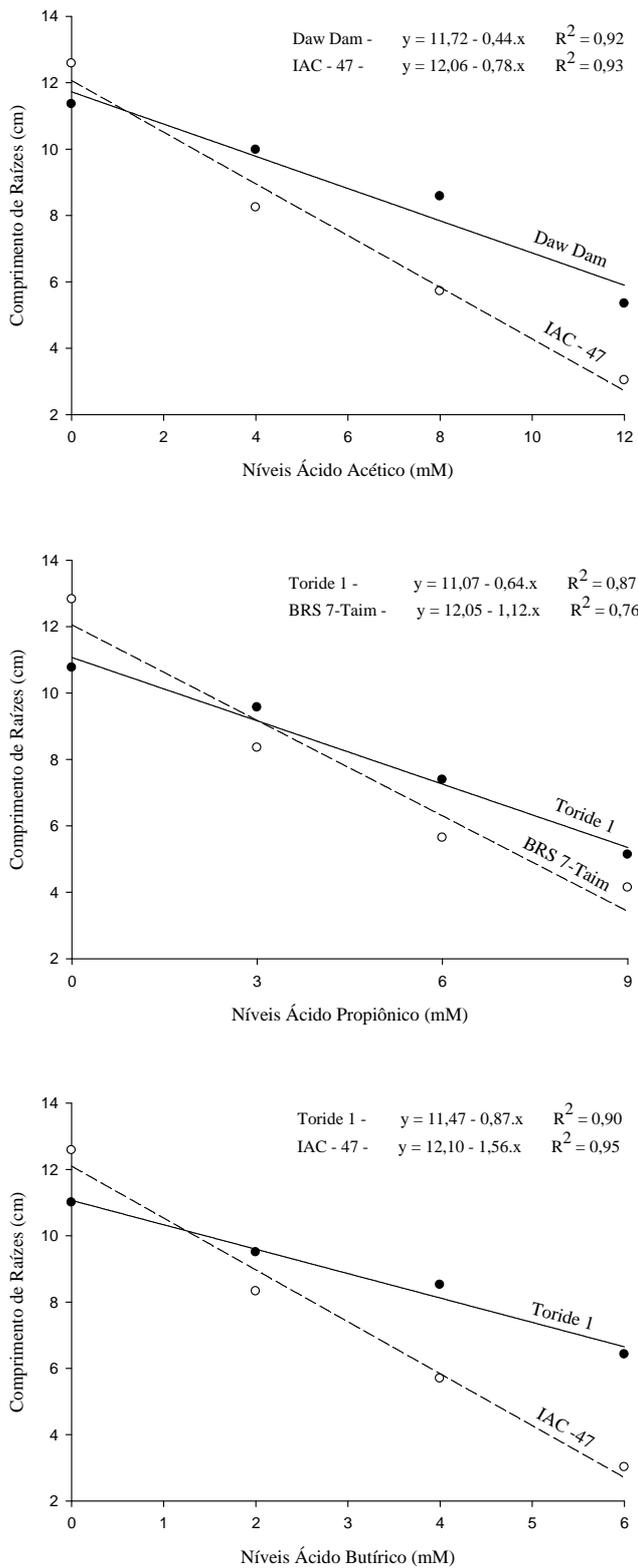
Tratamento	Variáveis	Desempenho relativo (%)		
		Ácido Acético	Ácido Propiônico	Ácido Butírico
Dose 1	CR	76,7	76,0	78,9
	CPA	87,1	84,3	84,6
	NR	98,9	98,9	99,1
	MSR	83,9	82,5	90,2
	MSPA	86,7	85,2	89,0
Dose 2	CR	55,8	54,6	55,9
	CPA	70,7	74,0	73,0
	NR	108,4	106,0	103,1
	MSR	65,2	71,5	70,4
	MSPA	70,6	62,5	74,0
Dose 3	CR	32,4	34,1	32,4
	CPA	56,6	57,3	56,0
	NR	108,8	130,2	119,0
	MSR	43,2	46,1	47,9
	MSPA	56,1	48,9	56,2

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

**Tabela 4.** Parâmetros das equações de regressão linear: interceptação no eixo y (a), coeficiente de regressão (b) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) dos 25 genótipos de arroz estudados em solução nutritiva com 4 concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico para a variável comprimento de raiz (CR). Pelotas-RS, 2006.

Genótipo	Ácido acético			Ácido propiônico			Ácido butírico		
	a	b	$R^2$	a	b	$R^2$	a	b	$R^2$
1	12,18	-0,70	0,94	12,18	-0,92	0,92	12,22	-1,41	0,98
2	11,78	-0,68	0,93	12,14	-0,96	0,98	11,97	-1,40	0,87
3	11,97	-0,69	0,90	12,05	-0,91	0,88	12,01	-1,38	0,88
4	11,42	-0,66	0,88	11,65	-0,85*	0,92	11,63	-1,24*	0,91
5	12,30	-0,77	0,82	12,10	-0,93	0,77	12,34	-1,54	0,85
6	11,41	-0,49*	0,98	11,07	-0,64*	0,87	11,47	-0,87*	0,90
7	11,92	-0,74	0,94	11,88	-0,92	0,83	11,96	-1,49	0,83
8	12,28	-0,71	0,96	12,44	-0,96	0,78	12,48	-1,43	0,91
9	12,28	-0,75	0,86	12,02	-0,92	0,93	12,32	-1,52	0,83
10	11,35	-0,62*	0,86	11,21	-0,88	0,85	11,56	-1,31*	0,84
11	11,72	-0,44*	0,92	11,12	-0,86	0,82	11,77	-0,98*	0,90
12	11,73	-0,69	0,91	11,72	-0,88	0,94	11,94	-1,41	0,89
13	11,97	-0,53*	0,92	11,27	-0,71	0,90	12,04	-1,07*	0,92
14	11,99	-0,73	0,96	12,16	-0,94	0,82	12,20	-1,49	0,98
15	11,72	-0,62	0,79	11,94	-0,92	0,85	11,76	-1,45	0,87
16	11,38	-0,61*	0,82	10,97	-0,81*	0,80	11,59	-1,40*	0,84
17	12,06	-0,78	0,93	12,19	-1,00	0,79	12,10	-1,56	0,95
18	11,16	-0,67	0,98	11,07	-0,83*	0,86	11,36	-1,36*	0,88
19	11,76	-0,68	0,91	11,47	-0,85	0,84	11,81	-1,36	0,91
20	11,65	-0,46*	0,98	11,07	-0,64*	0,81	11,65	-0,91*	0,96
21	11,49	-0,65	0,84	11,46	-0,85	0,77	11,53	-1,42	0,82
22	11,45	-0,70	0,92	11,24	-0,90	0,94	11,63	-1,42	0,88
23	11,52	-0,67	0,90	11,42	-0,93	0,97	11,56	-1,35*	0,91
24	10,98	-0,63	0,87	11,56	-0,86*	0,92	11,18	-1,39	0,87
25	12,17	-0,75	0,90	12,05	-1,12	0,76	12,21	-1,51	0,98

\* Não significativo pelo teste t ao nível de 5 % de probabilidade de erro para o modelo de regressão em 4 níveis de tratamento.



**Figura 1.** Efeito das concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico sobre o crescimento de raízes dos genótipos mais contrastantes em cada ácido testado. Pelotas-RS, 2006.

**5. RESPOSTA DE CULTIVARES DE ARROZ AO EFEITO  
FITOTÓXICO INTERATIVO DOS ÁCIDOS ACÉTICO, PROPÔNICO E  
BUTÍRICO**

**(Bragantia – ISSN: 0006-8705)**

## RESPOSTA DE CULTIVARES DE ARROZ AO EFEITO FITOTÓXICO INTERATIVO DOS ÁCIDOS ACÉTICO, PROPÔNICO E BUTÍRICO

**RESUMO:** O objetivo do trabalho foi avaliar a resposta de 20 genótipos de arroz aos ácidos acético, propiônico e butírico, compostos fitotóxicos produzidos em solos de deficiente drenagem e alto teor de matéria orgânica. O trabalho foi executado em sistema de hidroponia com quatro doses (0; 3; 6 e 9 mM) dos ácidos na relação 6:3:1 acético, propiônico e butírico, respectivamente. O delineamento utilizado foi blocos casualizados com 3 repetições num esquema fatorial. As variáveis mensuradas foram comprimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raízes (MSR) e parte aérea (MSPA), teor de fósforo (P) e de potássio (K). Foram procedidas análise de variância, ajuste de regressões e correlação. Os efeitos de interação entre doses x genótipos para as variáveis CR, CPA, P e K revelaram significância. A variável CR foi a mais afetada pelos ácidos e as regressões estabelecidas para as variáveis CR, CPA, P e K revelaram dois genótipos com estabilidade de crescimento radicular três com estabilidade de crescimento de parte aérea, quatro no teor de fósforo e três no teor de potássio frente ao estresse por ácidos orgânicos. Genótipos de maior rusticidade e desenvolvidos para sistema de irrigação por inundação se mostraram mais tolerantes aos ácidos.

**Palavras-chave:** Estresse abiótico, ácidos orgânicos, *Oryza sativa*, fitotoxidez

## RICE CULTIVAR RESPONSE TO THE INTERACTIVE PHYTOTOXIC EFFECT OF ACETIC, PROPIONIC AND BUTYRIC ACIDS

**ABSTRACT:** The objective of this work was to evaluate the response of 20 rice genotypes to acetic, propionic and butyric acid, a phytotoxic compounds produced in low drainage soils

with high organic matter content. This work was performed in hydroponics with four acid doses (0; 3; 6 e 9 mM) and 6:3:1 relationship acetic, propionic and butyric acids respectively. A factorial random block design with three replications was applied. The variables measured were root (CR) and shoot (CPA) length, number of roots (NR), root (MSR) and shoot (MSPA) dry matter, phosphorus (P) and potassium (K) content. Analyses of variance, regression and correlation fitting were performed. Significance for the interaction (genotype vs. dose) was found only for CR, CPA, P and K. The variable CR was the most influenced by the acids and the regression established for the variables CR, CPA, P and K revealed two genotypes with root length stability, tree with shoot length stability, four with phosphorus content and tree with potassium content stability front to organic acid stress. Genotypes with higher rusticity and developed for irrigated systems were more tolerant.

**Key words:** Abiotic stress, organic acids, *Oryza sativa*, phytotoxicity

## INTRODUÇÃO

O arroz é um dos três principais cereais em importância econômica e social em nível mundial. O Brasil é o principal produtor fora do continente asiático com 1,86% da produção mundial, e o Rio Grande do Sul é responsável por aproximadamente 50% desta produção (GOMES e MAGALHÃES JR, 2004). Além destes fatores, o arroz é hoje estudado de maneira mais avançada devido a seu papel como genoma modelo para outras espécies (DEVOS e GALE, 2000; IRGSP, 2005). O melhoramento genético desta espécie permitiu incremento significativo na sua produtividade, no entanto este incremento está apresentando ganhos cada vez mais lentos e dispendiosos. Assim, o estudo de caracteres de interesse como qualidade industrial do produto, resistência a pragas e moléstias (estresses bióticos), tolerância a frio, estiagens, encharcamento, toxidez por alumínio ou ácidos orgânicos (estresses abióticos), se torna fundamental para melhoria da eficiência de ganho genético da espécie.

