

## AVALIAÇÃO DE FAMÍLIAS MUTANTES DE ARROZ QUANTO A TOXIDEX POR EXCESSO DE FERRO

PEDRO AUGUSTO DONATO BACELAR<sup>1</sup>; DIANA MARCELA HERNANDEZ HERNANDEZ<sup>2</sup>; RAYMOND JOSEPH<sup>3</sup>; VIVIANE KOPP DA LUZ<sup>4</sup>; EDUARDO VENSKE<sup>5</sup>; ANTONIO COSTA DE OLIVEIRA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [pedro\\_bacelar81@hotmail.com](mailto:pedro_bacelar81@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [dianatj6@gmail.com](mailto:dianatj6@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [raymondjoseph509@gmail.com](mailto:raymondjoseph509@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [vivikp05@hotmail.com](mailto:vivikp05@hotmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [eduardo.venske@yahoo.com.br](mailto:eduardo.venske@yahoo.com.br)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [acostol@gmail.com](mailto:acostol@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais com maior importância no mundo e seu cultivo ocorre em todos os continentes. Na região sul do Brasil, o Rio Grande do Sul é o principal produtor do cereal sob sistema irrigado, sendo que uma das principais características desse sistema é a manutenção de uma lâmina de água sobre o solo durante a maior parte do desenvolvimento da cultura (SOSBAI, 2018). As plantas de arroz são propensas à toxidez por ferro quando cultivadas em condições de inundação. O alagamento do solo diminui o oxigênio disponível, tornando o ambiente anóxico e redutor. O ferro, que em ambiente aeróbico e de pH neutro encontra-se quelado na matéria orgânica do solo na forma de Fe<sup>+3</sup> (íon férrico), é reduzido a íons ferrosos (Fe<sup>+2</sup>). Esta forma reduzida é mais solúvel e desta forma, é mais facilmente absorvida pelas raízes das plantas (BECKER; ASCH, 2005; STEIN et al., 2019).

Vários efeitos da toxidez por ferro (Fe) têm sido relatados na literatura, sendo dois tipos bem distintos, um devido à absorção excessiva e posterior acúmulo de ferro nos tecidos vegetais (toxidez direta ou verdadeira); outro devido a precipitação de ferro sobre a epiderme das raízes do arroz (capa férrica) bloqueando à absorção pelas plantas de diversos nutrientes (toxidez indireta), resultando em múltiplas deficiências nutricionais (SILVEIRA et al., 2007; STEIN et al., 2019). As plantas submetidas a condições de alto teor de ferro podem apresentar redução no crescimento, manchas foliares (bronzamento), bordas das folhas manchadas, redução no desenvolvimento do sistema radicular e escurecimento das raízes. Em casos graves, o estresse pode contribuir para uma drástica redução no rendimento, com perdas de até 100% (SAHRAWAT, 2004; ELEC et al., 2013, BRESOLIN et al., 2019). Uma alternativa econômica e eficiente de contornar o problema é o emprego de cultivares tolerantes.

A utilização de agentes mutagênicos para induzir mutações em plantas é uma ferramenta importante no melhoramento de plantas, por permitir a criação de variabilidade. A identificação de variabilidade genética para toxidez por ferro, é uma etapa necessária ao programa de melhoramento de arroz irrigado para fins de seleção. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a tolerância ao estresse por ferro em famílias de mutantes de arroz em sistema hidropônico.

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de hidroponia pertencente ao Centro de Genômica e Fitomelhoramento da FAEM/UFPEL. Neste estudo foram

avaliadas 10 famílias mutantes de arroz pertencentes à geração M<sub>7</sub> (1, 16, 44, 50, 51, 57, 59, 66, 67 e 69) e a cultivar BRS Querência (controle). 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).

O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados, com três repetições de 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 de 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 a 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 16h e temperatura de 25°C. As plantas permaneceram em solução nutritiva padrão por um período de 7 dias, sendo posteriormente transferidas para os tratamentos. Os tratamentos foram constituídos por duas concentrações de ferro: controle (2 mgL<sup>-1</sup> de ferro, sendo esta a dose recomendada para o desenvolvimento de plantas) e estresse por Fe (400 mgL<sup>-1</sup>) acrescidas à solução nutritiva. Na solução de ferro foi utilizado o reagente sulfato ferroso heptaidratado (FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) preparada com a adição de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), na proporção 1:0,38 molar (Fe:EDTA). A solução nutritiva foi trocada a cada sete dias para garantir que as concentrações dos nutrientes e de ferro estivessem nas mesmas faixas próximas dos valores preestabelecidos. 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: comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA).

