

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

Cíntia Silva Beauvalet

SUSCETIBILIDADE DO CULTIVO DE ARROZ IRRIGADO ÀS CONDIÇÕES  
MÚLTIPLAS DE ESTRESSE: DESBALANÇO DE FERRO E TEMPERATURA

Porto Alegre, novembro de 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

SUSCETIBILIDADE DO CULTIVO DE ARROZ IRRIGADO ÀS CONDIÇÕES  
MÚLTIPLAS DE ESTRESSE: DESBALANÇO DE FERRO E TEMPERATURA

Trabalho apresentado como requisito para  
obtenção do grau de Bacharel no Curso de  
Ciências Biológicas

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marisa Azzolini  
Porto Alegre, novembro de 2010

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Marisa Azzolini, pela amizade, confiança, ajuda, paciência e ensinamentos.

Às professoras Lia Rodrigues e Maria Luisa Porto pela minha iniciação na pesquisa científica.

A todos do Laboratório de Plantas de Lavoura, em especial a Vladirene Vieira, que me ajudou com os experimentos e análise dos dados, e ao técnico de laboratório Fábio Berndt, pela paciência que teve comigo nas várias vezes que pedi sua ajuda.

Ao professor Aldo Júnior Merotto, pelo apoio e ajuda.

Ao Professor Christian Bredemeier, pelo empréstimo do fluorômetro.

Ao IRGA pela doação das sementes de arroz.

À Professora Lúcia Rebello Dillenburg e ao Professor Luis Mauro Gonçalves Rosa, por terem aceitado o convite para participarem da banca.

Às minhas amigas Ana Paula, Carol, Daiani e Edi, pelos vários momentos de descontração durante todo o curso, em especial a Ana Paula, que sempre esteve disposta a ouvir meus desabafos.

Ao, Yuri, pela ajuda e compreensão, e por estar sempre disposto a me alegrar, a qualquer hora.

À minha família, pelo apoio e incentivo, em especial à minha mãe, Assunção.

Às agências financiadoras que permitiram a realização desse trabalho e concederam minha bolsa CNPQ e FAPERGS.

Obrigada!!!

## RESUMO

Oscilações na produtividade do arroz são ocasionados por estresses abióticos, como desbalanço de ferro e temperaturas baixas. O objetivo do trabalho foi avaliar a interação dos efeitos de múltiplos estresses abióticos sobre parâmetros fotossintéticos do arroz irrigado. O trabalho foi realizado em duas etapas. Na primeira, sementes de arroz da cultivar IRGA 424 foram germinadas em areia, e, quando em estágio V1, as plantas foram transferidas para solução nutritiva contendo diferentes concentrações de ferro: 100 $\mu$ M (controle), 1 $\mu$ m (deficiente) ou 4000 $\mu$ M (excessiva), e submetidas a diferentes tratamentos de temperatura: 28°C (controle) ou 10°C (frio). Foram realizadas medidas de fluorescência da clorofila em cinco ocasiões, antes da exposição ao frio, e após 24, 48, 72 e 96 horas, e, no final, as plantas foram secas em estufa para determinação da massa da matéria seca. Na segunda etapa, foram utilizadas três cultivares com níveis diferentes de tolerância ao ferro: IRGA 409 (sensível), IRGA 424 (tolerante) e EPAGRI 108 (tolerante). As sementes foram germinadas em vermiculita e as demais etapas procederam como no experimento anterior. Foi analisada também a capacidade de recuperação das plantas da cultivar IRGA 424, nas quais foi realizada mais uma medida após retirada condição de frio. Foi possível observar que plantas das cultivares IRGA 424 e EPAGRI 108 podem apresentar tolerância à toxidez de ferro sob temperatura de 28°C, porém apresentar sensibilidade à combinação de estresse por excesso de ferro e temperatura baixa. Observou-se também que plantas da cultivar IRGA 409 apresentaram tolerância ao excesso de ferro nos dois tratamentos de temperatura. No entanto, mostrou sensibilidade a deficiência de ferro, tanto a 10°C, quanto a 28°C.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Estresses Abióticos .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2 Estresse por Temperatura Baixa .....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Estresse por Excesso de Ferro.....</b>	<b>6</b>
<b>1.4 Estresse por Deficiência de Ferro.....</b>	<b>7</b>
<b>1.5 Fluorescência da clorofila – Máxima Eficiência do Fostossistema II.....</b>	<b>8</b>
<b>2. OBJETIVO.....</b>	<b>10</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Cultivo das Plantas.....</b>	<b>11</b>
<b>3.1.1 Etapa I – Cultivar IRGA 424.....</b>	<b>11</b>
<b>3.1.2 Etapa II – Cultivares EPAGRI 108, IRGA 409 e IRGA 424.....</b>	<b>12</b>
<b>3.2 Análise da fluorescência da clorofila.....</b>	<b>12</b>
<b>3.3 Análises Estatísticas .....</b>	<b>13</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>14</b>
<b>4.1 Etapa I – Cultivar IRGA 424 .....</b>	<b>14</b>
<b>4.2 Etapa II .....</b>	<b>17</b>
<b>4.2.1 Cultivar EPAGRI 108.....</b>	<b>17</b>
<b>4.2.2 Cultivar IRGA 409 .....</b>	<b>18</b>
<b>4.2.3 Cultivar IRGA 424.....</b>	<b>20</b>
<b>4.2.4 Comparação entre as três Cultivares.....</b>	<b>21</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>23</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>24</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

O Rio Grande do Sul ocupa uma posição de destaque na produção de arroz (*Oriza sativa* L.) no Brasil. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), são cultivados anualmente no RS em torno de um milhão de hectares com arroz irrigado, os quais são responsáveis por 62,2% da produção nacional desta cultura. De acordo com dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), foram plantados no Brasil 2.909 mil hectares de arroz na safra de 2008/2009, sendo colhidas 12.602,5 mil toneladas do grão. A maior parte da produção anual de arroz no país é destinada ao consumo interno, demonstrando a grande importância da cultura na alimentação nacional.

O arroz é considerado o produto de maior importância econômica em muitos países e, segundo Santos e Rebelo (2008), é a cultura com maior potencial de aumento da produção. Porém, a obtenção de produtividades crescentes nos últimos anos não tem sido suficientes para suprir a demanda por este tipo de alimento (Rosso, 2006). Inúmeros fatores são responsáveis pela baixa produtividade e instabilidade na produção, dentre eles a suscetibilidade dos genótipos cultivados a estresses abióticos (Arenhart, 2008). Os estresses abióticos são a causa primária de perda de produção agrícola, podendo causar perdas na produtividade da colheita de grãos em até 50% (Boyer, 1982; Bray et al. 2000).

No Rio Grande do Sul, as oscilações na produtividade do arroz irrigado são ocasionadas, fundamentalmente, pelas condições climáticas, onde a ocorrência de baixas temperaturas tem sido um dos principais fatores determinantes dessa variabilidade nos níveis de produtividade (Steinmetz et al., 1996). O arroz é cultivado nas mais diversas condições ambientais, porém quando comparado a outros cereais como a aveia e o trigo, é mais sensível às baixas temperaturas. (Okuno, 2003).

Uma das práticas recomendadas para a obtenção de elevados rendimentos na produção é a antecipação da época de semeadura (final de setembro até meados de outubro). Esta prática permite a coincidência das fases de perfilhamento e início da fase reprodutiva com o período de maior radiação solar, condição essencial para a expressão do potencial produtivo da maioria das cultivares (Mariot et al, 2005). Entretanto, no RS, a ocorrência de temperaturas abaixo de 17 °C nos meses de setembro a novembro são frequentes, resultando em menor velocidade de germinação e do desenvolvimento inicial das plantas.

Atualmente, um número cada vez maior de pesquisas evidencia que as mudanças climáticas globais estão ocorrendo e que elas terão efeitos importantes nos processos

biológicos nas próximas décadas. Uma importante alteração mostrada pelos modelos climáticos são as mudanças abruptas de temperatura. É previsto aumento da frequência de eventos de curta duração de temperaturas extremas (muito baixas ou elevadas). Esta variação no cenário global da temperatura é vista como um dos principais problemas a ser enfrentado pelas plantas e que poderá causar reduções significativas na produtividade dos cultivos agrícolas (Porter, 2005; Porter & Semenov, 2005). Os efeitos diretos das baixas temperaturas sobre os processos fisiológicos, particularmente a fotossíntese, são especialmente importantes.

