

# Herança da tolerância ao frio na fase vegetativa em arroz

CAROLINE CABREIRA<sup>1</sup>  
RENATA PEREIRA DA CRUZ<sup>2</sup>

## RESUMO

A temperatura baixa nas fases iniciais de desenvolvimento do arroz é um limitante para o estabelecimento uniforme e rápido da lavoura. Sendo a tolerância ao frio geneticamente herdável, este estudo objetiva determinar a herança da tolerância ao frio na fase vegetativa de desenvolvimento do arroz. Foram utilizados três genótipos da subespécie Japônica e três da subespécie Indica que foram cruzados em um dialelo parcial dando origem a dez populações  $F_2$ . Os dados obtidos após exposição das populações a um período de dez dias a 10°C revelaram que nas populações tolerante x sensível estudadas há dois genes independentes e com alelos dominantes segregando para tolerância ao frio. Já nas populações envolvendo os genótipos sensíveis ou com reação intermediária ao frio há um a dois genes complementares com alelos recessivos segregando para esta característica.

**Palavras-chave:** temperatura baixa, sobrevivência de plantas, estágio  $V_4$ .

## ABSTRACT

The low temperature at early stages of rice development is a limiting factor for the rapid and uniform establishment of crops. As the cold tolerance is genetically inheritable, this study aims to determine the inheritance of cold tolerance during the vegetative stage of rice development. Three genotypes of the three subspecies Japonica and Indica

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas (Bacharelado)/ UNISINOS, Bolsista CNPq, Equipe de Melhoramento Genético, Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) ccabreira@pop.com.br

<sup>2</sup> Pesquisadora Equipe de Melhoramento Genético, Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA)

*subspecies were used, which were crossed in a partial diallel giving rise to ten F2 populations. The data obtained after the exposure of the populations for a period of ten days at 10°C revealed that there are two independent genes and dominant alleles segregating for cold tolerance in the sensitive x tolerant populations studied. In relation to the genotypes involving populations with sensitive or intermediate reaction to cold there are two additional genes with recessive alleles segregating this trait.*

**Keywords:** low temperature, survival of plants, stadium V<sub>4</sub>.

## INTRODUÇÃO

O arroz é uma espécie altamente cultivada em diversas regiões do mundo e temperaturas inadequadas para seu desenvolvimento condicionam um dos principais limitantes à expressão do potencial de rendimento dos cultivares no Rio Grande do Sul (RS). Segundo Yoshida (1981), a faixa de temperatura ótima se encontra entre 25°C e 30°C e temperaturas inferiores a 20°C podem ser prejudiciais. As baixas temperaturas podem ocorrer em todas as fases de desenvolvimento da cultura, sendo que os maiores danos ao rendimento de grãos são observados quando o “frio” ocorre na fase reprodutiva. Além das perdas em rendimento, deve-se considerar também a elevação dos custos de produção como um componente importante deste problema em arroz irrigado, uma vez que com a ocorrência deste estresse os insumos aplicados deixam de ser traduzidos em rendimento de grãos. No RS, a necessidade de tolerância ao frio está principalmente relacionada à origem tropical (Índica) dos genótipos e à localização geográfica (subtropical). Assim, a obtenção de genótipos tolerantes ao frio nas fases de germinação e vegetativa é de extrema importância para que se garantam os benefícios do plantio antecipado, considerado um dos principais fatores para obtenção de altos níveis de rendimento de grãos.

O melhoramento genético para tolerância a baixa temperatura é uma forma de minimizar os danos

causados por esse estresse. Na fase vegetativa, a tolerância ao frio relacionada à prevenção da clorose em cultivares Japônicas é controlada por um a dois genes maiores (KWAK et al., 1984) e segregação monogênica na geração F<sub>2</sub> também foi relatada (NAGAMINE; NAKAGAHARA, 1991). Em um estudo de detecção de QTLs (Quantitative Trait Loci) para tolerância ao frio na fase vegetativa, um QTL responsável por aproximadamente 40% da variação fenotípica observada foi localizado no cromossomo 12 (ANDAYA; MACKILL, 2003). Os resultados disponíveis parecem apontar, portanto, para uma herança simples da tolerância ao frio, porém foram desenvolvidos com genótipos distintos dos usados nos programas de melhoramento do RS.