Para a comparação de médias das variáveis analisadas, foi feito o desempenho relativo (DR) comparando as plantas sob estresse em relação às plantas sem estresse (controle), de acordo com a equação:  $DR = (X_{\text{estresse}} / X_{\text{controle}}) \cdot 100$ , onde X representa o valor observado. Os dados foram submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ), e a comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Dunnett 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 estudadas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância para o desempenho relativo (DR) dos caracteres comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA) de 10 famílias mutantes M<sub>7</sub> e a testemunha BRS Querência.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio	
		CR	CPA
Genótipos	10	692,40*	669,14*
Blocos	2	9,95	2,07
Resíduo	20	23,33	12,49
Média geral	-	64,54	80,32
CV (%)	-	7,48	4,40

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

Os resultados obtidos pelo teste de Dunnett (Tabela 2), para os caracteres avaliados evidenciaram variabilidade genética entre as famílias avaliadas, quando submetidas ao estresse por excesso de ferro. Para o desempenho relativo do comprimento de raiz (Tabela 2) em relação à BRS Querência pode-se observar que seis famílias tiveram um comportamento semelhante ao da testemunha (DR CR = 67,60); sendo que três famílias apresentaram um desempenho inferior, com médias variando de 40,92 até 54,73 e apenas uma família (M<sub>7</sub> 50) apresentou um desempenho superior ao da testemunha, com média de 96,67. Para a variável CPA, pode ser verificada a existência de sete famílias com desempenho superior ao da testemunha BRS Querência (DR CPA = 71,67), com médias de DR CPA variando de 82,75 até 96,45. Já duas famílias apresentaram um comportamento semelhante à testemunha, sendo que apenas uma família (M<sub>7</sub> 44) apresentou média inferior à testemunha com DR CPA de 45,05.

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.

**Tabela 2.** Desempenho relativo (%) dos caracteres comprimento de raiz (CR) e comprimento de parte aérea (CPA) de 10 famílias mutantes M<sub>7</sub>, em relação a testemunha BRS Querência.

Famílias	Desempenho relativo (%)	
	CR	CPA
1	74,44	82,75*
16	40,92*	67,80
44	56,99	45,05*
50	96,67*	85,77*
51	66,91	83,06*
57	54,73*	94,04*
59	77,50	95,43*
66	63,26	76,61
67	47,84*	84,90*
69	62,95	96,45*
BRS Querência	67,70	71,67

\*Médias estatisticamente diferentes (Dunnett p≤0,05) da testemunha BRS Querência.

Cabe salientar que características relacionadas às raízes possuem comportamentos distintos quando a planta é submetida a algum estresse. No estresse por excesso de ferro, a raiz é o primeiro órgão da planta que entra em contato direto com o metal, tornando-se o primeiro alvo da toxicidade por Fe, ocorrendo redução no comprimento, na quantidade de raízes emitidas, e em alguns

caso aumento da espessura, sendo estas características comumente utilizadas como referência para discriminar genótipos sensíveis de tolerantes (BECKER; ASCH, 2005; SOUSA et al., 2006; ELEC et al., 2013; OLIVEIRA, 2013). As plantas quando submetidas a altas concentrações de ferro, tendem a ter seu crescimento reduzido, devido à disfunção fisiológica causada pelo estresse. A redução do conteúdo de água causada por sua menor absorção pelas raízes limita a taxa de transpiração, fazendo com que ocorra o fechamento dos estômatos, afetando diretamente a taxa de troca de CO<sub>2</sub> e a função fotossintética (DUFHEY et al., 2009)

#### 4. CONCLUSÕES

A mutação induzida por etilmetanosulfonato (EMS-1,5% (v/v)), promoveu um aumento no índice de tolerância à toxidez por ferro, pela ocorrência de mutações que afetaram forma positiva o desempenho de algumas famílias mutantes.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- BRESOLIN, A.P.S.; DOS SANTOS, R.S.; WOLTER, R.C.D.; SOUSA, R. O.; MAIA, L.C.; OLIVEIRA DE, A.C. Iron tolerance in rice: an efficient method for performing quick early genotype screening. **BMC Research Notes**, v.12, n. 361, p. 1-6, 2019.
- CRUZ, C. D. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.
- DUFHEY, 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 Fe<sup>2+</sup> 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.
- 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.
- 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.
- SOUSA, R. O. de; CAMARGO, F. A. O.; VAHL, L. C. Solos alagados – Reações de Redox. In: MEURER, E.J. (3 ed.). **Fundamentos de química do solo**. Editora Evangraf, Porto Alegre, p.185-211. 2006.
- STEIN, R.J.; DUARTE, G.L.; SCHEUNEMANN, L.; SPOHR, M.G.; DE ARAÚJO JÚNIOR, A.T.; RICACHENEVSKY, F.K.; ROSA, L.M.G.; ZANCHIN, N.I.T.; SANTOS, R. P. DOS; FETT, J.P. Genotype variation in rice (*Oryza sativa* L.) tolerance to Fe toxicity might be linked to root cell wall lignification. **Frontiers in Plant Science**, v.10, p. 1–20, 2019.