

6. HERANÇA DA TOLERÂNCIA AO FRIO NA FASE VEGETATIVA EM ARROZ

Caroline Cabreira⁷, Renata Pereira da Cruz²

Palavras-chave: temperatura baixa, sobrevivência de plantas, estágio V₄

INTRODUÇÃO

O arroz é uma espécie altamente cultivada em diversas regiões do mundo e temperaturas inadequadas para seu desenvolvimento podem ocasionar perdas significativas em rendimento de grãos e, em consequência, reduções em nível econômico. Segundo Yoshida (1981) a faixa de temperatura ótima para a cultura se encontra entre 25°C e 30°C e temperaturas inferiores a 20°C, dependendo do estágio de desenvolvimento, são prejudiciais. No Rio Grande do Sul, a necessidade de tolerância ao frio está principalmente relacionada à origem tropical (Indica) dos genótipos e à localização geográfica (subtropical). A obtenção de genótipos tolerantes ao frio nas fases iniciais de germinação e vegetativa é de extrema importância para o estabelecimento uniforme e rápido da lavoura em semeaduras no início da primavera, como recomendado atualmente pela pesquisa.

Geralmente os maiores níveis de tolerância ao frio são relatados em genótipos da subespécie Japônica (MACKILL & LEI, 1997), sendo estes utilizados como as principais fontes de tolerância nos programas de melhoramento. No entanto, no processo de melhoramento, o progresso genético obtido e as estratégias a serem adotadas dependerão em grande parte da herdabilidade da característica. 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), sendo que segregação monogênica para tolerância às temperaturas baixas na geração F₂ foi também relatada (NAGAMINE & NAKAGAHRA, 1991). Em um estudo relacionado à detecção de QTLs 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 na fase vegetativa, no entanto estes estudos foram desenvolvidos com genótipos distintos dos usados rotineiramente nos programas de melhoramento do sul do Brasil, e neste caso, o comportamento da herança pode ser diferente. Atualmente o Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) dispõe de uma metodologia para avaliação da tolerância ao frio na fase vegetativa sob ambiente controlado (ROSSO et al., 2007). Para se maximizar o uso dessa ferramenta é importante o conhecimento da herança da tolerância ao frio, para que assim se possa definir a melhor estratégia de seleção a ser adotada, ou seja, se em gerações iniciais ou em linhagens avançadas.

O objetivo desse trabalho foi 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 em Cachoeirinha. Foram utilizados seis genótipos de arroz, sendo três pertencentes à subespécie Japônica tolerantes ao frio (Alan, Rizabela e L2825CA), e três pertencentes à subespécie Indica, com sensibilidade ou reação intermediária ao frio (INIA Olimar, IRGA 424 e IRGA 2852-20-4-3-3V). Foram avaliadas dez populações resultantes dos cruzamentos entre esses seis genótipos. As sementes F₁ foram obtidas na safra 2007/08 e durante o inverno de 2008 as plantas F₁ foram cultivadas em casa-de-vegetação para obtenção das sementes F₂. A instalação do experimento foi iniciada pela seleção das sementes da geração F₂ 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

⁷ Graduanda em Ciências Biológicas Bacharelado- UNISINOS, Bolsista CNPq Equipe de Melhoramento Genético do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), Av. Bonifácio Carvalho Bernardes, 1494, CEP 94.930-090, Cachoeirinha, RS, Brasil. email : ccabreira@pop.com.br

² Dra., Pesquisadora do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA)

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 este período as sementes pré-germinadas foram transplantadas em bandejas contendo solo orgânico. Foram utilizadas três bandejas por população, cada bandeja com 130 plantas F₂ e dez plantas de cada genitor. Os genitores foram incluídos como testemunhas nos experimentos por apresentarem reação conhecida ao frio. Após a realização dos transplantes todas as bandejas foram mantidas em casa-de-vegetação (28°C) até as plantas atingirem o estágio V₄. Neste momento, as bandejas foram transferidas para a sala climatizada, onde permaneceram por dez dias a 10°C. Após este período, o material foi novamente levado para a casa-de-vegetação, onde após sete dias de recuperação a 28°C, foi feita a avaliação da sobrevivência das plantas.

Os genitores foram avaliados pela análise de variância da porcentagem de sobrevivência de plantas num 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 em função do número variável de repetições (SAS, 2000).

Nas populações F₂ foi feita uma contagem do número de plantas sobreviventes e não sobreviventes e os dados obtidos 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 teste de 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). Assim, de acordo com os resultados obtidos observa-se que os genitores Rizabela, L2825CA e Alan apresentaram reação de tolerância ao frio, com porcentagem de 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).

Os resultados obtidos com relação à avaliação da sobrevivência de plantas da geração F₂ após a exposição à temperatura de 10°C revelaram que nos cruzamentos em que há pela menos um genótipo tolerante envolvido houve um predomínio de plantas vivas em relação às mortas (Tabela 3). Isto indica claramente uma relação de dominância dos alelos que condicionam a tolerância sobre os envolvidos na sensibilidade ao frio nos cruzamentos estudados.