A análise da tolerância ao frio na fase vegetativa (SRINIVASULU; VERGARA, 1988; KAW, 1991; BERTIN et al., 1996, ROSSO et al., 2007) submete as plantas a estresse, combinando temperaturas que variam de 10° a 20°C por períodos de três até 22 dias. A avaliação da tolerância ocorre através da medição da estatura e índice de emergência, porcentagem de sobrevivência das plântulas (após um período sob temperatura normal) e grau de descoloração foliar.

A instabilidade da temperatura é um dos problemas enfrentados para seleção a campo de genótipos tolerantes ao frio e este fator tem contribuído para um avanço lento nas pesquisas. Nesse sentido, o Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) dispõe de

uma metodologia para avaliar a tolerância ao frio na fase vegetativa (ROSSO et al., 2007) em ambiente controlado. Para maximizar o uso dessa ferramenta, é vital o conhecimento da herança da tolerância ao frio, definindo a melhor estratégia de seleção.

O objetivo desse trabalho é verificar a herança da tolerância ao frio na fase vegetativa de desenvolvimento do arroz.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação Experimental do Arroz no IRGA em Cachoeirinha/RS. Foram utilizados seis genótipos de arroz, sendo três pertencentes à subespécie Japônica (Alan, Rizabela e L2825CA) e tolerantes ao frio e três pertencentes à subespécie Indica (INIA Olimar, IRGA 424 e IRGA 2852-20-4-3-3V), sensíveis ou com tolerância intermediária ao frio. Foram avaliadas dez populações resultantes dos cruzamentos entre esses seis genótipos. As sementes  $F_1$ , obtidas na safra 2007/08, foram cultivadas no inverno de 2008 em casa-de-vegetação para obtenção das sementes  $F_2$ . A instalação do experimento iniciou pela seleção das sementes  $F_2$  e dos genitores. A instalação do experimento foi iniciada pela seleção das sementes da geração  $F_2$  e dos dois genitores, utilizando-se somente sementes bem formadas e livres de contaminação aparente por fungos. As mesmas foram distribuídas sobre papel germinador em placas de Petri. Foi preparada uma solução fungicida (Vitavax – Thiram 200 SC) na concentração de 50mg/L para umedecimento do papel germinador e a seguir as placas de Petri foram colocadas em câmara BOD à 28°C durante sete dias. Após, as sementes pré-germinadas foram transplantadas para bandejas contendo solo orgânico. Foram utilizadas três bandejas por população,

cada bandeja com 130 plantas  $F_2$  e dez plantas de cada genitor. Os genitores foram incluídos como testemunhas nos experimentos por apresentarem reação conhecida ao frio. Após os transplantes, as bandejas foram mantidas em casa-de-vegetação (28°C) até as plantas atingirem o estágio  $V_4$  da escala de Counce (COUNCE et al., 2000). Neste momento, as bandejas foram transferidas para a sala climatizada e permaneceram dez dias sob estresse de 10°C. Ao fim deste período, o material foi levado para a casa-de-vegetação e após sete dias de recuperação, foi feita a avaliação da sobrevivência das plantas.

Os genitores foram avaliados pela análise de variância da porcentagem de sobrevivência de plantas em um delineamento em blocos casualizados com número variável de repetições. O número de repetições para cada genitor variou devido ao fato de que alguns genitores estavam incluídos em três cruzamentos (o que equivaleu a três repetições) e outros, por exemplo, estavam incluídos em seis (equivalendo a seis repetições) e todas as repetições (cruzamentos) em que apareciam foram incluídas na Anova. A comparação de médias dos genitores foi feita pelo teste dos mínimos quadrados (SAS, 2000). Nas populações  $F_2$  foi feita contagem do número de plantas sobreviventes e não sobreviventes e os dados foram submetidos ao teste de Qui-quadrado para verificar seu ajuste às proporções teóricas esperadas para um e dois genes independentes segregando e dois genes com epistasia. Os valores do Qui-quadrado foram obtidos pela fórmula:

$$\chi^2 = \sum [(F_o - F_e)^2 / F_e], \text{ onde:}$$

$F_o$  = frequência observada para cada classe;

