

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DE GENÓTIPOS DE ARROZ CULTIVADOS *IN VITRO* SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FERRO

CIMA, Francieli F.¹, SOUZA, Tatiane M.¹, SILVA, Patricia S.¹, PETERS, José A.², COSTA DE OLIVEIRA, Antonio¹

¹Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento – FAEM/UFPel, Campus Universitário, s/nº · Caixa Postal 354, 96010-900, Pelotas, RS

²Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia/ UFPel
franci_cima@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

Cultivado e consumido em todos os continentes, o arroz destaca-se pela produção e área de cultivo, desempenhando papel estratégico tanto no aspecto econômico quanto social. O Brasil está entre os dez principais produtores mundiais, sendo o Estado do Rio Grande do Sul o maior produtor de arroz irrigado do país, representando cerca de 63% da produção (CONAB, 2010).

As plantas em condições naturais estão expostas a vários estresses ambientais que afetam seu metabolismo. Dentre esses, o excesso de ferro (Fe) presente em solos inundados é um problema para a agricultura irrigada. Sendo assim, programas de melhoramento realizam a seleção e caracterização de genótipos tolerantes à toxidez por Fe.

Uma proposta para acelerar o processo de seleção de genótipos tolerantes é a utilização das técnicas de cultura *in vitro* (ANDRADE, 2002). Essas técnicas, além de permitirem a comparação de grande número de plantas, são também rápidas e de custo relativamente baixo, possibilitando a identificação de genótipos tolerantes antes da verificação de sua tolerância no campo (NÓBREGA et al., 2004).

O ferro é um micronutriente essencial para as plantas e um componente básico dos meios de cultura, pode ser fornecido a partir de sais ferrosos ou férricos. Uma fonte de ferro utilizada na cultura de tecidos é o EDTA férrico. O etilenodiaminicotetracético (EDTA) férrico (FeSO₄.EDTA) é obtido pela combinação de ácido etilenodiaminicotetracético dissódico com nitrato férrico (BUDAVARI, 1996).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi identificar, por meio de caracteres morfológicos, a resposta de três genótipos de arroz a diferentes concentrações de ferro sob cultivo *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento – UFPel. Para o experimento foram utilizados os genótipos Epagri 108 (tolerante à toxidez por Fe) e BRS Atalanta (sensível à toxidez por Fe), pertencentes ao grupo indica; e Nipponbare pertencente ao grupo japônica e com perfil não definido quanto a tolerância a toxidez por Fe.

As sementes foram desinfestadas em álcool 70% e em solução de cloreto de mercúrio 0,6%, ambos por um minuto, seguidas de três lavagens com água destilada autoclavada, em agitação constante. As sementes foram germinadas em tubos de ensaio contendo meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com metade da concentração de sais e suplementado com 20 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mioinositol e 6 g L⁻¹ de de ágar como geleificante. Os tratamentos consistiram de

sete concentrações de EDTA férrico (T1 = 0mM; T2 = 0,17mM; T3 = 0,34mM; T4 = 0,68mM; T5 = 1,02mM; T6 = 1,36mM e T7 = 1,7 mM de Fe) acrescidas ao meio de cultura MS, em delineamento experimental de blocos ao acaso, compondo um fatorial 3 x 7, com três repetições. Cada parcela foi constituída por cinco tubos de ensaio, contendo uma semente cada. Após o preparo de cada meio, o pH foi ajustado para 5,4, e o meio foi distribuído em tubos de ensaio fechados com papel alumínio e autoclavados a 121 °C, durante 20 minutos.

Posteriormente a inoculação das sementes, as mesmas permaneceram no escuro por 5-6 dias a temperatura de 25°C ± 1°C, para emissão da radícula. Passado esse período, as plântulas foram transferidas para sala de crescimento, com um fotoperíodo de 16 horas e permaneceram no tratamento por 21 dias.