A Região Sul do Brasil apresenta uma área de 6,8 milhões de hectares constituída por solos hidromórficos, representando 20% da área total do estado do Rio Grande do Sul (PINTO et al., 2004). Nestes solos, a maioria das espécies cultivadas tem seu desenvolvimento e produção prejudicados devido à má drenagem natural que provoca um ambiente anaeróbico (PONNAMPERUMA, 1972). Como a cultura do arroz irrigado tem como característica principal a manutenção de uma lâmina de água sobre o solo durante a maior parte do seu desenvolvimento, o O<sub>2</sub> presente é consumido e os microorganismos anaeróbios passam a atuar produzindo elevada quantidade de produtos intermediários fitotóxicos, dentre os quais destacam-se os ácidos orgânicos alifáticos de baixo peso molecular (acético, propiônico e butírico), que ocorrem na faixa de concentração de 0,1 a 14 mM (GOTOH e ONIKURA, 1971; CAMARGO et al., 1993; ANGELES et al., 2005) e relação de 6:3:1, respectivamente (BOHNEN et al., 2005).

Quanto maior o tamanho da cadeia de carbonos maior é sua fitotoxidez (RAO e MIKKELSEN, 1977a; ANGELES et al., 2005). KOPP et al. (2007a) demonstraram que uma concentração de 10 mM de cada ácido reduziu o crescimento radicular de arroz em torno de 44 % com ácido acético, 70 % propiônico e 77 % para o butírico, demonstrando a maior fitotoxicidade do ácido butírico.

Com a introdução dos sistemas de semeadura direta e cultivo mínimo de arroz irrigado, que prevêm a manutenção de resíduos vegetais sob a superfície do solo, ocorre maior produção de ácidos orgânicos de cadeia curta, que podem estar limitando o crescimento e a produtividade do arroz cultivado nesses sistemas (JOHNSON et al., 2006). A toxidez por ácidos orgânicos manifesta-se, nas fases iniciais de desenvolvimento do arroz, por uma menor germinação, um menor crescimento radicular, menor peso e altura de plântulas (SOUSA e BORTOLON, 2002). Em casos de toxidez mais severa, os danos podem se refletir em outras

fases, ocorrendo menor afillamento, menor absorção de nutrientes e menor rendimento de grãos (CAMARGO et al., 2001).

A identificação e caracterização da variabilidade genética para tolerância a ácidos orgânicos, são de fundamental importância para obtenção de genótipos de arroz promissores para utilização em programas de melhoramento genético. Técnicas de avaliação de genótipos em ambientes controlados com o uso de soluções nutritivas têm se mostrado eficientes para estudos de variabilidade pois diminuem o número de variáveis não controladas, tais como tolerâncias diferenciais a estresses climáticos, bióticos ou nutricionais (DUNCAN e BALIGAR, 1990). Assim, uma maneira eficiente de avaliação de genótipos para tolerância a presença de ácidos orgânicos em meio de cultivo pode ser realizada em sistemas de hidroponia sob condições controladas.

KOPP et al. (2007b) identificaram variabilidade genética para tolerância a ácidos orgânicos em aveia, no entanto para arroz ainda não existe descrita variabilidade passível de utilização pelos programas de melhoramento. A identificação de genótipos tolerantes a estresse abiótico se torna importante para estudos de variabilidade genética, função, regulação e ação gênica, devido às novas tecnologias (SREENIVASULU et al., 2007), além de serem utilizados na incorporação de genes em cultivares superiores por métodos de recombinação ou transformação (KAHL e LAVI, 2001). A incorporação de genes responsáveis pela tolerância aos ácidos orgânicos em cultivares de alta produtividade, poderá contribuir para o incremento da área cultivada no sistema de semeadura direta de arroz irrigado, e conseqüentemente, aumentar a produtividade, reduzindo os impactos ambientais do cultivo convencional e os custos de produção do cereal.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o desenvolvimento inicial e absorção de fósforo e potássio de genótipos de arroz submetidas à ação fitotóxica dos ácidos acético,

propiónico e butírico, determinar a variável mais responsiva a fitotoxidez nas plântulas e identificar variabilidade genética para o caráter tolerância aos ácidos em arroz.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Di-haplóides e Hidroponia do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), localizado no município de Pelotas - RS. Foram utilizados 20 genótipos de arroz os quais foram submetidos a quatro doses de ácidos orgânicos. Os genótipos utilizados pertencem a coleção de trabalho do Banco de Germoplasma de Arroz do CGF/UFPel. Foram utilizadas cultivares do grupo indica e japônica, e dos sistemas de cultivo irrigado e sequeiro e de diversas origens de lançamento (Tabela 1).

O experimento foi conduzido em sistema hidropônico segundo metodologia descrita por KOPP et al. (2007a) onde foram utilizados potes com capacidade de 5,5 L nos quais foi adaptada uma tela de náilon a tampa de cada pote permitindo a sustentação das plântulas e o crescimento do sistema radicular para o meio de cultivo. Os potes permaneceram em tanque tipo “banho-maria” com temperatura de  $25 \pm 1$  °C, aeração da solução nutritiva para suprimento de oxigênio, permitindo o desenvolvimento do sistema radicular e iluminação artificial controlada.

A concentração da solução nutritiva utilizada foi: Nitrato de cálcio -  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  4 mM, Sulfato de magnésio –  $\text{MgSO}_4$  2 mM, Nitrato de potássio -  $\text{KNO}_3$  4 mM, Sulfato de amônio -  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,435 mM, Fosfato de potássio -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5 mM, Acido bórico -  $\text{H}_3\text{BO}_3$  10  $\mu\text{M}$ , Molibdato de sódio -  $\text{NaMoO}_4$  0,10  $\mu\text{M}$ , Cloreto de sódio –  $\text{NaCl}$  30  $\mu\text{M}$ , Sulfato de zinco -  $\text{ZnSO}_4$  0,8  $\mu\text{M}$ , Sulfato de cobre -  $\text{CuSO}_4$  0,3  $\mu\text{M}$ , Sulfato de manganês -  $\text{MnSO}_4$  2 mM, Ferro EDTA –  $\text{Fe SO}_4 + \text{Na}$  10  $\mu\text{M}$  (CAMARGO e OLIVEIRA, 1981).

Para constituição das parcelas experimentais, 180 sementes de cada cultivar foram desinfetadas com hipoclorito de sódio 10 % e postas para germinação a  $25 \pm 1$  °C por 72 horas em papel filtro embebido em água, das quais foram selecionadas 120 com comprimento de raiz de 5 mm e uniformes para constituir o experimento.

As doses foram constituídas por quatro concentrações da mistura dos ácidos acético, propiônico e butírico na relação de 6:3:1 respectivamente. As concentrações utilizadas foram 0 (testemunha); 3; 6 e 9 mM. O pH foi ajustado para 4,7 com HCl 1N ou NaOH 1N, e monitorado diariamente, pois segundo RAO e MIKKELSEN (1977); KOPP et al. (2007c) o pH da solução nutritiva em experimentos com ácidos orgânicos é variável e interfere na toxicidade dos ácidos.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com três repetições num esquema fatorial, sendo que a unidade experimental consistiu de dez sementes para cada repetição. Após realização do sorteio, as unidades experimentais foram alocadas nas telas de náilon adaptadas às tampas dos recipientes de solução hidropônica contendo os tratamentos.

As plântulas permaneceram em solução nutritiva adicionada aos tratamentos por 14 dias. Após esse período elas foram retiradas da tela de náilon e avaliadas quanto as seguintes caracteres: comprimento de raiz (CR) e parte aérea (CPA) em cm; número de raízes (NR); matéria seca de raízes (MSR) e de parte aérea (MSPA) em mg pesadas após secagem até peso constante em estufa com circulação de ar a 60°C e teor de fósforo (P) e potássio (K) em  $\text{g Kg}^{-1}$  determinados segundo metodologia descrita por TEDESCO et al. (1995).

Os dados relativos às variáveis mensuradas foram submetidos à análise de variância em um modelo fatorial, considerando dose e genótipo como fatores fixos. Os efeitos da interação entre estes fatores foram testados na análise de regressão linear, pela significância dos distintos graus do polinômio em função dos diferentes níveis do fator dose (quantitativo),

sendo apresentados na forma de gráficos individuais para cada genótipo. Também foi executado teste de correlação simples de Pearson entre as variáveis mensuradas. Todas as análises foram realizadas com o *software* estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2002).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados da análise de variância (Tabela 2) mostraram, pelo teste F, efeitos significativos, ao nível de 5 % de significância, para dose, em todas as variáveis mensuradas, efeito de genótipo para as variáveis CR, CPA, NR, P e K e interação (dose x genótipo), para as variáveis CR, CPA, P e K. Estes resultados permitem concluir que os genótipos apresentam respostas diferenciais em relação ao efeito crescente das concentrações de ácidos orgânicos, devido a suas interações significativas para as variáveis CR, CPA, P e K, o que implica na necessidade de decomposição de seus efeitos simples.

Estas respostas diferenciais em relação ao crescimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA) e teores de fósforo (P) e potássio (K) frente as variações crescentes de concentrações de ácidos orgânicos ao qual estão submetidos os genótipos indicam haver variabilidade genética quanto a insensibilidade a estes ácidos. O fato de ter sido constatada também significância para a fonte de variação “genótipo” demonstra que existe também diferenças em relação à magnitude média destas variáveis para cada genótipo independente da sua resposta. Assim, os genótipos descritos como tolerantes neste trabalho foram aqueles que se demonstraram insensíveis a toxicidade por ácidos orgânicos, mesmo que suas médias não tenham sido elevadas. Estes genótipos foram assim escolhidos em virtude da maior possibilidade de possuírem genes responsáveis pela manutenção da capacidade celular em manter o crescimento de raízes (CR) e parte aérea (CPA) e teores de fósforo (P) e potássio (K) mediante a presença do elemento tóxico.

A análise prosseguiu de modo a verificar a variação nas variáveis CR, CPA, P e K dos genótipos nos diferentes níveis de ácidos orgânicos empregados, utilizando análise de regressão, sendo então fixado o fator genótipo. Para estas variáveis, com a aplicação das equações de regressão linear, foram obtidos os parâmetros até o terceiro grau do polinômio, representados pelos valores de quadrado médio e a respectiva significância do polinômio na Tabela 3.

