

sys 318053

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

**TOLERÂNCIA AO FRIO EM ARROZ IRRIGADO: METODOLOGIAS DE
AVALIAÇÃO E BASES GENÉTICAS**

RENATA PEREIRA DA CRUZ
Engenheiro Agrônomo M.Sc.(UFRGS)

Tese apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Doutor em Fitotecnia

Porto Alegre, (RS), Brasil
Julho, 2001



RENATA PEREIRA DA CRUZ
Engenheira Agrônoma - UFPel
Mestre em Fitotecnia - UFRGS

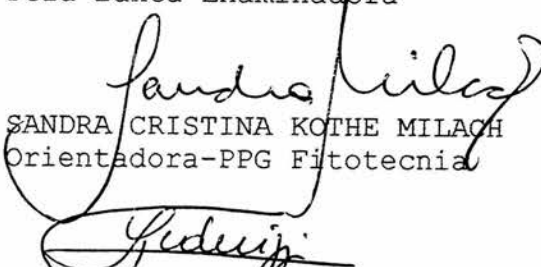
TESE

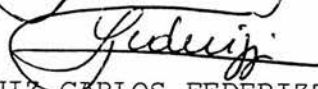
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de


DOCTOR EM FITOTECNIA

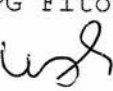
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil


Aprovado em: 27.07.2001
Pela Banca Examinadora


SANDRA CRISTINA KOTHE MILACH
Orientadora-PPG Fitotecnia

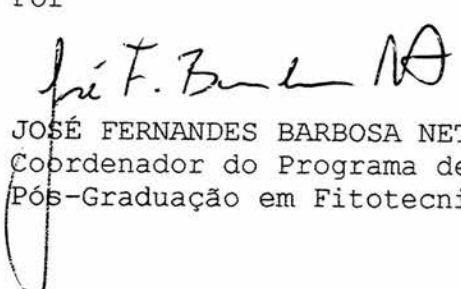

LUIZ CARLOS FEDERIZZI
Co-orientador-PPG Fitotecnia



PAULO REGIS FERREIRA DA SILVA
PPG Fitotecnia


LUCIANA BICCA DODE
Escola de Educação
UCPEL - Pelotas/RS


PAULO HIDEO NAKANO RANGEL
Centro Nacional de Pesquisa de
Arroz e Feijão - EMBRAPA
Goiânia/GO

Homologado em: 08.10.2001
Por


JOSÉ FERNANDES BARBOSA NETO
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia


GILMAR ARDUINO BETTIO MARODIN
Diretor da Faculdade
de Agronomia

Dedico este trabalho aos meus pais Antônio Carlos Zanotta da Cruz (in memoriam) e Vania Pereira da Cruz (in memoriam) pelo exemplo de amor, vida e dignidade. Vocês são minha motivação e inspiração para seguir adiante, hoje e sempre.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Sandra C. K. Milach pela orientação, amizade, ensinamentos e constante incentivo à minha carreira. Um agradecimento especial pela confiança e oportunidade de trabalhar como monitora em vários cursos de extensão, os quais foram muito importantes para a minha formação e crescimento profissional.

Ao Prof. Luiz Carlos Federizzi por dividir suas experiências e exemplo profissional.

Aos demais Professores do Departamento de Plantas de Lavoura pela amizade e ensinamentos transmitidos ao longo do Curso.

Ao Instituto Riograndense do Arroz (IRGA) pela oportunidade de realizar um trabalho em conjunto e, em especial ao Gerente da Divisão de Pesquisa Maurício Fischer, que não mediu esforços para que o mesmo fosse viabilizado e por toda confiança e incentivo à minha pessoa.

Aos pesquisadores do IRGA Antônio Rosso e Sérgio Lopes pela constante disponibilidade para troca de idéias, por compartilharem sua experiência de forma tão generosa mas, sobretudo, pela amizade.

Aos funcionários do IRGA, em especial a Cristina de Oliveira, Paulo Freitas e Dilomar de Oliveira pelo auxílio e agradável convivência ao longo destes anos.

Aos funcionários da Estação Experimental do IRGA em Santa Vitória do Palmar Gilmar Neves, Deroci Rodrigues e Mário Ricardo pela carinhosa acolhida, solicitude e eficiência.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e ao FLAR (Fondo Latinoamericano para Arroz de Riego) pelo financiamento do projeto.

A Júlio de Lima pelo auxílio na coleta dos dados moleculares, e a Camila dos Reis e Danielle C. da Silva pela amizade e inestimável colaboração na fase final deste trabalho.

Ao funcionário Celso de A. Alves pela solicitude, apoio e amizade.

Aos amigos que fiz ao longo do Mestrado e Doutorado por terem tornado estes anos tão especiais e agradáveis, em especial a Andréa Mittelman, Caren Cavichioli-Lamb, Cláudia Lemons e Silva, Christiane Bothona, Diego Pegoraro, Elton Vacaro, Fábio Pandini (in memoriam), Gládis Thomé, Mara Lopes, Rosa Lia Barbieri, Sérgio dos Anjos e Silva e Wanderlei Tonon.

Aos amigos André e Kátia Bacelo pela valiosa amizade e por sempre se fazerem presentes, apesar da distância que nos separa.

Um agradecimento especial aos primos Paulo Cruz e Maria Inês Berta e aos tios Fernando Cruz e Lara Barragan, cuja convivência, apoio e amizade fizeram desta uma jornada bem menos árdua.

Ao Hugo Navarro Júnior pelo companheirismo, carinho e apoio nos momentos difíceis.

À minha irmã Fernanda Cruz, minha melhor amiga e eterna companheira, por me entender tão bem e, sobretudo, pela paciência e dedicação.

TOLERÂNCIA AO FRIO EM ARROZ IRRIGADO: METODOLOGIAS DE AVALIAÇÃO E BASES GENÉTICAS¹

Autora: Renata Pereira da Cruz
Orientadora: Sandra Cristina Kothe Milach
Co-orientador: Luiz Carlos Federizzi

RESUMO

A tolerância ao frio é altamente desejável em genótipos brasileiros de arroz cultivados no sul do País, onde as temperaturas baixas prejudicam o estabelecimento da lavoura e diminuem o rendimento de grãos. No entanto, as dificuldades da seleção a campo, aliadas ao desconhecimento da genética do caráter no germoplasma local, limitam o progresso a nível de melhoramento. Assim, este trabalho teve por objetivos caracterizar a reação ao frio de diferentes genótipos de arroz em dois períodos de desenvolvimento e determinar as bases genéticas da tolerância ao frio neste germoplasma. É possível diferenciar os genótipos quanto à tolerância ao frio na germinação por meio da porcentagem de redução no comprimento e recrescimento do coleóptilo e verificar que existe variabilidade para tolerância nos grupos Indica e Japônica. Com base na capacidade geral de combinação (CGC) para a porcentagem de redução no comprimento e recrescimento do coleóptilo, o genótipo Quilla 66304 é o mais indicado para incrementar a tolerância ao frio na germinação e os efeitos gênicos mais importantes na determinação destas características são os de dominância e as interações gênicas. No período reprodutivo, a temperatura de 17°C por sete dias na antese é suficiente para distinguir genótipos tolerantes dos sensíveis ao frio quanto à porcentagem de redução no peso de 100 grãos. A expressão completa da panícula em condições de campo é determinada por um gene recessivo nos genótipos Japônica e a herdabilidade do caráter é moderada. A diversidade molecular entre os seis genótipos estudados é elevada, porém com base na caracterização fenotípica, os genótipos mais adequados como genitores da população de mapeamento da tolerância ao frio são o sensível IRGA 417 e o tolerante Quilla 64117.

¹Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (159 p.) Julho, 2001.

FLOODED RICE COLD TOLERANCE: METHODOLOGIES OF EVALUATION AND GENETIC BASIS¹

Author: Renata Pereira da Cruz
Advisor: Sandra Cristina Kothe Milach
Co-advisor: Luiz Carlos Federizzi

ABSTRACT

Cold tolerance is highly desirable in Brazilian genotypes grown in Southern Brazil where cold temperatures damage crop establishment and reduce grain yield. However, the difficulties in selecting under field conditions and the lack of knowledge about the genetics of the character in the local germplasm limit breeding progress. So, the objectives of this study were to characterize different rice genotypes for their cold reaction in two stages of development and to determine genetic basis of cold tolerance in this germplasm. It is possible to differentiate genotypes cold reaction at the germination stage under controlled temperature by means of the percentage reduction in coleoptile length and its regrowth and to verify that exists variability for tolerance in Indica and Japonica groups. Based on the general combining ability (GCA) for percentage reduction in coleoptile length and regrowth, Quilla 66304 is the most indicated genotype to increment cold tolerance at the germination stage, and the most important genic effects determining these characters are dominance and genic interactions. In the reproductive stage, temperature of 17°C for seven days at anthesis is enough to distinguish cold tolerant from cold sensitive genotypes, in what refers to percentage reduction 100 grains weight. Complete panicle exertion in field conditions is determined by a recessive gene in the Japonica genotypes and the character heritability is moderate. Molecular diversity among the six genotypes is high, but based on the phenotypic characterization, the most adequate genotypes as genitors for the cold tolerance mapping population are the sensitive IRGA 417 and the tolerant Quilla 64117.

¹Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (159 p.) July, 2001.

SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO GERAL.....	01
Origem e classificação botânica do arroz.....	01
Importância econômica da espécie <i>Oryza sativa</i> L.....	03
Influência da temperatura baixa sobre a cultura do arroz	04
Bases genéticas da tolerância ao frio em arroz.....	06
Melhoramento para tolerância ao frio em arroz.....	08
Estratégias do melhoramento para tolerância ao frio em arroz.....	10
O problema do frio na cultura do arroz no Rio Grande do Sul	12
CAPÍTULO I: Tolerância ao frio na germinação em arroz: metodologias de avaliação e caracterização de genótipos	15
1.1. Introdução.....	15
1.2. Material e Métodos	17
1.2.1. Experimento I	18
1.2.2. Experimento II	20
1.3. Resultados e Discussão	21
1.4. Conclusões	35
CAPÍTULO II: Capacidade combinatória de genótipos de arroz para tolerância ao frio na germinação	36
2.1. Introdução.....	36
2.2. Material e Métodos	39
2.2.1. Experimento I	39
2.2.2. Experimento II	40
2.2.3. Análise estatística	41
2.3. Resultados e Discussão	42
2.4. Conclusões	50
CAPÍTULO III: Herança da tolerância ao frio na germinação em arroz.....	51
3.1. Introdução.....	51
3.2. Material e Métodos	54

	Página
3.3. Resultados e Discussão	58
3.4. Conclusões	72
CAPÍTULO IV: Tolerância do arroz à temperatura baixa no período reprodutivo: efeito do estádio e duração do frio	73
4.1. Introdução	73
4.2. Material e Métodos	77
4.3. Resultados e Discussão	81
4.4. Conclusões	98
CAPÍTULO V: Herança do caráter exerceção da panícula em arroz sob temperatura baixa	99
5.1. Introdução	99
5.2. Material e Métodos	101
5.2.1. Experimento conduzido a campo	101
5.2.2. Experimento conduzido sob temperatura controlada	105
5.3. Resultados e Discussão	106
5.4. Conclusões	118
CAPÍTULO VI: Variabilidade fenotípica e molecular em genótipos de arroz com diferentes reações ao frio	119
6.1. Introdução	119
6.2. Material e Métodos	122
6.2.1. Caracterização fenotípica	122
6.2.1.1. Período de germinação	122
6.2.1.1.1. Experimento I	122
6.2.1.1.2. Experimento II	123
6.2.1.2. Período vegetativo	124
6.2.1.3. Período reprodutivo	125
6.2.1.4. Análise estatística	127
6.2.2. Caracterização molecular	128
6.3. Resultados e Discussão	129
6.4. Conclusões	141
DISCUSSÃO GERAL	142
CONCLUSÕES GERAIS	146
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	148
VITA	159

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1.1. País de origem, grupo e reação ao frio dos genótipos de arroz utilizados no estudo da tolerância ao frio na germinação. UFRGS, 2001.....	18
1.2. Quadrados médios e coeficientes de variação para quatro variáveis avaliadas em 24 genótipos de arroz. UFRGS, 2001.....	21
1.3. Coeficientes de correlação entre as características índice de germinação (IG), porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm (%sems. col. >5 mm), porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (%redcol.) e recrescimento do coleóptilo (recresc.) avaliadas em 24 genótipos de arroz. UFRGS, 2001.....	29
2.1. Genealogia, reação ao frio e grupo dos seis genótipos de arroz utilizados no estudo da capacidade combinatória para tolerância ao frio na germinação. UFRGS, 2001.....	39
2.2. Análise de variância para porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio (REDCOL) e recrescimento do coleóptilo (RECRESC), conforme o método de Griffing (1956) em um dialélico parcial entre seis genótipos de arroz e seus híbridos F ₁ . UFRGS, 2001.....	43
2.3. Médias de porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo dos seis genótipos genitores e seus híbridos F ₁ . UFRGS, 2001.....	44
2.4. Efeito das capacidades geral (CGC) e específica de combinação (CEC) de seis genótipos genitores de arroz e seus híbridos F ₁ para a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo. UFRGS, 2001.....	45
2.5. Médias de recrescimento do coleóptilo dos seis genótipos genitores e seus híbridos F ₁ . UFRGS, 2001.....	46

2.6. Efeito das capacidades geral (CGC) e específica de combinação (CEC) de seis genótipos genitores de arroz e seus híbridos F ₁ para o recrescimento do coleóptilo. UFRGS, 2001.....	47
3.1. Genealogia e grupo dos cinco genótipos de arroz utilizados no estudo da herança e herdabilidade da tolerância ao frio na germinação. UFRGS, 2001.....	54
3.2. Médias de recrescimento do coleóptilo para os genótipos de arroz utilizados como genitores das populações analisadas. UFRGS, 2001.....	58
3.3. Médias das gerações P ₁ , P ₂ , F ₁ , F ₂ , RC ₁ F ₁ e RC ₂ F ₁ , número de sementes avaliadas em cada geração (entre parênteses), valores dos efeitos gênicos e do teste de Qui-quadrado (χ^2) para o caráter recrescimento do coleóptilo obtidos para seis cruzamentos de arroz. UFRGS, 2001.....	66
3.4. Valores de variância fenotípica (VF), variância de ambiente (VE), variância genética (VG), variância aditiva (VA), variância de dominância (VD) e herdabilidades nos sentidos amplo (h^2_a) e restrito (h^2_r) para o recrescimento do coleóptilo em seis cruzamentos de arroz. UFRGS, 2001.....	70
4.1. Genealogia, país de origem e grupo dos seis genótipos utilizados no estudo da tolerância ao frio no período reprodutivo do arroz. UFRGS, 2001.....	77
4.2. Quadrados médios para as porcentagens de redução na exerceção da panícula, fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos de seis genótipos de arroz, em dois estádios de desenvolvimento e quatro durações de frio (17°C). UFRGS, 2001.....	81
4.3. Médias de porcentagem de redução na exerceção da panícula de seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C) em dois estádios do período reprodutivo. UFRGS, 2001.....	82
4.4. Equações de regressão estimadas para as variáveis exerceção da panícula (cm), fertilidade de espiguetas (%) e peso de 100 grãos (g) em função da duração do frio (17°C) para cada genótipo e estádio do período reprodutivo estudado. UFRGS, 2001.....	85
4.5. Médias de porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas de seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C) em dois estádios do período reprodutivo. UFRGS, 2001.....	87

4.6. Médias de porcentagem de redução no peso de 100 grãos de seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C) em dois estádios do período reprodutivo. UFRGS, 2001.....	89
4.7. Correlações fenotípicas entre as características porcentagem de redução na exerceção da panícula (redexer), porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas (redfert) e porcentagem de redução no peso de 100 grãos (redpgraos) avaliadas em seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C) nos estádios de microsporogênese e antese. UFRGS, 2001.....	90
4.8. Correlações fenotípicas entre os estádios de microsporogênese e antese para as características porcentagem de redução na exerceção da panícula, porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas e porcentagem de redução no peso de 100 grãos avaliadas em seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C). UFRGS, 2001.....	95
4.9. Correlações fenotípicas entre as durações de frio (17°C) para as características porcentagem de redução na exerceção da panícula, porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas e porcentagem de redução no peso de 100 grãos avaliadas em seis genótipos de arroz em dois estádios do período reprodutivo. UFRGS, 2001.....	97
5.1. Correlações entre a exerceção da panícula, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos avaliadas nos genitores em condições de campo em Santa Vitória do Palmar, RS e sob temperatura controlada (17°C por três dias na antese). UFRGS, 2001.....	107
5.2. Médias de exerceção da panícula e desvio padrão da característica (entre parênteses), médias de porcentagem de fertilidade de espiguetas e do peso de 100 grãos para os genótipos genitores utilizados no estudo da herança do grau de exerceção da panícula em arroz em condições de campo, em Santa Vitória do Palmar, RS. UFRGS, 2001.....	108
5.3. Médias de exerceção da panícula, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos para os genótipos genitores utilizados no estudo da herança do grau de exerceção da panícula em arroz em sala climatizada (17°C por três dias na antese) UFRGS, 2001.....	109
5.4. Coeficientes de correlação fenotípica entre os caracteres de exerceção de panícula, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos avaliados nos genótipos genitores em condições de campo em Santa Vitória do Palmar, RS. UFRGS, 2001.....	110

5.5. Número de panículas com exerceção completa (superior a zero) e incompleta (igual ou inferior a zero) e ajuste do teste de Qui-quadrado em seis cruzamentos de arroz avaliados sob temperatura baixa em Santa Vitória do Palmar, RS. UFRGS, 2001.....	113
5.6. Valores de variância fenotípica (VF), de ambiente (VE) e genética (VG) e herdabilidade no sentido amplo para o caráter exerceção da panícula em quatro cruzamentos de arroz. UFRGS, 2001.....	117
6.1. Primers (série e número) utilizados para a caracterização molecular de seis genótipos de arroz. UFRGS, 2001.....	129
6.2. Médias das características porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Redcol), recrescimento do coleóptilo (Recresc), porcentagens de redução na clorofila nas datas 1 e 2 (Redclod1 e Redclod2), de redução na estatura nas datas 1 e 2 (Redestd1 e Redestd2), porcentagens de redução na exerceção, fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos na antese (Redexera, Redferta e Redpga) e na microsporogênese (Redexerm, Redfertm e Redp gm) em seis genótipos de arroz. UFRGS, 2001.....	130
6.3. Coeficientes de correlação entre as características porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Redcol), recrescimento do coleóptilo (Recresc), porcentagens de redução na clorofila nas datas 1 e 2 (Redclod1 e Redclod2), de redução na estatura nas datas 1 e 2 (Redestd1 e Redestd2), porcentagens de redução na exerceção, na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos na antese (Redexera, Redferta e Redp ga) e na microsporogênese (Redexerm, Redfertm e Redp gm) avaliadas em seis genótipos de arroz. UFRGS, 2001.....	132
6.4. Matriz de similaridade (índice de Jaccard) entre seis genótipos de arroz obtida a partir de dados de 161 marcadores RAPD. UFRGS, 2001.....	137
6.5. Matriz de correlação entre seis genótipos de arroz obtida com base em 12 características de tolerância ao frio avaliadas nos períodos de germinação, vegetativo e reprodutivo. UFRGS, 2001.....	139

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1.1. Índice de germinação de sementes de 24 genótipos de arroz submetidos à germinação a 13°C por 28 dias, comparados pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). UFRGS, 2001.....	22
1.2. Porcentagem de sementes de 24 genótipos de arroz com coleóptilo superior a 5 mm após 28 dias de germinação a 13°C, comparados pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). UFRGS, 2001.....	24
1.3. Porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo de 24 genótipos de arroz calculada com base na germinação a 13°C por 28 dias em relação à germinação a 28°C por sete dias, comparados pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). UFRGS, 2001.....	25
1.4. Recrescimento do coleóptilo (mm) de 24 genótipos de arroz submetidos à germinação a 28°C por 72 h, 13°C por 96 h e 28°C por mais 72 h, comparados pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). UFRGS, 2001.....	26
3.1. Distribuições de frequência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Quilla 66304 (P_1) e BRS 7 - Taim (P_2). UFRGS, 2001.....	59
3.2. Distribuições de frequência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Quilla 64117 (P_1) e BRS 7 - Taim (P_2). UFRGS, 2001.....	60
3.3. Distribuições de frequência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Diamante (P_1) e BRS 7 - Taim (P_2). UFRGS, 2001.....	61

3.4. Distribuições de frequência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Quilla 66304 (P_1) e IRGA 417 (P_2). UFRGS, 2001.....	62
3.5. Distribuições de frequência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Quilla 64117 (P_1) e IRGA 417 (P_2). UFRGS, 2001.....	63
3.6. Distribuições de frequência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Diamante (P_1) e IRGA 417 (P_2).UFRGS, 2001.....	64
5.1. Distribuições de frequência para o grau de exerceção da panícula em seis cruzamentos de arroz entre dois genótipos tolerantes (T) e dois sensíveis (S) ao frio avaliados a campo em Santa Vitória do Palmar, RS. UFRGS, 2001.....	112
6.1. Dendrograma de seis genótipos de arroz baseado no índice de Jaccard obtido a partir de 161 marcadores RAPD. UFRGS, 2001.....	138
6.2. Dendrograma de seis genótipos de arroz baseado na correlação obtida a partir de 12 características de tolerância ao frio. UFRGS, 2001.....	140

INTRODUÇÃO GERAL

Este trabalho fundamentou-se em uma parceria entre o IRGA (Instituto Riograndense do Arroz) e a UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) que surgiu de uma demanda específica da primeira Instituição para o desenvolvimento de estratégias para obtenção de genótipos de arroz tolerantes ao frio.