Após 21 dias em cultura, foram avaliadas as seguintes variáveis: comprimento da parte aérea (cm), comprimento da raiz (cm), número de folhas, número de raízes, e a massa seca da parte aérea e da raiz (g). Os dados foram submetidos à análise de variância e tendo ocorrido diferença significativa entre os tratamentos, foi realizado a comparação de médias pelo teste de Tukey (P<0,05) e análise de regressão utilizando o programa estatístico winstat versão 1.0 (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2006).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância, apresentados na Tab.1 demonstram efeito significativo para interação G x T nos caracteres CR, NF, NR e MSPA, indicando que para estes, as cultivares estudadas apresentaram diferenças de comportamento frente ao estresse proposto. Para os efeitos simples de genótipo e tratamento ocorreu efeito significativo para todos os caracteres avaliados indicando variabilidade entre as cultivares.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância para os caracteres comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), número de raízes (NR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR), estudadas nas diferentes concentrações de ferro em três cultivares de arroz. LGF – FAEM/UFPel, 2011.

Fonte de Variação	G.L	Quadrado Médio					
		CPA	NF	NR	CR	MSPA	MSR
Genótipos	2	234,15*	1,60*	29,68*	7,81*	0,0017*	0,00096*
Tratamento	6	101,05*	0,78*	3,39*	9,14*	0,00093*	9,93.10 ^{-b} *
G x T	12	2,25	0,14*	2,26*	1,28*	6,28.10 ^{-b} *	2,14.10 ^{-b}
Erro	40	1,29	0,044	0,68	0,21	2,90.10 ^{-b}	1,61.10 ^{-b}
Total	62						
Cv(%)		7,93	7,58	12,87	9,61	10,39	18,59
Media Geral		14,32	2,76	6,43	4,79	0,052	0,022

*Existem diferenças a 5% de probabilidade

Na análise de comparação de médias (Tab. 2), foi constatado que os tratamentos 1, 2 e 4 a variável NF não apresentou diferença significativa entre os genótipos estudados. Nos tratamentos 2 e 3 o CR também não foi afetado significativamente para os três genótipos. Para a variável NR, os genótipos não diferiram entre si no tratamento 5. Para os demais tratamentos (1, 4, 6 e 7) foram observadas diferenças significativas entre os genótipos, sendo possível distinguir quais foram mais afetados em relação às diferentes concentrações de ferro adicionados no meio de cultura.

Tabela 2 – Análise de médias pelo teste de Tukey para comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), número de raízes (NR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR), estudadas nas diferentes concentrações de ferro em três cultivares de arroz. LGF – FAEM/UFPel, 2011.