As equações de regressão com o devido ajuste do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) estão apresentadas nas Figuras 1, 2, 3 e 4 para as variáveis comprimento de raízes e parte aérea e teores de fósforo e potássio, respectivamente. As doses utilizadas para constituir o experimento foram previamente selecionadas com base nos estudos de RAO e MIKKELSEN (1977b); SOUSA e BORTOLON (2002) e CAMARGO et al. (1993) de modo que as reduções relativas no desenvolvimento radicular fossem em torno de 50% na dose mais elevada. Pode ser observado que, de maneira geral, os resultados concordam com os trabalhos supra citados, no entanto, existem genótipos com reduções superiores a 50% no crescimento de raízes e genótipos com praticamente nenhuma redução no comprimento radicular. Para a absorção de fósforo e potássio, pode ser observado que, para nenhum genótipo ocorreram reduções em níveis de 50% na dose de 9 mM, assim, reduções no comprimento radicular não implicam em reduções de mesma magnitude nos teores destes nutrientes.

Ao analisar o comportamento dos genótipos frente ao crescimento de raízes (Figura 1), pode ser verificado que para o genótipo Lemont o maior grau de polinômio significativo que explica a variação da variável foi cúbico. Neste caso parece haver uma estabilidade inicial na absorção do nutriente, até a dose de 3 mM, seguida de uma redução significativa entre as doses de 3 e 6 mM, estabilizando novamente sua absorção em valores reduzidos de absorção entre as doses de 6 e 9 mM. Os genótipos Caloro, Yonaochi, Fanny, IAS 12-Formosa, CICA-8, Mazs, Guichow, IR-39379 e BRS 6-Chuí, apresentaram melhor ajuste de regressão

quadrática, e nestes casos observa-se que para doses reduzidas de ácidos orgânicos ocorre menor decréscimo no comprimento de raízes com elevada redução nas doses mais elevadas principalmente a partir de 6 mM dos ácidos. Os genótipos que apresentaram variação significativa com regressão linear foram IAC-47, Oryzica, BRS-Pelota, Supremo 1, Gbegbbete, Gose Yonkoku, IRGA 420 e BRS 7 Taim, com reduções constantes para as faixas de doses utilizadas no trabalho.

Para a variável comprimento de parte aérea (Figura 2), nenhum genótipo apresentou ajuste de regressão cúbica, sendo que os genótipos Guichow e IR-39379 com regressão quadrática, demonstraram que a maior redução no crescimento de parte aérea ocorreu em doses mais elevadas, com praticamente nenhuma redução entre as doses de 0 e 6 mM. Já os genótipos IAC-47, Oryzica, Caloro, BRS-Pelota, Supremo-1, Fanny, IAS 12-Formosa, Lemont, CICA-8, Mazs, Dawn, IRGA-420, BRS 6-Chuí, Toride-1 e BRS 7-Taim apresentaram regressão linear, igualmente com variação significativa, porém nestes casos com variações constantes para as três doses (3; 6 e 9 mM) utilizadas no experimento.

Para a variável teor de fósforo (Figura 3), os genótipos IAC-47, Oryzica, BRS-Pelota, CICA-8 e Gose Yonkoku com regressão quadrática, demonstraram que a maior redução na absorção deste nutriente ocorreu em doses mais reduzidas, praticamente estabilizando a absorção nas dose de 6 e 9 mM. Já os genótipos Caloro, Supremo-1, Fanny, IAS 12-Formosa, Lemont, Mazs, Guichow, IR-39379, IRGA-420, BRS 6-Chuí e Toride-1 apresentaram regressão linear, igualmente com variação significativa, e constantes nas três doses utilizadas no experimento.

Ao analisar o comportamento dos genótipos frente a absorção de potássio (Figura 4), pode ser verificado que neste caso, para os genótipos IAC-47 e Supremo-1 o maior grau de polinômio significativo que explica a variação da variável foi cúbico com estabilidade inicial na absorção do nutriente, até a dose de 3 mM, seguida de uma redução significativa entre as

doses de 3 e 6 mM, estabilizando novamente sua absorção entre valores de 6 e 9 mM. Os genótipos Guichow e BRS 7-Taim, apresentaram melhor ajuste de regressão quadrática, e nestes casos observa-se que para doses reduzidas de ácidos orgânicos ocorre maior decréscimo na absorção do elemento potássio estabilizando a sua absorção em doses mais elevadas. Já o genótipo Gose Yonkoku que também apresentou regressão com grau de polinômio quadrática, nota-se que em doses reduzidas o genótipo se mostra insensível ao efeito fitotóxico dos ácidos orgânicos, reduzindo sua absorção em doses mais elevadas, principalmente entre 6 e 9 mM. Os genótipos que apresentaram variação significativa com regressão linear foram Oryzica, Caloro, BRS-Pelota, Yonaochi, Fanny, IAS 12-Formosa, Lemont, CICA-8, Mazs, Gbegbbete, IR-39379 e BRS 6-Chuí para estes casos, assim como ocorreu na absorção de fósforo, pode ser constatado que as reduções na absorção de potássio foram constante para as faixas de doses utilizadas no trabalho.

Como ainda não existe na literatura a descrição de níveis de redução para considerar um genótipo tolerante, ou mesmo, não existem ainda descritos genótipos já classificados como tolerantes ou sensíveis para serem utilizados como testemunhas, foram considerados tolerantes os genótipos que se demonstraram insensíveis as concentrações utilizadas, ou seja, aqueles cujas médias não alteraram significativamente com a elevação das doses utilizadas.

Os dados apresentados na Figura 1, permitem concluir que para a variável comprimento de raízes, os genótipos Dawn e Toride 1 não apresentaram variação significativa quando submetidos aos níveis de tratamento utilizados. Os dados demonstram que até a concentração de 9 mM da mistura dos ácidos utilizados, estes genótipos mantem seu nível de crescimento radicular constante com médias de 10,31 e 9,09 cm, respectivamente.

Para comprimento de parte aérea, foi determinado outro grupo de genótipos com tolerância as concentrações de ácidos orgânicos. Para esta variável, os genótipos Yonaochi,

Gbegbbete e Gose Yonkoku foram os que apresentaram insensibilidade a toxidez por ácidos orgânicos, com médias de 23,92; 20,21 e 18,83 cm, respectivamente.

Para a variável teor de fósforo (Figura 3), os genótipos Yonaochi, Gbegbbete, Dawn e BRS 7-Taim não apresentaram variação significativa quando submetidos aos níveis de tratamento utilizados. Os dados demonstram que até a concentração de 9 mM da mistura dos ácidos utilizados, estes genótipos mantem seu nível de absorção de fósforo constante com médias de 11,77; 11,58; 11,08 e 11,61 g Kg<sup>-1</sup> respectivamente.

Frente a absorção de potássio (Figura 4), os genótipos com tolerância as concentrações de ácidos orgânicos. Para esta variável, os genótipos Dawn, IRGA-420 e Toride-1 foram os que apresentaram insensibilidade a toxidez por ácidos orgânicos, com médias de 55,08; 54,96 e 56,56 g Kg<sup>-1</sup> respectivamente.

Cabe reiterar que os genótipos citados como tolerâtes, não necessariamente apresentam elevado potencial no desempenho das variáveis analisadas, mas sim, elevada capacidade em manter seu patamar genético de crescimento ou teor de nutrientes. ARMSTRONG e ARMSTRONG (2001) estudando o efeito dos ácidos orgânicos em arroz relataram que os ácidos causam principalmente degradação das membranas celulares e perda do conteúdo celular para o meio. Estes autores relatam ainda que plantas tolerantes devem possuir genes que confirmam maior capacidade de formação de membranas celulares que tolerem estes ácidos. Ao se realizar uma análise nas Figuras 1, 2, 3 e 4 pode ser constatado que os genótipos tolerantes, não necessariamente são também os genótipos com maior desempenho para as variáveis analisadas. Ou seja, de maneira geral, são genótipos com capacidade limitada de crescimento de raízes e parte aérea e teores de fósforo e potássio, mas que possivelmente possuem genes que mantêm a viabilidade celular através da manutenção de suas membranas, garantindo a estabilidade no desempenho das variáveis frente a ação das doses de ácidos.

Este fato pode ser constatado também, analisando os valores de intercepto de cada genótipo, onde se percebe grande variabilidade genética para crescimento radicular na ausência de ácidos orgânicos na solução hidropônica (dose 0 mM). Os valores de crescimento radicular na ausência de ácidos varia entre valores de 9,09 cm (genótipo Toride 1) até 14,82 cm (genótipo IAC-47), o genótipo com menor crescimento de raízes na ausência de ácidos orgânicos (Toride 1) é também um dos que se demonstrou insensível ao efeito fitotóxico dos ácidos. Já para a variável comprimento de parte aérea, verifica-se que ocorre uma menor variação proporcional, com 18,83 cm para o genótipo Gose Yonkoku e 25,13 cm para o genótipo Dawn, neste caso, nota-se também que o genótipo com menor crescimento de raízes na ausência de ácidos orgânicos (Gose Yonkoku) é também um dos que se demonstrou insensível ao efeito fitotóxico dos ácidos. Para o teor de fósforo na ausência de ácidos varia entre valores de 17,98 g Kg<sup>-1</sup> genótipo IAC-47 até 11,08 g Kg<sup>-1</sup> genótipo Dawn, neste caso, nota-se que o genótipo com menor absorção de fósforo na ausência de ácidos orgânicos (Dawn) é também um dos que se demonstrou insensível ao efeito fitotóxico dos ácidos. Na variável teor de potássio, verifica-se que ocorre uma menor variação proporcional, com 68,29 g Kg<sup>-1</sup> para o genótipo IAC-47 e 53,72 g Kg<sup>-1</sup> para o genótipo Gbegbbete, neste caso ambos sensíveis ao efeito fitotóxico da mistura dos ácidos, indicando que os genótipos tolerantes apresentam níveis médios de teor de potássio, mesmo na ausência de ácidos (dose 0 mM).

Os resultados médios obtidos demonstram uma redução em torno de 44,5% no comprimento radicular, 24,5% no comprimento de parte aérea, 35 % no teor de P e 15% no teor de K quando avaliados todos genótipos na dose de 9 mM. RAO e MIKKELSEN (1977b) em estudo similar, porém trabalhando com os ácidos isoladamente e na dose de 10 mM, relataram reduções no comprimento radicular de 29,7; 43,2 e 45,0%, no comprimento de parte aérea de 4,6; 20,6 e 34,4%, no teor de fósforo de 30; 45 e 70% e nos teores de potássio de 5; 10 e 35% para os ácidos acético, propiônico e butírico, respectivamente. Interpolando os valores do

trabalho de RAO e MIKKELSEN (1977b) e comparando com os resultados obtidos neste trabalho, pode se constatar maior toxicidade quando os ácidos são adicionados conjuntamente aos tratamentos. No entanto, futuros estudos poderão comprovar de maneira mais efetiva este efeito sinérgico entre os ácidos utilizados.