Em função de ter sido pioneiro, foi desenvolvido em etapas que envolveram o estabelecimento de metodologias de avaliação da tolerância ao frio em diferentes períodos de desenvolvimento do arroz, a caracterização de genótipos e o estudo das bases genéticas das características estudadas. No projeto foi ainda estudada a variabilidade molecular e fenotípica de diferentes genótipos de arroz e estabelecidas populações segregantes para o mapeamento molecular da tolerância ao frio nesta espécie em uma próxima etapa.

Pelas diferentes abordagens e bases científicas que fundamentam o assunto deste trabalho, é apresentado a seguir o estado-da-arte para cada um dos tópicos relevantes ao mesmo.

Origem e classificação botânica do arroz

O arroz pertence ao gênero *Oryza*, tribo *Oryzae*, subfamília *Pooideae*, família *Poaceae*. O gênero *Oryza* é o mais importante de sua tribo, compreendendo cerca de 20 espécies que estão dispersas espontaneamente

pelas regiões tropicais da Ásia, África, América do Sul e América Central (Chang, 1974). Dentre estas, apenas duas são cultivadas: *Oryza sativa*, de origem asiática e *Oryza glaberrima*, de origem africana (Matsuo, 1997), sendo a diplóide *Oryza sativa* a de maior importância econômica e uma das plantas alimentícias mais antigas utilizadas pelo homem. Sua origem ocorreu provavelmente na Índia, de onde se propagou para a China há mais de 3000 anos antes da era cristã (Fornasieri Filho & Fornasieri, 1993). O ancestral mais provável de *Oryza sativa* é a espécie silvestre *Oryza rufipogon*, a qual é perene, de fecundação cruzada e adaptada a pântanos profundos (Chang, 1974), e de onde deve se originar o hábito semi-aquático e perene dos genótipos de arroz cultivado.

A espécie *Oryza sativa* divide-se em dois grupos ou subespécies, denominados Indica e Japônica. Alguns autores citam um terceiro grupo denominado Javânica, porém suas características morfológicas e fisiológicas são praticamente indistinguíveis das do grupo Japônica (Oka, 1958), motivo pelo qual esta classificação não é usual. Esta diferenciação dentro da espécie ocorreu provavelmente após sua domesticação e de forma gradual à medida que o arroz foi sendo levado de um local para outro, de modo que a adaptação às condições ecológicas e climáticas prevalescentes teria dado origem a estes dois grupos. Além disso, o isolamento geográfico associado às seleções natural e artificial também contribuiu para a diferenciação ainda maior entre eles, a qual resultou em um alto grau de esterilidade intersubspecífico (Chang, 1974). Este pode ser tanto do tipo gametofítico como esporofítico e estudos genéticos atribuíram a esterilidade a conjuntos de genes duplicados (Oka, 1964).

Estes grupos são diferenciados através de um conjunto de caracteres que abrangem desde aspectos morfológicos até reações a estresses abióticos

como seca e frio. A reação ao frio das cultivares do grupo Indica é, de forma geral, de sensibilidade, enquanto que as do grupo Japônica são classificadas como tolerantes (Oka, 1958). Recentemente, marcadores isoenzimáticos (Glaszmann, 1987) e moleculares (Wang & Tanksley, 1990) confirmaram a existência destes dois grupos, tornando mais precisa sua classificação.

A classificação do arroz nestes dois grupos é de extrema importância para os melhoristas, pois ela indica adaptação a ambientes específicos e influencia, desta forma, as estratégias para utilização de germoplasma (Mackill et al., 1996).

Importância econômica da espécie *Oryza sativa* L.

No Brasil, o arroz é um dos principais produtos que compõe a cesta básica e a principal fonte calórica entre os grãos, provendo 12 a 35% de calorias e 9 a 12% de proteínas (Fornasieri Filho & Fornasieri, 1993).

Atualmente o arroz ocupa o quarto lugar em área cultivada no Brasil e o terceiro em produção de grãos, com uma produção total de aproximadamente 11 milhões de toneladas na safra 99/2000. É cultivado em praticamente todos os Estados brasileiros, mas principalmente nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. Os principais sistemas de cultivo são o irrigado, onde a média de rendimento de grãos é de 5 t/ha e o de sequeiro, com média de 1,5 t/ha (Mercado, 2001).

O Rio Grande do Sul é o maior produtor nacional de arroz irrigado, contribuindo com mais de 40% da produção, sendo a maioria das cultivares utilizadas pertencentes ao grupo Indica. Apesar do aumento de rendimento observado de 3,7 para 5 t/ha, as cultivares modernas lançadas pela pesquisa têm potencial acima de 10 t/ha (Azambuja et al., 1996). Inúmeros fatores contribuem

para a não expressão completa deste potencial de rendimento, entre eles a ocorrência de temperaturas baixas, como será discutido adiante.

Influência da temperatura baixa sobre a cultura do arroz

O arroz é provavelmente uma das culturas mais diversas do mundo, sendo cultivado em áreas que se estendem desde a latitude 50°N até 40°S, e desde o nível do mar até uma altitude de 3000 m (Juliano, 1993).

Nesta extensa área geográfica utilizada para o cultivo do arroz, temperaturas não favoráveis ao desenvolvimento das plantas podem ocorrer em um ou mais estádios. Devido à sua origem tropical, a faixa de temperatura ótima para a cultura se encontra entre 25°C e 30°C e, temperaturas inferiores a 20°C, dependendo do período de desenvolvimento, são prejudiciais (Yoshida, 1981b). Temperatura fria, segundo Levitt (1980), é aquela baixa o suficiente para causar danos ao tecido vegetal, mas não tão baixa que cause congelamento da água no tecido. Neste sentido, temperaturas abaixo de 20°C poderiam ser consideradas frias para a cultura do arroz. Elas são comuns em áreas temperadas e subtropicais ou nas regiões de altitude elevada nos trópicos (Nanda & Seshu, 1979), limitando as áreas de produção e o período de cultivo.

Atualmente muito vem sendo elucidado a respeito dos mecanismos fisiológicos da tolerância ao frio e o conhecimento destes mecanismos será, sem dúvida, de extrema importância para que novas estratégias de seleção possam ser desenvolvidas para uso nos programas de melhoramento. Dentre os mecanismos fisiológicos apontados como responsáveis pelos danos de frio nas plantas tropicais, tem-se o impedimento do funcionamento da membrana celular e de organelas (Lyons, 1973), a inibição da fotossíntese devida à foto-oxidação da

clorofila nos cloroplastos (Tanaka et al., 1977 apud Tajima, 1995) e o estresse oxidativo (Prasad, 1997). Estes danos causados pelas temperaturas baixas aos tecidos vegetais são visualmente percebidos através dos vários sintomas apresentados pelas plantas conforme o período de desenvolvimento em que se encontram no momento da ocorrência do estresse.

No período de germinação do arroz, os sintomas de dano pelo frio mais comumente observados são o atraso e a diminuição na porcentagem de emergência. Durante o período vegetativo, o frio pode provocar atraso no desenvolvimento, redução na estatura e amarelecimento das folhas. No período reprodutivo, os sintomas de dano pelo frio são má exerceção da panícula, esterilidade e manchas nas espiguetas (Souza, 1990). A esterilidade de espiguetas pode ser devida à inviabilidade de pólen causada pela ocorrência de frio no estágio de microsporogênese, quando o grão de pólen está sendo formado, e que corresponde ao período de 7 a 14 dias antes da antese (Yoshida, 1981b; Mackill et al., 1996); ou pode ser devida à ocorrência de frio no estágio de florescimento (antese) em que este prejudica a deiscência das anteras e o crescimento do tubo polínico, resultando numa baixa fecundação de espiguetas (Souza, 1990).

Além do período de desenvolvimento em que a lavoura se encontra no momento da ocorrência da temperatura baixa, o maior ou menor dano à cultura depende da intensidade e duração do frio, do manejo da cultura e da cultivar utilizada (Souza, 1990). Além disso, a condição nutricional das plantas em cada período afeta sua tolerância à temperatura baixa, tornando o problema ainda mais complicado (Okabe & Toriyama, 1972).

De todos os estádios apontados acima, a microsporogênese e o florescimento (antese) são os mais sensíveis à ocorrência de frio, porém é no primeiro que ocorre a maior porcentagem de esterilidade de espiguetas (Lin & Peterson, 1975; Yoshida, 1981b).

Bases genéticas da tolerância ao frio em arroz

A variação quanto à tolerância ao frio observada entre diferentes períodos de desenvolvimento do arroz implica em diferentes genes envolvidos na tolerância em cada um deles. Assim, a genética da tolerância ao frio em arroz tem sido estudada em cada período de desenvolvimento da planta separadamente. Os principais resultados obtidos são provenientes de estudos conduzidos sob condições controladas para que não haja interferência de nenhum outro fator nos resultados. Nestes estudos, a tolerância ao frio é medida de várias formas e é fundamental que se saliente que o tipo de herança encontrado é válido somente para o caráter avaliado, o material genético utilizado e o grau de estresse empregado (intensidade e período de frio).

A habilidade de germinação do arroz, medida através da porcentagem e taxa de germinação em um período de estresse de sete dias a 17°C, mostrou uma herdabilidade que variou de 0,74 a 0,87 (Sthapit & Witcombe, 1998). Neste mesmo estudo, a tolerância ao frio no período vegetativo, medida através do amarelecimento de folhas, apresentou uma herdabilidade variando de 0,69 a 0,73. Já Kaw (1991) observou uma herdabilidade de 0,99 para o amarelecimento de folhas quando utilizou um estresse de 12°C por dez dias, o que concorda com os resultados obtidos por Shahi & Khush (1986) que encontraram um gene dominante determinando o amarelecimento de folhas de arroz submetidas a 10°C

por 30 dias. A herança da tolerância ao frio no período vegetativo, avaliada através da medição da estatura em plântulas submetidas a 18°C por quatorze dias, evidenciou 4 a 5 genes responsáveis, com efeitos aditivos e de dominância envolvidos na expressão do caráter (Li & Rutger, 1980).

No período reprodutivo, a tolerância ao frio, medida pelo grau de exerceção da panícula a campo, mostrou ser de herança monogênica, condicionada por apenas um gene dominante (Mahishi et al., 1991; Pandey & Gupta, 1993). Já a avaliação da porcentagem de fertilidade de espiguetas, medida a campo, envolveu um sistema poligênico com mais de sete fatores efetivos, com efeitos de dominância e aditividade (Toriyama & Futsuhara, 1961). Esta mesma característica, medida sob condições controladas em plantas submetidas a 20°C por cinco dias no estágio de antese, mostrou uma herança poligênica, com valores de herdabilidade realizada entre 0,35 e 0,45 (Khan et al., 1986).

Os dados acima demonstram que, mesmo para uma mesma característica de tolerância avaliada, dependendo do grau de estresse utilizado, os resultados de herança ou herdabilidade variaram. Portanto, para que estudos deste tipo tenham aplicabilidade é importante que o nível de estresse utilizado seja definido (Datta & Siddiq, 1983).

De forma geral, a herança da tolerância ao frio em arroz parece ser oligogênica e, em muitos dos estudos, a herdabilidade parece ser moderada à alta. Apesar destes resultados indicarem que os caracteres de tolerância avaliados são de fácil seleção e incorporação nos genótipos adaptados, muitas dificuldades ainda existem no melhoramento para tolerância ao frio em arroz.

Melhoramento para tolerância ao frio em arroz

A tolerância ao frio é uma característica de difícil seleção a campo, uma vez que não se pode ter certeza da ocorrência do estresse e nem da época e duração do mesmo. Devido à dificuldade de controle da quantidade e da duração do estresse de frio em condições de campo, inúmeros procedimentos de avaliação vêm sendo utilizados no sentido de selecionar genótipos tolerantes ao frio em períodos específicos de desenvolvimento. Mackill et al. (1996) utilizaram ambiente controlado para selecionar para tolerância ao frio e a semeadura mais tardia para coincidir o florescimento das plantas com épocas em que as temperaturas do ar estão baixas. Além disso, estes autores recomendaram a avaliação da esterilidade de espiguetas como boa estimativa da tolerância ao frio. No estágio de antese, populações F_1 , F_2 e F_3 derivadas do cruzamento entre genótipos tolerantes e sensíveis foram avaliadas em condições de fitotron com temperatura controlada, sendo a tolerância ao frio (20°C) medida pela porcentagem de espiguetas férteis (Khan et al., 1986).

Na seleção para tolerância ao frio na fase de florescimento, o nível de estresse imposto em cada genótipo depende de sua época de florescimento. Por isso, é importante o uso de um genótipo controle sensível semeado em várias épocas e que servirá como parâmetro de comparação da taxa de esterilidade observada nos genótipos (Mackill et al., 1996).

A seleção na germinação e no período vegetativo é mais fácil por necessitar de espaço físico menor e, assim, permitir avaliação de grande quantidade de plantas em condições controladas, tanto em germinadores como em fitotrons. Algumas metodologias já foram descritas para este fim, as quais abrangem testes de germinação (Maya, 1988; Bertin & Bouharmont, 1997), no

período vegetativo (Maya, 1988; Srinivasulu & Vergara, 1988), até testes mais refinados envolvendo a avaliação do escape de solutos de células (Paull, 1981), fluorescência de clorofila (Smillie & Nott, 1979) e níveis de fosfatidilglicerol nas membranas (Roughan, 1985).

Uma cultivar de arroz pode ser tolerante ao frio no período vegetativo e sensível no reprodutivo, ou vice-versa. Isto provavelmente decorre de diferentes genes de tolerância e diferentes mecanismos fisiológicos envolvidos na tolerância ao frio em cada período. No entanto, a falta de correlação entre a tolerância ao frio num período e outro torna o melhoramento para esta característica bastante complicado quando o objetivo é incorporar tolerância em vários períodos de desenvolvimento (Datta & Siddiq, 1983), pois se este for o caso, será necessário realizar seleção em cada um deles separadamente. A existência de correlação entre diferentes períodos quanto à tolerância ao frio seria vantajosa por permitir, inclusive, seleção indireta para a característica, por exemplo, a seleção para tolerância ao frio no período reprodutivo poderia ser feita mais precocemente em plântulas, onde o espaço requerido é menor e se pode avaliar maior número de indivíduos simultaneamente.

Tem sido relatado que a tolerância ao frio em arroz nos períodos vegetativo e reprodutivo é governada por fatores genéticos diferentes e que atuam em direções opostas (Kaw & Khush, 1986; Shahi & Khush, 1986). Num estudo com 54 híbridos Japônica x Indica e 48 híbridos Indica x Indica e os respectivos genitores foi encontrado que a correlação genotípica entre a estatura de plântula e o número de espiguetas férteis foi de $-0,50$ e entre a porcentagem de sobrevivência de plântulas e o número de espiguetas férteis foi de $-0,66$ (Kaw, 1991). No mesmo estudo foi observada uma correlação de $0,87$ entre a

estatura de plântulas e a porcentagem de sobrevivência das mesmas. Assim, num mesmo período de desenvolvimento, a correlação entre diferentes características é geralmente positiva e alta, demonstrando que apenas a seleção de uma delas já é suficiente.

Estratégias do melhoramento para tolerância ao frio em arroz

Com base no conhecimento de que a atividade do cloroplasto é afetada diretamente pelo frio, a fluorescência de clorofila tem sido usada como forma de quantificar a tolerância ao frio no período vegetativo. Esta técnica se baseia no fato de que durante o processo de fotossíntese uma pequena porção de luz é re-emitida pela molécula de clorofila, a qual é denominada fluorescência de clorofila (Sthapit et al., 1995). A medição da quantidade de fluorescência emitida permite avaliar o funcionamento do sistema fotossintético em condições de estresse por frio. Quanto maior o nível de fluorescência emitido, menor é o dano ao aparelho fotossintético e à molécula de clorofila. Esta é, então, uma forma precisa de avaliar diretamente a tolerância ao frio no período vegetativo, pois o dano é medido diretamente e não indiretamente como feito através do grau de amarelecimento das folhas. A fluorescência de clorofila já foi utilizada com sucesso na diferenciação de genótipos de arroz tolerantes e sensíveis ao frio em vários países e para avaliar a tolerância tanto no período vegetativo como no reprodutivo (Rho, 1985; Li et al., 1992; Wang et al., 1992; Poisson et al., 1996). Suas principais vantagens são permitir a avaliação de grande número de plantas para tolerância ao frio em pouco tempo e com grande sensibilidade, ser reproduzível, não-destrutivo, econômico e permitir detectar o dano antes do aparecimento dos sintomas (Wilson & Greaves, 1990).

O cultivo de anteras tem sido utilizado para o desenvolvimento de genótipos tolerantes ao frio, com a finalidade de acelerar a avaliação e teste de progênes derivadas de cruzamentos entre genótipos tolerantes e sensíveis (Gupta et al., 1996). A variação somaclonal e a seleção "in vitro" para o melhoramento da tolerância ao frio em arroz foram empregadas com sucesso, tendo sido regeneradas plantas mais tolerantes que as plantas controles (Bertin & Bouharmont, 1997; Bertin et al., 1996).

A transformação genética também pode ser uma estratégia alternativa no melhoramento para tolerância ao frio em arroz. A proteína anticongelamento presente em espécies de clima frio tem um papel na diminuição da temperatura de congelamento. Foi feita a transformação do arroz com o gene AFP da cenoura, que codifica esta proteína, e as plantas transgênicas apresentaram maior tolerância ao frio que as não transformadas (Matsuba et al., 2000).

O uso de marcadores moleculares em arroz também é uma possibilidade interessante para seleção indireta da tolerância ao frio. Os marcadores de DNA já vêm sendo usados em arroz para o desenvolvimento de mapas moleculares e o mapeamento de caracteres relacionados ao rendimento de grãos (McCouch et al., 1988; Lin et al., 1996; Chen et al., 1997). Marcadores do tipo RFLP foram usados para auxiliar na localização cromossômica de genes de tolerância ao frio em arroz (Saito et al., 1995; Yan et al., 1999), e marcadores do tipo RAPD e de isoenzimas foram associados com a tolerância ao frio em vários períodos de desenvolvimento do arroz na Coreia do Sul (Chen, com. pessoal), permitindo a seleção assistida para o caráter, independente da presença de frio. Entre os marcadores isoenzimáticos, o sistema esterase se apresenta como uma provável ferramenta na seleção de genótipos de arroz

tolerantes ao frio. Neste sistema isoenzimático, dois locos, o *Est-2* e *Est-3* já foram associados à tolerância ao frio em arroz (Majumder et al., 1989; Nagamine & Nakagahra, 1991). No primeiro, o alelo *Est-2⁰* foi encontrado em genótipos tolerantes e os alelos *Est-2¹* e *Est-2²* em sensíveis, independente do grupo a que pertenciam. Além disso, o padrão isoenzimático identificado variou conforme o período de desenvolvimento em que o genótipo se mostrava tolerante, sendo identificado o alelo *Est-2⁰* no período vegetativo onde havia tolerância ao frio e o alelo *Est-2²* no reprodutivo, onde era sensível (Majumder et al., 1989). Apesar do caráter tolerância ao frio ser provavelmente de herança poligênica, o grau de tolerância parece ser influenciado pelo padrão isoenzimático da esterase-2. Se confirmada esta associação entre o padrão isoenzimático da esterase 2 e a tolerância ao frio, será possível utilizar esta técnica na seleção indireta do caráter em programas de melhoramento.

O problema do frio na cultura do arroz no Rio Grande do Sul

No Rio Grande do Sul (RS) o arroz é cultivado nos meses de outubro a abril e, em algumas regiões produtoras do Estado, como Pelotas e Santa Vitória do Palmar, temperaturas abaixo de 20°C nos meses de outubro, quando a cultura está sendo implantada, e em fevereiro, durante o período reprodutivo, são comuns (Oliveira, 1997). A ocorrência destas temperaturas nas fases iniciais pode causar danos no estabelecimento e estande inicial da lavoura e, mais tardiamente, pode provocar perdas no rendimento de grãos devido à esterilidade de espiguetas. No RS, esta situação ocorre uma vez a cada três anos causando prejuízos no rendimento de grãos superiores a 25% (Terres & Galli, 1985). Conforme Steinmetz (1996), o frio na cultura do arroz é um elemento climático

intimamente relacionado com o nível de rendimento aquém do potencial produtivo dos genótipos.

A obtenção de cultivares tolerantes é, portanto, altamente desejável, porém os problemas relacionados à dificuldade de seleção para o caráter em condições de campo e o desconhecimento das bases genéticas da tolerância ao frio nos genótipos locais limitam a definição de estratégias eficientes pelos programas de melhoramento.