Entretanto, a temperatura não é o único fator de estresse a ser enfrentado pela cultura do arroz. O arroz irrigado está frequentemente exposto à condição de estresse por excesso de ferro (Fe) no solo. Nesse tipo de cultivo, a anoxia e a redução do pH, decorrentes do alagamento promovem a redução dos óxidos férricos ( $\text{Fe}^{3+}$ ) a óxidos ferrosos ( $\text{Fe}^{2+}$ ), uma das principais formas de absorção e transporte pelas plantas, com conseqüente aumento da solubilidade e aumento da disponibilidade, causando toxidez às mesmas (Ponnamperuma, 1972). A concentração de ferro solúvel, que anterior a submersão do solo raramente excede  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ , pode chegar, em solos ácidos, a aproximadamente  $600 \text{ mg L}^{-1}$  (Ponnamperuma *et al.*, 1978). No Rio Grande do Sul, o excesso de ferro atinge cerca de 10% da área orizícola, causando reduções significativas da produção deste cereal. A toxicidade por ferro é decorrente da absorção excessiva pelas raízes e sua translocação para as folhas, onde uma elevada produção de radicais livres pode danificar os componentes estruturais da célula, prejudicando inicialmente o processo fotossintético (Becker & Folkard, 2005).

Embora o ferro seja um elemento abundante na natureza, grande parte encontra-se indisponível para as plantas, formando complexos insolúveis na presença de oxigênio e em condições de pH neutro ou alcalino. Nestas condições, o ferro, que normalmente encontra-se como íon férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) é rapidamente oxidado, formando óxidos férricos insolúveis com a matéria orgânica do solo, e por isso é de difícil absorção pelas raízes (Christou, 1994). As plantas requerem aproximadamente  $10^{-8} \text{ M}$  de ferro na solução do solo para que o mesmo possa ser absorvido, mas em solos calcáreos, com pH alcalino, a quantidade de ferro solúvel não atinge  $10^{-17} \text{ M}$  (Guerinot & Yi, 1994).

Por ser um elemento essencial para a planta, estando envolvido na transferência de elétrons e na transformação de energia, a deficiência de ferro também acarreta danos na fotossíntese.

A aclimatação de uma planta a uma condição particular de estresse requer uma resposta específica, a qual é estreitamente vinculada a precisa condição ambiental em que a planta se encontra. Assim, processos moleculares, bioquímicos e fisiológicos podem diferir daqueles ativados por uma composição de diferentes fatores de estresse. A maioria dos estudos de estresse é feita sob condições controladas, isolando-se somente um dos fatores de estresse e, portanto refletem pouco as condições que ocorrem no campo. Existe, assim, uma considerável lacuna entre o conhecimento obtido nestas condições controladas e o conhecimento requerido para o desenvolvimento de plantas com aumento de tolerância às condições de campo.

Tendo em vista a importância econômica e social do arroz, e os efeitos danosos dos estresses abióticos sobre a agricultura, o conhecimento das interações entre estresses abióticos e respostas fisiológicas das plantas de arroz é importante para a compreensão e avaliação da suscetibilidade da produção do arroz e outros cultivos agrícolas. Tal entendimento poderá auxiliar no desenvolvimento de cultivares com aumento de tolerância a estresses de temperatura e ferro, permitindo a manutenção ou incremento do potencial produtivo do arroz e outras culturas agrícolas.



## **1.1 Estresses Abióticos**

As plantas frequentemente enfrentam condições rigorosas de estresse ao longo de seu crescimento, tais como temperaturas extremas, salinidade, seca, estresse nutricional, toxidez por metais pesados e ataque de patógenos, entre outros. Um estresse biológico é uma força adversa ou uma condição que impede o funcionamento e a constituição normais de um sistema biológico (Caverzan, 2008). A aclimação das plantas para condições de múltiplos estresses abióticos parece depender de uma resposta específica associada para cada condição de estresse, bem como da capacidade de compensar ou ajustar alguns dos aspectos antagonistas das condições de estresse combinados (Mittler, 2006). Por exemplo, durante o estresse por calor, as plantas abrem os estômatos para resfriar a folha por transpiração. Entretanto, se o calor for combinado com condições de salinidade ou e/ou excesso de metais pesados, as plantas podem não ser capazes de abrir seus estômatos. Isto porque o aumento da transpiração, necessário para resfriar a folha, pode causar aumento na absorção de sal ou metais pesados (Rizhsky et al., 2002).

A aclimação de plantas para condições de múltiplos estresses abióticos parece depender de uma resposta específica associada para cada condição de estresse, bem como, da capacidade de compensar ou ajustar alguns dos aspectos antagonistas das condições de estresses combinados (Mittler, 2006). O conhecimento do tipo de resposta que a planta possui às condições combinadas de estresse é o primeiro passo para o entendimento dos processos moleculares envolvidos. Esse conhecimento é fundamental para a compreensão e avaliação da suscetibilidade dos cultivares agrícolas às diferentes condições de estresse normalmente encontradas em condições de campo. No presente trabalho, será estudado os efeitos causados pela combinação de estresses por baixa temperatura e desbalanço nutricional de ferro.

## **1.2 Estresse por Temperatura Baixa**

As plantas de origem tropical como o arroz são geralmente sensíveis aos danos causados por temperaturas baixas. A tolerância ao frio é a capacidade que certas cultivares apresentam de suportar a ocorrência de baixas temperatura, sem redução importante no rendimento de grãos (Torres et al, 1985). A maioria das cultivares de arroz desenvolvidas para o RS pertencem ao grupo Indica, o qual apresenta alto potencial de

rendimento e qualidade de grãos, porém, não são tolerantes às temperaturas baixas (Lopes, 2008).

A temperatura ótima para o desenvolvimento do arroz situa-se entre 20 e 35°C, sendo esta a faixa também a ideal para a germinação. A faixa ideal para a floração é de 30 a 33°C e para a maturação é de 20 a 25°C. O arroz é mais sensível às baixas temperatura na fase de pré-floração ou, mais especificamente, na microsporogênese, com efeitos negativos diretos na produtividade. A segunda fase mais sensível é a floração. A faixa crítica de temperatura para induzir esterilidade no arroz é de 15 a 17°C, para os genótipos tolerantes ao frio, e de 17 a 19°C para os mais sensíveis. Os genótipos respondem diferentemente em relação à tolerância ao frio, sendo que, em geral, as cultivares do grupo Japonica são mais tolerantes do que as do grupo Indica.

Em geral, as baixas temperaturas no RS coincidem com o período reprodutivo, que é o de maior sensibilidade. Os sintomas visuais são observados logo após a incidência do frio, constituindo-se de descoloração e degeneração de espiguetas, o que provoca aumento na esterilidade de espiguetas e, com isso, redução no rendimento de grãos. Se a ocorrência do frio acontecer na fase vegetativa observa-se uma clorose generalizada nas plantas, que no entanto, podem recuperar-se com a posterior elevação da temperatura.

Em nível celular, o frio resulta na perda da integridade das membranas. As membranas são suscetíveis ao frio pois apresentam lipídeos com alta porcentagem de cadeias de ácidos graxos saturados que tendem a solidificar, tornando as membranas menos fluidas, e, além disso, os componentes protéicos podem não funcionar normalmente. Na membrana do cloroplasto, esse dano leva à inibição da fotossíntese. As reações fotoquímicas primárias da fotossíntese, como o transporte de elétrons ao longo da membrana do tilacóide são prejudicadas pela perda da fluidez da membrana, resultante da exposição ao frio. (Larcher, 2000).

Diferentes componentes do processo fotossintético são afetados quando a planta é exposta à baixa temperatura, tais como, inibição da biossíntese de clorofilas (Hodgins & Van Huystee, 1986 a e b), dano na cadeia de transporte de elétrons cloroplastídica, ou em enzimas solúveis do estroma da fase bioquímica da fotossíntese (Grantz, 1989). Quando as vias metabólicas se encontram total ou parcialmente inibidas pelas baixas temperaturas, boa parte da energia radiante absorvida pelas antenas fotossintéticas não pode ser utilizada, podendo ocorrer processos de dissipação alternativa dessa energia, constituindo assim num mecanismo de proteção das estruturas fotossintéticas (Demming-

Adamns et al., 1996). A fluorescência da clorofila é um processo importante de dissipação da energia , o qual será discutida posteriormente.

### **1.3 Estresse por Excesso de Ferro**

No Brasil, a toxidade por excesso de ferro tem sido constatada nos estados de Minas Gerais, Santa Catarina, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Goiás, Mato Grosso, Espírito Santos, Alagoas, Pará e São Paulo, causando perdas na produtividade (Barbosa Filhos et al., 1983). Estas perdas podem levar a prejuízos de 15 a 20 %, sendo que perdas totais na produção já foram descritas na literatura (Audebert & Sahrawat, 2000; Winslow et al., 1989).