Segundo ARMSTRONG e ARMSTRONG (2001) a variável mais afetada pelo efeito dos ácidos orgânicos em arroz é o comprimento radicular, uma vez que o efeito fisiológico responsável pela toxicidade se caracteriza pelo rompimento das membranas do sistema radicular e extravasamento do conteúdo celular onde os ácidos estão em contato direto com os tecidos. A seleção de genótipos para determinados caracteres pode ser feita indiretamente através da análise de variáveis de mais fácil mensuração desde que apresentem correlações significativas (BENIN et al., 2003). Assim, se existir correlação significativa entre crescimento radicular e outra variável que apresente variação significativa, seria possível a identificação de genótipos tolerantes mediante a utilização de mais de uma variável simultaneamente sem prejuízo no resultado da análise.

A análise da correlação simples de Pearson (Tabela 4), demonstrou que todas as variáveis analisadas apresentaram correlações significativas entre si. A variável NR apresentou correlação negativa com todas as outras variáveis analisadas, pois esta variável foi a única que sofreu acréscimos no seu valor frente ao estresse. As demais variáveis apresentaram correlações positivas e significativas entre si, demonstrando terem o mesmo comportamento generalizado, ou seja, reduções nos valores médios de uma variável são acompanhadas de reduções similares nas demais variáveis correlacionadas no grupo dos 20 genótipos estudados. Assim, além das variáveis CR, CPA, P e K as demais podem ser utilizadas simultaneamente na análise pois apresentam variação significativa para a fonte de variação “dose” e correlação significativa com as variáveis que apresentam interação (dose x genótipo) significativa. No entanto, não deve ser descartada a possibilidade de seleção

baseada em aviações independentes entre cada variável, pois podem ocorrer mecanismos genéticos diferenciais responsáveis pela tolerância de genótipos frente ao estresse (YANG et al., 2000).

Associando os resultados dos genótipos tolerantes com as suas descrições apresentadas na Tabela 1 pode ser constatado que um genótipo índico e um japonico apresentaram estabilidade no crescimento radicular, já quando avaliado o crescimento de parte aérea, os três genótipos tolerantes pertencem ao grupo japonico e tanto genótipos índicos quanto japonicos apresentaram estabilidade nos teores de P e K frente ao efeito dos ácidos orgânicos. Porém, outro fato que pode ser comprovado, é que a maioria dos genótipos tolerantes ao estresse, pertencem ao sistema de cultivo de irrigação por inundação. Provavelmente o processo de melhoramento de genótipos sob sistema de inundação propiciou um ambiente com maiores concentrações de ácidos orgânicos, e desta maneira, uma seleção indireta para o caráter pode ter sido decisiva para que um maior número de genótipos tolerantes fosse evidenciado dentro deste grupo de cultivares.

ARMSTRONG e ARMSTRONG (2001) estudando o efeito dos ácidos orgânicos em arroz relataram que plantas tolerantes devem possuir genes que confirmam maior capacidade de formação de membranas celulares que tolerem estes ácidos. Assim, os genótipos japonicos descritos como tolerantes, ainda que, pertençam ao sistema de cultivo de sequeiro são acessos de coleções nucleares de germoplasma com elevada rusticidade. Em geral, os genótipos de maior rusticidade são tolerantes a muitos tipos de estresse bióticos e abióticos em virtude principalmente de sua capacidade diferencial na constituição e formação do sistema membranário (HINCHA e HAGEMANN, 2004). Assim, estes genótipos do grupo japonica, podem ser utilizados pelos programas de melhoramento na forma de cruzamentos com cultivares de elevada produtividade e valor comercial. Porém, o cruzamento entre estes dois grupos geralmente acarreta em recombinações insatisfatórias ao ideótipo focado nos

programas de melhoramento de arroz no Brasil, principalmente no que diz respeito à qualidade de grãos (MAGALHÃES JR et al., 2004). De forma mais clara, plantas do grupo japonica apresentam grãos curtos com baixos teores de amilose, tornando-os glutinosos durante o processo de cocção.

A utilização dos genótipos tolerantes ao efeito fitotóxico dos ácidos orgânicos em programas de melhoramento poderá contribuir de maneira substancial no desenvolvimento de cultivares com maior germinação e estabelecimento inicial de plântulas na lavoura de arroz irrigado sob plantio direto ou cultivo mínimo. Isto reduziria significativamente os custos de produção e danos ambientais advindos do sistema de semeadura convencional de arroz, bem como aumentaria a produtividade final do cereal consideravelmente.

## **CONCLUSÕES**

Doses de até 9 mM da mistura dos ácidos acético, propiônico e butírico na relação de 6:3:1, respectivamente, causam reduções eficientes para estudos de variabilidade genética em arroz.

Há variabilidade genética para crescimento radicular e de parte aérea, teor de fósforo e potássio no grupo de genótipos de arroz quando submetidos ao efeito fitotóxico dos ácidos orgânicos.

As cultivares Dawn e Toride 1 apresentam estabilidade no crescimento de raízes, as cultivares Yonaochi, Gbegbbete e Gose Yonkoku apresentam estabilidade no crescimento de parte aérea, as cultivares Yonaochi, Gbegbbete, Dawn e BRS 7-Taim estabilidade no teor de fósforo e as cultivares Dawn, IRGA-420 e Toride-1 estabilidade no teor de potássio quando submetidas a níveis crescentes de ácidos orgânicos.

Genótipos do grupo japonico e do sistema de cultivo por irrigação tem melhor desempenho no crescimento de raízes e de parte aérea e teores de fósforo e potássio quando submetidos ao estresse por ácidos orgânicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELES, O.R.; JOHNSON, S.E.; BURESH, R.J. Soil solution sampling for organic acids in rice paddy soils. **Soil Society American Journal**, Stanford, v.70, p.48-70, 2005.

ARMSTRONG, J.; ARMSTRONG, W. Rice and *Phragmites*: effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere. **American Journal of Botany**, St Louis, v.88, n.8, p.1359-1370, 2001.

BENIN, G.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; ASSMANN, I.C.; FLOSS, E.L.; LORENCETTI, C.; MARCHIORO, V.S.; SILVA, J.G. Implicações do ambiente sobre o rendimento e suas influências sobre estimativas de parâmetros genéticos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.9, n.3, p.207-214, 2003.

BOHNEN, H.; SILVA, L.S.; MACEDO, V.R.M.; MARCOLIN, E. Ácidos orgânicos na solução de um gleissolo sob diferentes sistemas de cultivo com arroz irrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.29, n.3, p.475-480, 2005.

CAMARGO, de O.C.E; OLIVEIRA, O F. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia**, Campinas, v.49, n.1, p.21-23, 1981.

CAMARGO, F.A.; SANTOS, G. de A.; ROSSIELO, R.O.P. Efeito dos ácidos acético e butírico sobre o crescimento de plântulas de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.28, n.9, p.1011-1018, 1993.

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.

DEVOS, K.M. ; GALE, M.D. Genome Relationships: The Grass Model in Current Research. **Plant Cell**, Rockville, v.12, n.5, p.637-646, 2000.

DUNCAN, R.R.; BALIGAR, V.C. Genetics, breeding, and physiological mechanisms of nutrient uptake and use efficiency: an overview. In: BALIGAR, V.C.; DUNCAN, R.R. (Ed.) **Crops as Enhancers of Nutrient Use**. San Diego: Academic Press, 1990. p.3-35.

GOMES, A.S.; MAGALHÃES JR., A.M. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília: Embrapa-Informação Tecnológica. 2004. 899p.

GOTOH, S.; ONIKURA, Y. Organic acids in a flooded soil receiving added rice straw and their effect on the growth of rice. **Plant Nutrition**, v.17, n.1, London, p.1-8, 1971.

HINCHA, D.K.; HAGEMANN, M. Stabilization of model membranes during drying by compatible solutes involved in the stress tolerance of plants and microorganisms. **Biochemical Journal**, London, v.383, n.2, p.277-283, 2004.

IRGSP. International Rice Genome Sequencing Project. The map-based sequence of the rice genome. **Nature**, London, v.436, n.7052, p.793-800, 2005.

JOHNSON, S.E.; ANGELES, O.R.; BRAR, D.S. & BURESH, R.J. Faster anaerobic decomposition of a brittle straw rice mutant: implications for residue management. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v.38, n.7, p.1880-1892, 2006.

KAHL, G.; LAVI, U. **Mutant germplasm characterisation using molecular markers**. Viena, Austria, FAO-IAEA. 2001. 77p.

KOPP, M.M.; LUZ, V.K.; COIMBRA, J.L.M.; SOUSA, R.O.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C. Níveis críticos dos ácidos acético, propiônico e butírico para estudos de toxicidade em arroz em solução nutritiva. **Acta Botanica Brasílica**, Ribeirão Preto, v.21, n.1, p.147-154, 2007a.

- KOPP, M.M.; COIMBRA, J.L.M.; LUZ, V.K.; SOUSA, R.O.; CARVALHO, F.I.F. & OLIVEIRA, A.C. Organic acid tolerance in M<sub>3</sub> families of oat mutants. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.7, n.1, p.59-66, 2007b.
- KOPP, M.M.; LUZ, V.K.; SILVA, V.N.; COIMBRA, J.L.M.; MAIA, L.C.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C. Efeito do pH da solução nutritiva na fitotoxicidade causada por ácidos orgânicos em arroz. **Magistra**, Cruz das Almas, v.19, n.1, p.40-46, 2007c.
- MAGALHÃES JR. A.M. de; TERRES, A.L.; FAGUNDES, P.R.; FRANCO, D.F.; ANDRES, A. Aspectos genéticos, morfológicos e de desenvolvimento de plantas de arroz irrigado. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES JR. de, A.M. (Ed.) **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2004. p.143-160.
- PINTO, L.F.E.; LAUS, J.A. & PAULETTO, E.A. Solos de várzea no sul do Brasil. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES JR. de, A.M. (Ed.) **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2004. p.75-95.
- PONNAMPERUMA, F.M. The chemistry of submerged soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.24, n.1, p.29-96, 1972.
- RAO, D.N.; MIKKELSEN, D.S. Effect of acetic, propionic, and butyric acids on young rice seedlings growth. **Agronomy Journal**, Madison, v.69, n.6, p.923-928, 1977a.
- RAO, D.N. & MIKKELSEN, D.S. Effect of acetic, propionic, and butyric acids on rice seedlings growth. and nutrition. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.47, n.6, p.323-334, 1977b.
- SOUSA, R.O.; BORTOLON, L. Crescimento radicular e da parte aérea do arroz (*Oryza sativa* L.) e absorção de nutrientes em solução nutritiva com diferentes concentrações de ácido acético. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.8, n.3, p.231-235, 2002.

SREENIVASULU, N.; SOPORY, S.K.; KAVI KISHOR, P.B. Deciphering the regulatory mechanisms of abiotic stress tolerance in plants by genomic approaches. **Gene**, Amsterdam, v.388, p.1-13, 2007.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS: Statistical Analysis System - Getting Started with the SAS® Learning Edition**. Cary, NC: SAS Institute. 2002. 86p.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A. BIHNEN, H.; VOLKWEISS, S. **Análise de Solo, Plantas e Outros Materiais**. 2.ed. Porto Alegre: Departamento de Solos, UFRGS, 1995. 147p.