A caracterização de genótipos sob condições controladas de temperatura é importante para que se identifique fontes específicas de tolerância ao frio em cada período de desenvolvimento. Neste sentido, a definição de metodologias adequadas de avaliação é essencial para que se possa caracterizar a reação dos genótipos disponíveis à temperatura baixa e a partir daí, estudar a genética da tolerância em cada período. A compreensão das bases genéticas da tolerância ao frio é importante na definição da forma de condução das populações segregantes e do momento de fazer seleção.

A caracterização molecular dos genótipos tolerantes e sensíveis é importante no sentido de identificar possíveis marcadores de DNA para o mapeamento da tolerância ao frio e, assim, viabilizar a seleção assistida deste caráter em arroz.

Considerando o que foi exposto, este trabalho teve os seguintes objetivos:

- estabelecer uma metodologia de avaliação da tolerância ao frio na germinação sob condição de temperatura controlada, identificar as características mais adequadas como critério de avaliação e caracterizar a variabilidade existente

entre 24 genótipos de arroz do banco de germoplasma do Instituto Riograndense do Arroz (IRGA) com relação a estas características (Capítulo I);

- determinar as capacidades geral (CGC) e específica de combinação (CEC) para tolerância ao frio na germinação em seis genótipos de arroz, de forma a auxiliar na escolha de genitores, e verificar o tipo de ação gênica predominante para o caráter (Capítulo II);

- determinar a herança e a herdabilidade da tolerância ao frio na germinação por meio do recrescimento do coleóptilo após um período de frio (Capítulo III);

- avaliar os efeitos de diferentes durações da temperatura baixa nos estádios de microsporogênese e antese sobre os caracteres fertilidade de espiguetas, exerceção da panícula e peso de 100 grãos em seis genótipos de arroz com o objetivo de identificar uma metodologia capaz de diferenciar os genótipos quanto à tolerância ao frio no período reprodutivo e caracterizar sua reação ao frio nestas condições (Capítulo IV);

- verificar a adequação da avaliação do grau de exerceção da panícula nas condições de ambiente do sul do Brasil e determinar a herança e herdabilidade desta característica (Capítulo V);

- caracterizar a reação ao frio de seis genótipos de arroz em três períodos de desenvolvimento, verificar a correlação entre estes períodos quanto à tolerância ao frio e identificar a população mais adequada para o mapeamento desta característica por meio do polimorfismo de marcadores RAPD e caracteres relacionados à tolerância ao frio nos seis genótipos de arroz (Capítulo VI).

CAPÍTULO I

TOLERÂNCIA AO FRIO NA GERMINAÇÃO EM ARROZ: METODOLOGIAS DE AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS

1.1. INTRODUÇÃO

No Rio Grande do Sul (RS), o arroz é semeado nos meses de setembro a dezembro, dependendo da região e condições climáticas predominantes. No entanto, a época de semeadura recomendada para cultivares de ciclo médio, na maioria das regiões, concentra-se no período de início de outubro a meados de novembro, no qual as temperaturas médias estão abaixo dos 15°C (Oliveira, 1997). Esta média de temperatura, apesar de não impedir a germinação do arroz, retarda o início da mesma e, conseqüentemente, a emergência das plântulas. A faixa de temperatura ótima para a germinação do arroz se situa entre 20 e 35°C e a temperatura de 10°C é citada como o valor crítico mínimo abaixo do qual ela não ocorre (Yoshida, 1981b).

De acordo com Krishnasamy & Seshu (1989), um bom desempenho durante a germinação é importante para garantir um rápido estabelecimento e bom estande inicial da cultura. No RS, a maioria das cultivares plantadas pertence ao grupo Indica, as quais apresentam germinação lenta e desuniforme sob temperatura baixa, resultando em emergência irregular e baixa população de

plantas (Souza, 1990). Como as práticas de manejo não são suficientes para minimizar o problema, o melhoramento genético para tolerância ao frio na germinação pode auxiliar na melhoria do estabelecimento da lavoura de arroz em anos frios.

A seleção de genótipos tolerantes em condições de campo, apesar de ser utilizada em países como a Coreia (Heu & Bae, 1972) e Estados Unidos (Carnahan et al., 1972), é dificultada nas condições do RS devido à instabilidade do clima, o que torna difícil prever a ocorrência de temperaturas baixas e com duração suficiente para permitir boa pressão de seleção nos genótipos.

A tolerância do arroz ao frio na germinação tem sido muito estudada sob condições controladas de temperatura, as quais permitem ajustar a intensidade e duração, bem como possibilitam maior precisão dos dados pela ausência de fatores que podem interferir nos resultados de campo, como fungos de solo, por exemplo (Blum, 1988). Nas metodologias de avaliação disponíveis na literatura, as sementes são submetidas a temperaturas que variam desde 10 até 25°C por períodos de três até trinta e cinco dias e as características mais comumente medidas são a porcentagem e velocidade de germinação e o comprimento do coleóptilo e da radícula (Maya, 1988; Srinivasulu & Vergara, 1988; Bertin et al., 1996; Sthapit & Witcombe, 1998).

A utilização destas metodologias tem permitido a identificação de genótipos com melhor desempenho quando em germinação sob temperaturas baixas, sendo que, de forma geral, os genótipos pertencentes ao grupo Japônica são mais tolerantes à ocorrência de temperaturas baixas do que os do grupo Indica (Li et al., 1981; Cruz & Milach, 1999a; Cruz & Milach, 1999b).

Até o presente momento, contudo, não se tem informação sobre o comportamento de genótipos brasileiros de arroz quanto à germinação sob condições de temperatura controlada e sobre qual metodologia de teste é mais adequada para uso em programas de melhoramento. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivos estabelecer uma metodologia de teste sob condição de temperatura controlada, identificar as características mais adequadas como critério de avaliação para tolerância ao frio na germinação em arroz e caracterizar a variabilidade existente entre 24 genótipos de arroz do banco de germoplasma do Instituto Riograndense do Arroz (IRGA) com relação a estas características.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e quatro genótipos de arroz de diferentes origens foram estudados, sendo 12 pertencentes ao grupo Japônica e 12 ao Indica (Tabela 1.1). Os genótipos Quilla 64117, Quilla 66304, Diamante, Caloro e IR 8 já haviam sido avaliados quanto à tolerância ao frio na germinação em condições de temperatura controlada, sendo os quatro primeiros considerados tolerantes e o IR 8 sensível (Maya, 1988). A cultivar Koshihikari, de origem japonesa, também é tolerante ao frio na germinação (Nakagahra et al., 1997). O comportamento destes seis genótipos foi utilizado como referência para determinar a metodologia de avaliação adequada para classificar os genótipos quanto à tolerância ao frio na germinação.

Duas metodologias de teste foram usadas para caracterizar a tolerância ao frio dos genótipos de arroz, as quais estão descritas nos experimentos I e II, respectivamente.

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Sementes do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS, no ano de 1998.

TABELA 1.1. País de origem, grupo e reação ao frio dos genótipos de arroz utilizados no estudo da tolerância ao frio na germinação. UFRGS, 2001.

Genótipo	País de origem	Grupo	Reação ao frio na germinação
BR-IRGA 409	Brasil	Indica	desconhecida
BR-IRGA 410	Brasil	Indica	desconhecida
IRGA 416	Brasil	Indica	desconhecida
IRGA 417	Brasil	Indica	desconhecida
BRS 7-Taim	Brasil	Indica	desconhecida
IRGA 284	Brasil	Indica	desconhecida
IRGA 318	Brasil	Indica	desconhecida
IRGA 411	Brasil	Indica	desconhecida
IRGA 411 Liso	Brasil	Indica	desconhecida
IRGA 440	Brasil	Indica	desconhecida
El Paso 144	Uruguai	Indica	desconhecida
IR 8	Filipinas	Indica	sensível *
Frances	desconhecido	Japônica	desconhecida
El Paso 227	Uruguai	Japônica	desconhecida
INIA Tacuari	Uruguai	Japônica	desconhecida
Puntal	desconhecido	Japônica	desconhecida
IAS 12-9 Formosa	Formosa	Japônica	desconhecida
Caloro	EUA	Japônica	tolerante *
Koshihikari	Japão	Japônica	tolerante **
Quilla 64117	Chile	Japônica	tolerante *
Quilla 66304	Chile	Japônica	tolerante *
Diamante	Chile	Japônica	tolerante *
L 202	EUA	Japônica	desconhecida
BRS Bojuru	Brasil	Japônica	desconhecida

* Maya (1988)

** Cultivar tolerante amplamente cultivada no Japão (Nakagahra et al., 1997).

1.2.1. Experimento I

Neste experimento, as sementes dos 24 genótipos de arroz foram submetidas à germinação sob duas condições: 13°C por 28 dias (frio) e 28°C por

sete dias (controle). As sementes dos genótipos foram provenientes do banco de germoplasma do IRGA, tendo sido colhidas na mesma safra. Além disso a escolha das sementes de um mesmo genótipo foi baseada na uniformidade de tamanho e ausência de manchas. Elas foram desinfestadas em álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio 5% por 20 minutos, sendo após lavadas seis vezes com água destilada estéril. Foram, então, colocadas em placas de Petri contendo duas camadas de papel germinador umedecido com água destilada e 1 ml de Benomil 2,5 ppm para evitar contaminação. O experimento foi conduzido no delineamento de blocos casualizados com três repetições, sendo os blocos constituídos por diferentes prateleiras na câmara de germinação. Foram colocadas 20 sementes por placa de Petri, constituindo a média desta placa uma repetição, num total de 60 sementes por genótipo.

As sementes submetidas à germinação a 13°C tiveram o comprimento do coleóptilo medido semanalmente por um período de 28 dias e nas sementes germinadas a 28°C esta medição foi feita sete dias após a instalação do experimento.

Os genótipos foram avaliados quanto a:

- 1) índice de germinação;
- 2) porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm após 28 dias;
- 3) porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo.

As duas primeiras características foram avaliadas apenas no tratamento de frio (13°C por 28 dias).

O índice de germinação (IG) foi obtido através da fórmula:

$$IG = (N_{14} + N_{21} / 2) / 20 \times 100$$
, onde N_{14} = número de sementes germinadas aos 14 dias do início do experimento; N_{21} = número de sementes

germinadas aos 21 dias do início do experimento e 20 é o número total de sementes por genótipo por repetição. Para o cálculo do IG foram consideradas germinadas as sementes que apresentavam coleóptilo e radícula.

A porcentagem de sementes com coleóptilo maior que 5 mm foi obtida considerando-se todas as sementes germinadas aos 28 dias do início do experimento e verificando-se a porcentagem que apresentava coleóptilo com comprimento superior a 5 mm.

A porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo foi obtida comparando-se os dados médios de comprimento do coleóptilo dos genótipos após 28 dias de germinação a 13°C com aqueles obtidos após 7 dias a 28°C e calculando-se a porcentagem de redução neste comprimento pela germinação sob temperatura baixa.

1. 2. 2. Experimento II

Neste experimento, as sementes dos 24 genótipos de arroz foram submetidas à germinação a 28°C por 72 horas, 13°C por 96 horas e novamente 28°C por mais 72 horas. A escolha e desinfestação das sementes e a condução do experimento foram feitos conforme o experimento I.

O comprimento do coleóptilo foi medido em duas ocasiões: após o período de 96 horas a 13°C e após o segundo período de 72 horas a 28°C. A avaliação da tolerância ao frio foi feita através do recrescimento do coleóptilo, em mm, que consistiu na diferença entre a segunda e a primeira medições, ou seja, no quanto o coleóptilo cresceu após o período de frio.

A temperatura de 13°C foi escolhida em ambos os experimentos por ser a mesma usada por Maya (1988) na avaliação da tolerância ao frio na germinação dos genótipos utilizados como testemunha neste estudo.

Os dados de ambos os experimentos foram submetidos a uma análise de resíduos para verificar a normalidade e homogeneidade de variâncias e à análise de regressão para verificar a necessidade de transformação dos mesmos. Esta última análise indicou ser necessário transformar o índice de germinação (Experimento I) pela raiz quadrada e o recrescimento do coleóptilo (Experimento II) pelo logaritmo.

Os dados foram, então, submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. A relação entre as variáveis foi verificada através do cálculo do coeficiente de correlação de Pearson. As análises foram realizadas no programa SAS (Statistical Analysis System).

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância revelou significância estatística do efeito de genótipo para todas as características (Tabela 1.2), indicando a existência de variabilidade para tolerância ao frio na germinação entre os genótipos estudados.

TABELA 1.2. Quadrados médios e coeficientes de variação para quatro variáveis avaliadas em 24 genótipos de arroz. UFRGS, 2001.

Variável	Quadrado médio	CV (%)
índice de germinação	12,8**	18,2
porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm	1734,7**	20,7
porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo	776,3**	29,0
recrescimento do coleóptilo	0,7**	13,0

** Significativo a 1% de probabilidade

Os maiores valores de coeficiente de variação foram obtidos para as características de porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm e porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo, para as quais não foi necessária transformação de dados (Tabela 1.2). Além disso, no caso da porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo, o coeficiente de variação obtido pode ser devido a esta ser decorrente da comparação da germinação em duas condições (frio e controle) e, por isso envolver, para um mesmo genótipo, conjuntos diferentes de sementes.

O genótipo IRGA 417 apresentou valores superiores a 80% para o índice de germinação, que expressa a velocidade de germinação dos genótipos sob temperatura baixa, diferindo significativamente dos demais (Figura 1.1). Estes resultados indicam que mais sementes deste genótipo haviam germinado aos 14 e 21 dias do início do experimento.

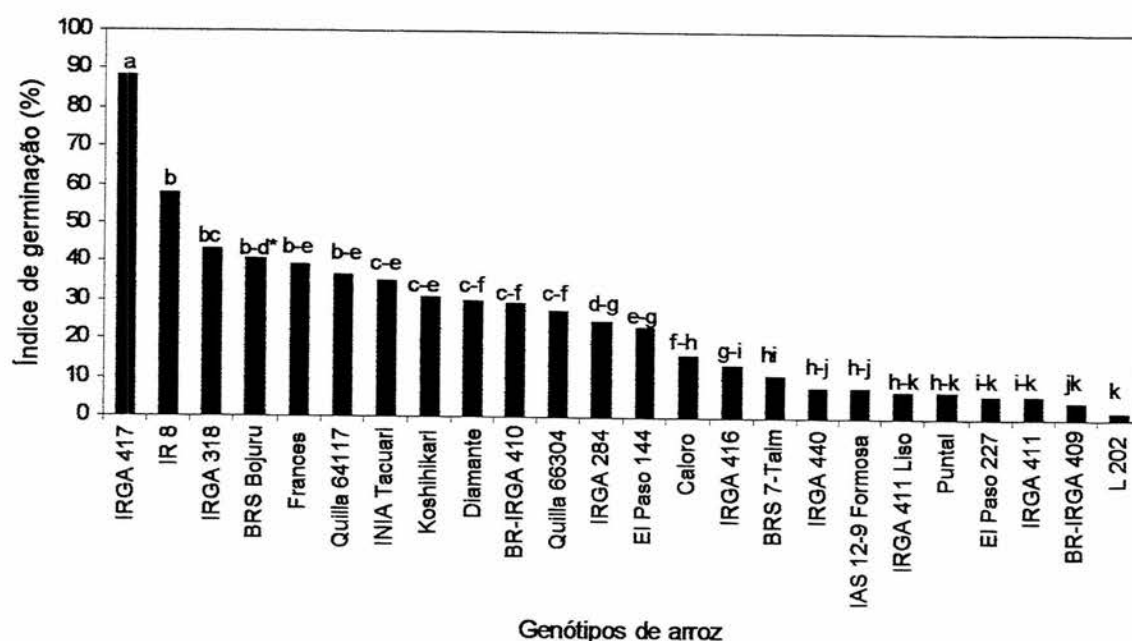


FIGURA 1.1. Índice de germinação de sementes de 24 genótipos de arroz submetidos à germinação a 13°C por 28 dias, comparados pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). *A presença do hífen indica a presença de outras letras em seqüência. UFRGS, 2001.

Destacou-se também a testemunha sensível IR 8, com 57,5% de sementes germinadas. Todos os demais genótipos apresentaram valores abaixo de 50% para o índice de germinação (Figura 1.1). Onze genótipos apresentaram valores entre 20 e 50%, dos quais sete foram Japônica e os restantes apresentaram índice de germinação abaixo de 20%, sendo que neste grupo houve iguais proporções de Indica e Japônica (Figura 1.1). Entre os cinco genótipos conhecidamente tolerantes, quatro apresentaram entre 20 e 50% de índice de germinação (Quilla 64117, Quilla 66304, Diamante e Koshihikari), e a cultivar Caloro apresentou menos de 20% de sementes germinadas (Figura 1.1).

Cabe notar que, de forma geral, os valores obtidos para o índice de germinação foram baixos, pois a maioria dos genótipos ficou abaixo de 50%. Apesar da velocidade de germinação ser importante no estabelecimento da lavoura, o índice de germinação neste caso provavelmente refletiu diferenças de vigor entre as sementes e não tolerância ao frio propriamente dita. De fato, o genótipo que apresentou o maior índice de germinação, a cultivar IRGA 417, não confirmou sua tolerância ao frio em outras avaliações (Cruz & Milach, 1999a; Cruz & Milach, 1999b). Esses resultados indicam que o índice de germinação não é uma característica confiável para identificar tolerância ao frio, pois as diferenças observadas entre os genótipos podem ser devidas a diferenças de vigor nos lotes de sementes originais.

Houve uma ampla variação entre os genótipos com relação à porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm, sendo o menor valor obtido no genótipo El Paso 227 e o maior valor observado no genótipo tolerante Koshihikari (Figura 1.2). Quatorze genótipos apresentaram mais de 70% das sementes com coleóptilo maior que 5 mm e neste grupo ficaram incluídas as

testemunhas tolerantes Koshihikari, Quilla 64117, Diamante, Caloro e Quilla 66304, mas também o IR 8, que foi a testemunha sensível ao frio. Dentre estes, destacaram-se os genótipos Koshihikari, Frances, BRS Bojuru, Quilla 64117, IAS 12-9 Formosa e Diamante (Japônica) e os genótipos IRGA 417 e IR 8 (Indica), por apresentarem mais de 90% das sementes com coleóptilo superior a 5 mm.

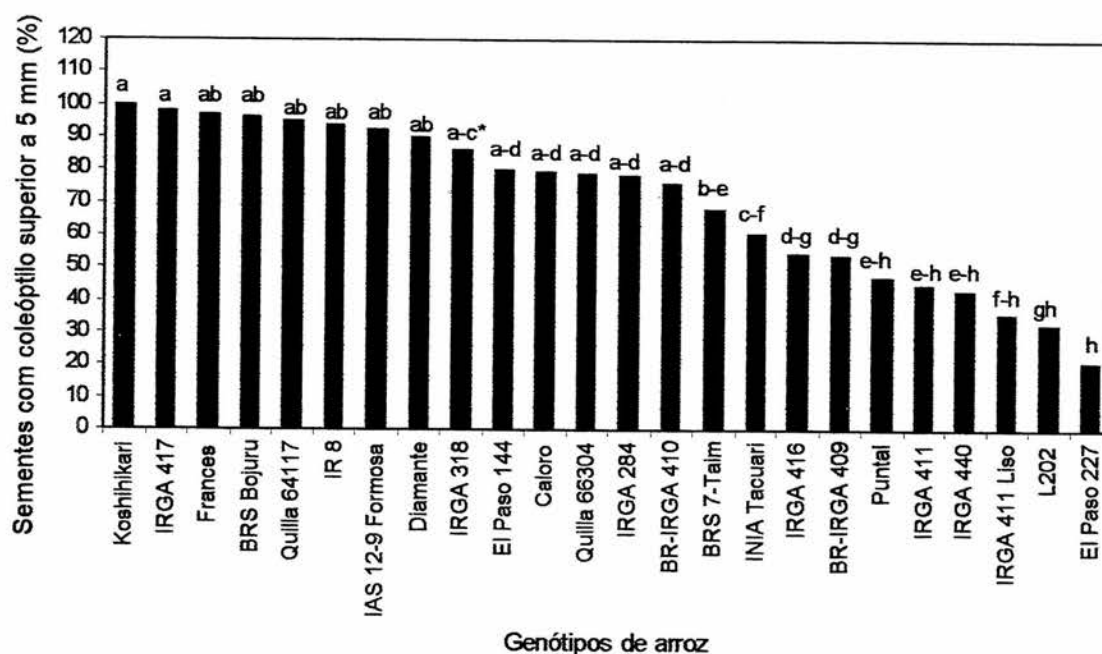


FIGURA 1.2. Porcentagem de sementes de 24 genótipos de arroz com coleóptilo superior a 5 mm após 28 dias de germinação a 13°C, comparados pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). *A presença do hífen indica a presença de outras letras em seqüência. UFRGS, 2001.

Esta característica refletiu a capacidade de germinação de um grupo de sementes sob frio, ou seja, que proporção de sementes apresentou alongação do coleóptilo superior a 5 mm após 28 dias a 13°C. Segundo Maya (1988), este é um bom critério para distinguir genótipos de arroz tolerantes de sensíveis ao frio. De fato, os cinco genótipos utilizados como parâmetro de tolerância apresentaram elevada porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm, mas também o genótipo sensível IR 8 (Figura 1.2), demonstrando que esta

característica não permitiu a separação entre genótipos tolerantes e sensíveis. Ela avalia a uniformidade de germinação das sementes sob temperatura baixa e, apesar da importância desta última para a verificação da qualidade de um lote de sementes, sua relação com a tolerância ao frio no presente trabalho não foi clara. Desta forma, os dados referentes a esta característica devem ser avaliados com cautela.

