

ÍNDICES DE CLOROFILA E MANCHA FOLIAR EM FAMÍLIAS MUTANTES DE ARROZ SOB TOXIDEZ POR EXCESSO DE FERRO

DIANA MARCELA HERNANDEZ HERNANDEZ¹; JOSIANE VARGAS DE OLIVEIRA MAXIMINO²; RAYMOND JOSEPH³; VIVIANE KOPP DA LUZ⁴; EDUARDO VENSKE⁵; ANTONIO COSTA DE OLIVEIRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – dianatj6@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – josianemaximino@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – raymondjoseph509@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – vivikp05@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – eduardo.venske@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – acostol@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é a base alimentar de mais de três bilhões de pessoas, sendo considerado um dos alimentos mais importantes para a nutrição humana. Dentre os cereais, o arroz, é o segundo mais cultivado no mundo. O Rio Grande do Sul se destaca como o maior produtor nacional, sendo responsável por cerca de 70% do total produzido no Brasil (SOSBAI, 2018). Um dos fatores que podem prejudicar a produtividade da cultura do arroz irrigado é a toxidez por ferro, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio. Os seus sintomas típicos geralmente, são manchas marrons minúsculas a partir das pontas das folhas que se espalham para as bases inferiores das mesmas (SAHRAWAT et al., 2004; SILVEIRA et al., 2007) e redução na concentração de clorofila (STEIN et al., 2009).

A toxicidade do ferro (Fe) é reconhecida como uma das desordens minerais mais difundidas na produção de arroz de várzea (AUDEBERT; FOFANA, 2009), podendo ocorrer por absorção excessiva (toxidez direta ou bronzeamento) ou por deficiência nutricional múltipla (toxidez indireta ou alaranjamento) (SOSBAI, 2018).

Uma técnica utilizada para incrementar a variabilidade genética para fins de melhoramento é a indução a mutações por tratamentos mutagênicos (SERRAT et al., 2014). Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os níveis de clorofila e de mancha foliar, como sintoma da toxidez direta de ferro em genótipos mutantes de arroz provenientes da cultivar BRS Querência.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Hidroponia no Centro de Genômica e Fitomelhoramento da FAEM/UFPEL. As famílias mutantes são pertencentes a coleção de germoplasma do CGF/FAEM/UFPEL, e foram desenvolvidas através tratamento de sementes de arroz da cultivar BRS Querência com o mutagênico químico, etilmetanossulfonato (EMS), a uma concentração de 1,5% (v/v) (0,15M). Neste estudo foram avaliadas 10 famílias mutantes de arroz pertencentes à geração M₇ (1, 16, 44, 50, 51, 57, 59, 66, 67 e 69) e a cultivar BRS Querência, considerada tolerante a toxidez indireta por ferro.

O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados, com três repetições, contendo dez plantas. As sementes de cada genótipo de arroz foram colocadas em papel de germinação umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel, sendo mantida em câmara germinadora (BOD) a

temperatura de 25°C, durante sete dias. Posteriormente as plantas foram selecionadas quanto ao vigor e uniformidade e logo transferidas para as telas de nylon colocadas e adaptadas nas tampas de vasos de 700 mL, os quais continham solução nutritiva. A solução nutritiva utilizada foi de Yoshida modificada (SINGH et al., 2010). Os recipientes foram colocados no sistema hidropônico em condições controladas, iluminação artificial com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25°C. As plantas permaneceram em solução nutritiva padrão por um período de 7 dias, sendo posteriormente transferidas para soluções com os diferentes tratamentos. Os tratamentos foram constituídos por duas concentrações de ferro: controle (2 mg L⁻¹ de ferro, sendo esta a dose recomendada para o desenvolvimento de plantas) e estresse por Fe (400 mg L⁻¹) acrescidas à solução nutritiva. Na solução de ferro foi utilizado o reagente sulfato ferroso heptaidratado (FeSO₄.7H₂O), preparada com a adição de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), na proporção 1:0,38 molar (Fe:EDTA). Foi realizada a troca da solução nutritiva a cada sete dias. O pH foi ajustado em 4,0, utilizando NaOH ou HCl. O período de permanência das plântulas em solução nutritiva acrescida dos tratamentos foi de 14 dias. Após esse período foram avaliadas as variáveis: clorofila a (Cla), clorofila b (Clb), medido com o auxílio do equipamento digital clorofiLOG Falker, e mancha foliar, avaliada de forma visual, segundo escala adaptada do IRRI (2002), determinando-se uma nota de zero a seis pontos para cada situação, sendo de zero para folhas sem manchas, de 1 para folhas com 1% de mancha, 2 com 1-4% de manchas, 3 contendo 4-10% de manchas, 4 com 11-25% de manchas, 5 com 26-50% da folha contendo manchas, e 6 com 51-100% de manchas na folha.