YANG, G.; YOUNG-YELL, M.; JI-YOUNG, M. Identification of rice varieties with high tolerance or sensitivity to lead and characterization of the mechanism of tolerance. **Plant Physiology**, Rockville, v.124, n.3, p.1019-1026, 2000.

**Tabela 1.** Relação das cultivares, grupo e sistema de cultivo dos acessos utilizados no estudo de tolerância à toxicidade por ácidos orgânicos. Pelotas-RS, 2007

<b>Genótipo</b>	<b>Cultivar</b>	<b>Grupo</b>	<b>Sistema cultivo</b>
1	IAC – 47	Indico	Sequeiro
2	Oryzica	Indico	Sequeiro
3	Caloro	Indico	Sequeiro
4	BRS – Pelota	Indico	Irigado
5	Yonaochi	Japonico	Sequeiro
6	Supremo – 1	Indico	Irigado
7	Fanny	Indico	Sequeiro
8	IAS 12 – Formosa	Japonico	Irigado
9	Lemont	Indico	Irigado
10	CICA – 8	Indico	Irigado
11	Mazs	Indico	Irigado
12	Gbegbbete	Japonico	Sequeiro
13	Guichow	Japonico	Irigado
14	IR – 39379	Indico	Irigado
15	Gose Yonkoku	Japonico	Sequeiro
16	Dawn	Japonico	Irigado
17	IRGA – 420	Indico	Irigado
18	BRS 6 – Chui	Indico	Irigado
19	Toride – 1	Japonico	Irigado
20	BRS 7 – Taim	Indico	Irigado

**Tabela 2.** Resumo da análise de variância, médias e coeficiente de variação (C.V.) para as variáveis comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), teor de fósforo (P) e de potássio (K) de 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com quatro concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007

F.V.	G.L.	Quadrados Médios						
		CR	CPA	NR	MSR	MSPA	P	K
<b>Genótipo</b>	3	5,39323 *	26,45225 *	4,14069 *	0,01176	0,04526	18,90*	160,40*
<b>Doses</b>	19	303,5334 *	237,8707 *	48,64856 *	53,06299 *	136,2333 *	274,91*	326,81*
<b>Interação</b>	57	3,07240 *	3,75094 *	0,61302	0,00203	0,00426	3,68*	6,41*
<b>Resíduo</b>	158	1,42742	2,65198	0,55971	0,30151	0,58542	2,50	3,75
<b>Média</b>		9,47	19,61	5,25	4,33	8,45	12,42	56,55
<b>C.V.</b>		12,61	8,30	14,26	12,70	9,06	12,72	3,43

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

**Tabela 3.** Resumo da análise de variância do modelo de regressão para as variáveis comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), teor de fósforo (P) e de potássio (K) de 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com quatro concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007

Genótipo	Quadrado Médio					
	CR			CPA		
	Grau do Polinômio			Grau do Polinômio		
	Linear	Quadrática	Cúbica	Linear	Quadrática	Cúbica
IAC – 47	146,672*	3,102	0,176	34,752*	0,961	0,093
Oryzica	47,470*	2,351	0,254	28,321*	0,175	0,018
Caloro	76,614*	13,670*	0,926	23,358*	0,059	0,125
BRS – Pelota	57,991*	2,017	1,021	27,701*	0,108	0,060
Yonaochi	48,461*	10,000*	0,534	2,077	0,014	0,017
Supremo – 1	55,539*	5,486	1,324	26,991*	0,141	0,72E <sup>-3</sup>
Fanny	55,639*	6,391*	0,824	34,256*	0,527	2,95E <sup>-3</sup>
IAS – Formosa	63,882*	8,604*	0,737	44,853*	0,917	1,839
Lemont	12,362*	0,186	5,176*	36,679*	0,500	0,542
CICA – 8	35,426*	7,263*	0,13E <sup>-3</sup>	42,731*	2,257	0,068
Mazs	87,636*	16,725*	0,201	34,041*	1,005	0,66E <sup>-5</sup>
Gbegbbete	18,360*	0,549	2,431	10,174	0,870	5,00E <sup>-5</sup>
Guichow	33,031*	20,424*	1,246	79,626*	11,544*	6,660
IR – 39379	50,478*	14,804*	0,684	72,469*	11,691*	4,262
Gose Yonkoku	26,925*	1,958	0,941	1,579	0,055	0,013
Dawn	1,560	3,84E <sup>-5</sup>	0,025	251,864*	0,219	0,101
IRGA – 420	46,400*	3,134	1,385	26,631*	0,37E <sup>-3</sup>	0,136
BRS 6 – Chui	49,149*	9,615*	0,204	36,234*	0,556	0,020
Toride – 1	4,011	3,01E <sup>-3</sup>	0,665	31,349*	0,333	0,012
BRS 7 – Taim	21,259*	1,474	0,351	34,438*	1,326	0,053

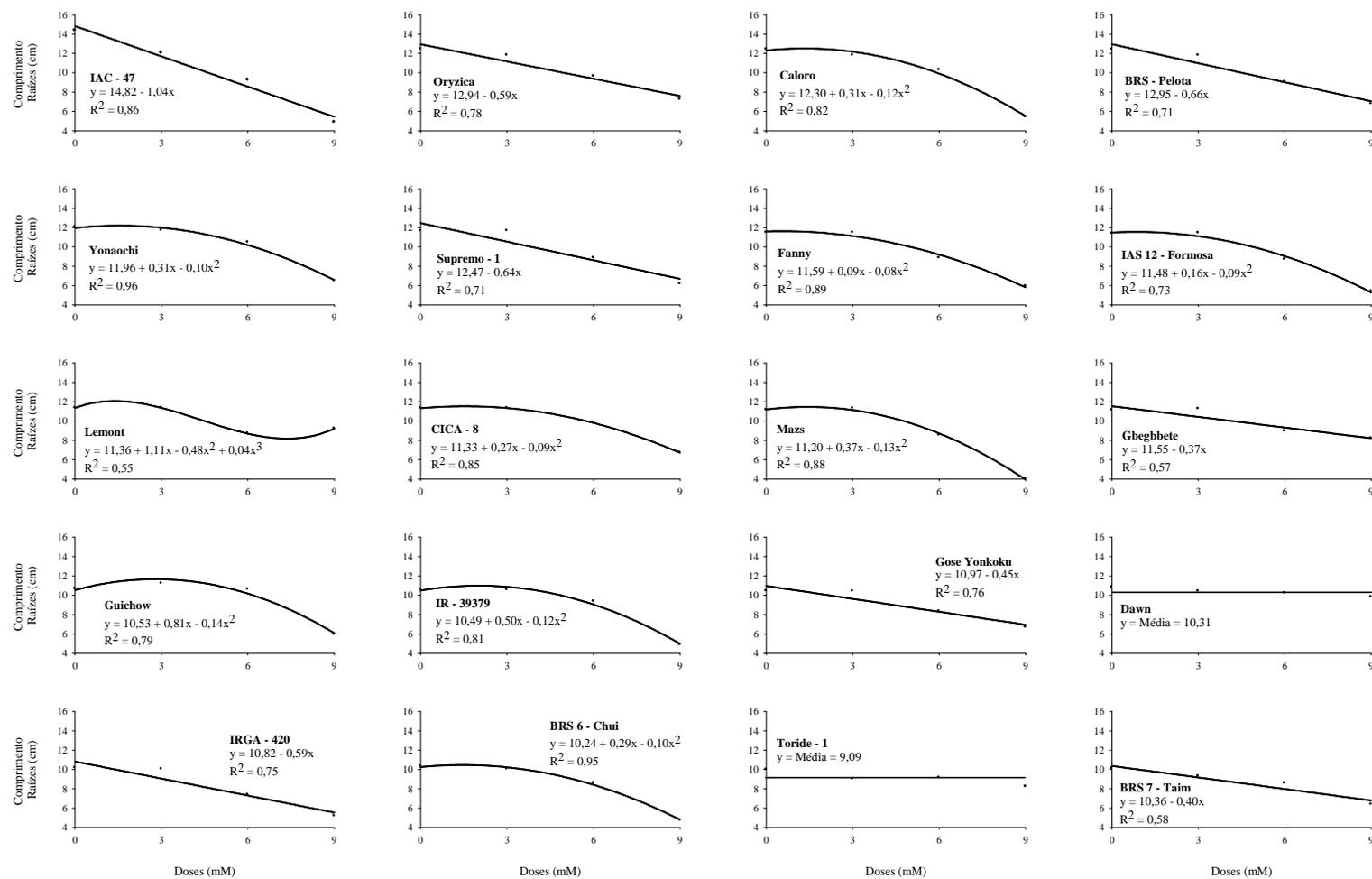
Genótipo	P			K		
	Grau do Polinômio			Grau do Polinômio		
	Linear	Quadrática	Cúbica	Linear	Quadrática	Cúbica
IAC – 47	81,5734*	17,6661*	0,1325	198,0167*	3,3708	24,8327*
Oryzica	49,1053*	16,4736*	1,3380	16,6743*	0,7752	2,5256
Caloro	61,4689*	9,1351	0,1804	34,0808*	0,2581	5,1275
BRS – Pelota	30,3597*	13,4408*	2,4241	16,2240*	1,4840	0,0167
Yonaochi	3,0872	0,2269	0,0037	15,1303*	0,1027	0,1206
Supremo – 1	22,6566*	0,2977	0,3241	22,5584*	1,7710	20,6155*
Fanny	31,7554*	6,1204	0,3604	99,8976*	9,5765	0,5881
IAS – Formosa	36,4728*	8,8065	0,1460	16,1409*	2,3585	3,9732
Lemont	35,6202*	6,9769	0,8906	71,0682*	8,9441	0,3082
CICA – 8	64,4185*	10,4347*	1,5328	151,5906*	6,3511	5,2274
Mazs	25,3500*	3,2240	0,0060	101,7904*	0,1180	6,8344
Gbegbbete	7,6255	0,0397	0,2627	85,0374*	2,1760	1,3771
Guichow	14,5731*	0,7057	1,5073	56,0860*	30,1784*	0,3635
IR – 39379	13,7569*	4,5757	1,5392	67,1407*	4,6501	5,7722
Gose Yonkoku	69,9408*	12,6075*	7,3220	68,6084*	13,1043*	0,2561
Dawn	4,9594	1,0267	0,1170	9,1885	0,2640	0,4403
IRGA – 420	105,4435*	6,4827	7,0589	13,2070	4,8514	1,4570
BRS 6 – Chui	84,7995*	3,9331	0,0040	47,5794*	3,2970	0,0432
Toride – 1	129,0080*	4,9152	2,6209	9,2434	0,2002	0,0120
BRS 7 – Taim	6,8885	0,9130	0,0421	52,0988*	20,1502*	0,3792