Para a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio foram observados valores desde 11 até 68% (Figura 1.3). A maioria dos genótipos com redução inferior a 30% foram pertencentes ao grupo Japônica juntamente com dois genótipos Indica: a linhagem IRGA 284 e a cultivar BR-IRGA 410. Os menores valores foram observados para as testemunhas tolerantes

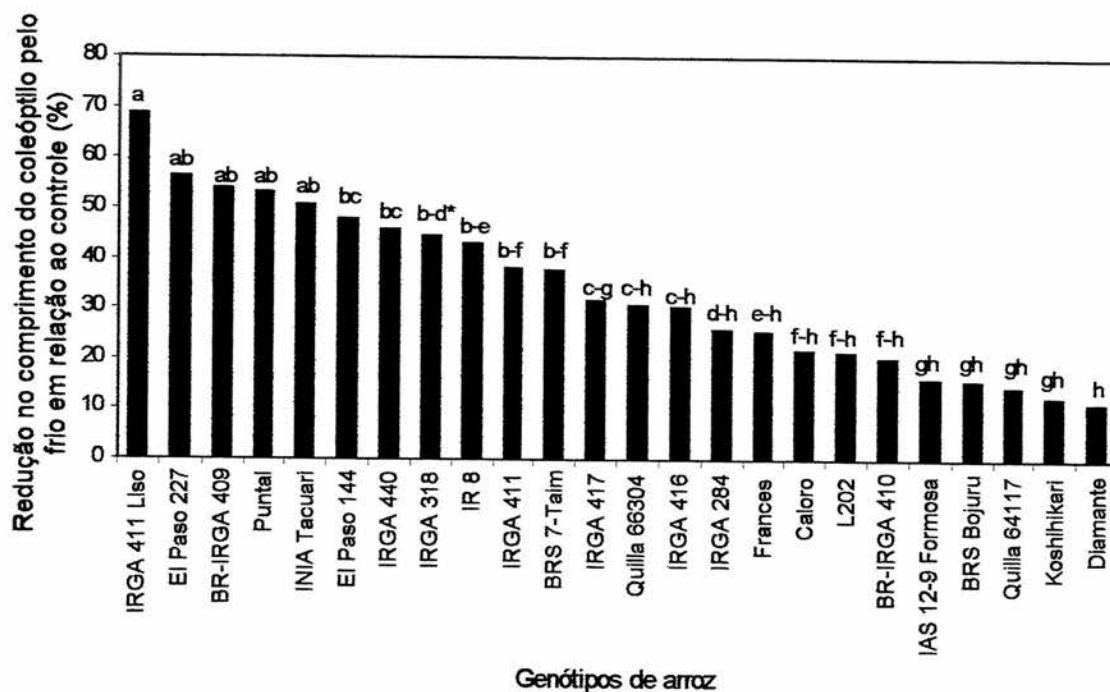


FIGURA 1.3. Porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo de 24 genótipos de arroz calculada com base na germinação a 13°C por 28 dias em relação à germinação a 28°C por sete dias, comparados pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). *A presença do hífen indica a presença de outras letras em seqüência. UFRGS, 2001.

Diamante, Koshihikari e Quilla 64117 (abaixo de 20%), e os outros dois tolerantes Caloro e Quilla 66304 apresentaram 22 e 31%, respectivamente. A testemunha sensível IR 8 apresentou 43% de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio, porém oito genótipos apresentaram reduções superiores a este genótipo (Figura 1.3).

Esta característica expressou quanto o comprimento do coleóptilo de um genótipo reduziu em presença de frio em relação à temperatura normal. Portanto, o efeito da qualidade do lote de sementes foi minimizado na avaliação desta característica.

Os dados relativos ao recrescimento do coleóptilo revelaram uma grande amplitude de valores desde 4,3 mm até 28,3 mm (Figura 1.4), indicando que a retomada do processo de germinação após o período de frio variou entre os genótipos.

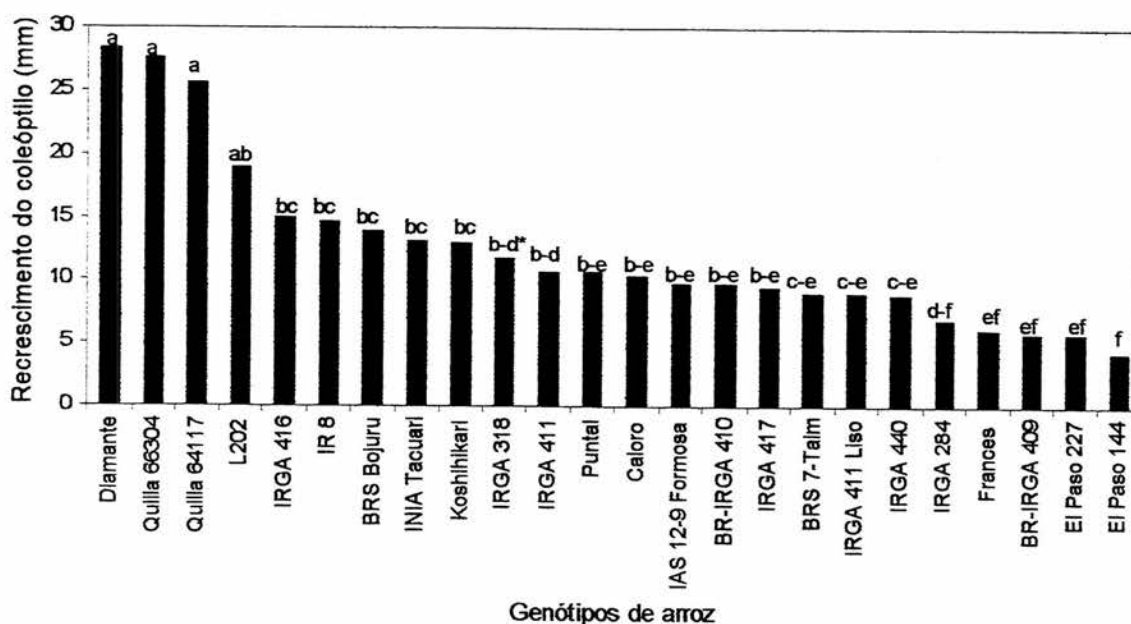


FIGURA 1.4. Recrescimento do coleóptilo (mm) de 24 genótipos de arroz submetidos à germinação a 28°C por 72 h, 13°C por 96 h e 28°C por mais 72 h, comparados pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). *A presença do hífen indica a presença de outras letras em seqüência. UFRGS, 2001.

Três genótipos tolerantes (Diamante, Quilla 64117 e Quilla 66304) formaram um grupo com elevado recrescimento do coleóptilo, superior a 25 mm, diferindo significativamente dos demais, com exceção do L202. As outras duas testemunhas tolerantes, Caloro e Koshihikari, apresentaram recrescimento intermediário, juntamente com a testemunha sensível IR 8 (Figura 1.4).

Estas duas últimas características, porcentagem de redução no comprimento e recrescimento do coleóptilo, foram obtidas através da medição do comprimento do coleóptilo, o qual é importante para o estabelecimento da lavoura, pois é o órgão que protege a plântula no momento de sua emergência, estendendo-se para cobrir a primeira folha jovem (Okumoto, 1997). A medição do comprimento do coleóptilo como critério de avaliação da tolerância ao frio em arroz pode ser questionada no que diz respeito à influência da estatura do genótipo sobre o comprimento medido. Os genes de nanismo, amplamente utilizados no melhoramento de arroz a partir de 1960, reduzem o comprimento do colmo e, de acordo com Futsuhara (1979) apud Okumoto (1997) reduzem também o comprimento do coleóptilo. Porém, Kamijima (1975) apud Okumoto (1997), ao estudar a relação entre o comprimento do coleóptilo e o do colmo observou correlação positiva, mas não significativa entre os mesmos e concluiu que o comprimento do coleóptilo é controlado por outros genes além dos que controlam o comprimento do colmo. De fato, trabalhos feitos em trigo para melhorar o estabelecimento da lavoura mostraram ser possível aumentar o comprimento do coleóptilo em genótipos de baixa estatura devido à existência de genes responsáveis por esta característica (Rebetzke et al., 1999). Assim, a maior ou menor alongação do coleóptilo durante a germinação pode não estar associada à estatura, uma vez que estes dois caracteres não possuem a mesma

base genética. Dentre os genótipos estudados, o IR 8 é um dos que apresenta menor estatura, assim como o genótipo Koshihikari e, no entanto, não foram os que apresentaram menor comprimento de coleóptilo, o que corrobora as considerações mencionadas. Apesar disso, para evitar uma possível influência de genes de baixa estatura sobre os dados, no presente trabalho se optou por não considerar o comprimento absoluto do coleóptilo como parâmetro para avaliação da tolerância ao frio na germinação. Portanto, no caso da porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo, o que foi avaliado é o quanto diminuiu o seu comprimento pelo frio em comparação com a situação controle. Já no caso do recrescimento do coleóptilo, foi avaliada a capacidade de recuperação do processo de germinação após um período de frio. Assim, através destas duas variáveis, retirou-se o efeito da estatura na avaliação da tolerância ao frio.

Os dois experimentos realizados permitiram verificar que há variabilidade para a tolerância ao frio na germinação sob temperatura baixa entre os genótipos estudados, porém o comportamento dos mesmos dependeu, de forma geral, das características avaliadas. Pelos coeficientes de correlação entre elas, observou-se que o índice de germinação foi significativa e positivamente associado com a porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm (Tabela 1.3), o que seria esperado, pois quanto maior o número de sementes germinadas num dado tempo, maiores são as chances de apresentarem coleóptilo superior a 5 mm. A porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm também foi significativa e negativamente associada com a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo, demonstrando que, de forma geral, quanto menor a redução no comprimento pelo frio, maior foi a porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm (Tabela 1.3). Já o recrescimento foi

associado apenas com a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo, porém a correlação foi baixa, evidenciando que alguns genótipos considerados tolerantes pelo seu maior recrescimento podem ser considerados sensíveis com base na porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo e vice-versa (Tabela 1.3). Este foi o caso, por exemplo, do genótipo INIA Tacuari, que apesar de ter apresentado alto recrescimento (Figura 1.4), teve elevada redução no comprimento do coleóptilo pelo frio (Figura 1.3). Apesar de ambas características avaliarem a tolerância ao frio por meio do comprimento do coleóptilo, esta baixa correlação pode ser um indicativo de que elas medem diferentes aspectos da tolerância ao frio.

TABELA 1.3. Coeficientes de correlação entre as características índice de germinação (IG), porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm (%sems. col. >5 mm), porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (%redcol.) e recrescimento do coleóptilo (recresc.) avaliadas em 24 genótipos de arroz. UFRGS, 2001.

	IG	%sems.col.> 5 mm	%redcol.	recresc.
IG	1,0	0,7**	-0,3**	0,2
%sems.col.> 5 mm		1,0	-0,6**	0,2
%redcol.			1,0	-0,3**
recresc.				1,0

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

A germinação é dividida em três fases: a de embebição, a de ativação e a de crescimento pós-germinação (Yoshida, 1981a). De acordo com Simon (1979) apud Blum (1988), os maiores efeitos do frio na germinação parecem estar associados com a fase de embebição, considerada a mais sensível à temperatura baixa. O frio nesta fase leva ao aumento anormal do escape de solutos como aminoácidos e carboidratos da semente, o qual foi atribuído à membrana

plasmática incompleta que existe na semente seca e cuja reconstrução na fase de embebição deve ser perturbada pela temperatura baixa. De fato, a membrana celular é tida como o alvo principal do dano de frio e a causa primária dos demais distúrbios metabólicos observados nas células (Lyons, 1973). O motivo para isso é a transição de fase que ocorre na membrana plasmática sob temperatura baixa, a qual passa de um estado líquido-cristalino para um estado sólido-gel levando à contração e abertura de canais que aumentam sua permeabilidade.

Considerando o que foi exposto, pode se especular que as diferenças entre os resultados obtidos com relação à porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo e o seu recrescimento devem-se à fase de embebição das sementes, que na primeira ocorreu a 13°C e no recrescimento ocorreu a 28°C. Esta diferença de temperatura na fase de embebição pode ter sido determinante para as diferenças observadas no comportamento de alguns genótipos com relação a estas duas características, como o INIA Tacuari, que foi mais sensível em termos de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio (Figura 1.3), que no recrescimento (Figura 1.4).

Diferenças na composição da camada lipídica da membrana foram apontadas como responsáveis pela maior tolerância à transição de fase em temperatura baixa, de tal forma que quanto maior o grau de insaturação dos lipídeos maior seria a tolerância ao frio, porque a transição de fase ocorreria em uma temperatura mais baixa (Murata & Yamaya, 1984). Em arroz, diferenças na composição lipídica foram observadas entre genótipos tolerantes e sensíveis ao frio, sendo a proporção de ácidos graxos insaturados maior nos genótipos tolerantes do que nos sensíveis (Majumder et al., 1989). Assim, as diferentes porcentagens de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio dos genótipos

podem ser devidas a diferenças nos lipídeos da membrana, de forma que é possível que aqueles com maior proporção de insaturação apresentem maior tolerância na fase de embebição a 13°C.

Apesar da embebição ser considerada a fase mais sensível, Yoshida (1981a) relata que a maior influência da temperatura na germinação ocorre nas fases subseqüentes: de ativação e de crescimento do coleóptilo e radícula. A diminuição no crescimento do coleóptilo nestas fases pode ser decorrente da menor alongação e divisão celular ocasionada pelo efeito direto da temperatura baixa ou pelo seu efeito indireto devido ao desbalanço metabólico celular (Lyons, 1973). Estas fases devem ter sido afetadas em ambas as características, porém, enquanto na porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo a temperatura baixa foi constante durante todos os 28 dias de avaliação, no recrescimento ela durou apenas quatro dias. Portanto, novamente cada característica avaliou aspectos diferentes, sendo que na primeira foi a capacidade de crescimento do coleóptilo sob frio constante e na segunda foi a capacidade de recuperar o crescimento em temperatura normal após o estresse de frio.

Considerando o que foi exposto, a falta de consistência entre estas duas características quanto aos resultados obtidos para alguns genótipos e a baixa correlação entre as mesmas podem ser devidas, provavelmente, a terem avaliado diferentes mecanismos de tolerância ao frio na germinação. Da mesma forma, a correlação significativa observada entre a porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm e a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio (Tabela 1.3) podem ser decorrentes de terem avaliado o mesmo mecanismo de tolerância ao frio, pois foram medidas no mesmo

experimento (13°C por 28 dias), em que a fase de embebição ocorreu sob frio. Assim, pequenas diferenças entre genótipos para estas características podem ser devidas à forma como cada uma foi medida.

Apesar do comportamento variável de alguns genótipos de acordo com o teste utilizado, alguns genótipos destacaram-se como superiores para as quatro características avaliadas como Diamante, Quilla 64117, Koshihikari e BRS Bojuru, e outros como inferiores como BR-IRGA 409 e IRGA 440, o que é um indicativo da tolerância e sensibilidade, respectivamente, de cada um destes genótipos.

Um dos objetivos deste trabalho foi identificar uma metodologia de teste adequada para diferenciar genótipos tolerantes de genótipos sensíveis ao frio na germinação. Neste sentido, a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio foi a característica que melhor distinguiu os cinco genótipos conhecidamente tolerantes do sensível IR 8 (Figura 1.3). Além disso, porém, outros aspectos devem ser levados em consideração como: tempo para obtenção dos resultados, relação do estresse utilizado com aquele normalmente observado a campo, facilidade de medição da característica e do quão relacionada à tolerância ao frio na germinação ela está. No caso do recrescimento do coleóptilo, além de apenas dez dias terem sido suficientes para a obtenção dos resultados, a variação de temperatura utilizada permitiu simular o que acontece em condições naturais, onde períodos de frio são intercalados com períodos de temperatura alta. Utilizou-se uma temperatura inicial de 28°C para dar condições plenas e ideais de germinação a todas as sementes e as diferenças no recrescimento de coleóptilo entre genótipos significam que estes diferiram na capacidade das sementes recuperarem rapidamente o processo de germinação

após um período de frio. Já a dificuldade de discriminação entre os efeitos da temperatura baixa e do vigor das sementes, independentes da temperatura, podem ter comprometido os resultados referentes ao índice de germinação (Figura 1.1). Conforme Miedema (1982), a comparação do crescimento em temperatura baixa em relação à temperatura normal deve apresentar uma melhor estimativa da resposta ao frio, que foi justamente o que foi avaliado na porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio neste trabalho (Figura 1.3). A porcentagem de sementes com coleóptilo superior a 5 mm, apesar de se correlacionar com esta última, não foi obtida por meio da comparação com a situação controle e, por isso, pode apresentar os mesmos problemas relativos ao índice de germinação. Além disso, não distinguiu o sensível IR 8 dos tolerantes (Figura 1.2).

Assim, tanto na porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio como no recrescimento, os efeitos de qualidade do lote de sementes foram minimizados e por isso são as características mais indicadas para avaliar a tolerância ao frio na germinação, devendo ser utilizadas em conjunto por provavelmente avaliarem diferentes aspectos da tolerância ao frio.

Com base nestas duas características, pode-se verificar que, de fato, as testemunhas tolerantes foram superiores aos demais genótipos, porém o mesmo não é verdadeiro para a testemunha sensível IR 8 que não foi inferior aos demais, pois apresentou comportamento intermediário ou superior a muitos deles (Figuras 1.3 e 1.4). Foi verificado que genótipos do grupo Indica geralmente necessitam de temperatura mais elevada para germinar que os Japônica e o mesmo é verdadeiro para genótipos sensíveis ao fotoperíodo em relação a genótipos insensíveis (Oka, 1959 apud Takahashi, 1984), indicando uma maior

sensibilidade à temperatura baixa de genótipos Indica e sensíveis ao fotoperíodo. O IR 8, apesar de ser pertencente ao grupo Indica, é insensível ao fotoperíodo e, talvez por isso, seu comportamento tenha sido intermediário quando comparado a outros genótipos Indica ou mesmo Japônica sensíveis ao fotoperíodo.

A variação constatada entre os genótipos de arroz estudados no que se refere às características de tolerância ao frio avaliadas era esperada, devido às suas diferentes origens. No entanto, mesmo considerando genótipos com origem em comum, foi verificada variabilidade para tolerância ao frio na germinação. Este foi o caso dos genótipos BR-IRGA 409 e BR-IRGA 410, derivados do mesmo cruzamento, mas que apresentaram comportamentos distintos com relação às características de porcentagem de redução no comprimento e recrescimento do coleóptilo, sendo o primeiro sensível e o segundo tolerante (Figuras 1.3 e 1.4).

Também observou-se a existência de variabilidade para tolerância ao frio dentro de cada grupo. Considerando-se a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo, os genótipos Japônica Quilla 64117, Koshihikari e Diamante foram tolerantes e os genótipos INIA Tacuari, Puntal e El Paso 227, do mesmo grupo, se mostraram sensíveis. Dentre os pertencentes ao grupo Indica, as cultivares BR-IRGA 410 e BR-IRGA 409 se mostraram tolerante e sensível, respectivamente (Figura 1.3). Da mesma forma, no que se refere ao recrescimento do coleóptilo foram observados genótipos Japônica tolerantes como Diamante, Quilla 64117 e Quilla 66304 e sensíveis, como El Paso 227 e Frances; e genótipos Indica moderadamente tolerantes, como IRGA 416 e IR 8 e sensíveis como El Paso 144 e BR-IRGA 409 (Figura 1.4). Conforme Yoshida (1981a), apesar da generalização do grupo Japônica como mais tolerante que o

Indica, neste último existem genótipos com igual ou até maior tolerância ao frio. A existência de variabilidade para tolerância ao frio no grupo Indica é extremamente interessante sob o ponto de vista do melhoramento, pois permite que genótipos deste grupo sejam usados como fonte de tolerância, evitando os problemas de esterilidade existentes nos cruzamentos com genótipos Japônica bem como a transferência de caracteres indesejáveis para os Indica adaptados. Neste sentido, o genótipo BR-IRGA 410 poderia ser destacado como uma possível fonte, ao menos intermediária, de tolerância ao frio na germinação dentro do grupo Indica, como evidenciado pelo seu comportamento com relação à porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio.

1.4. CONCLUSÕES

As características de porcentagem de redução no comprimento e recrescimento do coleóptilo são mais adequadas e se complementam na avaliação da tolerância ao frio na germinação.

Há variabilidade para tolerância ao frio na germinação entre os genótipos estudados, e os maiores níveis de tolerância são observados em genótipos pertencentes ao grupo Japônica, destacando-se o Diamante e o Quilla 64117.

Entre os genótipos Indica estudados, a cultivar BR-IRGA 410 apresenta maior grau de tolerância ao frio pela baixa porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo.