A toxidez por excesso de ferro é o maior problema nutricional em arroz irrigado, sendo responsável por perdas significativas da produtividade (Stein, 2009). Os principais sintomas observados são o bronzeamento das folhas, que adquire coloração amarelada ou alaranjada, principalmente as mais velhas, inclusões marrons nas folhas mais jovens, causadas pela deposição de ferro, as quais se espalham para as nervuras durante a progressão da toxidez, e as raízes se tornam de coloração marrom (Sahrawat, 2004). Plantas de arroz severamente prejudicadas pela toxidez por excesso de ferro apresentam baixa taxa de crescimento, produzem panículas pequenas e com alta proporção de espiguetas estéreis (Yoshida, 1981), causando diminuição da produtividade e, em casos mais severos, morte da planta (Ponnamperuma, et al., 1955).

Vários estudos sobre a toxidez por excesso de ferro vem sendo realizados, e já foram identificados dois tipos de toxidez: uma toxidez direta, decorrente do acúmulo de grandes níveis de ferro em tecidos vegetais (Vahl, 1991), e uma toxidez indireta, causada pela deficiência de nutrientes essenciais como K, P, Ca e Mg devido à precipitação do ferro sobre a epiderme das raízes que limita a absorção dos nutrientes pelas plantas (Meurer, 2000)

Quando livre em excesso dentro da célula, o ferro é capaz de gerar radicais livres, como o radical hidroxila, através da reação de Fenton (Becama et al., 1998). Este radical é extremamente tóxico para o metabolismo celular, sendo responsável pela oxidação de macromoléculas biológicas como proteínas, ácidos nucléicos e lipídeos da membrana (Halliwell & Gutteridge, 1984). Os radicais livres também oxidam a clorofila, e,

posteriormente, levam a uma diminuição no conteúdo deste pigmento nas células (Monteiro e Winterbourn, 1988).

#### **1.4 Estresse por Deficiência de Ferro**

A maior parte do ferro encontrado no interior das células vegetais é localizado no interior do cloroplasto (Terry & Low, 1982), envolvido no processo fotosintético (na biossíntese das moléculas de clorofila e na ferredoxina). No interior dos plastídeos encontra-se localizada a ferritina, proteína globular multimérica responsável pelo sequestro e liberação de ferro (Briat et al., 1999), atuando como um tampão celular de ferro.

A deficiência de ferro é um dos sérios distúrbios nutricionais do arroz cultivado em condições aeróbias alcalinas de sequeiro e de solos calcários, que leva a um declínio na produtividade (FFTC, 2001). A baixa disponibilidade de ferro solúvel no solo leva a sintomas de deficiência de ferro, tais como o amarelecimento ou clorose das áreas internevuras das folhas mais jovens, isso ocorre porque o ferro não pode ser prontamente mobilizado das folhas mais velhas. Mais tarde, as nervuras podem tornar-se cloróticas também, fazendo com que toda a folha se torne branca. Sob condições de deficiência extrema ou prolongada, toda a planta torna-se clorótica e morre.

O ferro possui função essencial para o crescimento e desenvolvimento vegetal. Este elemento participa de centros de oxirredução da respiração mitocondrial e da fotossíntese (Rouault & Tong, 2005) e também está envolvido na síntese de clorofila no cloroplasto, motivo pelo qual sua deficiência causa clorose na planta. O ferro tem importante papel como componente de enzimas envolvidas na transferência de elétrons (reações redox) como os citocromos. As proteínas heme são caracterizadas pela presença de um complexo Fe heme-porfirina, o qual age com um grupo prostético do citocromos que facilitam o transporte de elétrons na fotorrespiração.

## 1.5 Fluorescência da clorofila- Máxima Eficiência do Fotossistema II

A análise das mudanças na emissão de fluorescência da clorofila *a* é uma poderosa ferramenta para estimar a taxa de transporte de elétrons nas folhas (Genty et al. 1989), e da dissipação térmica de energia do fotossistema II (FSII) (Krause & Weiss, 1991; Demming-Adamns et al., 1996). Assim, esse tipo de análise permite a avaliação dos danos causados pelos estresses abióticos ao aparelho fotossintético, em especial, à membrana dos tilacóides, onde ocorre a transferência de elétrons.

A conversão de energia radiante em química ocorre nos tilacóides dos cloroplastos, onde está a clorofila, nos chamados fotossistemas. Há dois sistemas de pigmentos (chamados de sistema antena) que trabalham em série. O fotossistema I (P700) e o fotossistema II (P680). Cada um deles é constituído por um complexo coletor de radiação (complexo antena) e pelo centro de reação. Nos fotossistemas, os quanta de luz são captados pelos pigmentos e a energia é passada para o centro de reação (clorofila *a*). Ocorrem reações de oxi-redução que levam ao armazenamento de energia a longo prazo. Os fótons excitam os centros de reação (P680 e P700) e um elétron é ejetado. O elétron passa por carreadores até a redução de P700 (para os elétrons vindos do FSII) ou o NADP<sup>+</sup> (para os elétrons vindos do FSI). Desta maneira, os pigmentos fotossintetizantes, após receberem a energia dos fótons, dissipam a energia proveniente da luz por meio de três vias de dissipação de energia: i) dissipação fotoquímica (utiliza a energia luminosa para os processos fotoquímicos da fotossíntese); ii) fluorescência: emissão de radiação na região do visível (vermelho e vermelho distante); e iii) dissipação não-fotoquímica: produção de calor na forma de radiação infravermelha. Os três processos de dissipação de energia são competitivos, ou seja, as alterações nas taxas fotossintéticas e na dissipação de calor causarão alterações complementares na emissão da fluorescência. Sendo assim, alterações na fluorescência podem mostrar a ausência ou presença de comprometimentos no processo fotossintético (Strasser et al., 2000).

A eficiência do FSII é determinada pela eficiência com que o fóton absorvido pode alcançar o centro de reação e pela proporção de centros que são capazes de transferir um elétron para outro componente da membrana (Genty, 1989). A fluorescência, emitida pelo FSII pode ser utilizada na avaliação do dano causado pelas baixas temperatura ao aparelho fotossintético (Agati et al., 1996). O principal parâmetro utilizado na avaliação dos danos ao sistema fotossintético é a razão  $F_v/F_m$  ou eficiência máxima do FSII onde  $F_v$  é a fluorescência variável, calculada através da diferença entre a fluorescência mínima

( $F_o$ ) e a fluorescência máxima ( $F_m$ ). Esse parâmetro indica a eficiência fotoquímica do FSII, ou seja, a eficiência relativa da captura de energia luminosa pelo FSII disponível para a fotossíntese. Normalmente essa razão decresce em plantas submetidas a algum tipo de estresse (Krause & Weiss, 1991). Valores ótimos são considerados de 0.83, independente da espécie em estudo (Genty, 1989). Essa diminuição do valor da razão  $F_v/F_m$  poder decorrente tanto de um aumento na  $F_o$ , quanto de um aumento da fluorescência máxima, ambas indicando danos no processo fotossintético.

Vários tipos de estresses podem afetar direta ou indiretamente o desempenho do FSII (Öquist, 1987). Desta maneira, a fluorescência da clorofila tem sido usada como uma ferramenta em vários estudos relacionados a estresses abióticos em espécies vegetais. A fluorescência da clorofila foi usada para pesquisar a influência de temperaturas infra-ótimas em feijoeiros (Siebeneichler et al., 1998). Falqueto et al., 2007, comparou as características da fluorescência da clorofila de duas cultivares de arroz que apresentavam diferença na produtividade. Outra aplicação de determinações da fluorescência da clorofila ocorreu no estudo das respostas fisiológicas ao déficit hídrico em plantas de mamona (Sausen, 2007). Ainda, diferentes estudos descrevem o efeito de distúrbios nutricionais na fluorescência da clorofila (Konrad et al., Cassoli, 2007; 2005; Kitao et al., 1998; Conroy et al., 1986), dentre várias outras referências.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1 Geral**

Determinar a resposta de planta de arroz irrigado aos efeitos de múltiplos estresses considerando um novo cenário climático de ocorrência de maior amplitude térmica.