Para a comparação de médias das variáveis analisadas, foi realizado o desempenho relativo (DR) comparando as plantas sob estresse em relação às plantas sem estresse (controle), de acordo com a equação: $DR = (X \text{ estresse} / X \text{ controle}) \times 100$, onde X representa o valor observado. Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), realizou-se o teste de agrupamento de médias desenvolvido por Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram realizadas com a utilização do programa computacional Genes (CRUZ, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância demonstraram diferenças significativas pelo teste F ($p \leq 0,05$), entre as famílias mutantes e a cultivar BRS Querência para as variáveis analisadas (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância para o desempenho relativo (DR) dos caracteres clorofila a (Cla), clorofila b (Clb) e mancha foliar de 10 famílias mutantes M₇ e a cultivar BRS Querência.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio		
		Cla	Clb	Mancha
Genótipos	10	207,11 *	331,86*	118090,86*
Blocos	2	19,74	16,48	2345,81
Resíduo	20	24,84	29,50	1942,00
Média geral	-	83,1	83,07	352,30
CV (%)	-	6,00	6,54	12,51

* Valores significativos ao nível de 5% de probabilidade de erro. GL: Graus de Liberdade; CV (%): Coeficiente de Variação.

Os resultados obtidos pelo teste de Scott Knott (Tabela 2), evidenciaram variabilidade genética entre as famílias mutantes avaliadas, quando submetidas ao estresse por excesso de ferro. Para todas as variáveis houve a formação de três grupos. Para o desempenho relativo da clorofila a, no grupo C, três famílias apresentaram um desempenho inferior (M_7 51, 57, 69), com médias variando de 66,92 até 76,18, no grupo B, quatro famílias obtiveram comportamento semelhante à BRS Querência (DR Cla = 87,41) (M_7 1, 16, 44, 67); e no grupo A, três famílias (M_7 50, 59, 66) apresentaram um desempenho superior, com médias de 94,48; 91,60; 92,06 respectivamente. Para a variável Clb, no grupo C, as famílias mutantes apresentaram desempenho inferior (M_7 57), no grupo B desempenho médio (M_7 51, 69, 67, 1, 16), variando de 73,25 até 82,13, e no grupo A desempenho superior, BRS Querência (DR Clb = 92,97) e (M_7 44, 50, 59, 66).

Para a variável mancha foliar, no grupo C, pode-se observar cinco famílias (M_7 1, 16, 51, 59, 66), que apresentaram média inferior a BRS Querência (DR Mancha= 385), com médias variando de 120,56 a 202,22, no grupo B, apenas uma família (M_7 44) apresentou média igual a testemunha BRS Querência, sendo que o grupo A, evidenciou quatro famílias com médias superiores (M_7 44,50,57,69), variando entre 544,44 e 602,78.

Estes resultados sugerem que a mutação induzida na cultivar BRS Querência possa ter ocasionado alterações na constituição genética dos indivíduos em genes que controlam a tolerância ao estresse por excesso de ferro nos estágios iniciais de desenvolvimento das plantas (LUZ et al., 2016).

Tabela 2. Desempenho relativo da Clorofila a (Cla), Clorofila b (Clb) e Mancha foliar (MF) de 10 famílias mutantes de arroz e da testemunha BRS Querência.

Famílias	Desempenho relativo (%)		
	Cla	Clb	MF
50	94,48* a	88,21 a	544,44 a
59	91,60 a	94,00 a	178,89 c
66	92,06 a	96,66 a	120,56 c
BRS Querência	87,41 b	92,97 a	385,00 b
1	80,60 b	82,13 b	134,17 c
16	82,27 b	78,23 b	155,55 c
67	83,70 b	73,63 b	412,22 b
44	84,13 b	90,26 a	602,77 a
51	74,63 c	73,25 b	202,22 c
57	66,92 c	62,72 c	602,78 a
69	76,18 c	81,72 b	526,66 a

*Letras iguais na coluna, para cada caráter avaliado, agrupam-se entre si, segundo o teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro.