CAPÍTULO II

CAPACIDADE COMBINATÓRIA DE GENÓTIPOS DE ARROZ PARA TOLERÂNCIA AO FRIO NA GERMINAÇÃO

2.1. INTRODUÇÃO

A temperatura baixa é provavelmente um dos estresses ambientais mais comuns durante a germinação em culturas de verão semeadas precocemente (Blum, 1988). O processo de germinação em arroz é afetado por temperaturas abaixo de 20°C, as quais podem causar diminuição na velocidade e porcentagem de germinação ou até mesmo impedi-la (Nishiyama, 1976 apud Maya, 1988). A temperatura baixa neste período não reduz apenas a germinação como também afeta o crescimento subsequente da plântula em termos de taxa e acúmulo de matéria seca. Além disso, sementes que germinam sob temperatura baixa estão mais sujeitas à infecção por patógenos de solo (Blum, 1988).

Problemas ocasionados pela temperatura baixa no período de germinação do arroz têm sido relatados em países como EUA, Senegal, Coréia do Sul, Índia, Nepal e Chile, quer seja pela latitude ou altitude elevada (Jones & Peterson, 1976; Chung, 1979; Hamdani, 1979; Coly, 1980; Srinivasulu & Vergara, 1988; Alvarado & Grau, 1991; Sthapit & Wilson, 1992). No Rio Grande do Sul (RS), a temperatura média mínima no mês de outubro é de 12°C (Oliveira, 1997)

e por isso, a semeadura antecipada nem sempre é viabilizada, pois frequentemente resulta em emergência irregular e baixa população de plantas (Souza, 1990). De acordo com Terres (1991), o frio na fase inicial da cultura afeta diretamente o custo de produção e indiretamente o rendimento de grãos.

A tolerância ao frio na germinação é a única forma de garantir o estabelecimento rápido e uniforme da lavoura de arroz em anos frios, uma vez que as práticas culturais não são suficientes para minimizar o problema. As fontes de tolerância utilizadas nos programas de melhoramento são, na sua maioria, provenientes de outros países e pertencentes ao grupo Japônica, e têm servido como doadoras em cruzamentos com genótipos Indica adaptados e com boa qualidade de grãos. Neste processo, a obtenção de genótipos recombinantes superiores depende da organização dos genes de tolerância, do modo de ação gênica e da capacidade de combinação entre os genitores. Assim, a escolha dos genitores mais adequados para uso em cruzamentos visando a seleção de genótipos com tolerância ao frio na germinação é de extrema importância, pois dela dependerá o sucesso futuro na obtenção de combinações gênicas superiores.

A análise da capacidade combinatória tem sido amplamente usada no melhoramento para testar o desempenho de genótipos em combinações híbridas e para caracterizar a natureza e magnitude de ação gênica (Kaw et al., 1986). Em arroz, os poucos trabalhos de análise dialélica da tolerância ao frio nos períodos iniciais são relativos ao vegetativo (Li & Rutger, 1980; Datta & Siddiq, 1983; Kaw & Khush, 1986; Kaw et al, 1986). A tolerância ao frio neste período, avaliada por meio da descoloração foliar e estatura de planta, foi associada à tolerância na germinação (Takahashi, 1984; Sasaki, 1977 apud Takahashi, 1997). Através de

uma análise da capacidade combinatória de 21 genótipos de arroz de diferentes origens, Kaw et al. (1986) relataram predominância da ação gênica aditiva na tolerância ao frio medida por meio da descoloração foliar. O mesmo foi observado por Datta & Siddiq (1983) ao avaliar esta característica em 36 híbridos F_1 e oito genitores. Porém, quando avaliaram a tolerância ao frio por meio da redução na estatura e peso de plântulas e no comprimento de raízes concluíram que a não-aditividade teve maior importância, como revelado pelas maiores estimativas de variância devido à capacidade específica de combinação. Kaw & Khush (1986) avaliaram a tolerância ao frio através de várias características e verificaram preponderância da ação gênica aditiva para a estatura de plântula e da não-aditividade para o coeficiente de emergência. A estatura de plântula também foi utilizada como indicativo da tolerância ao frio em um estudo dialélico conduzido com as gerações F_1 e F_2 e os resultados indicaram que, apesar de ambos efeitos aditivos e não-aditivos estarem envolvidos, a aditividade foi mais consistente nas duas gerações avaliadas (Li & Rutger, 1980).

Todos estes trabalhos foram conduzidos sob condições controladas, em que diferentes temperaturas foram empregadas em cada estudo e, como se observou, resultados variáveis foram relatados dependendo da característica e temperatura utilizada. De acordo com Datta & Siddiq (1983), a natureza de ação gênica varia conforme os componentes de tolerância ao frio avaliados.

Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivos determinar as capacidades geral (CGC) e específica de combinação (CEC) para tolerância ao frio na germinação em seis genótipos de arroz, de forma a auxiliar na escolha de genitores, e verificar o tipo de ação gênica predominante para o caráter.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

Seis genótipos de arroz (Tabela 2.1) com diferentes reações ao frio no período de germinação foram cruzados na forma de um dialélico parcial. Os cruzamentos recíprocos não foram realizados por não haver indicações de herança materna para este caráter (Sasaki, 1977 apud Takahashi, 1997).

TABELA 2.1. Genealogia, reação ao frio e grupo dos seis genótipos de arroz utilizados no estudo da capacidade combinatória para tolerância ao frio na germinação. UFRGS, 2001.

Genótipo	Genealogia	Reação ao frio	Grupo
Quilla 64117	Delta/Oro	tolerante*	Japônica
Quilla 66304	Cesariot/Oro	tolerante*	Japônica
Diamante	Agostano/P6//Blue Rose/RB2/BALILLA	tolerante*	Japônica
IRGA 417	NEWREX/IR19743-25-2-2//BR-IRGA 409	sensível**	Indica
BRS 7 - Taim	desconhecida	sensível**	Indica
IR 8	PETA/DEE-GEO-WOO-GEN	sensível*	Indica

* Maya (1988)

** Cruz & Milach (1999a,1999b)

Os 15 híbridos e os seis genitores foram avaliados com relação à tolerância ao frio na germinação (13°C), conforme determinado anteriormente (Capítulo I), em dois experimentos conduzidos sob temperatura controlada no Laboratório de Sementes do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS, no ano de 1999. Em ambos os experimentos as sementes foram desinfestadas em álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio por 20 minutos seguido de seis lavagens com água destilada estéril.

2.2.1. Experimento I

As sementes desinfestadas dos genitores e dos híbridos F₁ foram postas para germinar em placas de Petri contendo papel germinador umedecido

com água destilada estéril, tendo sido colocadas 20 sementes por placa para os genitores e 10 para os híbridos F_1 . A germinação foi realizada sob duas condições distintas de temperatura: 13°C por 28 dias (frio) e 28°C por sete dias (controle). Em cada temperatura, o experimento foi conduzido no delineamento de blocos casualizados com três repetições, onde os blocos constituíram diferentes alturas na câmara de germinação e cada repetição consistiu na média das sementes na placa de Petri.

Ao término do período de germinação estabelecido para as duas situações, as sementes foram avaliadas quanto ao comprimento do coleóptilo, sendo os dados finais expressos como porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio em relação à situação controle. Para isso, os valores de comprimento do coleóptilo avaliados em cada repetição na situação de frio foram comparados à média das três repetições para os mesmos genótipos e híbridos na situação controle.

2.2.2. Experimento II

As sementes desinfestadas dos genitores e híbridos F_1 foram embebidas em água destilada estéril por 20 horas e após foram dispostas em papel germinador plissado umedecido com água destilada estéril. Em cada dobra do papel foram dispostas dez sementes, tomando-se o cuidado de colocá-las com o lado onde se encontra o embrião voltado para cima. O experimento foi conduzido no delineamento completamente casualizado com três repetições, sendo a média das sementes em cada dobra do papel considerada uma repetição, tanto para os genitores como para os híbridos F_1 . O papel germinador plissado foi mantido dentro de uma bandeja coberta com filme plástico na câmara

de germinação. A temperatura inicial utilizada foi a de 28°C por dois dias para que o processo de germinação tivesse início. A seguir, a temperatura da câmara foi alterada para 13°C, permanecendo por mais três dias. Após este período de frio, as sementes foram avaliadas quanto ao comprimento do coleóptilo e em seguida voltaram à câmara de germinação com temperatura de 28°C por mais dois dias. Ao término deste período, o comprimento do coleóptilo das sementes foi medido novamente. Os dados finais consistiram na diferença entre a segunda medição e a primeira, ou seja, no recrescimento do coleóptilo sob temperatura normal, após o período de frio.

2.2.3. Análise estatística

Os dados de porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Experimento I) e recrescimento do mesmo (Experimento II) apresentaram distribuição normal e foram diretamente submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

A análise dialélica foi realizada conforme Griffing (1956), considerando o modelo fixo e o método 2, que estima os efeitos das capacidades geral e específica de combinação com $p(p+1)/2$ combinações, sem os híbridos F_1 recíprocos. O modelo de Griffing considera que:

$$Y_{ij} = m + g_i + g_j + s_{ij} + e_{ij}$$

onde:

Y_{ij} = valor médio da combinação híbrida ($i \neq j$) ou do genitor ($i = j$)

m = média geral

g_i, g_j = efeito da capacidade geral de combinação do i -ésimo e do j -ésimo genitor

s_{ij} = efeito da capacidade específica de combinação para os genitores i e j

e_{ij} = erro experimental médio

Os componentes quadráticos para o modelo fixo adotado foram estimados conforme Cruz & Regazzi (1994):

$$\phi_g = QMG - QMR / p + 2$$

$$\phi_s = QMS - QMR$$

onde:

ϕ_g = componente quadrático associado à capacidade geral de combinação (CGC)

ϕ_s = componente quadrático associado à capacidade específica de combinação (CEC)

QMG = quadrado médio da CGC

QMR = quadrado médio do resíduo

QMS = quadrado médio da CEC

p = número de genitores envolvidos no dialélico

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância realizada para ambas as variáveis demonstrou que os genitores diferiram entre si com relação à capacidade geral de combinação (CGC) e que os híbridos apresentaram distintas capacidade específica de combinação (CEC) (Tabela 2.2). A significância das CGC e CEC evidenciou também a existência de ação gênica aditiva e não-aditiva entre os genótipos estudados com relação à porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo e recrescimento do mesmo.

No modelo fixo, os componentes quadráticos expressam a variabilidade genética do material estudado em termos de CGC e CEC (Cruz & Regazzi, 1994). Pela magnitude do componente quadrático associado à CEC, a

não-aditividade parece ser relativamente mais importante que a aditividade para as duas características entre os genótipos avaliados (Tabela 2.2). No entanto, o quadrado médio da CGC foi de maior magnitude que o da CEC para ambas as características, principalmente para a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Tabela 2.2), indicando que a afirmativa anterior talvez não seja real. A forma de cálculo do componente quadrático associado à CGC pode ser a provável causa da sua menor magnitude em relação ao associado à CEC.

TABELA 2.2. Análise de variância para porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio (REDCOL) e recrescimento do coleóptilo (RECRESC), conforme o método de Griffing (1956), em um dialélico parcial entre seis genótipos de arroz e seus híbridos F₁. UFRGS, 2001.

Causas de Variação	REDCOL			RECRESC		
	GL	QM	F	GL	QM	F
Tratamento	20	70,64	8,75**	20	5,38	10,55**
CGC	5	122,52	15,18**	5	6,49	12,73**
CEC	15	53,35	6,61**	15	5,01	9,82**
Resíduo	40	8,07		42	0,51	
ϕ_g^a		14,31			0,75	
ϕ_s^b		45,28			4,50	

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

^a Componente quadrático associado à capacidade geral de combinação (CGC)

^b Componente quadrático associado à capacidade específica de combinação (CEC)

As médias dos genitores e híbridos F₁ para a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo podem ser visualizadas na Tabela 2.3. Cabe notar que os valores são inversamente proporcionais à tolerância, de forma que quanto maior a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo, menor é a tolerância ao frio do genótipo na germinação. A porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio foi superior a 50% para todos os genótipos e híbridos avaliados e, entre os genitores, a maior redução foi observada no

genótipo sensível IR 8 e a menor no tolerante Quilla 66304. Os híbridos F₁ apresentaram valores variando desde 84,9% no cruzamento entre os sensíveis BRS 7 - Taim e IR 8 a 50,6% no cruzamento entre o sensível BRS 7 - Taim e o tolerante Quilla 66304 (Tabela 2.3).

TABELA 2.3. Médias de porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo dos seis genótipos genitores e seus híbridos F₁. UFRGS, 2001.

	IRGA 417	BRS 7-Taim	IR 8	Quilla 64117	Quilla 66304	Diamante
IRGA 417	64,4 cd	61,2 c-f*	68,7 bc	50,7 g	53,9 e-g	64,5 cd
BRS 7-Taim		68,6 bc	84,9 a	53,3 e-g	50,6 g	52,6 fg
IR 8			74,8 b	67,6 b-d	62,1 c-e	63,8 cd
Quilla 64117				64,4 cd	62,4 c-e	64,1 cd
Quilla 66304					54,2 e-g	66,8 b-d
Diamante						58,5 d-g

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan ($\alpha = 0,05$).

* O hífen indica a presença de outras letras em seqüência.

Os cruzamentos sensível x tolerante BRS 7 - Taim x Quilla 64117, BRS 7 - Taim x Quilla 66304, BRS 7 - Taim x Diamante, IRGA 417 x Quilla 64117 e IRGA 417 x Quilla 66304, e sensível x sensível BRS 7 - Taim x IRGA 417 evidenciaram presença de heterose para tolerância, pois a média da geração F₁ foi inferior a dos genitores envolvidos no cruzamento. Já nos cruzamentos BRS 7 - Taim x IR 8 (sensível x sensível) e Quilla 66304 x Diamante (tolerante x tolerante) a heterose foi no sentido da sensibilidade, pois a F₁ apresentou menor tolerância (maior média) que os genitores com relação à porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Tabela 2.3).

Estes resultados também são evidenciados através das estimativas dos efeitos da CEC dos cruzamentos para a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio (Tabela 2.4). Os valores negativos indicam

contribuição para tolerância ao frio na germinação, ou seja, menor redução no comprimento do coleóptilo, e os positivos tendência à sensibilidade. Assim, os cruzamentos entre o genótipo BRS 7 - Taim e os três tolerantes, e entre o IRGA 417 e o tolerante Quilla 64117 apresentaram efeito negativo de CEC altamente significativo (Tabela 2.4), demonstrando existência de heterose para tolerância ao frio, como verificado pelas médias de porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Tabela 2.3). Da mesma forma, nos cruzamentos BRS 7 - Taim x IR 8 e Quilla 66304 x Diamante a significância dos efeitos positivos da CEC (Tabela 2.4) indicou presença de heterose para sensibilidade ao frio na germinação, como evidenciado anteriormente pelas médias destes cruzamentos (Tabela 2.3). Correlações altamente significativas (0,86**) foram obtidas entre as estimativas da CEC e o desempenho dos cruzamentos, o que indica que este pode ser usado para predizer a CEC dos mesmos.

TABELA 2.4. Efeito das capacidades geral (CGC) e específica de combinação (CEC) de seis genótipos genitores de arroz e seus híbridos F₁ para a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo. UFRGS, 2001.

	IRGA 417	BRS 7-Taim	IR 8	Quilla 64117	Quilla 66304	Diamante	CGC
IRGA 417	4,31	-0,39	0,00	-9,28**	-3,24	4,29	-1,20
BRS 7 - Taim		5,51	14,70**	-8,18**	-8,04**	-9,11**	0,30
IR 8			-2,51	-0,99	-3,65	-5,03	7,42**
Quilla 64117				4,54	5,37	4,00	-1,31
Quilla 66304					0,01	9,53**	-4,15**
Diamante						-1,84	-1,07

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Os efeitos relativos à CGC foram significativos apenas para dois genitores, sendo negativo para o Quilla 66304 e positivo para o IR 8, indicando

que eles são superior e inferior, respectivamente, aos demais genótipos incluídos no dialelo com relação ao comportamento médio dos cruzamentos para a redução no comprimento do coleóptilo pelo frio (Tabela 2.4). Apesar da correlação altamente significativa (0,89**) entre as estimativas de CGC (Tabela 2.4) e o desempenho dos genitores (Tabela 2.3), o uso deste último como critério de seleção dos genótipos com melhor CGC não se aplica no caso do Diamante, que apesar de não diferir do Quilla 66304 com relação à porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Tabela 2.3), não apresentou significância do efeito de CGC (Tabela 2.4).

O comportamento dos genitores e dos seus híbridos F_1 para o recrescimento do coleóptilo encontra-se na Tabela 2.5. Valores superiores para o recrescimento indicam que a germinação foi rapidamente retomada após o período de frio e, por isso, maior tolerância.

TABELA 2.5. Médias de recrescimento do coleóptilo dos seis genótipos genitores e seus híbridos F_1 . UFRGS, 2001.

	IRGA 417	BRS 7-Taim	IR 8	Quilla 64117	Quilla 66304	Diamante
IRGA 417	5,7 c-f*	4,9 e-g	3,7 fg	5,2 d-g	5,2 d-g	2,9 g
BRS 7-Taim		5,8 c-f	3,1 g	3,7 fg	3,6 fg	5,1 d-g
IR 8			8,3 b	5,9 c-f	4,2 e-g	5,0 d-g
Quilla 64117				10,8 a	6,3 b-e	7,7 bc
Quilla 66304					11,5 a	4,0 e-g
Diamante						7,3 b-d

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan ($\alpha = 0,05$).

* O hífen indica a presença de outras letras em seqüência.

Pela comparação de médias, os genitores Quilla 66304 e Quilla 64117 apresentaram recrescimento superior aos demais, seguidos pelo IR 8, que não diferiu do Diamante e, por fim os genótipos IRGA 417 e BRS 7 - Taim, que

apresentaram o menor recrescimento entre os genitores, não diferindo do Diamante (Tabela 2.5).

O recrescimento do coleóptilo observado nos híbridos F_1 variou desde 2,9 mm até 7,7 mm, e foi inferior ao dos genitores tolerantes Quilla 66304 e Quilla 64117 e ao do genitor sensível IR 8 (Tabela 2.5).

Todos os cruzamentos apresentaram heterose na direção da sensibilidade, pois a média de recrescimento do coleóptilo da geração F_1 foi inferior a de ambos os genitores, com exceção do cruzamento entre os tolerantes Quilla 64117 e Diamante, cuja F_1 foi intermediária, porém não diferiu do genótipo Diamante (Tabela 2.5).

As estimativas de CEC dos cruzamentos para esta característica refletem este resultado, sendo que praticamente todas têm valores negativos, o que indica diminuição no recrescimento do coleóptilo (Tabela 2.6). Apenas os cruzamentos BRS 7 - Taim x IRGA 417, BRS 7 - Taim x Diamante e Quilla 64117 x Diamante apresentaram valores positivos para os efeitos da CEC, no entanto nenhum deles foi significativo.

TABELA 2.6. Efeito das capacidades geral (CGC) e específica de combinação (CEC) de seis genótipos genitores de arroz e seus híbridos F_1 para o recrescimento do coleóptilo. UFRGS, 2001.

	IRGA 417	BRS 7-Taim	IR 8	Quilla 64117	Quilla 66304	Diamante	CGC
IRGA 417	1,66	1,02	-0,99	-0,98	-0,47	-1,89*	-0,83*
BRS 7 - Taim		2,08	-1,43*	-2,32**	-1,91**	0,47	-1,00**
IR 8			2,96	-0,93	-2,12**	-0,44	-0,18
Quilla 64117				2,48	-1,51**	0,77	1,30**
Quilla 66304					4,21	-2,42**	0,79*
Diamante						1,76	-0,08

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

A correlação entre os efeitos da CEC e o desempenho dos híbridos com relação à média de recrescimento do coleóptilo foi significativa (0,61*), porém a magnitude não foi elevada demonstrando que, apesar do desempenho dos híbridos poder ser usado como indicativo da CEC, isto deve ser feito com cautela.

Com base na significância das estimativas da CGC, os genitores Quilla 64117 e Quilla 66304 podem ser indicados como os mais favoráveis para proporcionar maior recrescimento do coleóptilo e os sensíveis IRGA 417 e BRS 7 - Taim são os que contribuem para a diminuição do caráter (Tabela 2.6). Uma correlação altamente significativa (0,95**) foi verificada entre o efeito da CGC (Tabela 2.6) e o desempenho dos genitores (Tabela 2.5), podendo-se concluir que para os genótipos estudados o desempenho per se em termos de recrescimento do coleóptilo é um bom indicativo da sua CGC.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que tanto a ação gênica aditiva como a não-aditiva estão envolvidas na herança da tolerância ao frio na germinação entre os genótipos de arroz estudados, avaliada aqui como porcentagem de redução no comprimento e recrescimento do coleóptilo. Em estudos dialélicos referentes à tolerância ao frio nos períodos vegetativo e reprodutivo do arroz, porém, os efeitos gênicos não-aditivos foram mais importantes que os aditivos (Datta & Siddiq, 1983; Kaw & Khush, 1987). De acordo com Cruz & Regazzi (1994), em materiais submetidos à seleção prévia há uma redução no diferencial para efeitos aditivos e a importância dos efeitos não-aditivos, conseqüentemente, aumenta. Neste estudo, os genitores tolerantes são provenientes do Chile, onde a seleção para tolerância ao frio na germinação tem sido sistematicamente realizada, enquanto os demais não foram submetidos a

qualquer seleção prévia para o caráter. Isto pode ter contribuído para a importância de ambas ações gênica não-aditiva e aditiva, respectivamente, com relação às características de tolerância ao frio avaliadas.