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

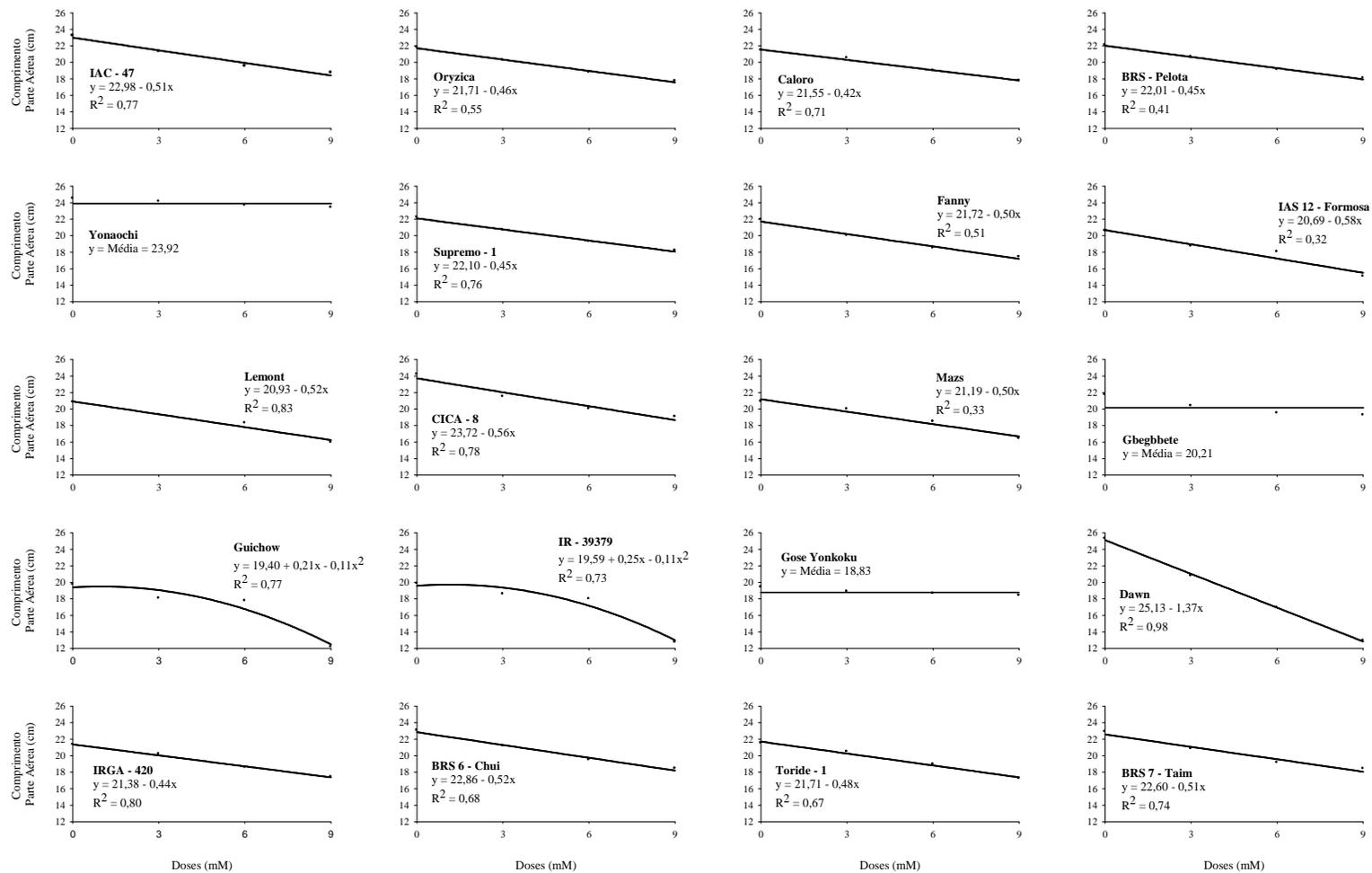
**Tabela 4.** Coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis comprimento de raiz (CR) e de parte aérea (CPA), número de raízes (NR), matéria seca de raiz (MSR) e de parte aérea (MSPA), teor de fósforo (P) e de potássio (K), de 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com quatro concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007

	CR	CPA	NR	MSR	MSPA	P	K
CR		0,48*	-0,46*	0,82*	0,69*	0,62*	0,37*
CPA			-0,26*	0,53*	0,72*	0,39*	0,54*
NR				-0,54*	-0,53*	-0,41*	-0,29*
MSR					0,77*	0,79*	0,38*
MSPA						0,55*	0,51*
P							0,40*

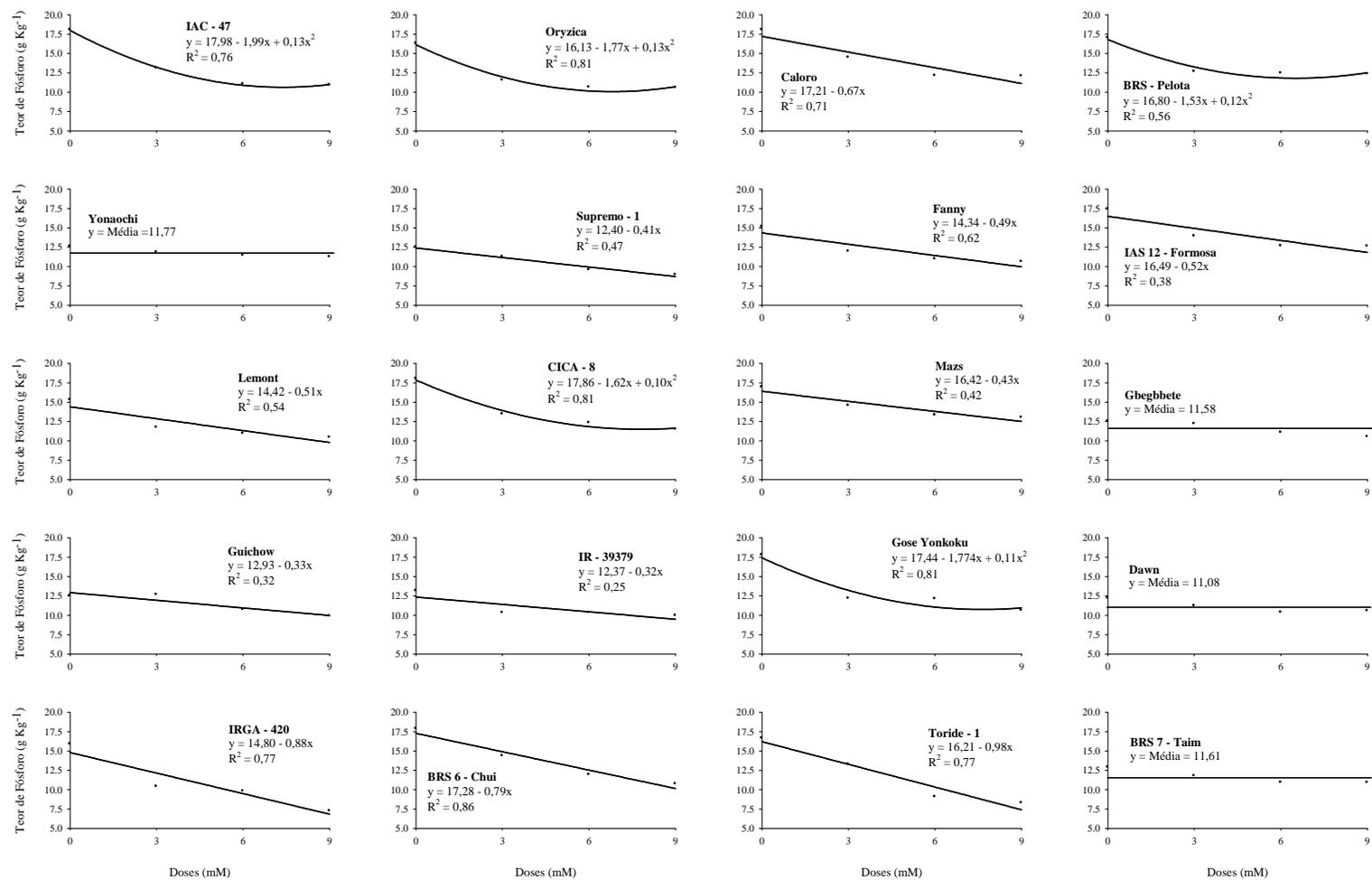
\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste t.  
Número de observações = 240.



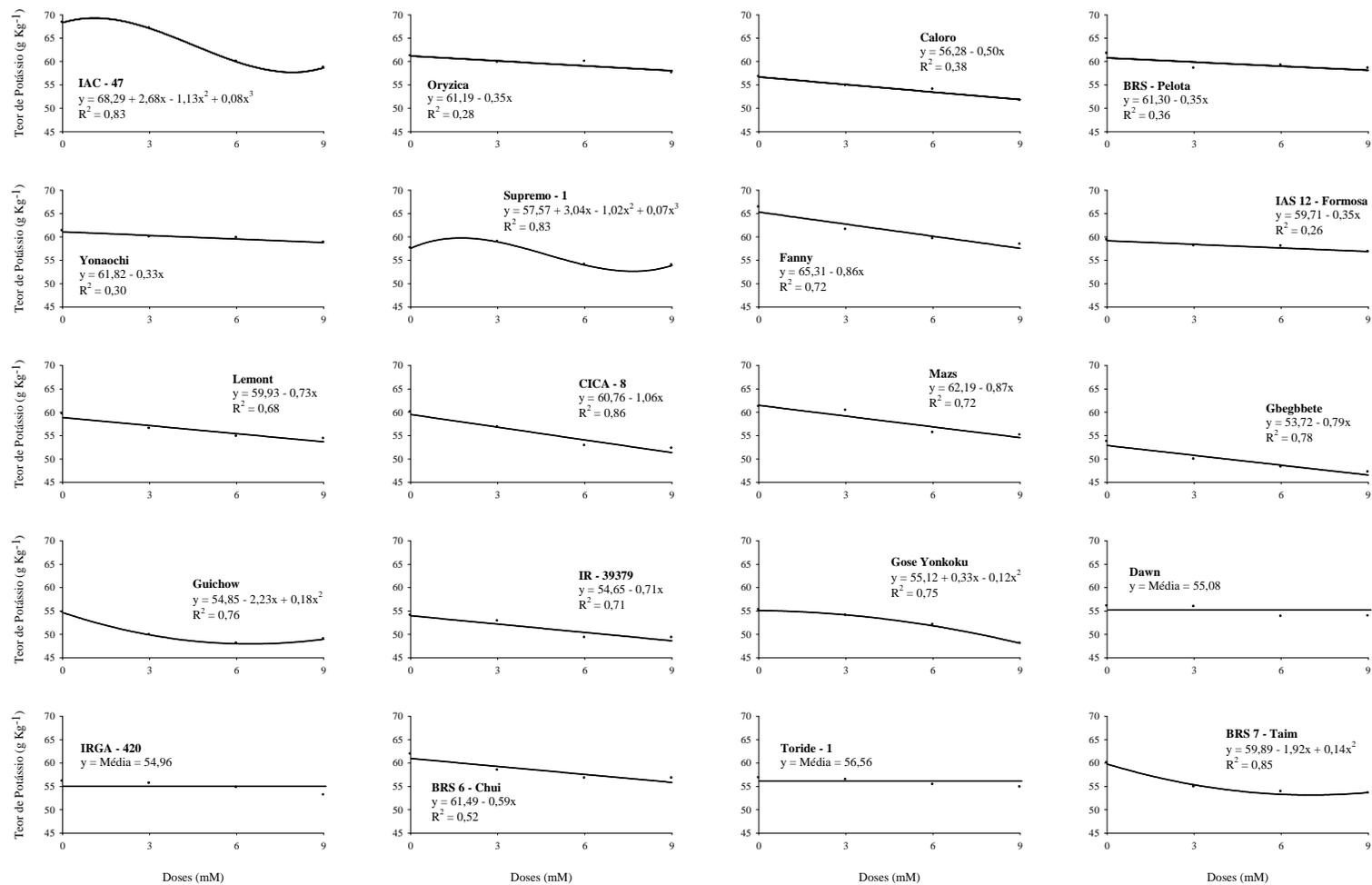
**Figura 1.** Representação gráfica, ajuste das equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) da variável comprimento de raízes (CR) das 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com quatro concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007.