### **2.2 Específicos**

i) Avaliar a interação dos efeitos de deficiência ou excesso de ferro e baixas temperaturas sobre parâmetros fotossintéticos de arroz irrigado.

ii) Comparar as respostas fisiológicas às condições de múltiplos estresses nas cultivares de arroz contrastantes a tolerância ao excesso de ferro, IRGA-409 (sensível), IRGA-424 (tolerante) e EPAGRI-108 (tolerante).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado em duas etapas. Na primeira foram caracterizadas as alterações fisiológicas decorrentes da exposição ao excesso ou deficiência de ferro e temperatura baixa na cultivar IRGA-424 (I 424). Na segunda etapa, o mesmo experimento foi realizado com as cultivares IRGA-409 (I 409), EPAGRI-108 (E 108) e novamente com a IRGA-424. Neste último experimento, foi analisada também a capacidade da cultivar IRGA-424 de corrigir os danos causados ao aparelho fotossintético, após ser retirado o fatores de estresse frio. Em ambas as etapas, as plantas de arroz foram cultivadas em solução nutritiva com diferentes níveis de ferro: 100  $\mu\text{M}$  (controle); 1  $\mu\text{M}$  (deficiente) ou 4000  $\mu\text{M}$  (excesso) e submetidas a diferentes temperaturas: 28°C (controle) ou 10°C (frio). Foram utilizadas cinco repetições por tratamento, totalizando 30 plantas, em delineamento inteiramente casualizado. A cultivar IRGA-424 foi escolhida por ser uma das cultivares mais produtivas e possivelmente será uma das mais plantadas nos próximos anos no Rio Grande do Sul. As demais cultivares foram escolhidas por apresentarem níveis diferenciais de tolerância ao excesso de ferro. A cultivar IRGA 409 é suscetível ao excesso de ferro e EPAGRI 108 é tolerante.

#### 3.1 Cultivo das Plantas

##### 3.1.1 Etapa I – Cultivar IRGA 424

Sementes de arroz (*Oriza sativa* L.) foram germinadas em areia, previamente lavada com solução de ácido nítrico 12% e enxaguada com água destilada. A germinação ocorreu em B.O.D. a temperatura de 28°C. Foi feita a irrigação com água destilada até as plantas atingirem o estágio V1 (formação do colar na primeira folha do colmo principal). Neste estágio as plantas foram transferidas para solução nutritiva (descrita por Yoshida et al., 1976) contendo 0,1mM de KCl, 0,1mM de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,7mM de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 0,2mM de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , 0,5mM de  $\text{MgSO}_4$ , 0,5 $\mu\text{M}$  de  $\text{MnSO}_4$ , 0,01 $\mu\text{M}$  de  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 10 $\mu\text{M}$  de  $\text{H}_3\text{B}_3$ , 0,5 $\mu\text{M}$  de  $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,2 $\mu\text{M}$  de  $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e as diferentes concentrações de ferro, a temperatura de 28°C, em recipientes plásticos com 750 ml de solução cada. O ferro foi adicionado a solução nutritiva na forma de  $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . O pH da solução foi corrigido para 5,4, e a solução nutritiva foi substituída a cada dois dias. As plantas foram mantidas



nestas condições até atingirem o estágio V3, quando foi feita a primeira medição de fluorescência (medida pré-frio) e, no dia seguinte, iniciou-se os tratamentos de temperatura, expondo metade das plantas a temperatura de 10°C. As demais medidas de fluorescência foram realizadas 24, 48, 72 e 96 horas após o início da exposição aos tratamentos de temperatura. Por fim, as plantas foram lavadas com água destilada e secas em estufa para determinação da matéria seca da parte aérea e da raiz.

### **3.1.2 Etapa II – Cultivares EPAGRI 108, IRGA 409 e IRGA 424**

Neste experimento, as sementes foram germinadas em vermiculita, e as demais etapas procederam como no experimento anterior. Após as 96 horas de exposição ao frio, as plantas da cultivar IRGA-424 foram expostas novamente a temperatura de 28°C, e feita a última medida de fluorescência da clorofila. No final, as plantas foram congeladas para análise da expressão gênica, que será realizada posteriormente, em outro trabalho.

### **3.2 Análise de Fluorescência da Clorofila**

As medidas de fluorescência da clorofila foram feitas com o uso do fluorômetro não modulado da Optcs Science, UK. As folhas eram adaptadas ao escuro durante 30 minutos para a determinação da  $F_0$  (fluorescência mínima). Na seqüência um pulso de luz foi aplicado para a determinação da  $F_m$  (fluorescência máxima). A partir destas variáveis foi possível calcular a eficiência quântica máxima do fotossistema II, o  $F_v/F_m$ .

Foi feita comparação dos valores de  $F_v/F_m$  ao longo do experimento, dentro de cada tratamento com combinação de concentração de ferro e temperatura. No segundo experimento, as medidas de 96 horas de exposição ao frio das plantas da cultivar 424 também foram comparadas com as medidas após o retorno das plantas a temperatura de 28°C para avaliar a capacidade de recuperação das plantas ao ser retirado um dos fatores de estresse, no caso, a temperatura baixa. Também no segundo experimento, foram comparados os valores de  $F_v/F_m$  entre as três diferentes cultivares de arroz para avaliar a diferença nas respostas fisiológicas às condições de múltiplos estresses nas cultivares.

### **3.3 Análises Estatísticas**

Os dados foram submetidos à análise de variância, e quando as diferenças foram significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Etapa I – Cultivar IRGA 424

A cultivar de arroz IRGA 424 apresenta tolerância a toxidez por excesso de ferro no solo, e está adaptada para cultivo em regiões com temperatura média baixa, onde a expressão do potencial de rendimento de outras cultivares é prejudicada (Cruz et. Al, 2009). No entanto, a máxima eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) apresentou redução nas plantas que sofreram estresse por frio, e manteve-se constante ao longo do experimento nas plantas que não foram expostas a temperatura baixa (FIGURA 1). A variação estatisticamente significativa ocorreu apenas em dois dos tratamentos de ferro expostos a 10°C, controle e excesso de ferro (TABELA 1), A redução do valor de Fv/Fm ocorreu após 48 horas de exposição ao frio nas plantas cultivadas na solução com concentração controle de ferro, e após 72 horas nas plantas cultivadas sob estresse por excesso de ferro. Esses dados indicam que, mesmo sendo uma cultivar tolerante a toxidez de ferro, quando expostas a combinação de estresse por excesso de ferro e frio, as plantas apresentam efeitos danosos ao aparelho fotossintético, e que, mesmo em solução controle de ferro, o frio também causa danos ao aparelho fotossintético. Apesar de não apresentarem recuperação dos valores de Fv/Fm, as plantas da cultivar I 424, demonstraram capacidade de adaptação à combinação de estresse, pois os valores de Fv/Fm não mais reduziram.

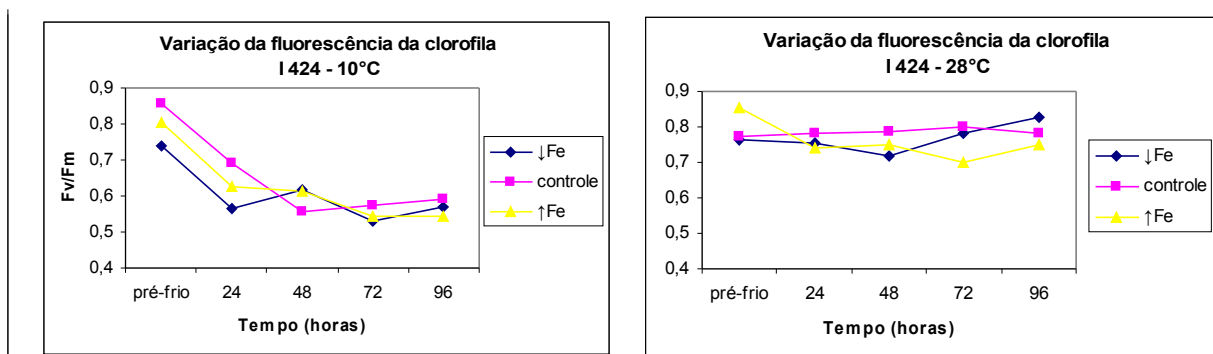


FIGURA 1: Respostas de parâmetro da fluorescência da clorofila ao longo do experimento. Máxima Eficiência do FSII (Fv/Fm) de plantas de arroz da cultivar IRGA 424 expostas à baixa temperatura (B), e de plantas sem exposição ao estresse por frio (A) .