Também ficou evidenciado, para ambas as características, que o desempenho per se dos híbridos e genitores foi um bom indicativo de seus efeitos de CEC e CGC, respectivamente. Os efeitos de CEC dos híbridos não dependeram do nível de CGC dos genitores envolvidos para nenhuma das características estudadas, pois apesar destes últimos diferirem com relação à CGC (Tabela 2.6), nenhuma combinação híbrida superior foi observada para o recrescimento do coleóptilo (Tabelas 2.5 e 2.6). No caso da porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo, entre as quatro combinações híbridas com efeitos significativos de CEC na direção desejada, apenas aquela entre BRS 7 - Taim e Quilla 66304 envolveu um genitor com boa CGC (Tabela 2.4). Este cruzamento deve ser promissor para a obtenção de segregantes transgressivos desejáveis.

Entre as duas características avaliadas, no recrescimento do coleóptilo além de não se ter obtido híbridos com CEC na direção da tolerância, os efeitos das CGC foram relativamente semelhantes entre os genitores (Tabela 2.6). Já para a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo foram observadas combinações híbridas de interesse e maiores diferenças nas CGC dos genitores (Tabela 2.4). Neste sentido, talvez esta característica seja melhor para prever a tolerância ao frio dos genótipos na germinação e, segundo Datta & Siddiq (1983), pelo fato de ser decorrente da comparação entre as situações de frio e controle, ela apresenta a vantagem de permitir o estudo dos componentes genéticos da tolerância per se ao invés do próprio caráter sob estresse. No entanto, seu uso

na seleção para tolerância ao frio na germinação em populações segregantes é possível apenas em gerações avançadas, pois requer que um mesmo genótipo seja exposto a duas situações de temperatura.

As estimativas de CEC e CGC dependeram da característica avaliada, mas, apesar disso, o genótipo Quilla 66304 destacou-se como superior em relação aos efeitos de CGC para ambas as características sendo, portanto, o mais indicado para aumentar a tolerância ao frio na germinação em arroz entre os genótipos estudados.

2.4. CONCLUSÕES

A tolerância ao frio na germinação em arroz, expressa como porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo e recrescimento do mesmo, é herdável, e tanto a ação gênica aditiva como a não-aditiva são importantes entre os genótipos estudados.

O genótipo Quilla 66304 é o mais indicado como genitor em cruzamentos que visem aumentar a tolerância do arroz ao frio na germinação.

CAPÍTULO III

HERANÇA DA TOLERÂNCIA AO FRIO NA GERMINAÇÃO EM ARROZ

3.1. INTRODUÇÃO

Temperaturas baixas na fase de semeadura prejudicam a capacidade e uniformidade de germinação do arroz no Rio Grande do Sul (RS), diminuindo o estande inicial e elevando o custo de produção da lavoura.

Há variabilidade na espécie *Oryza sativa* L. para tolerância ao frio neste período, e, de forma geral, tem sido observado que genótipos do grupo Japônica apresentam maior capacidade e velocidade de germinação sob temperatura baixa que os do grupo Indica (Nagamatsu, 1942 apud Takahashi, 1984).

Os estudos relativos às bases genéticas da tolerância ao frio na germinação em arroz são escassos e as principais informações disponíveis são provenientes dos estudos de Sasaki et al. (1973) apud Sthapit & Witcombe (1998) e Sasaki (1977) apud Takahashi (1997). Os resultados obtidos indicaram que a capacidade de germinação do arroz em temperatura baixa foi controlada por quatro ou mais genes dominantes e que efeitos gênicos aditivos e dominantes estavam envolvidos. A possibilidade de ocorrência de segregação transgressiva, dependendo dos genótipos genitores, também foi relatada, assim

como a ausência de efeito materno. Mais recentemente, Sthapit & Witcombe (1998) avaliaram a taxa de germinação de famílias F_3 submetidas a 17°C por sete dias e obtiveram herdabilidade elevada para o caráter, a qual variou entre 0,7 e 0,9.

A relação entre a tolerância ao frio na germinação e a tolerância no período vegetativo também foi investigada. De acordo com Sasaki (1977) apud Takahashi (1997), genótipos com alta capacidade de germinação em temperatura baixa apresentaram crescimento rápido e maior aumento no número de folhas. A tolerância à clorose em plântulas submetidas ao frio também foi associada com a maior tolerância na germinação (Takahashi, 1984), porém quando avaliada como porcentagem de sobrevivência de plântulas, não houve correlação entre estes períodos de desenvolvimento (Bertin et al., 1996).

A tolerância à temperatura baixa no período vegetativo, quando avaliada por meio do amarelecimento de folhas, apresentou base genética simples, tendo sido relatado um gene dominante de tolerância à descoloração foliar (Kwak et al., 1984; Shahi & Khush, 1986; Nagamine & Nakagahra, 1991). Os efeitos gênicos em cruzamentos entre genótipos tolerantes e sensíveis avaliados quanto ao amarelecimento foram predominantemente aditivos, sendo a dominância significativa apenas para um cruzamento e a epistasia ausente, indicando possibilidade de seleção em gerações precoces (Li, 1978). Kaw et al. (1986) também obtiveram predominância da ação gênica aditiva para o mesmo caráter, assim como Li & Rutger (1980), que avaliaram a tolerância ao frio por meio da estatura de plântula e relataram herdabilidade moderada a alta para o caráter. Já Datta & Siddiq (1983), avaliando a redução na estatura, comprimento

de raiz e peso de plântulas relataram a não-aditividade como o principal efeito na tolerância ao frio dos genótipos.

Até o momento, não há informações a respeito da genética da tolerância ao frio nos períodos iniciais para genótipos brasileiros de arroz, a qual é de fundamental importância para a definição dos melhores métodos e estratégias de melhoramento a serem adotados. No RS, a seleção de genótipos tolerantes tem sido feita através da semeadura no início de outubro, quando a probabilidade de ocorrência de temperaturas abaixo de 20°C é maior (Terres, 1991). No entanto, a imprevisibilidade da ocorrência do estresse em condições de campo, aliada à interação com outros fatores climáticos e fungos de solo pode diminuir a eficiência de seleção (Blum, 1988).

A avaliação da capacidade de germinação do arroz sob temperatura baixa em condições controladas (Sthapit & Wilson, 1992; Bertin et al., 1996; Sthapit & Witcombe, 1998), tem permitido diferenciar genótipos tolerantes de sensíveis por meio de características como taxa de germinação e número de dias para 50% de germinação. O uso destas metodologias para o estudo da genética da tolerância ao frio na germinação permite maior precisão e confiabilidade nos resultados obtidos, porém as características avaliadas não são adequadas para a avaliação da germinação em gerações segregantes dos tipos F₂ e retrocruzamentos, em que as sementes tem que ser avaliadas individualmente. A avaliação do recrescimento do coleóptilo de sementes após um período de temperatura baixa, possibilitou diferenciar 24 genótipos de arroz quanto à tolerância ao frio na germinação (Cruz & Milach, 1999a), mostrando ser possível o seu uso no estudo genético de gerações segregantes.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi a determinação da herança e da herdabilidade da tolerância ao frio na germinação por meio do recrescimento do coleóptilo após um período de frio.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Cinco genótipos de arroz foram utilizados neste estudo, sendo três pertencentes ao grupo Japônica e provenientes do Programa de Melhoramento Genético do INIA – Quilamapu, no Chile, e duas cultivares locais, sendo uma proveniente do Programa de Melhoramento Genético do IRGA e a outra do Programa de Melhoramento Genético da EMBRAPA Clima Temperado, ambas do grupo Indica (Tabela 3.1). Estes genótipos foram selecionados por diferirem quanto à tolerância ao frio, avaliada pelo recrescimento do coleóptilo, sendo os genótipos Japônica considerados tolerantes e os Indica, sensíveis. (Cruz & Milach, 1999a; Capítulo I).

TABELA 3.1. Genealogia e grupo dos cinco genótipos de arroz utilizados no estudo da herança e herdabilidade da tolerância ao frio na germinação. UFRGS, 2001.

Genótipo	Genealogia	Grupo
Quilla 64117	Delta/Oro	Japônica
Quilla 66304	Cesariot/Oro	Japônica
Diamante	Agostano/P6//Blue Rose/RB2/BALILLA	Japônica
IRGA 417	NEWREX/IR19743-25-2-2//BR-IRGA 409	Indica
BRS 7 - Taim	desconhecida	Indica

No ano de 1998, foram realizados cruzamentos entre os genótipos tolerantes e sensíveis na Estação Experimental do Instituto Riograndense do Arroz (IRGA), em Cachoeirinha, RS, para a obtenção da geração F₁. No ano seguinte, a geração F₁ foi semeada juntamente com os genótipos genitores para

obtenção da geração F_2 e realização dos retrocruzamentos dos indivíduos F_1 com os dois genitores para a obtenção das gerações RC_1F_1 e RC_2F_1 .

A avaliação da tolerância ao frio na germinação foi realizada através de experimentos conduzidos separadamente para cada população no Laboratório de Sementes do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS, em 2000. Em cada experimento, as sementes dos genitores e gerações F_1 , F_2 , RC_1F_1 e RC_2F_1 foram embebidas em álcool 70% por 30 segundos para o rompimento da tensão superficial, seguida de imersão em hipoclorito de sódio 5% por 20 minutos para a desinfestação. Após seis lavagens com água destilada estéril, as sementes foram mantidas em água estéril por 20 horas em temperatura de 28°C para o processo de absorção de água. Depois deste período, elas foram dispostas em papel germinador plissado umedecido com água destilada estéril. Em cada dobra do papel foram dispostas dez sementes, tomando-se o cuidado de colocá-las com o lado onde se encontra o embrião voltado para cima. O papel germinador plissado foi mantido dentro de uma bandeja coberta com filme plástico na câmara de germinação. A temperatura inicial utilizada foi a de 28°C por dois dias para que o processo de germinação tivesse início. A seguir, a temperatura da câmara foi alterada para 13°C , permanecendo por mais três dias. Após este período de frio, as sementes foram avaliadas quanto ao comprimento do coleóptilo e em seguida voltaram à câmara de germinação com temperatura de 28°C por mais dois dias. Ao término deste período, o comprimento do coleóptilo das sementes foi medido novamente. Os dados finais consistiram na diferença entre a segunda medição e a primeira, ou seja, no recrescimento do coleóptilo sob temperatura normal, após um período de frio.

Os dados de recrescimento do coleóptilo das sementes dos genitores, obtidos em um experimento no delineamento completamente casualizado com três repetições (Capítulo II), foram submetidos à análise de variância e à comparação de médias pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Para o estudo da herança da tolerância ao frio na germinação e a estimativa dos efeitos gênicos, foram analisadas as distribuições de freqüência e obtidas as estimativas de médias e variâncias, assim como das herdabilidades nos sentidos amplo e restrito. As distribuições de freqüência para todas as gerações disponíveis foram obtidas pelo agrupamento dos dados em classes. Os intervalos de classe foram estabelecidos com base no desvio padrão médio do recrescimento, tendo sido utilizado $\frac{1}{4}$ do desvio padrão médio, conforme recomendado por Steel & Torrie (1980).

As variâncias foram estimadas conforme Allard (1960) e Mather & Jinks (1982):

$$VF = VF_2$$

$$VE = \frac{1}{4} [VP_1 + VP_2 + 2 VF_1]$$

$$VG = VF - VE$$

$$VA = 2VF_2 - (VRC_1F_1 + VRC_2F_1)$$

$$VD = VF_2 - VA - VE$$

Onde: VP_1 , VP_2 , VF_1 , VF_2 , VRC_1F_1 e VRC_2F_1 representam as variâncias das gerações P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1F_1 e RC_2F_1 , respectivamente.

As estimativas de herdabilidade nos sentidos amplo (h^2_a) e restrito (h^2_r) foram calculadas segundo o modelo proposto por Allard (1960):

$$h^2_a = (VF_2 - VE) / VF_2$$

$$h^2_r = [2VF_2 - (VRC_1F_1 + VRC_2F_1)] / VF_2$$

Os efeitos gênicos foram estimados pelo modelo de seis parâmetros, uma vez que em nenhuma das populações avaliadas puderam ser explicados pelo teste de escala conjunto – modelo de três parâmetros (Cavalli, 1952 apud Mather & Jinks, 1982). O modelo de seis parâmetros, além de estimar a média [m], aditividade [a] e dominância [d], a partir das médias e variâncias das gerações disponíveis, inclui os efeitos epistáticos: aditividade x aditividade [i], aditividade x dominância [j] e dominância x dominância [l]. Para este modelo os efeitos gênicos foram estimados considerando:

$$\bar{P}_1 = m + [a] + [i]$$

$$\bar{P}_2 = m - [a] + [i]$$

$$\bar{F}_1 = m + [d] + [l]$$

$$\bar{F}_2 = m + \frac{1}{2} [d] + \frac{1}{4} [l]$$

$$\overline{RC_1F_1} = m + \frac{1}{2} [a] + \frac{1}{2} [d] + \frac{1}{4} [i] + \frac{1}{4} [j] + \frac{1}{4} [l]$$

$$\overline{RC_2F_1} = m - \frac{1}{2} [a] + \frac{1}{2} [d] + \frac{1}{4} [i] - \frac{1}{4} [j] + \frac{1}{4} [l]$$

Onde: \bar{P}_1 , \bar{P}_2 , \bar{F}_1 , \bar{F}_2 , $\overline{RC_1F_1}$ e $\overline{RC_2F_1}$ representam a média de cada geração, **m** é a média geral, **a** é o efeito de aditividade, **d** é o efeito de dominância, **i** é o efeito epistático de aditividade x aditividade, **j** é o efeito epistático de aditividade x dominância e **l** é o efeito epistático de dominância x dominância.

A significância dos efeitos estimados foi avaliada através do Teste t, com o número de graus de liberdade (GL) obtidos da soma dos GL de todas as gerações envolvidas no cálculo de cada parâmetro. Os parâmetros não

significativos foram desconsiderados e os demais foram reestimados e, nestes casos, o ajuste do modelo foi testado pelo teste do Qui-quadrado (χ^2).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os genitores diferiram significativamente entre si quanto ao recrescimento do coleóptilo (Tabela 3.2), demonstrando a existência de variabilidade entre eles. Três grupos distintos foram formados pelo teste de comparação de médias: o grupo com recrescimento superior, que incluiu os genótipos Quilla 66304 e Quilla 64117, o grupo com recrescimento intermediário, que incluiu o Diamante e o grupo com recrescimento inferior, onde foram incluídos o BRS 7 - Taim e o IRGA 417.

TABELA 3.2. Médias de recrescimento do coleóptilo para os genótipos de arroz utilizados como genitores das populações analisadas. UFRGS, 2001.

Genitor	Recrescimento do coleóptilo (mm)
Quilla 66304	11,5 a
Quilla 64117	10,8 a
Diamante	7,3 b
BRS 7 - Taim	5,8 c
IRGA 417	5,7 c
CV (%)	21,6

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$).

Pela análise das distribuições de frequências das seis gerações para o recrescimento do coleóptilo nos seis cruzamentos avaliados (Figuras 3.1 a 3.6), observou-se um grau de sobreposição variável entre as gerações P_1 e P_2 , conforme o cruzamento considerado, que indica uma certa similaridade fenotí-

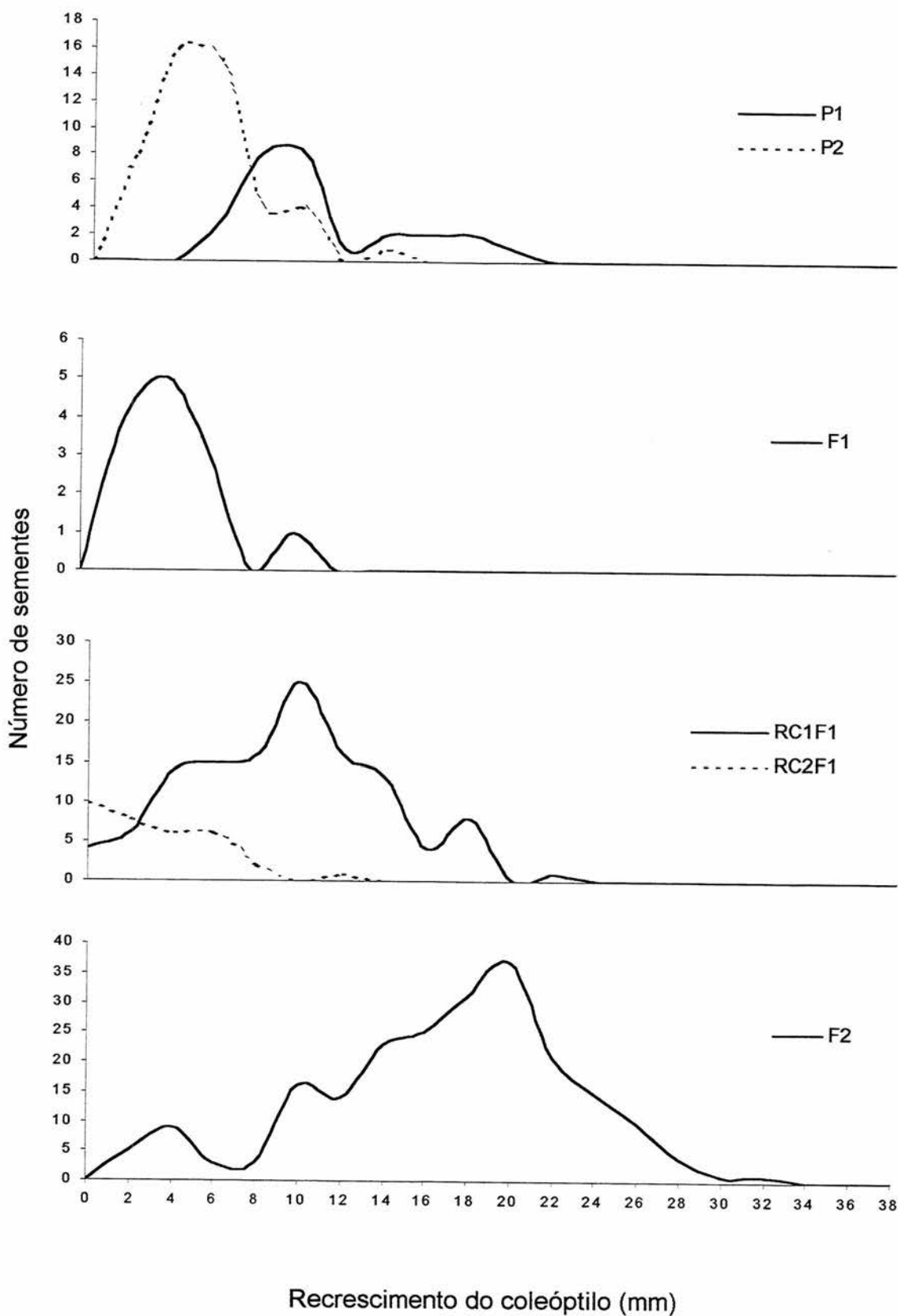


FIGURA 3.1. Distribuições de freqüência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Quilla 66304 (P_1) e BRS 7 - Taim (P_2). UFRGS, 2001.

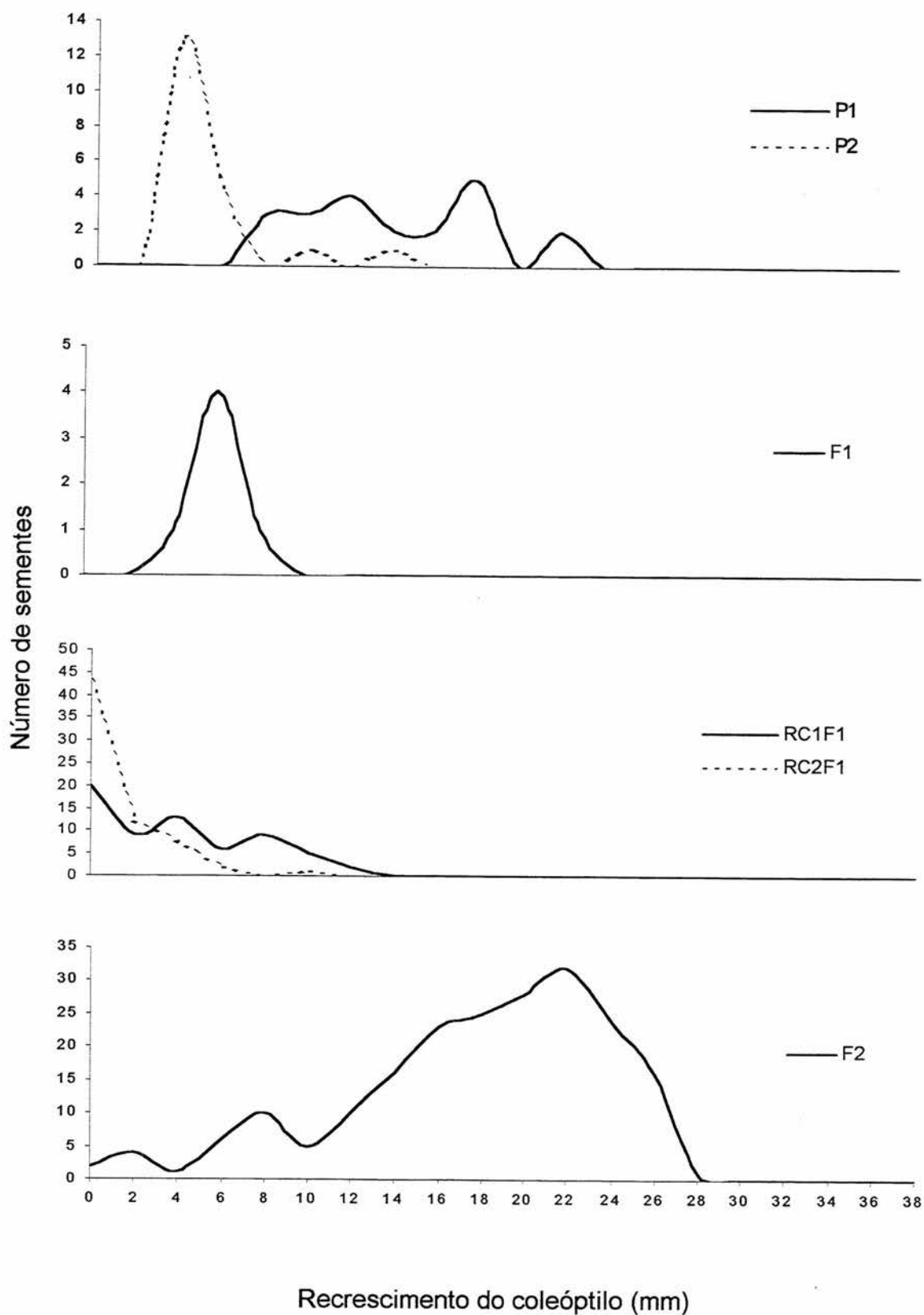


FIGURA 3.2. Distribuições de freqüência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Quilla 64117 (P_1) e BRS 7 - Taim (P_2). UFRGS, 2001.