$F_e$  = frequência esperada para cada classe, com base na proporção mendeliana.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da porcentagem de sobrevivência de plantas dos seis genitores utilizados neste estudo demonstra uma ampla variação, conforme análise Anova (Tabela 1). Obteve-se desde 2,5% de sobrevivência no genitor sensível IRGA 424 até 97,7% no genitor tolerante Rizabela (Tabela 2). Observa-se que os genitores Rizabela, L2825CA e Alan apresentaram tolerância ao frio, com sobrevivência acima de 70%; a cultivar INIA Olimar apresentou reação intermediária ao frio, com sobrevivência entre 30 e 70% e a cultivar IRGA 424 e a linhagem IRGA 2852-20-4-3-3V se mostraram sensíveis ao frio com sobrevivência abaixo de 30% (Tabela 2).

**Tabela 1** - Análise de variância da porcentagem de sobrevivência dos genitores estudados. IRGA, 2009.

Causas de Variação	GL	QM
Genótipo	5	10.207,17**
Bloco	8	145,97
Erro	27	114,74
Total	40	

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

CV(%) = 19,8%

R<sup>2</sup> = 0,94

Os resultados de sobrevivência da geração F<sub>2</sub> revelaram que nos cruzamentos em que há pelo menos um genótipo tolerante houve elevada

sobrevivência de plantas (Tabela 3), o que indica claramente uma relação de dominância da tolerância sobre a sensibilidade ao frio nos cruzamentos estudados. Nos cruzamentos envolvendo genótipos intermediários e sensíveis, houve, como esperado, predomínio de plantas mortas, sendo que no cruzamento entre os dois genótipos sensíveis, não houve sobrevivência de plantas (Tabela 3).

Os cruzamentos entre os genótipos tolerantes evidenciaram um gene e dois genes dominantes para tolerância ao frio segregando nas populações ALAN x RIZABELA e RIZABELA x L2825CA, respectivamente, enquanto que o cruzamento ALAN x L2825CA não se adequou a nenhuma das proporções testadas (Tabela 3).

**Tabela 2** - Porcentagem de sobrevivência de plantas dos seis genitores utilizados no estudo da tolerância ao frio na fase vegetativa em arroz. IRGA, 2009.

Genótipo	Média
RIZABELA	97,7 a
L2825CA	83,3 b
ALAN	81,8 b
INIA OLIMAR	56,6 c
IRGA 2852-20-4-3-3V	22,2 d
Ir IRGA 424	2,5 e

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste dos mínimos quadrados ( $\alpha = 0,05$ )

**Tabela 3** - Número de plantas sobreviventes, não-sobreviventes, total e teste Qui-quadrado para dez populações F<sub>2</sub> de arroz avaliadas para tolerância ao frio na fase vegetativa. (IRGA, 2009)

Cruzamento	Número de plantas			Qui Quadrado		
	Sobreviventes	Não sobreviventes	Total	3:1	15:1	9:7
ALAN (T) x RIZABELA (T)	277	107	384	1,7	306,1**	39,4**
ALAN (T) x L2825CA (T)	334	39	373	42,1**	11,3**	168,0**
RIZABELA (T) x L2825CA (T)	365	13	378	93,7**	5,1	249,6**
ALAN (T) x IRGA 424 (S)	363	17	380	85,4**	2,0	238,2**
ALAN (T) x IRGA 2852-20-4-3-3V (S)	367	17	384	86,7**	2,2	241,3**
RIZABELA (T) x IRGA 2852-20-4-3-3V (S)	231	6	237	63,8**	5,6	163,6**
L2825CA (T) x IRGA 2852-20-4-3-3V (S)	368	17	385	87,0**	2,2	242,1**
IRGA 424 (S) x INIA OLIMAR (I)	12	321	333	905,3**	4,1	219,0**
IRGA 2852-20-4-3-3V (S) x IRGA 424 (S)	0	358	358	1074,0**	23,4**	279,6**
IRGA 2852-20-4-3-3V (S) x INIA OLIMAR (I)	114	127	241	98,6*	696,8**	1,4

$\chi^2_{0,01(1)} = 6,64$

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade, portanto, cruzamentos não enquadrados nas hipóteses testadas.