É possível observar que as plantas dos três tratamentos de ferro que foram expostas a 10°C se mostraram menos desenvolvidas (FIGURA 2), apresentando uma tendência de valores inferiores aos das plantas que permaneceram a 28°C, sendo que, diferenças significativas entre os tratamentos começaram a aparecer a partir de 48 horas de exposição. Após 48 horas, as plantas da solução controle de ferro expostas a 10°C apresentaram Fv/Fm estatisticamente menor (0,565), comparado ao das plantas do mesmo tratamento de ferro, porém, expostas a 28°C (0,787). Ainda nesse período de exposição, não houve diferença significativa entre os demais tratamentos. Após 72 horas, as plantas dos três tratamentos submetidos à temperatura baixa apresentaram valores de Fv/Fm significativamente menores que as plantas cultivadas em solução controle a 28°C. Nesse período, as plantas mais prejudicadas foram as dos tratamentos com deficiência de ferro e controle de ferro. Com 96 horas de exposição, os tratamentos expostos a 28°C não diferiram entre si, e os demais, expostos ao frio, apresentaram médias inferiores.

Tabela 1: Valores de máxima eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) em plantas de arroz, cultivar IRGA 424 exposta a diferentes tratamentos de ferro e temperatura.

Horas após início do frio	↓Fe 10°C	Controle 10°C	↑Fe 10°C	↓Fe 28°C	Controle 28°C	↑Fe 28°C
Pré-frio	0.739 nsNS	0.843* a NS	0.802 a NS	0.762 nsNS	0.768* nsNS	0.854 nsNS
24 h	0.565*NS	0.685 abNS	0.592 abNS	0.754NS	0.776*NS	0.738NS
48 h	0.618AB	0.565 b B	0.612 ab AB	0.719AB	0.787 A	0.750AB
72 h	0.530B	0.525 bB	0.541 bBC	0.781AC	0.800A	0.698ABC
96 h	0.570*B	0.589 bB	0.539 bB	0.829A	0.782A	0.748A

ns: não significativo na coluna; NS: não significativo na linha. Médias seguidas pela mesma letra (letra minúscula na coluna e maiúscula na linha) não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Redução no número de repetição: \* (n=4).

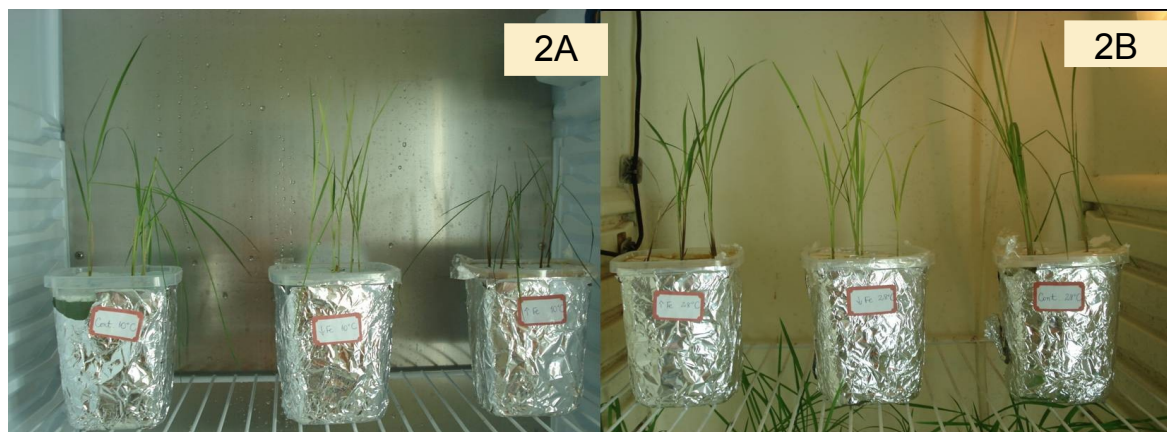


Figura 2: Plantas da cultivar IRGA 424 expostas aos diferentes tratamentos: 100µM Fe, 1µM Fe 4000µM Fe a 10°C (2A); 4000µM Fe, 1µM Fe, 100µM Fe a 28°C (2B).

A tabela 2 apresenta as medidas de massa da matéria seca das plantas. Não houve diferença entre os tratamentos na massa da matéria seca da raiz. Porém, a massa da matéria seca da parte aérea diferiu entre os tratamentos. Os maiores valores foram das plantas cultivadas em solução controle e que não sofreram estresse por temperatura baixa, seguidas pelas plantas expostas à deficiência de ferro e temperatura baixa. Na seqüência ficaram as plantas expostas ao excesso e à deficiência de ferro, ambas sem exposição ao frio. Os menores valores foram das plantas cultivadas em solução controle e temperatura baixa (18,2 mg) e das plantas sob excesso de ferro e temperatura baixa (19,8 mg). Ambos os tratamentos também apresentaram queda significativa nos valores de Fv/Fm ao longo do experimento.

Tabela 2: Massa seca da raiz e parte aérea das plantas de arroz cultivar IRGA 424 submetidas aos diferentes tratamentos de ferro e temperatura.

Tratamento	Massa seca da raiz (mg)	Massa seca da parte aérea (mg)
↓Fe - 10°C	11,80ns	33,4 ab
↓Fe - 28°C	11	23,8 bc
controle - 10°C	10	18,2 c
controle - 28°C	12,2	33,8 a
↑Fe - 10°C	12,4	19,8c
↑Fe - 28°C	16	26 abc

ns: não significativo. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 4.2 Etapa II

### 4.2.1 Cultivar EPAGRI 108

Estudos realizados por Stein (2009), envolvendo respostas fisiológicas de plantas de arroz da cultivar E 108 ao excesso de ferro, mostraram a capacidade de tolerância da cultivar a toxidez por ferro. Foi observado nesse estudo, que quando submetidas a condições de excesso de ferro, um dos mecanismos utilizados é a redução da translocação do ferro a partir da raiz para a parte aérea devido ao acúmulo e oxidação do ferro na superfície da raiz. Com isso as plantas deixam de acumular o metal nas folhas, diminuindo os efeitos da toxidez no processo fotossintético. Na TABELA 3 é possível observar que as plantas da cultivar E 108 não apresentaram toxidez por excesso de ferro quando expostas a temperatura de 28°C, o que era esperado, porém, quando expostas a combinação de estresse por excesso de ferro e frio, as plantas tiveram uma redução no valor de Fv/Fm ao longo do experimento, atingindo um valor significativamente menor após 96 horas de exposição ao frio. Quando cultivadas em solução controle de ferro a 28°C, as plantas da cultivar E 108 não apresentaram diferença nos valores de Fv/Fm, contrastando com as plantas cultivadas na mesma solução, porém a 10°C, indicando que a cultivar pode apresentar suscetibilidade a temperaturas baixas. Estas plantas tiveram redução do valor Fv/Fm após 24 horas de exposição ao frio. No entanto, após a redução, houve uma recuperação da máxima eficiência do FSII, e os valores de Fv/Fm atingiram níveis semelhantes aos do início da exposição. As plantas desta cultivar não sofreram danos ao fotossistema devido a deficiência de ferro em nenhum dos tratamentos de temperatura. Na FIGURA 3 é possível observar as diferenças no desenvolvimento das plantas nos três tratamentos, ao final do experimento.

Tabela 3: Valores de máxima eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) de plantas de arroz, da cultivar EPAGRI 108, submetidas aos diferentes tratamentos de ferro e temperatura.

Horas após início do frio	↓Fe	Controle Fe	↑Fe	↓Fe	Controle Fe	↑Fe
	10°C	10°C	10°C	28°C	28°C	28°C
Pré-frio	0,732 ns	0,786a	0,798a	0,731 ns	0,812 ns	0,768 ns
24 h	0,677	0,451b	0,742ab	0,74	0,783	0,648**
48 h	0,614	0,551ab	0,733**ab	0,776	0,808	0,601*
72 h	0,654	0,641ab	0,678ab	0,729*	0,799	0,753*
96 h	0,626	0,634ab	0,639b	0,78	0,789	0,744***

ns: não significativo. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Redução no número de repetições: \* n=4, \*\* n=3, \*\*\* n=2.

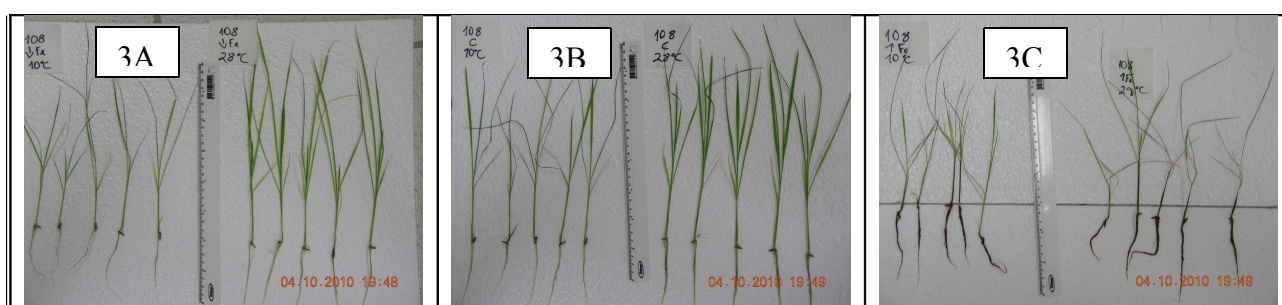


Figura 3: Plantas da cultivar EPAGRI 108 expostas aos diferentes tratamentos: deficiência de ferro a 10°C e a 28°C (3A); controle de ferro a 10°C e a 28°C (3B) e excesso de ferro a 10°C e a 28°C (3C).