As famílias mutantes M_7 que obtiveram teor de clorofila superior a cultivar BRS Querência foram as 50, 59 e 66. Já as famílias mutantes M_7 que apresentaram menor número de manchas foliares foram as 66, 59, 51, 16 e 1.

A medição da clorofila tem sido empregada como uma valiosa técnica para sondar a fotossíntese, em estudos relacionados ao excesso de ferro (BECKER; ASCH, 2005). O sintoma típico de manchas foliares foi observado, delimitando as famílias mais sensíveis e as mais tolerantes ao estresse por ferro, sendo uma detecção do efeito visual.

4. CONCLUSÕES

A mutação induzida por etilmetanosulfonato (EMS-1,5% (v/v)), promoveu uma variação no índice de tolerância à toxidez direta por ferro.

No estudo foram encontradas famílias que apresentaram tolerância a toxidez direta de ferro, com potencial para compor programas de melhoramento de arroz.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUDEBERT, Alain; FOFANA, Mamadou. Rice yield gap due to iron toxicity in West Africa. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 195, n. 1, p. 66-76, 2009.
- BECKER, M.; ASCH, F. Iron toxicity in rice – conditions and management concepts. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v.168, p.558-573, 2005.
- CRUZ, C. D. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.
- DUFÉY, I.; HAKIZIMAN, P.; DRAYE, X.; LUTTS, S.; BERTIN, P. QTL mapping for biomass and physiological parameters linked to resistance mechanisms to ferrous iron toxicity in rice. **Euphytica**, v.167, p.143-160, 2009.
- ELEC, V.; QUIMIO, C.A.; MENDOZA, R.; SAJISE, A.G.C.; BEEBOUT, S.E. J.; GREGORIO, G.B.; SINGH, R.K. Maintaining elevated Fe²⁺ concentration in solution culture for the development of a rapid and repeatable screening technique for iron toxicity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Soil**, v. 372, p. 253–264, 2013.
- IRRI, IRRI. Standard evaluation system for rice. **International Rice Research Institute**, Philippine, p. 1-45, 2002.
- LUZ, Viviane Kopp da et al. Identificação de variabilidade para caracteres de importância agrônoma em famílias mutantes de arroz irrigado. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 41-50, 2016.
- OLIVEIRA, D. de C. da S. **Toxidez por ferro em arroz (*Oryza sativa* L.): adequação de protocolo para caracterização de cultivares em sistema hidropônico**. 2013. 138f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. RS.
- SAHRAWAT, K.L. Iron toxicity in Wetland rice and role of other nutrients. **Journal of Plant Nutrition**, v.27, p.1471-1504, 2004.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.
- SERRAT, Xavier et al. EMS mutagenesis in mature seed-derived rice calli as a new method for rapidly obtaining TILLING mutant populations. **Plant Methods**, v. 10, n. 1, p. 1-14, 2014.
- STEIN, R. J. et al. Distinct physiological responses of two rice cultivars subjected to iron toxicity under field conditions. **Annals of Applied Biology**, v. 154, n. 2, p. 269-277, 2009.
- SINGH, R.K.; REDOÑA, E.D.; REFUERZO, L. Varietal improvement for abiotic stress tolerance in crop plants: special reference to salinity in rice. In: PAREEK, A.; SOPORY, S.K.; BOHNERT, H.J.; GOVINDJEE (Eds). **Abiotic stress adaptation in plants: physiological, molecular and genomic foundation**. New York: Springer, 2010. cap.18, p.387 - 415.
- SILVEIRA, V.C.; OLIVEIRA, A.P.; SPEROTTO, R.A.; ESPINDOLA, L.S.; AMARAL, L.; DIAS, J.F.; CUNHA, J.B.; FETT, J.P. Influence of iron on mineral status of two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.19, n.2, p. 127-139, 2007.
- SOSBAI- Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Cachoeirinha: SOSBAI, 2018. 205p.