Os cruzamentos envolvendo um genótipo tolerante e um genótipo sensível ao frio apresentaram segregação compatível com a esperada no caso de dois genes independentes com alelos dominantes para tolerância (Tabela 3). O cruzamento entre o genótipo intermediário INIA Olimar e o sensível IRGA 424 evidenciou dois genes independentes com alelos recessivos segregando para tolerância ao frio, enquanto que no cruzamento IRGA 2852-20-4-3-3V x INIA Olimar, dois genes recessivos complementares explicaram a segregação observada.

Apesar da cultivar IRGA 424 e a linhagem IRGA 2852-20-4-3-3V serem consideradas sensíveis, esta última apresentou porcentagem de sobrevivência em torno de 20%, enquanto que o genótipo IRGA 424 praticamente não apresentou sobrevivência. Os resultados parecem indicar que a cultivar INIA Olimar apresenta dois genes recessivos para a tolerância ao frio que se manifestam no cruzamento com IRGA 424. Já quando cruzada com a linhagem

IRGA 2852-20-4-3-3V parece haver complementaridade de genes, indicando que esta linhagem deve possuir um gene recessivo que interage com os genes de INIA Olimar, aumentando a porcentagem de sobrevivência de plantas (Tabela 3). Este gene não se manifesta quando a linhagem IRGA 2852-20-4-3-3V é cruzada com a cultivar IRGA 424, que não apresenta nenhum gene de tolerância.

A análise de Qui-quadrado realizada mostra que nas populações estudadas há um a dois genes conferindo a tolerância ao frio, caracterizando uma herança qualitativa, conforme já relatado anteriormente (KWAK et al., 1984; NAGAMINE; NAKAGAHARA, 1991). Assim, a seleção para este caráter pode ser realizada em gerações segregantes precoces, como a F<sub>2</sub> ou F<sub>3</sub>. Porém, o fato da tolerância ser condicionada por genes dominantes, implica em utilizar populações maiores e teste de progênie para o avanço das gerações e fixação desta característica.

## CONCLUSÃO

A tolerância ao frio na fase vegetativa em arroz apresenta uma herança simples condicionada por um a dois genes dominantes com segregação independente no caso dos genótipos tolerantes, ou por genes recessivos e complementares no caso dos genótipos com reação intermediária ou de sensibilidade ao frio.

## AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC/ CNPq pela concessão de bolsa para desenvolvimento desse trabalho.

## REFERÊNCIAS

ANDAYA, V.C.; MACKILL, D.J. QTLs conferring cold tolerance at the booting stage of rice using recombinant inbred lines from a japonica x indica cross. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 106, p. 1084-1090, 2003.

BERTIN, P. et al. Evaluation of chilling sensitivity in different rice varieties. Relationship between screening procedures applied during germination and vegetative growth. **Euphytica**, v. 89, p. 201-210, 1996.

COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, v. 40, p. 436-443, 2000.

KAW, R.N. Genetic parameters of cold tolerance in rice. **Indian Journal of Genetics**, v. 51, p. 59-65, 1991.

KWAK, T.S. et al. Inheritance of seedling cold tolerance in rice. **Sabao Journal**, v. 16, p. 83-86, 1984.

NAGAMINE, T.; NAKAGAHARA, M. Genetic control of chilling injury in rice seedlings detected by low-temperature treatment. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 2, 1991, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 1991. p.737-739.

ROSSO, A.F.de et al. Phenotypic characterization of an *indica* x *japonica* irrigated rice (*Oryza sativa* L.) population for cold tolerance. In: TEMPERATE RICE CONFERENCE, 4, 2007, Novara. **Proceedings...** Novara, 2007.

SAS INSTITUTE. **System for Information:** Versão 8.0. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2000.

SRINIVASULU, K.; VERGARA, B.S. Screening of upland and short duration rice varieties for cold tolerance at seedling emergence stage. **Oryza**, v. 25, p. 87-90, 1988.

YOSHIDA, S. Growth and development of the rice plant. In: \_\_\_\_\_. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981. cap.1, p.1-63.