**Figura 2.** Representação gráfica, ajuste das equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) da variável comprimento de parte aérea (CPA) das 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com quatro concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007.



**Figura 3.** Representação gráfica, ajuste das equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) da variável teor de fósforo (P) das 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com quatro concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007.



**Figura 4.** Representação gráfica, ajuste das equações de regressão e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) da variável teor de potássio (K) das 20 cultivares de arroz, estudadas em solução nutritiva com quatro concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico. Pelotas-RS, 2007.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A região sul do Brasil apresenta uma área de 6,8 milhões de hectares constituídos por solos do tipo hidromórfico, representando 20% do estado do Rio Grande do Sul (PINTO et al., 2004), tendo seu sistema de cultivo alicerçado na cultura de arroz e na criação extensiva de gado (PORTO, 1997). A exploração econômica dessa região com a diminuição do tempo de pousio e falta de rotação e sucessão de culturas, tem inviabilizado extensas áreas a cada ano, principalmente pela infestação com arroz daninho e degradação das características físicas do solo (PORTO, 1997). O sistema de plantio direto, só é realizado em 5,46% da área cultivada de arroz no Rio Grande do Sul (IRGA, 2006). Este sistema preconiza acréscimos de produtividade, redução dos impactos ambientais do cultivo convencional e redução dos custos de produção.

Nestes tipos de solo, a formação de uma condição anaeróbia, propicia a fermentação de resíduos orgânicos ocorrendo produção de substância fitotóxicas como os ácidos orgânicos alifáticos de baixo peso molecular, representados principalmente pelos ácidos acético, propiônico e butírico (SOUSA e BORTOLON, 2002). Tais substâncias podem estar limitando o desenvolvimento e produtividade final de culturas já implantadas nestas regiões como o arroz ou outras culturas com potencial para participação de sistemas de rotação e sucessão (CAMARGO et al., 2001).

ARMSTRONG e ARMSTRONG (2001) estudando o efeito dos ácidos orgânicos em arroz relataram que os ácidos causam principalmente degradação das membranas celulares e perda do conteúdo celular para o meio. De modo geral, os efeitos dos ácidos podem ser o resultado de lesões causadas ao tecido meristemático da radícula (CHOU e PATRICK, 1976) ou de inibição à respiração (ROBSON e TAYLOR, 1974), o que deve resultar em inibição da divisão celular. Por

outro lado, essas fitotoxinas são inibidores de funções mitocondriais, incluindo o desacoplamento da fosforilação oxidativa, assim como do transporte de metabólitos e de enzimas glicolíticas solúveis no citossol, e as ligadas a endomembranas, como as responsáveis pela síntese de polissacarídeos e a ATPase (ANGELES et al., 2005). CAMARGO et al. (2001) citaram que ácidos orgânicos causaram o efluxo de íons inorgânicos e material orgânico para o meio externo, o que implica a danificação da integridade da plasmalema. A geração de energia metabólica e funcionalidade da ATPase ligada à membrana celular são pré-requisitos para manutenção celular (ANGELES et al., 2005). Assim, a expressão de genes responsáveis pela tolerância a ácidos orgânicos deve estar fundamentada na capacidade de formação de determinadas membranas celulares, o que ainda deve ser melhor estudado.

Os programas de melhoramento de arroz no Brasil têm atingido destacado progresso no desenvolvimento de germoplasma e, ao longo dos anos, novas cultivares aumentaram a produtividade de grãos no país. Entretanto, se por um lado essa atividade tem sido de importância estratégica para o desenvolvimento do arroz no Brasil (AZAMBUJA et al., 2004), por outro, o desenvolvimento de novas cultivares é um processo oneroso e que demanda muito tempo, recursos e mão-de-obra, especialmente quando envolve caracteres fortemente influenciados pelo ambiente. Como se trata de um processo contínuo e extremamente complexo, quaisquer modificações metodológicas que o simplifiquem são extremamente importantes. Hoje, o novo desafio é potencializar a base genética vegetal utilizada nos programas de melhoramento, visando ao eficiente e eficaz uso de genes e de produtos da sua expressão. Com a disponibilização de genes com função conhecida e sua inserção em cultivares modernas e adaptadas as condições edafo-climáticas no sul do Brasil, será possível um grande e rápido avanço para obtenção de tolerância a estresses ambientais, principalmente tolerância aos ácidos orgânicos gerados durante os processos fermentativos no solo, implicando em incremento na área cultivada sob sistema de semeadura direta e cultivo mínimo.

Após a substituição das cultivares tradicionais, de porte alto, pelas modernas, de porte baixo, alta produtividade, com folhas eretas, alto afilamento e intensa resposta à adubação nitrogenada na década de 70, têm-se verificado que, apesar de todo o esforço despendido na condução dos programas de melhoramento

de arroz irrigado, os ganhos genéticos, principalmente quanto à produtividade, quando obtidos, são de pequena magnitude (CASTRO et al., 1999).

O esforço do melhoramento, principalmente do arroz irrigado, com o passar dos anos tem levado ao desenvolvimento de variedades de alto rendimento que são, via de regra oriundas de cruzamentos entre poucas linhagens e/ou cultivares modernas geneticamente relacionadas. Isto tem levado a um estreitamento da base genética das populações utilizadas no melhoramento e como conseqüência o estabelecimento de patamares de produtividade. No caso específico do arroz irrigado do Brasil, uma estreita variabilidade tem sido observada (GUIDOLIN, 1993; MALONE et al., 2006), sendo que apenas 10 genitores contribuem com 68% do conjunto gênico das variedades cultivadas (RANGEL et al., 1996). Considerando as cultivares mais semeadas nos principais estados produtores de arroz irrigado, constata-se que sete constituições genéticas são mais freqüentes nos *pedigrees* e são responsáveis por 70% dos genes (RANGEL et al., 1996). Tal situação de alta uniformidade genética pode trazer sérias conseqüências não só a orizicultura do estado do Rio Grande do Sul, mas também a produção brasileira de arroz.

A identificação de variabilidade é um dos primeiros passos para dar partida a um programa de melhoramento visando a obtenção de genótipos superiores para determinado caráter. O melhoramento visando a obtenção de genótipos tolerantes ao efeito fitotóxico dos ácidos orgânicos seria de fundamental interesse em regiões onde ocorre tal condição.

Técnicas de avaliação de genótipos em ambientes controlados com o uso de soluções nutritivas tem sido amplamente utilizados para caracterização de genótipos a diversos estresses (DUNCAN e BALIGAR, 1990). Enquanto a avaliação de genótipos em ambientes artificiais não leva em consideração as reais pressões do meio (DUNCAN e BALIGAR, 1990), a seleção em ensaios de campo reúne grande número de variáveis não controladas, tais como tolerâncias diferenciais a estresses climáticos, bióticos ou nutricionais (WRIGHT, 1989). Correlações significativas entre parâmetros obtidos em testes de campo e em ambientes artificiais, com solo ou solução nutritiva são relatados por BILINSKI e FOY, (1987) em diversas gramíneas. Assim, uma maneira eficiente de avaliação de genótipos para tolerância a presença de ácidos orgânicos em meio de cultivo pode ser realizada em sistemas de hidroponia sob condições controladas.

A identificação de genótipos tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos tornará possível a realização de estudos de prospecção de genes através da aplicação de técnicas de marcadores moleculares e incorporação de genes em cultivares superiores. A identificação de marcadores associados a caracteres agrônômicos é utilizada para aumentar a eficiência dos programas de melhoramento na incorporação dos genes responsáveis pela tolerância em cultivares de alta produtividade (KANAMORI et al., 2004). Isto contribuiria para o incremento da área cultivada no sistema de semeadura direta de arroz irrigado, e conseqüentemente aumentaria a produtividade, reduzindo os impactos ambientais do cultivo convencional e os custos de produção do cereal.

Os resultados apresentados nesta tese possibilitarão um maior conhecimento das metodologias utilizadas no estudo de tolerância a ácidos orgânicos mediante a utilização de sistema de hidroponia. A utilização de sistemas de hidroponia na caracterização de genótipos para tolerância a ácidos orgânicos é uma metodologia rápida e eficiente, e os resultados obtidos nos experimentos 1 e 2 desta tese descrevem de maneira geral uma metodologia eficaz em caracterizar genótipos com tolerância a ácidos orgânicos. Estes experimentos descrevem a metodologia de condução do experimento, doses utilizadas, principais variáveis utilizadas na determinação do caráter, efeito de pH da solução dentre outras.

Já os experimentos 3 e 4 se caracterizam pela aplicação dos resultados obtidos nos dois primeiros experimentos na caracterização de grupo de genótipos. Estes experimentos permitiram a caracterização dos genótipos quanto a suas respostas em relação ao estresse por ácidos orgânicos, com resultados dos efeitos simples dos três principais ácidos produzidos pela fermentação da matéria orgânica do solo (acético, propiônico e butírico) e do efeito interativo destes mesmos ácidos. De maneira geral os resultados indicam que genótipos do grupo japônica e sistema de cultivo de irrigação por inundação apresentam melhores índices de tolerância ao estresse.

A utilização do material caracterizado nesta tese também poderá contribuir para os estudos de ação gênica e de expressão genética da tolerância a ácidos orgânicos. Assim, com os adventos da biotecnologia, o entendimento dos processos genômicos se tornará uma excelente ferramenta para complementar os trabalhos do melhoramento convencional. Para isto, o arroz apresenta uma série de caracteres propícios, a exemplo do pequeno tamanho de seu genoma, o que o credencia a ser

a planta-modelo das monocotiledôneas (GOFF et al., 2002; YU et al., 2002). Recentemente foi anunciado o seqüenciamento completo do genoma do arroz (IRGSP, 2005). Entretanto, mais de 50% das seqüências geradas pelos projetos de seqüenciamento do genoma do arroz ainda não possuem função conhecida. Portanto, a determinação da função específica de cada um dos 20mil a 40mil genes preditos é, sem dúvida, o próximo desafio da genética vegetal. Devido ao fato do arroz ser a maior fonte de alimento da metade da população do mundo (FAO, 2006), fica evidente que compreender o seu genoma é uma tarefa que terá um impacto incalculável na agricultura no século XXI.