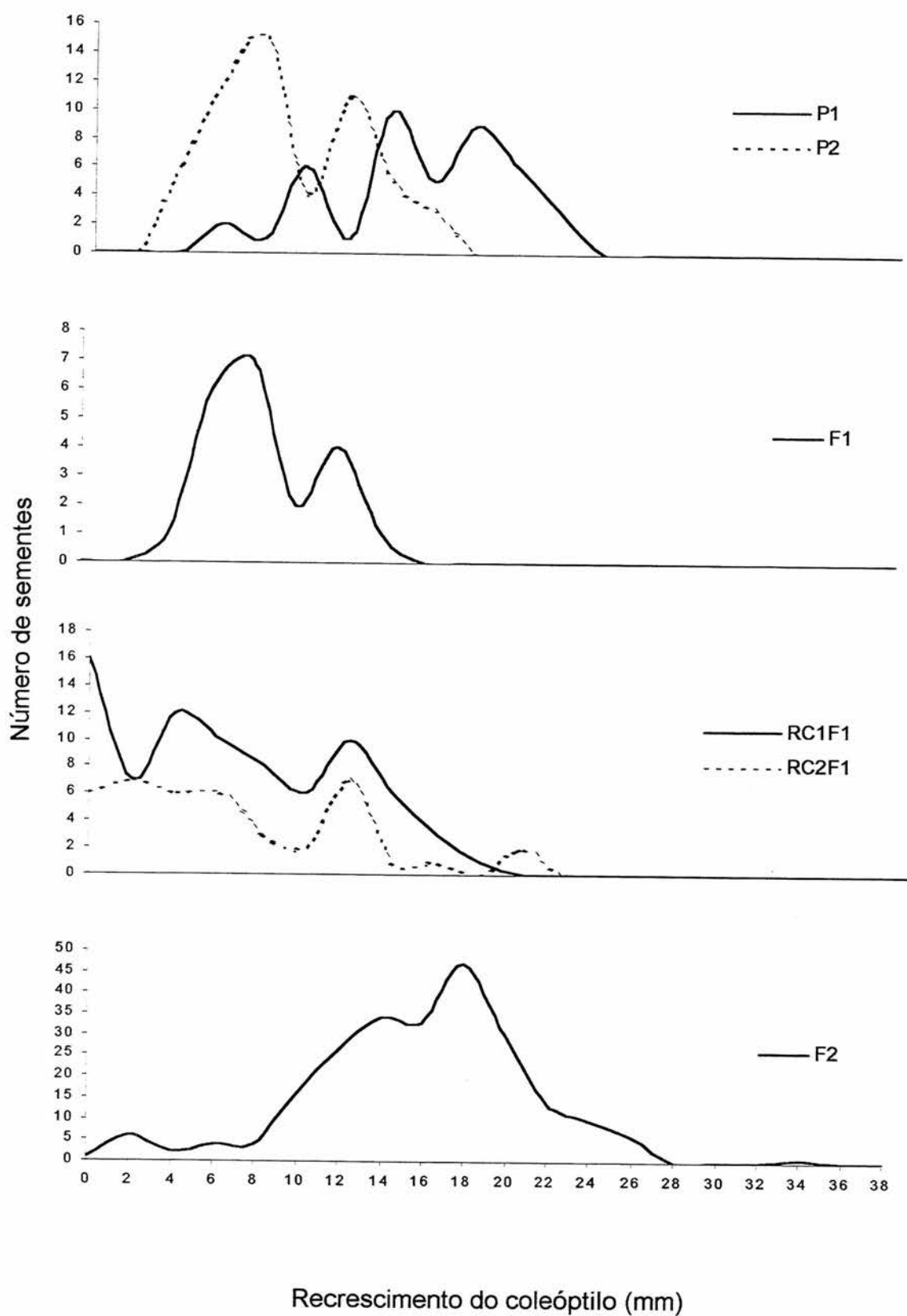


FIGURA 3.3. Distribuições de freqüência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Diamante (P_1) e BRS 7 - Taim (P_2). UFRGS, 2001.

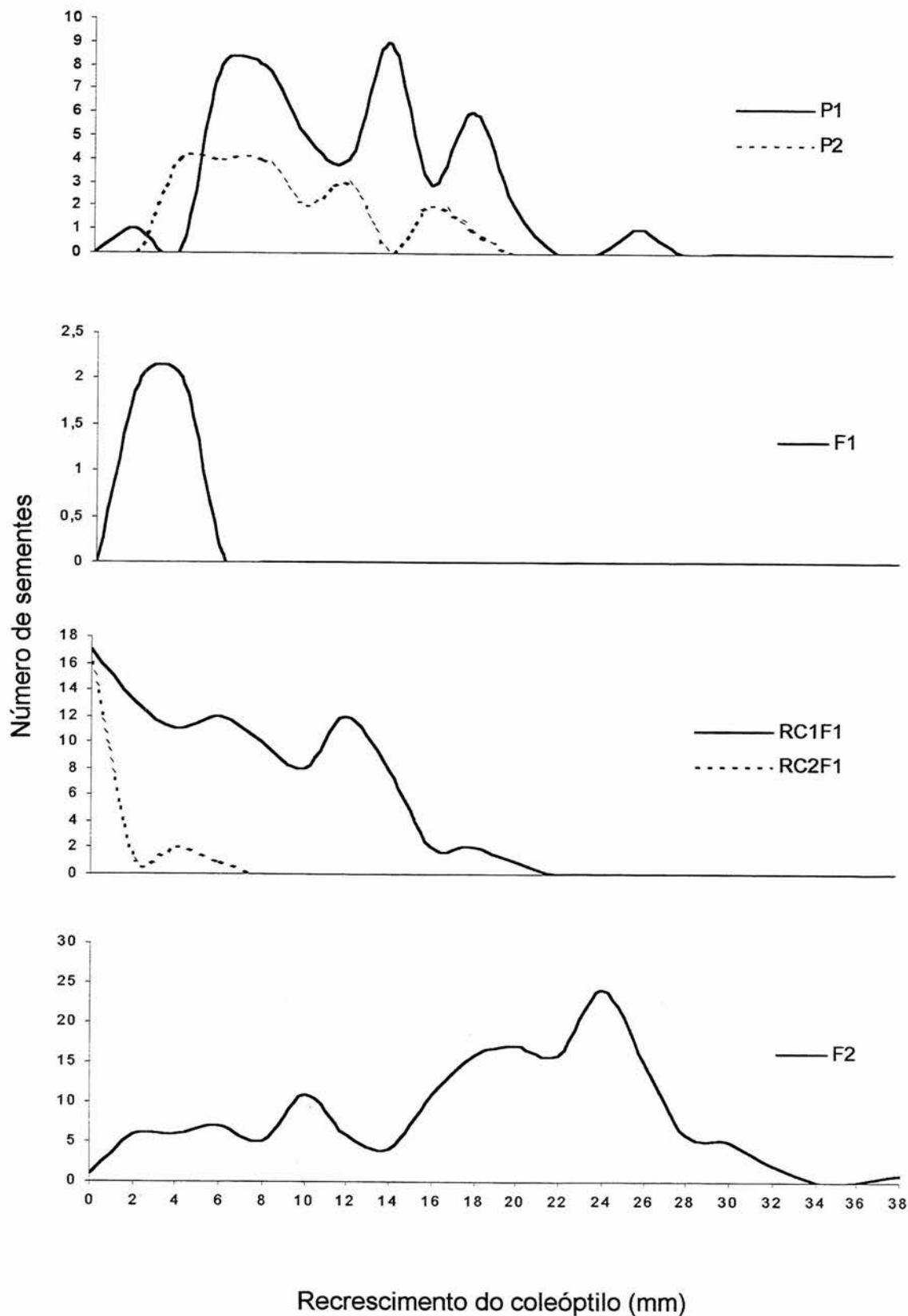


FIGURA 3.4. Distribuições de freqüência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Quilla 66304 (P_1) e IRGA 417 (P_2). UFRGS, 2001.

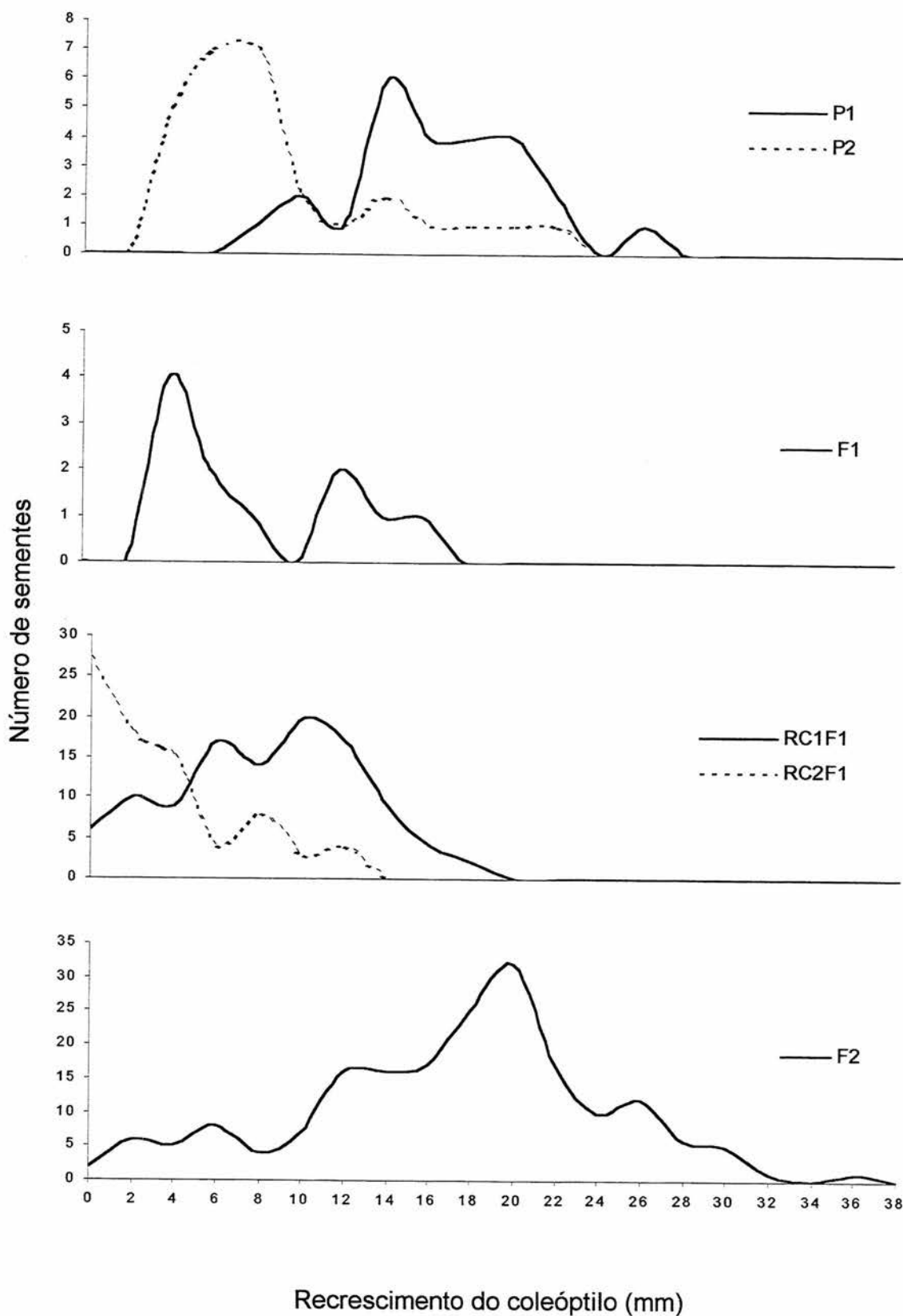


FIGURA 3.5. Distribuições de freqüência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Quilla 64117 (P_1) e IRGA 417 (P_2). UFRGS, 2001.

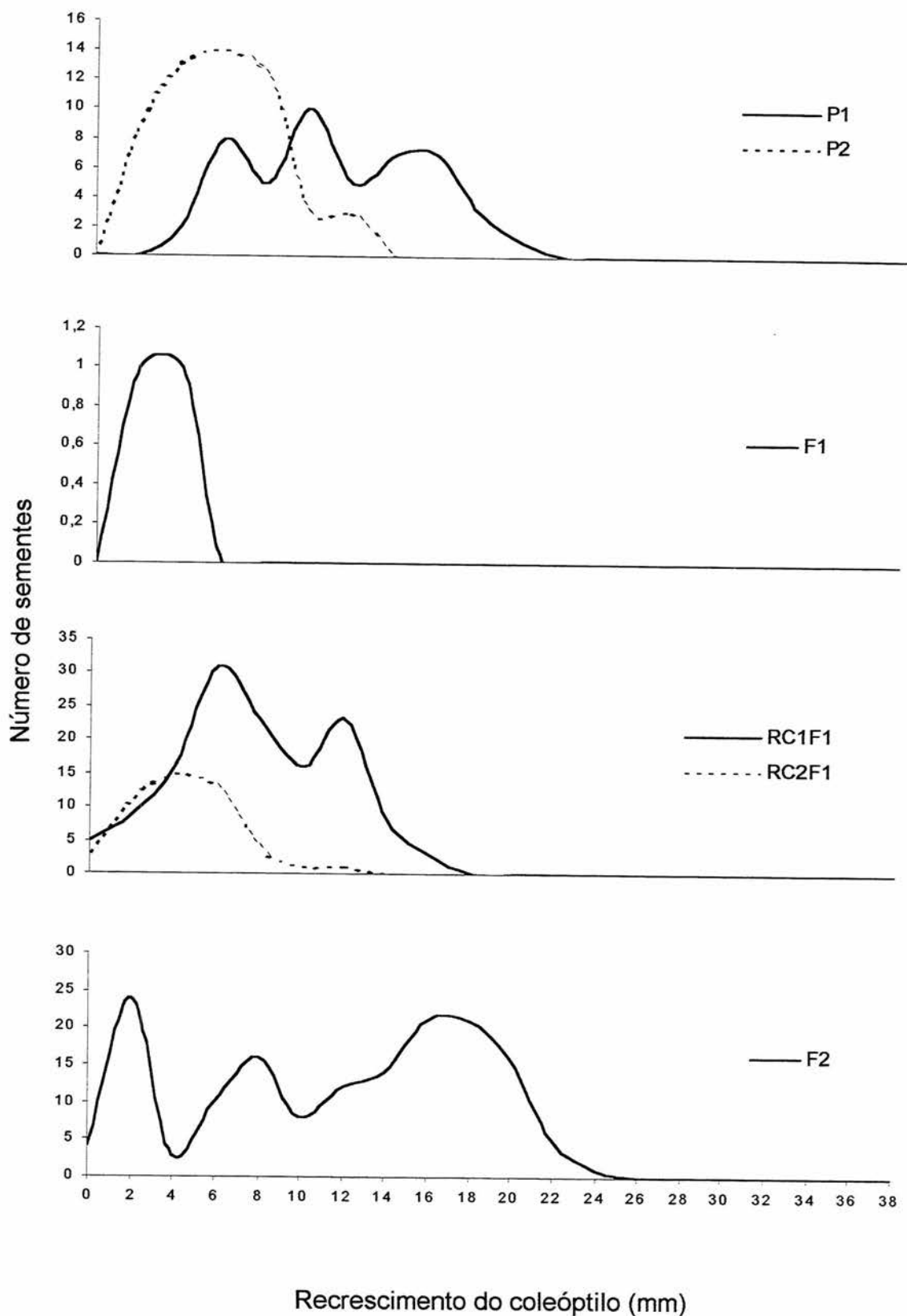


FIGURA 3.6. Distribuições de frequência para o recrescimento do coleóptilo em três gerações fixas (P_1 , P_2 e F_1) e três gerações segregantes (RC_1F_1 , RC_2F_1 e F_2) provenientes do cruzamento entre Diamante (P_1) e IRGA 417 (P_2). UFRGS, 2001.

pica entre os genitores quanto ao recrescimento do coleóptilo. As maiores diferenças foram observadas nos cruzamentos em que o genitor tolerante foi o Quilla 64117 (Figuras 3.2 e 3.5).

Nas distribuições de frequência da geração F_2 de todos os cruzamentos foi observada variação próxima à continuidade e segregação transgressiva em relação aos genitores. Estes resultados sugerem a presença de genes distribuídos de forma complementar entre os genitores. Este comportamento contínuo na geração F_2 mostrou uma tendência em relação ao maior recrescimento do coleóptilo e impediu a estimativa do número de genes envolvidos. A maior variação foi, surpreendentemente, a verificada no cruzamento IRGA 417 x Quilla 66304, onde os genitores foram menos contrastantes (Figura 3.4), o que é, porém, mais um indicativo da distribuição complementar de genes nestes genótipos.

A geração F_1 apresentou a menor variação no recrescimento do coleóptilo e foi semelhante ao genitor com menor recrescimento em todos os cruzamentos, evidenciando dominância no sentido da sensibilidade.

As gerações RC_1F_1 e RC_2F_1 apresentaram distribuição contínua e a maior variação foi observada na geração RC_1F_1 em todos os cruzamentos.

As estimativas dos efeitos gênicos pelo modelo de três parâmetros revelaram a inadequação dos cruzamentos estudados ao modelo aditivo-dominante, o que demonstra a importância dos efeitos epistáticos sobre o recrescimento do coleóptilo. Desta forma, os efeitos gênicos foram estimados pelo modelo de seis parâmetros (Tabela 3.3).

O teste t evidenciou a significância dos seis parâmetros estimados em quatro populações e, por isso, o modelo não pôde ser testado devido à falta de

TABELA 3.3. Médias das gerações P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁F₁ e RC₂F₁, número de sementes avaliadas em cada geração (entre parênteses), valores dos efeitos gênicos e do teste de Qui-quadrado (χ^2) para o caráter recrescimento do coleóptilo obtidos para seis cruzamentos de arroz. UFRGS, 2001.

Geração ou efeito gênico	BRS 7- Taim (P ₂) x Quilla 66304 (P ₁)	BRS 7- Taim (P ₂) x Quilla 64117 (P ₁)	BRS 7- Taim (P ₂) x Diamante (P ₁)
P ₁	10,6 ± 3,8 (27)	13,8 ± 4,4 (21)	15,2 ± 4,2 (43)
P ₂	5,2 ± 2,7 (48)	5,0 ± 2,5 (19)	8,7 ± 3,3 (56)
F ₁	4,2 ± 2,2 (13)	5,9 ± 0,8 (6,0)	8,3 ± 2,6 (21)
F ₂	16,7 ± 6 (218)	17,5 ± 6,0 (203)	15,7 ± 5,1 (234)
RC ₁ F ₁	9,1 ± 4,7 (122)	3,8 ± 3,4 (64)	6,3 ± 4,9 (79)
RC ₂ F ₁	2,9 ± 2,8 (33)	1,2 ± 1,8 (66)	6,5 ± 5,5 (41)
[m]	50,5 ± 2,1*	69,6 ± 2,0*	49,3 ± 2,5*
[a]	2,7 ± 0,4*	4,4 ± 0,5*	3,3 ± 0,3*
[d]	-89,2 ± 5,2*	-144,6 ± 4,8*	-93,3 ± 6,8*
[i]	-42,7 ± 2,1*	-60,2 ± 1,9*	-37,3 ± 2,4*
[j]	7,1 ± 1,5*	-3,7 ± 1,5*	-7,0 ± 2,2*
[l]	42,9 ± 3,4*	80,9 ± 2,9*	52,2 ± 4,5*
χ^2	-	-	-
GL	-	-	-
P	-	-	-

GL = graus de liberdade para o teste do Qui-quadrado

P = probabilidade pelo teste de Qui-quadrado

- não calculado devido à falta de GL

-- efeito genético desconsiderado por não ser significativo

TABELA 3.3. Continuação.