Nos dois cruzamentos envolvendo um genótipo sensível e o intermediário houve, como esperado, predomínio de plantas mortas, sendo que no cruzamento entre os dois genótipos sensíveis ao frio não houve sobrevivência de plantas, todas morreram após a exposição ao frio.

Tabela 1. Análise de variância da porcentagem de sobrevivência dos genitores estudados.

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%

R² = 0,94

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

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	2,5e

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 ajuste do teste de Qui-quadrado para dez populações F₂ de arroz avaliadas quanto à tolerância ao frio na fase vegetativa.

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

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

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

Os cruzamentos entre os genótipos tolerantes evidenciaram a presença de um gene e dois genes atuando na herança da tolerância ao frio (interação alélica de dominância), segregando nas populações ALAN (T) x RIZABELA (T) e RIZABELA (T) x L2825CA (T), respectivamente, enquanto que o cruzamento ALAN (T) x L2825CA (T) não se adequou a nenhuma das proporções testadas (Tabela 2).

Com relação aos cruzamentos envolvendo um genótipo tolerante e um genótipo sensível ao frio, todos mostraram segregação compatível com a esperada no caso de dois genes independentes e dominantes de tolerância (Tabela 3).

O cruzamento entre o genótipo intermediário INIA Olimar e o sensível IRGA 424 evidenciou dois genes independentes segregando para tolerância ao frio, enquanto que no cruzamento entre INIA Olimar e o outro genótipo sensível, a linhagem IRGA 2852-20-4-3-3V, a epistasia recessiva dupla entre os dois genes pode ser uma explicação para a segregação observada. Estes resultados são interessantes porque apesar de a cultivar IRGA 424, assim como a linhagem IRGA 2852-20-4-3-3V, serem consideradas sensíveis, esta última apresenta uma porcentagem de sobrevivência em torno de 20% enquanto que o genótipo IRGA 424 se mostra bem mais sensível, praticamente não apresentando sobrevivência de plantas. Assim, os resultados obtidos parecem indicar que a cultivar INIA Olimar, com reação intermediária ao frio, apresenta dois genes com alelos recessivos para a tolerância ao frio, os quais se manifestam no seu cruzamento com IRGA 424. Já quando cruzada com a linhagem IRGA 2852-20-4-3-3V parece haver complementariedade de genes, indicando que esta linhagem deve possuir um gene cujo alelo recessivo interage com os genes da INIA Olimar aumentando a porcentagem de sobrevivência de plantas (Tabela 3). Este gene não se manifesta quando cruzada com a cultivar IRGA 424, que não apresenta nenhum gene de tolerância.

Este é um trabalho preliminar, em que a observação das proporções de plantas sobreviventes e não-sobreviventes de cada cruzamento, indicou apenas ser necessário o teste de adequação para um e

dois genes independentes e dois genes complementares de diferença entre os genitores. Ele será continuado pela avaliação das famílias F₃ dos cruzamentos tolerante x sensível, as quais permitirão a avaliação de um número maior de plantas representando cada indivíduo F₂ e a identificação de heterozigotos.

Apesar da metodologia utilizada restringir os indivíduos avaliados a somente duas classes, ela foi utilizada por ser a forma de avaliação que vem sendo usualmente empregada pelo Programa de Melhoramento Genético do IRGA e, por isso, permitir verificar a proporção de genes segregando nas populações de interesse.

Assim, mesmo de forma preliminar, a análise de Qui-quadrado realizada indica que, nas populações estudadas, há um a dois genes conferindo a tolerância ao frio, caracterizando uma herança qualitativa, conforme já descrito na literatura (KWAK et al., 1984; NAGAMINE & NAKAGAHRA, 1991). Isto demonstra que a seleção para este caráter pode ser realizada em gerações segregantes precoces, porém, o fato da tolerância ser condicionada por genes com alelos dominantes implica em utilizar populações maiores e teste de progênie para o avanço das gerações e fixação desta característica.

CONCLUSÕES

Nas populações tolerante x sensível estudadas há dois genes independentes e com alelos dominantes segregando para tolerância ao frio, enquanto que 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.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

KWAK, T.S.; VERGARA, B.S.; NANDA, J.S.; COFFMAN, W.R. Inheritance of seedling cold tolerance in rice. **Sabao Journal**, v.16, p. 83-86, 1984. NAGAMINE, T., NAKAGAHRA, 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, 844p.p.737-739.

MACKILL, D.J., LEI, X. Genetic variation for traits related to temperate adaptation of rice cultivars. **Crop Science**, Madison, v.37, p.1340-1346, 1997.

NAGAMINE, T.; NAKAGAHRA, 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; CRUZ, R.P. da; LOPES, S.I.G.; LOPES, M.C.B.; FEDERIZZI, L.C. Phenotypic characterization of an *indica x japonica* irrigated rice (*Oryza sativa* L.) population for cold tolerance. In: BOCCHI, S.; FERRERO, A.; PORRO, A. (Eds) Fourth Temperate Rice Conference. **Proceedings...** Novara, 2007.

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

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños:International Rice Research Institute, 1981.

Cap.1: Growth and development of the rice plant: p.1-63