Para formação de uma população segregante com vistas a estudos genéticos de expressão gênica ou mapeamento genético, os resultados obtidos no experimento 3, sugerem os cruzamentos: Daw Dam x IAC-47 para ácido acético, Toride-1 x BRS 7-Taim para ácido propiônico e Toride-1 x IAC-47 para ácido butírico. Com o mesmo objetivo, o experimento 4 sugere o cruzamento entre dois grupos de cultivares: grupo 1 (Dawn, Toride-1, Gose Yonkoku, Gbegbbete, Yonaochi, BRS 7-Taim e IRGA-420) x grupo 2 (IAC-47, Fany, Mazs, Caloro, Oryzica, BRS-Pelota, Supremo-1, IAS 12-Formosa, Lemont, CICA-8, Guichow, IR-39379 e BRS 6-Chuí). Estes cruzamentos sempre priorizam a formação de população segregante altamente contrastante para o caráter.

A ocorrência de genótipos contrastantes para o caráter será de fundamental importância para estudos futuros no melhoramento genético do cereal (BOYER, 1982). A utilização destes genótipos em programas de melhoramento propiciará a obtenção de constituições genéticas com elevado potencial produtivo e com características de interesse na adoção ao sistema de semeadura direta, pois poderão ser desenvolvidos genótipos com melhores características germinativas em solos com elevados teores de ácidos orgânicos.

O conhecimento da herança de um caráter é de fundamental importância para a escolha dos métodos de seleção que serão empregados no manejo das populações segregantes, predição do ganho genético e pressão de seleção (CARVALHO et al., 2001). Os resultados desta tese indicam que a tolerância a ácidos orgânicos é, de maneira geral, encontrada em genótipos da subespécie japônica, enquanto que os tipo índica se demonstram mais sensíveis ao estresse. O cruzamento entre estes dois grupos acabam gerando recombinações insatisfatórias ao ideotipo focado nos programas de melhoramento de arroz no Brasil,

principalmente no que diz respeito à tolerância a ácidos orgânicos combinada com a qualidade de grãos (MAGALHÃES Jr et al., 2003; 2004). De forma mais clara, plantas com tolerância aos ácidos orgânicos apresentam grãos curtos com baixos teores de amilose, tornando-os glutinosos durante o processo de cocção. Estudos genéticos indicam que possivelmente os genes envolvidos nestes caracteres (estresses abióticos e tipo de grão) devam estar ligados. A quebra de ligação destes tem sido exaustivamente trabalhada nos mais diversos programas de melhoramento. Neste sentido, os resultados obtidos nesta tese contribuirão de maneira substancial para obtenção de cultivares com características de tolerância à ácidos orgânicos, seja por meio introgressão através de cruzamentos, ou mediante utilização de técnicas de biologia molecular.

## 7. REFERÊNCIAS

- ALLARD, R.W. **Principles of plant breeding**. New York: John Wiley & Sons, 1960. 485p.
- ANGELES, O.R.; JOHNSON,S.E.; BURESH, R.J. Soil solution sampling for organic acids in rice paddy soils. **Soil Society American Journal**. v.70, p.48-70, 2005.
- ARMSTRONG, J. & ARMSTRONG, W. Rice and *Phragmites*: effects of organic acids on growth, root permeability, and radial oxygen loss to the rhizosphere. **American Journal of Botany**. v.88, p.1359-1370, 2001.
- AZAMBUJA, I.H.V; VERNETTI JÚNIOR; MAGALHÃES JR, A.M. de. Aspectos socioeconômicos da produção do arroz. In: GOMES, A. da S. & MAGALHÃES JR. de, A.M. (eds.) **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.23-44, 2004.
- BILINSKI, J.J. & FOY, C.D. Differential tolerances of oat cultivars to aluminum in nutrient solutions and in acid soils of plant. **Journal of Plant Nutrition**. v.10, p.129-141, 1987.
- BOHNERT, H.J.; NELSON D.; JENSEN R.G. Adaptations to environmental stresses. **Trends in Biotechnology**. v.14, p.89-97, 1995.
- BOYER, J.S. Plant productivity and environment, **Science**. v.218, p.443-448, 1982.
- CAMARGO, F.A.; ZONTA, E.; SANTOS, G. de A.; et al. Aspectos fisiológicos e caracterização de toxidez a ácidos orgânicos voláteis em plantas. **Ciência Rural**. v.31, p.523-529, 2001.
- CARVALHO, F.I.F. de; SILVA, S.A.; KUREK, A.J. **Estimativas e implicações da herdabilidade como estratégia de seleção**. Pelotas: Ed. Universitária da UFPel, 2001. 99 p.

CASTRO, E.M.; BRESEGHELLO, F.; RANGEL, P.H.; MORAES, O.P. Melhoria do arroz. In: Borém, A. (Ed.) **Melhoramento de espécies cultivadas**. UFV, Viçosa, p. 95-130. 1999.

CHOU, C.H.; PATRICK, Z.A. Identification and phytotoxic activity of compounds produced during decomposition of corn and rye residues in soil. **Journal of Chemistry and Ecology**, v.2, n.3, p.369-383, 1976.

CNA, Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, <http://www.cna.org.br>, acesso em maio de 2006.

DUNCAN, R.R. & BALIGAR, V.C. Genetics, breeding, and physiological mechanisms of nutrient uptake and use efficiency: an overview. In: BALIGAR, V.C. & DUNCAN, R.R. (eds.) **Crops as Enhancers of Nutrient Use**. San Diego: Academic Press, p.3-35, 1990.

FAO, Food and Agriculture Organization, <http://www.fao.org>, acesso em maio de 2006.

GOFF, S.A.; RICHE, D.; LAN, R.H. et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*), **Science**. v.296, p.92-100, 2002.

GROVER, A.; KAPOOR, A.; LAKSHMI, O.S.; et al. Understanding molecular alphabets of the plant abiotic stress responses. **Current Science**. v.80, p.206-216, 2001.

GUIDOLIN, A.F. **Caracterização de genótipos de arroz irrigado por técnicas eletroforéticas**. Pelotas, 1993. 92p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas.

IRGA. Instituto Rio Grandense do Arroz, <http://www.irga.rs.gov.br>, acesso em maio de 2006.

IRGSP, International Rice Genome Sequencing Project. The map-based sequence of the rice genome. **Nature**. v.436, p.793-800, 2005.

IRRI, The International Rice Research Institute, <http://www.irri.org>, acesso em maio de 2006.

KANAMORI, H.; FUJISAWA, M.; HAMADA, M. et al. Status of sequence finishing of the rice genome. In: Plant & Animal Genomes XII Conference. Town & Country Convention Center, San Diego, CA, **Abstracts...** p.6, 2004.

MAGALHÃES JR. A.M. de; FAGUNDES, P.R.; FRANCO, D.F. Melhoramento genético, biotecnologia e cultivares de arroz irrigado. In: MAGALHÃES JR. de, A.M. & GOMES, A. da S. **Arroz irrigado: melhoramento genético, manejo do solo e da água e prognóstico climático**. Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, p.13-33, 2003. (Embrapa Clima Temperado: Documentos, 113).

MAGALHÃES JR. A.M. de; TERRES, A.L.; FAGUNDES, P.R.; et al. Aspectos genéticos, morfológicos e de desenvolvimento de plantas de arroz irrigado. In: GOMES, A. da S. & MAGALHÃES JR. de, A.M. (eds.) **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.143-160, 2004.

MALONE, G.; ZIMMER, P.D.; KOPP, M.M. et al. Assessment of the genetic variability among rice cultivars revealed by amplified fragment length polymorphism (AFLP). **Revista Brasileira de Agrociência**. v.12, p.21-25, 2006.

PINTO, L.F.E.; LAUS, J.A.; PAULETTO, E.A. Solos de várzea no sul do Brasil. In: GOMES, A. da S. & MAGALHÃES JR. de, A.M. (eds.) **Arroz irrigado no sul do Brasil**, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.75-95, 2004.

PONNAMPERUMA, F.N. Dynamic aspects of flooded soils and the nutrition of the rice plant. In: Symposium on the mineral nutrition of the rice plant, 1965, Los Baños. **Proceedings...** Baltimore: IRRI, p.295-328, 1965.

PORTO, M.P. Método de seleção de plantas de milho para tolerância ao encharcamento do solo. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**. v.3, p.187-190, 1997.

RANGEL, P.H.N.; GUIMARÃES, E.P.; NEVES P.C.F. Base genética das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.31, p.349-357, 1996.

RIGATTO, P. & KOHLZ, V.K. Economia da produção. In: PESKE, S.T. et al. **Produção de arroz irrigado**. Pelotas: UFPel, 1998, 555p.

ROBSON, T.W.; TAYLOR, A.B. Effect of acetic acid on the respiration of parts of oat seedlings. **American Journal of Botany**, v.28, n.10, p.135, 1974.

SOUSA, R.O. & BORTOLON, L. Crescimento radicular e da parte aérea do arroz (*Oryza sativa* L.) e absorção de nutrientes em solução nutritiva com diferentes concentrações de ácido acético. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, p.231-235, 2002.

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

WRIGHT, R.J. Soil aluminum toxicity and plant growth. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. v.20, p.1479-1497, 1989.

YU, J.; HU, S.; WANG, J. et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *Indica*). **Science**. v.296, p.79-92, 2002.

## 8. VITA

Mauricio Marini Kopp, nascido no dia 25 de janeiro de 1977 em Pelotas, Rio Grande do Sul (RS). No período de 1992 a 1995 cursou segundo grau técnico profissionalizante na Escola Técnica Federal de Pelotas, Pelotas (RS). Desenvolveu atividades técnicas durante os anos de 1996 e 1997 em Esteio (RS). Ingressou no Curso de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) em 1998, obtendo título de Engenheiro Agrônomo em dezembro de 2002. Foi bolsista de iniciação científica (CNPq) de janeiro de 2000 a dezembro de 2002, sob orientação do professor Antonio Costa de Oliveira, participando ativamente em projetos de pesquisa com mutação em arroz e aveia e técnicas de biologia molecular. Em 2003 ingressou no programa de Mestrado do Centro de Genômica e Fitomelhoramento da FAEM/UFPel. Atendendo os requisitos necessários progrediu ao nível de doutorado em 2004. Entre trabalhos como autor e co-autor, publicou 30 artigos em revistas científicas e cerca de 100 resumos em congressos e reuniões técnicas. Participou de vários projetos de pesquisa relacionado ao melhoramento genético de arroz, aveia, trigo, milho e azevém. Além de coordenar o Laboratório de Genômica do Centro de Genômica e Fitomelhoramento, tendo como orientador o Prof. Ph.D. Antonio Costa de Oliveira.