Trat.	CPA						NF						CR					
	BRS Atalanta		Nipponbare		Epagri 108		BRS Atalanta		Nipponbare		Epagri 108		BRS Atalanta		Nipponbare		Epagri 108	
1	20,59	A a	16,58	A b	17,11	A b	3,13	A a	3,13	A a	3,20	A a	4,46	BC ab	5,2	AB a	4,08	BC b
2	20,38	A a	14,52	A b	16,56	A b	3,20	A a	2,87	AB a	3,13	AB a	5,6	AB a	5,48	A a	5,21	AB a
3	20,44	A a	14,32	A c	17,16	A b	3,07	A a	2,47	BC b	3,07	AB a	6,5	AB a	6,19	A a	6,15	A a
4	19,91	A a	11,01	B b	13,24	B b	3,00	A a	2,67	AB a	2,67	BC a	6,57	AB a	4,29	BC c	5,22	AB b
5	16,29	B a	9,47	BC b	10,41	BC b	3,00	A a	2,13	C b	2,26	C b	6,09	AB a	3,89	CD b	3,97	C b
6	14,85	B a	7,95	C c	10,55	BC b	3,07	A a	2,00	C b	2,73	ABC a	4,87	BC a	2,99	DE b	4,23	BC a
7	13,63	B a	6,75	C b	8,95	C b	2,73	A a	2,07	C b	2,33	C ab	4,35	C a	2,55	E b	2,73	D b
Trat.	NR						MSPA						MSR					
	BRS Atalanta		Nipponbare		Epagri 108		BRS Atalanta		Nipponbare		Epagri 108		BRS Atalanta		Nipponbare		Epagri 108	
1	8,67	A a	5,13	AB b	7,66	AB a	0,081	A a	0,06	A b	0,07	A b	0,03	A a	0,02	AB b	0,03	A a
2	7,60	A a	4,47	B b	8,00	A a	0,06	B a	0,05	AB b	0,06	AB a	0,03	A a	0,01	ABC b	0,02	AB a
3	7,47	A a	4,60	B b	6,40	ABC a	0,07	B a	0,04	BC b	0,05	BC b	0,03	A a	0,02	AB b	0,02	AB ab
4	7,93	A a	5,67	AB b	6,60	ABC ab	0,07	B a	0,04	BC b	0,05	CD b	0,03	A a	0,02	A b	0,02	AB b
5	7,07	A a	7,13	A a	5,67	BC a	0,06	BC a	0,04	C b	0,04	D b	0,03	A a	0,02	AB b	0,02	AB b
6	7,47	A a	5,20	AB b	6,73	ABC ab	0,05	C ab	0,04	BC b	0,05	CD a	0,03	A a	0,01	CD b	0,02	B a
7	6,80	A a	4,20	B b	4,67	C b	0,05	C ab	0,04	C b	0,04	D ab	0,03	A a	0,01	BC b	0,02	B b

*Médias com mesma letra maiúsculas na mesma coluna (comparação tratamentos) e mesma letra minúscula na mesma linha (comparação genótipo) não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para demonstrar os efeitos das diferentes concentrações de Fe sobre as variáveis estudadas e inferir sobre a manifestação biológica dos referidos resultados, foi realizada a análise de regressão para as variáveis que apresentaram interação significativa entre genótipo e tratamentos.

A variável NF (Fig. 1A) apresentou equação linear com $b_1 = -0,0548$, $b_1 = -0,1881$ e $b_1 = -0,15$ para BRS Atalanta, Nipponbare e Epagri 108, respectivamente, o que permite verificar que com o aumento da concentração de ferro no meio de cultura ocorre a redução no caráter em estudo.

Para CR (Fig. 1B) a equação de regressão foi do tipo quadrática para os três genótipos avaliados. Considerando o modelo matemático $(-b/2c)$ foi possível determinar a concentração máxima de Fe que o genótipo pode tolerar. O genótipo BRS Atalanta é capaz de tolerar uma concentração maior de Fe em relação aos demais genótipos ($0,44 \text{ mM L}^{-1}$) a partir desta concentração começa a ocorrer redução no CR.

Para a variável NR (Fig. 1C) as equações obtidas foram do tipo linear para os genótipos BRS Atalanta e Epagri 108 e do tipo cúbica para Nipponbare. O genótipo Epagri 108 obteve maior efeito quando adicionado uma concentração mais elevada de Fe, sendo para cada 1 mM L^{-1} de Fe adicionado ocorreu um decréscimo no número de raízes de $0,43 \text{ cm}$.

Em relação a MSPA (Fig. 1D), o genótipo BRS Atalanta reduziu a massa seca de forma linear conforme o aumento da concentração de Fe. O genótipo Epagri 108, com equação do tipo quadrática, diminui sua massa seca até a concentração de $1,51 \text{ mM L}^{-1}$, onde acima desta concentração ocorreu um aumento no peso de massa seca.

Em geral, foi possível observar que quanto maior a concentração de ferro adicionado ao meio de cultura, menor foi o crescimento morfológico das plantas. O genótipo BRS Atalanta é considerado uma cultivar, em algumas situações de cultivo, sensível à toxidez ferro na fase vegetativa (ALONÇO et al., 2005). Neste trabalho, ela apresentou um melhor desenvolvimento para o caráter CPA, porém a tolerância ao ferro depende de um conjunto de estratégias de transporte e acúmulo deste elemento e uma análise deve ser feita analisando um conjunto de caracteres.