#### 4.2.2 Cultivar IRGA 409

O mesmo trabalho de Stein, que caracterizou as respostas fisiológicas ao excesso de ferro da cultivar e 108, também comparou as respostas fisiológicas da cultivar I 409. Neste estudo foi demonstrada a suscetibilidade da cultivar ao estresse por excesso de ferro. Foram observados sintomas típicos de toxicidade de ferro, como descoloração de folhas e necrose, menores níveis de clorofila, comparado com a cultivar tolerante (E 108), menores níveis de proteínas solúveis (indicativo de dano oxidativo) e maior atividade de enzimas antioxidantes, devido a altas concentrações de ferro na parte aérea das plantas. Verificou-se, no mesmo trabalho, que esta cultivar sofre efeito direto do acúmulo de níveis elevados de ferro, e não qualquer deficiência indiretamente induzida de outro nutriente. Alguns mecanismos de tolerância foram observados, como precipitados de ferro em cloroplastos e vacúolos e tolerância no tecido foliar a base de enzimas anti-oxidante. No entanto, a TABELA 4 mostra que a cultivar I 409 não sofreu toxicidade por excesso de ferro em nenhum dos tratamentos de temperatura. Embora, seja observado, na FIGURA 4, que as plantas deste tratamento tiveram o desenvolvimento prejudicado. Curiosamente,

a cultivar demonstrou efeitos negativos no FSII nas plantas expostas à condição de deficiência de ferro, tanto na temperatura de 10°C, quanto na de 28°C. As plantas expostas a combinação de estresse por deficiência de ferro e frio apresentaram redução significativa da máxima eficiência do fotossistema após 72 horas de exposição ao frio, e na medida realizada após 96 horas, houve uma pequena recuperação desse valor. Quando expostas a 28°C, a diferença no valor de Fv/Fm das plantas cultivadas sob deficiência de ferro ocorreu apenas após 24 horas, e após isso, as plantas apresentaram recuperação do FSII. As plantas do tratamento controle de ferro não apresentaram diferença em nenhum dos tratamentos de temperatura.

Tabela 4: Valores de máxima eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) de plantas de arroz, cultivar IIRGA 409, expostas aos diferentes tratamentos de ferro e temperatura.

Horas após início do frio	↓Fe	Controle Fe	↑Fe	↓Fe	Controle Fe	↑Fe
	10°C	10°C	10°C	28°C	28°C	28°C
Pré-frio	0,797a	0,651 ns	0,558* ns	0,705a	0,741 ns	0,710* ns
24 h	0,748ab	0,618	0,725****	0,628b	0,741	0,765*
48 h	0,771*ab	0,722	0,652*	0,785a	0,788*	0,700**
72 h	0,513**b	0,731**	0,463****	0,777a	0,703	0,716****
96 h	0,686*b	0,703	0,639**	0,750a	0,804	0,592***

ns: não significativo. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Redução no número de repetição: \* n=4, \*\* n=3, \*\*\* n=2, \*\*\*\* n=1.

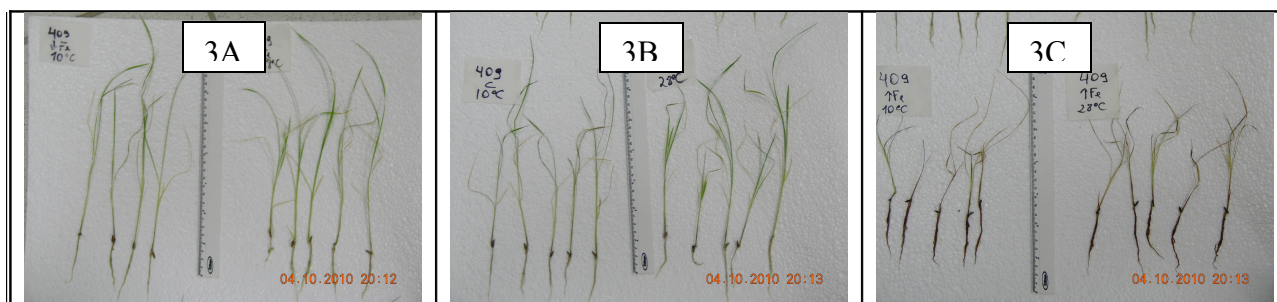


Figura 4: Plantas da cultivar IRGA 409 expostas aos diferentes tratamentos: deficiência de ferro a 10°C e a 28°C (3A); controle de ferro a 10°C e a 28°C (3B) e excesso de ferro a 10°C e a 28°C (3C).



#### 4.2.3 Cultivar IRGA 424

Nesse segundo experimento, as plantas da cultivar I 424 não apresentaram diferenças na máxima eficiência do FSII quando cultivadas sob excesso de ferro, tanto a 28°C, quanto a 10°C., o que confirma as características da cultivar de tolerância ao excesso de ferro e a temperaturas baixas, assim como não apresentaram diferença quando cultivadas sob deficiência de ferro em nenhum dos tratamentos de temperatura. Embora, a medida feita após 24 horas, apresente um valor menor que as demais. As plantas cultivadas em solução controle de ferro a 10°C também não apresentaram redução significativa do valor de Fv/Fm, porém o mesmo tratamento de ferro a 28°C apresentou redução após 24 horas, e depois os valores ficaram próximos ao inicial.

Tabela 5: Valores de máxima eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) de plantas de arroz, cultivar IRGA 424, submetidas aos diferentes tratamentos de ferro e temperatura.

Horas após início do frio	↓Fe	Controle Fe	↑Fe	↓Fe	Controle Fe	↑Fe
	10°C	10°C	10°C	28°C	28°C	28°C
Pré-frio	0,743 ns	0,714 ns	0,744 ns	0,701 ns	0,714ab	0,592* ns
24 h	0,476	0,594	0,801	0,707	0,585b	0,663*
48 h	0,624*	0,601	0,621	0,753	0,781a	0,573*
72 h	0,689*	0,807**	0,616	0,804	0,764a	0,714*
96 h	0,679*	0,703	0,555	0,785	0,787a	0,594*

ns: não significativo. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Redução no número de repetição: \* n=4, \*\* n=3.

A tabela 6 apresenta os valores de Fv/Fm das plantas da variedade 424 que, após as 96 horas de exposição ao frio, retornaram a temperatura de 28°C por 24 horas. O valor do tratamento com excesso de ferro não é apresentado pois não foi possível fazer a análise estatística, por ter apenas uma repetição, devido à morte das plantas. As plantas não são as mesmas utilizadas para a comparação entre os tratamentos, portanto os resultados diferem dos apresentados na tabela 5. Foi observado um aumento significativo na máxima eficiência do FSII após as plantas terem sido retiradas da condição de estresse por frio, demonstrando a capacidade de recuperação da cultivar aos danos causados pelo frio ao aparelho fotossintético. A FIGURA 5 ilustra o porte das plantas da cultivar IRGA 424 no final do experimento.

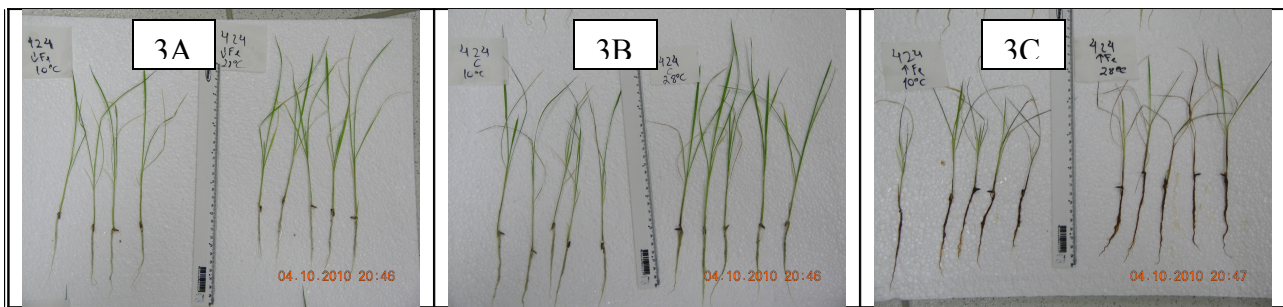


Figura 5: Plantas da cultivar IRGA 424 expostas aos diferentes tratamentos: deficiência de ferro a 10°C e a 28°C (3A); controle de ferro a 10°C e a 28°C (3B) e excesso de ferro a 10°C e a 28°C (3C).