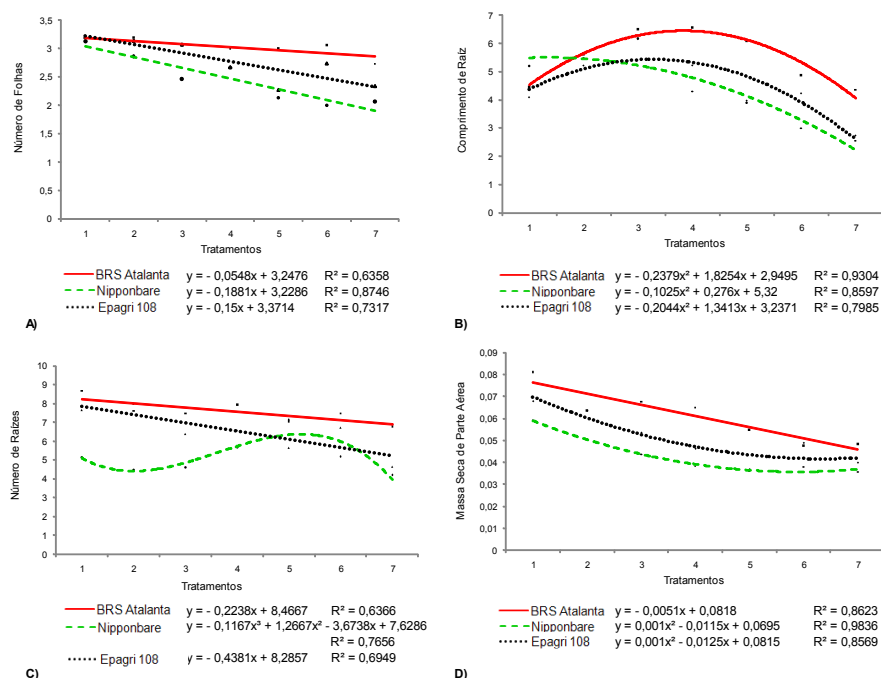


Figura 1 – Regressão para comprimento da raiz (CR), número de folhas (NF), número de raízes (NR), massa seca da parte aérea (MSPA), estudadas nas diferentes concentrações de ferro (tratamentos) em três cultivares de arroz. LGF – FAEM/UFPeI, 2011.

4 CONCLUSÃO

A resposta das três cultivares utilizadas ao excesso de ferro indica que os mecanismos de homeostase diferem entre estas. A cultivar BRS Atalanta apresentou uma resposta linear em três dos quatro caracteres avaliados, enquanto as cultivares Nipponbare e Epagri 108 apresentam respostas não lineares para dois ou mais caracteres tornando difícil discriminar fenotipicamente em sensível e tolerante para os tratamentos utilizados.

5 REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S.R. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina, Documentos/EMBRAPA CERRADOS, p.58, 2002.
- ALONÇO, A. dos S.; SANTOS, A.B. dos; GOMES, A. da S.; GRÜTZMACHER, A. D.; ANDRÉS, A.; et al. **Cultivo do arroz irrigado no Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. (Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção 3).
- BUDAVARI, S. **The Merck index : an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals**. Whitehouse Station, NJ: Merck, 1996.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Disponível em. <www.conab.gov.br>. Acesso em 15/12/2010.
- MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A. R. **WinStat: sistema de análise estatística para Windows**. Universidade Federal de Pelotas, 2006.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, v.15, 473-497, 1962.
- NÓBREGA, R.S.A.; MOTTA, J.S.; LACERDA, A.M. & MOREIRA, F.M.S. Tolerância de bactérias diazotróficas simbióticas à salinidade *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n.4, p. 899-905, 2004.