Tabela 6: Valores de máxima eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) de plantas de arroz, cultivar IRGA 424, submetidas aos diferentes tratamentos de ferro, e, após retiradas da condição de estresse por frio.

	↓Fe	controle
96h após frio	0,657 *	0,620 *
24h após 28°C	0,792	0,804

\*Significativo pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.4 Comparação entre as três Cultivares

Quando comparadas entre si, as três cultivares, E 108, I 409 e I 424 pouco diferiram dentro de cada tratamento (FIGURA 6). É possível observar que no tratamento com deficiência de ferro a 10°C, as plantas da cultivar I 424 foram as que mais sofreram com os efeitos da combinação de estresse no processo fotossintético, apresentando valor de Fv/Fm estatisticamente menor que as plantas das demais cultivares. Nos demais tempos de exposição, a diferença entre as cultivares não aparece mais, já que parece haver uma recuperação dos valores de Fv/Fm das plantas da cultivar I 424, enquanto as da cultivar I 409 apresentam redução na máxima eficiência do FSII, principalmente após 72 horas. No tratamento com deficiência de ferro a 28°C, as cultivares não diferiram entre si. Quando as cultivares foram comparadas entre si no tratamento controle de ferro a 10°C, a cultivar I 409 diferiu das demais, apresentando Fv/Fm inferior. No entanto, essa diferença desaparece, pois, embora os valores das plantas da cultivar I 409 permaneçam constantes ao longo do experimento, pois ocorre uma redução significativa nas plantas da cultivar I 108 após 24 horas (TABELA 3), havendo uma adaptação posteriormente. No tratamento controle de ferro a 28°C, a cultivar I 424 apresenta uma redução significativa de Fv/Fm em relação as demais cultivares após 24 horas, retornando posteriormente a valores próximos ao inicial. Com a combinação de excesso de ferro e frio, não foi possível observar diferença entre as cultivares. Porém na medida pré-frio das plantas do

tratamento com o excesso de ferro, a cultivar I 424 se mostra mais suscetível a toxicidade por excesso de ferro. Embora sem diferença significativa, no decorrer do tempo de exposição, a cultivar I 409 maiores valores de Fv/Fm.

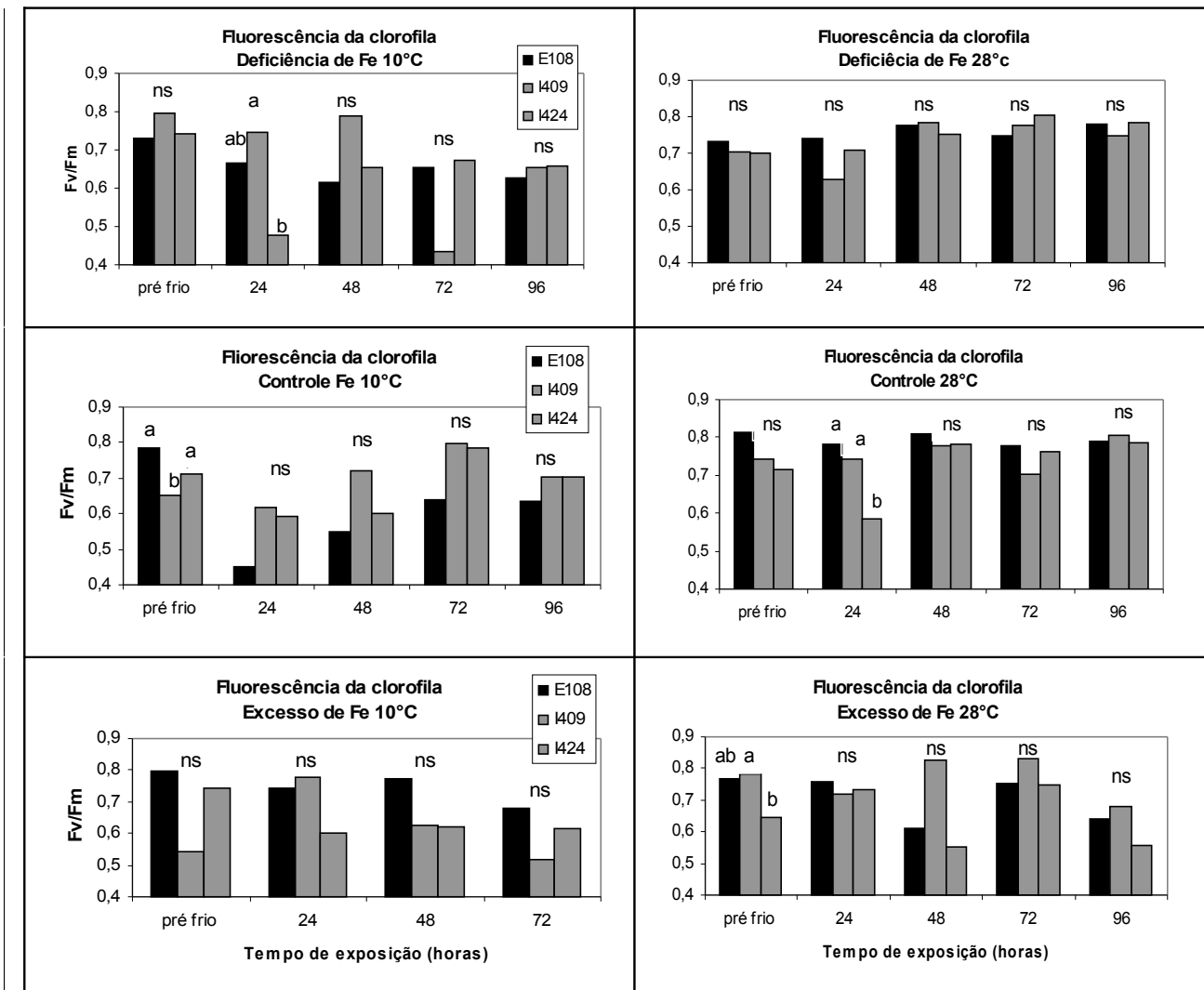


Figura 6: Valores de Máxima eficiência quântica do FSII (Fv/Fm) de plantas de arroz das cultivares E 108, I 409 e I 424, nos diferentes tratamentos de Ferro e temperatura.

## 5. CONCLUSÕES

Foi possível observar que plantas da cultivar IRGA 424, mesmo sendo tolerantes ao excesso de ferro, podem apresentar danos ao FSII quando expostas à combinação de estresse por excesso de ferro e frio.

As plantas da cultivar EPAGRI mostraram tolerância ao excesso de ferro somente sob temperatura de 28°C, apresentando sensibilidade à combinação de estresse por excesso de ferro e frio.

As plantas da cultivar IRGA 409 não sofreram danos ao FSII quando expostas ao excesso de ferro, nem quando combinado a temperatura baixa.

As três cultivares apresentaram capacidade de adaptação e até mesmo recuperação dos danos causados ao FSII devido aos estresses abióticos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGATTI, G.; P. Mazzinghi, M. L. di Paola, F. Fusi and G. Cecchi. (1996). The F685/F730 chlorophyll fluorescent ratio as indicator of chilling stress in plants. *Journal of Plant Physiology*. 148: 384-390.

ARENHART, Rafael Augusto. (2008). Análise Funcional dos genes ASR – Abscisc acid, Stress and Reopening – de arroz (*Oriza Sativa L.*) em resposta ao estresse por alumínio. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 94p. Tese de Mestrado.

AUDEBERT, A.; SAHRAWAT, K. L. (2000). Mechanisms for iron toxicity tolerance in low-land rice *Journal of Plant Nutrition*, 23:1877 - 1885.

BECKER, Mathias; ASCH, Folkard. (2005). Iron toxicity in rice: conditions and management concepts. *J. Plant Nutr. Sci*, 168: 558 - 573.

BOYER, J.S. (1982). Plant productivity and environment. *Science*, 218: 443-448.

BRAY, E.A.; BAILEY – SERRES, I.; WERE TILNYK, E. (2000). Responses to abiotic stress. In: GRUISSEM, W.; BUCHANNAN, B.; JONES, S. R. (ed). *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiologists: 1158–1249.

CAMPOSTRINI, E. (1997). Comportamento de quatro genótipos de mamoeiro (*Carica papaya L.*) sob restrição mecânica ao crescimento do sistema radicular. Campo dos Goytacazes, RJ, Universidade Federal do Norte Fluminense. 166p.

CAVERZAN, Andréia. (2008). Caracterização Funcional dos genes de ascorbato peroxidase de arroz (*Oriza sativa L.*) nas interações entre estresse oxidativo e estresses abióticos. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Tese de Mestrado.

CASSOLI, D.C.; ANTELMO, R.F.; BACARINE, M.A. (2007). Influência da Adubação Nitrogenada nas Características da Fluorescência da Clorofila em Arroz, Porto Alegre, *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, supl. 2, p. 573-575.

CHEVRIER, N., SARKAN, F. , CHUNG, Y. S. (1988): Oxidative damages and repair in *Euglean gracilis* exposed to ozone. *Plant Cell Physiol.* 29, 321–327.

CHRISTOU, P. (1994). *Rice Biotechnology and Genetic Engineering Technomic Publication*: Basel, Switzerland.

CONROY, J.P.; SMILIE, R.M.; KUPPERS, M.; BEVEGE, D.I.; BARLOW, E.W. (1986). *Plant Physiology.* 81: 423.

DEMMING – ADAMS, B.; ADAMS III, W. W.; BARKER, D. H.; LOGAN, B. A.; BOWLING, D.R.; VERHOEVEN, A.S. (1996). Using chlorophyll fluorescence to asses the fraction absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physiol. Plant*, 98:253 - 264.

ELSTNER, E. F. (1982): Oxygen activation and oxygen toxicity. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33, 73–96.

FALQUETO, A.R. et. Al. (2007). Características fotossintéticas em Cultivares de Arroz com Produção Contrastante, Porto Alegre , *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, supl. 2, p. 582-584.

FFCT, 2001. Iron Deficiency. Food & Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region. Disponível em <<http://www.agnet.org/library/bc/51003/>> acesso em 19 jun de 2010.

GENTY, B.; BRIANTAIS, J.M.; BAKER, N. (1989). *Biochimica Biophysica Acta.* 990:87.

GRANTZ, D.A. (1989). Effect of cool temperatures on photosynthesis and stomatal conductance in field grown sugarcane in Hawaii. *Field Crops Research*, 22: 143-155.

GUERINOT M.L., Yi Y. (1994) Iron: nutritious, noxious and not readily available. *Plant Physiology*, 104, 815-820.

- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219, 1-14.
- HODGINS, R., VAN HUYSTEE, R.B. (1986a). Porphyrin metabolism in chill stressed maize (*Zea mays* L.). *Journal Plant Physiology*, 126: 257-268.
- HODGINS, R., VAN HUYSTEE, R.B. (1986b). Delta-aminolevulinic acid metabolism in chill stressed maize (*Zea mays* L.) *Journal Plant Physiology*, 126: 257-268.
- KITAO, M.; LEI, T.T.; KOIKE, T. (1998). *Tree physiology*. 18:135.
- KRAUSE, H.; WEIS, E. (1991). *Annual Review Plant Physiology*. 42: 313.
- LARCHER, W.(2000). *Ecofisiologia Vegetal*. RIMA Artes e textos. São Carlos, 531p.
- LOPES, S.I.G.; CARMONA, P.S.; LOPES, M.C.B.; CRUZ, R.P. DA; FUNCK, G.R.D.; ROSSO, A.F.; AVOZANI, O.A.; KEMPF, D.; FAGUNDES, C.A.A. (2008). Contribuição das cultivares lançadas pelo IRGA para a lavoura orizícola do Rio Grande do Sul.. *Boletim Técnico* n. 06.
- MARIOT, C.H.P.. ET AL. (2008). Influência da época de semeadura no rendimento de grãos de cultivares de arroz irrigado – safras 2003/2004 e 2004/2005. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4. 2005, Santa Maria: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado, 2005. v.1, 567p.
- MARSCHNER, H.; ROHMELD, V. (1994). Strategies of plant for acquisition of iron. *Plant and Soils*, 165: 375 - 388.
- MEURER, E.J. (2000). *Fundamentos de química do solo*. Porto Alegre: Gênese, 174p.
- MITLER, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*, 11: 15-19.
- MIYAO, M., IKEUCHI, M., YAMAMOTO, N., ONO, T. (1995): Specific degradation of the D1 protein of photosystem II by treatment with hydrogen peroxide in darkness: Implica-

tions for the mechanism of degradation of the D1 protein under illumination. *Biochem.* 34,10019–10026.

MONTEIRO, H. P., WINTERBOURN, C. C. (1988). The superoxide-dependent transfer of iron from ferritin to transferrin. *Biochem. J.* 256, 923–928.

OKUNO, K. Genetics and molecular biology research on cold tolerance of rice. In:

INTERNATIONAL TEMPERATURE RICE CONFERENCE, 3. (2003). Punta del Este. Symposios and conferences. Punta del Este: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuárias, CD – ROM.

ÖQUIST, G. In: *Progress in Photosynthesis Research.* (1987). (ed.) Biggings, J. Martinus Nijhoff, Dordrecht, 1.

PONNAMPERUMA, F. N.; BRADFIELD, R.; PEECH, M. (1995). Physiological disease of rice attributable to iron toxicity. *Nature*, 275: 265.

PONNAMPERUMA, F.N. (1972). The chemistry of submerged soils. *Advance in Agronomy*, 4: 29 - 96.

PONNAMPERUMA F.N. (1978) Electrochemical changes in submerged soils and the growth of rice. *Soils and Rice*, Los Banos, Philippines, IRRI, 421-441.

PORTER, J.R. (2005). Rising temperatures are likely to reduce crop yields. *Nature*, 436: 174.

PORTER, J.R.; SEMENOV, M.A. (2005). Crop responses to climatic variation. *Philosophical Transaction of the Royal Society B*, 360: 2021-2035.

RIZHSKY, L.; LIANG, R.; MITTLER, R. The combined effects of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. *Plant Physiology*, 130: 1143-1151.

ROSSO, Antonio Folgiarini de. (2006). *Caracterização Genética e Fenotípica para Tolerância ao Frio e Características Agronômicas e Arroz Irrigado.* Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 98p. Tese de Doutorado.



ROUAULT, T. A.; TONG, W. H. (2005). Iron – Sulphur cluster biogenesis and mitochondrial iron homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 6: 345 - 351.

SANTOS, A. B. dos; RABELO, R. R. (2008). Informações Técnicas para a Cultura do Arroz Irrigado no Estado do Tocantins. Embrapa Arroz e Feijão, Documentos 218, Santo Antônio de Goiás, 2008, 136p.

SAUSEN, T.L. (2007). Respostas fisiológicas de *Ricinus comunis* à redução na disponibilidade de água no solo, Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. (Tese de Mestrado).

STEIN, Ricardo José. (2009). Excesso de ferro em arroz (*Oriza sativa* L.): efeitos tóxicos e mecanismos de tolerância em distintos genótipos. Porto Alegre, Universidad<sup>3</sup> Federal do Rio Grande do Sul. Tese de Doutorado.

STEINMETZ, S.; INFELD, J.A.; MALUF, J.R.T.; SOUZA, R.R. DE; BUENO, A.G. (1996). Zoneamento agroclimático da cultura do arroz irrigado no estado do Rio Grande do Sul: recomendações de épocas de semeadura por município. Pelotas: EMPRAPA – CPACT, 30p. (EMBRAPA – CPACT. Documentos, 19).

STRASSER, R.J., SRIVASTAVA, A., TSIMILLIMICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterise and screen Photosynthetic Samples. In: Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation. Yunus, M., Pathre, U. Mohanty, P. Eds. Taylor & Francis, London, Chapter. 25: pp. 445-483, 2000.

THOMPSON, J. E., LEGGE, R. L. (1987): The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytol*. 105, 317–344.

THONGBAI, P., GOODMAN, B. A. (2000): Free radical generation and post-anoxic injury in rice grown in an iron-toxic soil. Ninth International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, Stuttgart, Germany, pp. 1887–1900.

VAHL, L.C. (1991). Toxidez de ferro em genótipos de arroz irrigado por alagamento. Pelotas, Dissertação (Doutorado em Ciência do Solo), Universidade Federal de Pelotas, 1991.

VLADIMIROV, Y. A. (1980): Lipid peroxidation in mitochondrial membrane. *Adv. Lipid Res.* 17, 409–423.

WINLOW, M. D.; YAM AUCHI, M. ; ALLURI, K.; MASATO, J. M. (1989). Reducing iron toxicity in rice with resistant genotype and ridge planting. *Agronomy Journal*, 81: 458 - 460.