Geração ou efeito gênico	IRGA 417 (P ₂) x Quilla 66304 (P ₁)	IRGA 417 (P ₂) x Quilla 64117 (P ₁)	IRGA 417 (P ₂) x Diamante (P ₁)
P ₁	11,5 ± 5,0 (47)	16,1 ± 4,3 (25)	11,0 ± 4,2 (48)
P ₂	8,7 ± 4,4 (20)	8,6 ± 5,1 (28)	5,7 ± 2,6 (54)
F ₁	2,9 ± 1,6 (4,0)	8,0 ± 4,2 (11)	2,5 ± 1,4 (2)
F ₂	18,0 ± 7,8 (159)	16,8 ± 7,0 (190)	11,6 ± 6,5 (155)
RC ₁ F ₁	6,6 ± 5,1 (96)	8,1 ± 4,4 (108)	7,6 ± 3,8 (134)
RC ₂ F ₁	0,9 ± 1,8 (20)	3,3 ± 3,5 (79)	4,2 ± 2,5 (48)
[m]	67,2 ± 2,9*	57,0 ± 2,4*	31,0 ± 2,3*
[a]	1,4 ± 0,6*	4,3 ± 0,4*	2,9 ± 0,3*
[d]	-132,7 ± 6,7*	111,6 ± 5,8*	-49,2 ± 5,3*
[i]	-57,1 ± 2,8*	-44,7 ± 2,3*	-22,6 ± 2,3*
[j]	8,5 ± 1,8*	--	--
[l]	68,3 ± 4,2*	62,6 ± 4,2*	20,7 ± 3,6*
χ^2	-	1,21	1,58
GL	-	1,0	1,0
P	-	0,28	0,21

GL = graus de liberdade para o teste do Qui-quadrado

P = probabilidade pelo teste de Qui-quadrado

- não calculado devido à falta de GL

--

efeito genético desconsiderado por não ser significativo

graus de liberdade para o teste. Em duas populações, porém, o parâmetro [j] não foi significativo e pôde ser desconsiderado, permitindo o teste de ajuste do modelo com os cinco parâmetros restantes e um grau de liberdade. O modelo de cinco parâmetros foi aceito nas probabilidades 0,28 e 0,21 para as populações IRGA 417 x Quilla 64117 e IRGA 417 x Diamante, respectivamente (Tabela 3.3).

Entre os efeitos gênicos estimados, o de dominância [d] foi o mais importante em todas as populações estudadas, como indicado pelo seu valor absoluto superior, e foi seguido pelos de aditividade x aditividade [i] e dominância x dominância [I]. A presença significativa das interações gênicas em todos os cruzamentos, sugere que os genes que controlam a expressão do caráter não atuam de forma independente. Cabe salientar que a magnitude dos efeitos de aditividade x aditividade [i] e de dominância x dominância [I] foi praticamente idêntica nos cruzamentos BRS 7 - Taim x Quilla 66304 e IRGA 417 x Diamante (Tabela 3.3), indicando, uma vez mais, que os genes para o incremento do recrescimento do coleóptilo estão dispersos entre os genitores.

A baixa magnitude dos efeitos de aditividade [a] em todas as populações não deve ser interpretada como um sinal de ausência de diferença entre os genitores, mas sim de que os genes que aumentam ou diminuem o caráter estão presentes em ambos os genitores, como comentado anteriormente, e, assim, os efeitos relativos à aditividade são anulados. A comparação direta dos efeitos aditivos entre cruzamentos não é possível, porque cada cruzamento foi avaliado em um experimento independente, no entanto, observou-se que quanto maior a diferença entre os genitores, maior foi o valor de [a] (Tabela 3.3). Observações semelhantes foram feitas por Li (1978) ao estudar a genética da

tolerância do arroz ao frio no período vegetativo. Naquele trabalho, porém, as estimativas de aditividade foram mais importantes que as de dominância.

O sinal associado às estimativas de [a] e [d] indica o genitor que concentra o maior número de genes para o incremento do caráter, sendo convencionalmente o sinal positivo para o P_1 e o negativo para o P_2 (Falconer, 1989). Assim, o sinal positivo de [a] em todos os cruzamentos evidenciou que o P_1 , ou seja, os genótipos Japônica apresentaram o maior número de genes para o aumento do recrescimento do coleóptilo. O sinal negativo do [d] demonstrou que a dominância foi no sentido do P_2 , ou seja, dos genótipos Indica. Já os sinais negativo e positivo do [i] e [l], respectivamente, indicaram que as interações do tipo aditividade x aditividade foram no sentido do P_2 e as de dominância x dominância, no sentido do P_1 . A tendência em direção ao maior recrescimento do coleóptilo observada na geração F_2 dos cruzamentos pode, portanto, ser consequência dos efeitos de dominância x dominância [l].

As estimativas de variância genética foram superiores às da variância devida ao ambiente para todas as populações estudadas (Tabela 3.4). Conseqüentemente, todos os cruzamentos apresentaram elevados valores de herdabilidade no sentido amplo, com exceção das duas populações em que o genótipo Diamante foi o genitor tolerante.

A variância genética foi decomposta em variâncias aditiva e de dominância. Em cinco cruzamentos houve uma superestimativa da variância aditiva e estimativa de valores negativos para a variância de dominância e, por isso, as estimativas de herdabilidade no sentido restrito foram superiores à unidade nestas populações. Já no cruzamento BRS 7 - Taim x Diamante ocorreu o contrário, tendo sido obtido um valor negativo para a variância aditiva e uma

superestimativa para a variância de dominância e, em consequência, a herdabilidade no sentido restrito foi negativa (Tabela 3.4).

TABELA 3.4 Valores de variância fenotípica (VF), variância de ambiente (VE), variância genética (VG), variância aditiva (VA), variância de dominância (VD) e herdabilidades nos sentidos amplo (h^2_a) e restrito (h^2_r) para o recrescimento do coleóptilo em seis cruzamentos de arroz. UFRGS, 2001.

Cruzamento	VF	VE	VG	VA	VD	h^2_a	h^2_r
BRS 7-Taim x Quilla 66304	36,5	7,8	28,7	43,6	-14,9	0,79	1,19
BRS 7-Taim x Quilla 64117	36,1	6,9	29,2	56,9	-27,7	0,81	1,58
BRS 7-Taim x Diamante	26,1	10,4	15,7	-2,9	18,6	0,60	-0,11
IRGA 417 x Quilla 66304	42,9	7,0	35,9	65,2	-29,3	0,84	1,52
IRGA 417 x Quilla 64117	61,6	12,3	49,3	93,6	-44,3	0,80	1,52
IRGA 417 x Diamante	48,9	20,2	28,7	66,2	-37,5	0,59	1,35

Segundo Ketata et al. (1976), estes desvios nas estimativas de herdabilidade podem ser causados por erros de amostragem, respostas diferenciadas da geração F_2 e de retrocruzamentos ao ambiente e por interações não-alélicas. O número de sementes avaliadas nas gerações de retrocruzamento foi, de forma geral, alto e, portanto, o problema de amostragem não deve ter importância neste caso.

Com relação ao comportamento diferenciado da geração F_2 e de retrocruzamentos ao ambiente é importante levar em conta que na geração F_2 as sementes eram normais, apresentando tegumento externo (casca) e, no caso dos retrocruzamentos, por serem provenientes de emasculação, as sementes eram desprovidas do mesmo. Esta diferença pode ser, em parte, a causa dos desvios observados nas estimativas de herdabilidade no sentido restrito (Tabela 3.4), pois ao se observar as distribuições de frequência das gerações RC_1F_1 e RC_2F_1 estas parecem desviadas (Figuras 3.1 a 3.6).

No que se refere às interações não-alélicas, estas também não podem ser descartadas, uma vez que apresentaram magnitude elevada e foram importantes em todos os cruzamentos (Tabela 3.3).

Além destes fatores, a forma de cálculo da variância aditiva, em que a variância da geração F_2 é multiplicada por dois, pode ter levado a uma subestimação da variância dos retrocruzamentos em cinco populações (Tabela 3.4), aumentando, por consequência, a variância aditiva e a herdabilidade no sentido restrito. Já no cruzamento BRS 7 - Taim x Diamante, em que ocorreu exatamente o contrário (Tabela 3.4), observou-se que a variação de ambos os retrocruzamentos foi alta (Figura 3.3) e não apenas a do RC_1F_1 como nas demais populações (Figuras 3.1, 3.2, 3.4, 3.5 e 3.6), o que pode ser a causa da diminuição na variância aditiva neste cruzamento.

Pela distribuição contínua e transgressiva da geração F_2 (Figuras 3.1 a 3.6) e baixa magnitude da variância ambiental em relação à variância genética na maioria dos cruzamentos, pode-se supor que genes de grande efeito distribuídos de forma complementar entre os genitores estão envolvidos na determinação do ressecimento do coleóptilo. No entanto, a maior importância da ação gênica de dominância e das interações não-alélicas sugere que a maior parte da variância genética foi devida à variância de dominância. Conseqüentemente, a seleção para tolerância ao frio na germinação utilizando o ressecimento do coleóptilo, deve ser praticada em gerações mais avançadas, com maior grau de homozigose, em que a maior parte da variação observada é devida à variância aditiva. A estratégia mais adequada para explorar esta base genética devida à dominância e epistasia e aumentar o nível de tolerância ao frio na germinação,

talvez seja o uso dos genótipos tolerantes provenientes do Chile em populações de seleção recorrente, em que tal tipo de efeito genético é aproveitado.

Os resultados disponíveis com relação à genética da tolerância ao frio nos períodos iniciais de desenvolvimento do arroz são variáveis. No período vegetativo foi relatado maior importância da ação gênica aditiva para descoloração foliar (Kaw et al., 1986) e do efeito de dominância para a redução na estatura (Datta & Siddiq, 1983). Na germinação, valores de herdabilidade elevada foram obtidos para o índice de germinação (Sthapit & Witcombe, 1998) e Sasaki (1977) apud Takahashi (1997) estimou em quatro ou mais o número de genes envolvidos na tolerância, relatando que a segregação transgressiva poderia ocorrer dependendo dos genótipos envolvidos. Sabe-se, no entanto, que as diferenças gênicas e suas contribuições para a variação são dependentes dos genótipos e ambientes nos quais os genes estão se expressando (Dickerson, 1963). Os resultados obtidos são, portanto, específicos para os genótipos e condições de teste utilizadas neste trabalho.

3.4. CONCLUSÕES

A herdabilidade da tolerância ao frio na germinação nos seis cruzamentos de arroz estudados é moderada a alta, indicando possibilidade de ganho genético por meio de seleção. No entanto, os efeitos de dominância e epistasia são os mais importantes na determinação da herança do recrescimento do coleóptilo, dificultando a seleção deste caráter em gerações iniciais.

CAPÍTULO IV

TOLERÂNCIA DO ARROZ À TEMPERATURA BAIXA NO PERÍODO REPRODUTIVO: EFEITO DO ESTÁDIO E DURAÇÃO DO FRIO

4.1. INTRODUÇÃO

O período reprodutivo do arroz é considerado o mais sensível ao frio e onde são observados efeitos diretos sobre o rendimento de grãos (Terres, 1991). Inúmeros são os danos observados nas plantas de arroz em decorrência do frio neste período, como: esterilidade de espiguetas, má exerceção da panícula, degeneração de espiguetas e manchas nos grãos (Souza, 1990; Terres, 1991). De modo geral, a esterilidade de espiguetas é o dano mais freqüentemente relatado na maioria dos países com problemas de frio (Yoshida, 1981b). A relação direta com perdas no rendimento de grãos tem feito da tolerância ao frio no período reprodutivo do arroz uma das principais metas em vários programas de melhoramento do mundo (Lin & Peterson, 1975; Futsuhara & Kikuchi, 1984; Alvarado e Grau, 1991; Guorui, 1991; Tilquin & Detry, 1993; McKenzie et al., 1994), inclusive no Rio Grande do Sul (Terres, 1991). Neste processo, o principal problema enfrentado é a caracterização dos genótipos e progênies segregantes em condições de campo, pois não se tem controle sobre a intensidade, duração e

período de desenvolvimento em que o frio ocorre, o que diminui a precisão e eficiência de seleção.

Trabalhos em condições de temperatura controlada permitiram elucidar os efeitos das interações entre diferentes intensidades e durações de frio em diferentes estádios do período reprodutivo do arroz. É atualmente admitido que o estágio de microsporogênese é o mais sensível às temperaturas baixas no período reprodutivo, seguido pelo de antese (Nishiyama, 1984). A microsporogênese abrange os processos que vão desde a divisão reducional da célula mãe de micrósporos (meiose) até à formação do grão de pólen (McCormick, 1993). Reconhece-se hoje que o estágio de micrósporo jovem, que ocorre logo após a meiose, é o momento mais crítico no que se refere à ocorrência de frio no período reprodutivo (Satake, 1976). Experimentos conduzidos a campo indicam que este estágio ocorre em torno de 7 a 14 dias antes do florescimento. Este estágio pode ser visualmente reconhecido através da distância entre as aurículas da folha bandeira e da penúltima folha, que, dependendo do genótipo, varia de -7 a +10 cm para a fase crítica (Yoshida, 1981a). As anormalidades observadas em flores submetidas ao frio neste estágio são: parada do desenvolvimento da antera, imaturidade do pólen, indeiscência ou deiscência parcial das anteras, não liberação de grãos de pólen e falhas na germinação do grão de pólen no estigma (Ito et al., 1970 apud Nishiyama, 1984). No estágio de antese, a ocorrência de frio provoca retardamento da abertura das flores ou abertura incompleta e a ausência de germinação do pólen no estigma (Nishiyama, 1984).

Todos estes efeitos redundam em aumento da esterilidade de espiguetas e, por conseguinte, redução no rendimento de grãos do arroz. De

acordo com Nishiyama et al.(1969) apud Terres (1991), as temperaturas críticas que causam esterilidade dependem do genótipo, sendo estimadas temperaturas entre 15 e 17°C para os genótipos considerados tolerantes e de 17 a 19°C para os sensíveis.

A duração do estresse é importante, uma vez que temperaturas de 12°C não induzem esterilidade se ocorrerem por apenas dois dias, porém podem induzir 100% de esterilidade após seis dias de exposição (Yoshida, 1981b). Da mesma forma, a esterilidade pode ocorrer mesmo em temperaturas acima de 20°C quando a exposição é longa (Terao et al., 1942 apud Nishiyama, 1984). Observa-se, assim, que a interação entre a intensidade da temperatura e a sua duração é determinante para a esterilidade de espiguetas.

Shibata et al. (1970) apud Yoshida (1981b), utilizando três intensidades de temperatura diurnas e noturnas e três durações de frio nos estádios de microsporogênese e antese verificaram que, para três dias de frio, o arroz foi mais sensível no estágio de microsporogênese do que na antese, indicado pela maior esterilidade. Porém, à medida que a duração do frio aumentou para seis e nove dias, a antese se mostrou tão ou mais sensível que a microsporogênese.

A esterilidade é normalmente atribuída a temperaturas baixas durante a noite, porém, altas temperaturas diurnas parecem aliviar os efeitos das baixas temperaturas noturnas (Yoshida, 1981b). Temperaturas em torno de 13°C apenas à noite não induziram esterilidade mesmo após 8 dias (Shimazaki et al., 1964 apud Nishiyama, 1984). De acordo com Lin & Peterson (1975), a exposição contínua ao frio foi mais drástica que apenas à noite, porém, ao testar diferentes

combinações de temperaturas diurnas e noturnas, verificaram que extremos de temperatura foram prejudiciais à fertilidade do arroz.

Estes fatos demonstram a grande complexidade dos efeitos da temperatura no período reprodutivo do arroz, o que não surpreende considerando que a tolerância ao frio neste período não é um caráter simples, pois envolve vários processos de desenvolvimento desde a diferenciação dos micrósporos até à fertilização (Satake & Shibata, 1992). Assim, qualquer desvio ou anormalidade em um ou mais de um destes processos inevitavelmente leva ao aborto do pólen e à esterilidade de grãos.

Os estudos relativos às bases genéticas da tolerância do arroz ao frio no período reprodutivo também comprovaram a complexidade do caráter, tendo sido relatada uma herança quantitativa com um número de genes variando de dois até sete (Sasaki, 1997).

Apesar do conhecimento disponível para tolerância ao frio no período reprodutivo do arroz, pouco é conhecido sobre o comportamento de genótipos brasileiros de arroz em diferentes estádios do período reprodutivo, especialmente sob condições controladas de temperatura, na qual a caracterização é mais precisa. A maioria dos dados são provenientes de observações feitas a campo, onde há interação da temperatura com outros fatores e não há controle sobre a intensidade e duração do frio. Além disso, conforme Jennings et al. (1979), a avaliação consistente em condições de campo só é possível em locais muito frios, o que não é o caso do RS.

Neste contexto, o presente trabalho avaliou os efeitos de diferentes durações da temperatura baixa nos estádios de microsporogênese e antese sobre os caracteres fertilidade de espiguetas, exerceção da panícula e peso de 100

grãos em seis genótipos de arroz com o objetivo de identificar uma metodologia capaz de diferenciar os genótipos quanto à tolerância ao frio no período reprodutivo e caracterizar a reação ao frio destes genótipos nestas condições .

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Seis genótipos de arroz foram utilizados neste estudo, cuja genealogia, país de origem e grupo encontram-se na Tabela 4.1.

TABELA 4.1. Genealogia, país de origem e grupo dos seis genótipos utilizados no estudo da tolerância ao frio no período reprodutivo do arroz. UFRGS, 2001.

Genótipo	Genealogia	País de origem	Grupo
Quilla 64117	Delta/Oro	Chile	Japônica
Quilla 66304	Cesariot/Oro	Chile	Japônica
Diamante	Agostano/P6//Blue Rose/RB2/BALILLA	Chile	Japônica
IRGA 417	NEWREX/IR19743-25-2-2//BR-IRGA 409	Brasil	Indica
BRS 7 - Taim	desconhecida	Brasil	Indica
IR 8	PETA/DEE-GEO-WOO-GEN	Filipinas	Indica

Os genótipos Japônica foram provenientes do programa de melhoramento de arroz do INIA – Quilamapu no Chile e utilizados por sua tolerância ao frio em condições de campo naquele país (Alvarado, com. pessoal). A cultivar IR 8, proveniente do International Rice Research Institute (IRRI), foi escolhida por sua reconhecida sensibilidade ao frio (Jennings et al., 1979). As cultivares IRGA 417 e BRS 7 - Taim, oriundas dos programas de melhoramento do Instituto Riograndense do Arroz (IRGA) e EMBRAPA Clima Temperado, respectivamente, foram escolhidas por serem genótipos locais com reconhecida sensibilidade ao frio.

O experimento foi realizado na casa-de-vegetação e sala climatizada do IRGA, em Cachoeirinha, RS, no ano de 2000. A semeadura foi feita em 1º de

maio, em baldes de 19,5 cm de altura por 16 cm de diâmetro contendo solo coletado no campo e adubado com 2 g da fórmula 2-20-20. Foram utilizados 30 baldes por genótipo e, 20 dias após, foi feito o desbaste, deixando-se três plantas por balde. Aos 40 dias da emergência, foi feita uma adubação nitrogenada com 2 g de uréia por balde.

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado, com um número variável de repetições, as quais corresponderam ao número de perfilhos avaliados nas plantas em cada tratamento. Os tratamentos constituíram-se nas combinações dos níveis dos três fatores estudados: genótipo, estágio do período reprodutivo e duração do frio. A temperatura utilizada para a avaliação da reação dos genótipos ao frio foi a de 17°C, aplicada nos estádios de microsporogênese e antese e em quatro durações: três, cinco, sete e dez dias. Em cada genótipo, algumas plantas foram mantidas permanentemente na casa-de-vegetação, para servirem como controle.

O estágio de microsporogênese foi visualmente determinado através da distância entre as aurículas da folha bandeira e as da folha anterior, a qual varia conforme o genótipo (Yoshida, 1981a). Por não haver estudos relativos à determinação deste parâmetro para os seis genótipos estudados, optou-se por considerar as panículas no intervalo de -3 a +10 cm como no estágio de microsporogênese. Tomou-se, porém, o cuidado de, para cada genótipo e duração do frio, selecionar perfilhos com diferentes distâncias de modo a abranger toda a variação de -3 a 10 cm. O estágio de antese foi considerado a partir do início da exposição da panícula e, no caso de haverem flores abertas, as mesmas foram manualmente eliminadas.

Em cada genótipo e estágio, um número variável de perfilhos foi tomado, os quais foram identificados através de um atilho amarrado na base, quanto ao genótipo, estágio e duração do frio (tratamento) a que iriam ser submetidos. Os baldes foram, então, levados à sala climatizada com temperatura constante de 17°C e fotoperíodo de 9h/15h e, após o período determinado de frio, foram colocados de volta na casa-de-vegetação. A radiação utilizada na sala climatizada, constituída por lâmpadas fluorescentes e incandescentes, foi medida através de luxímetro estando em torno de 112.310 lux, o que corresponde a 1517,7 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$. Apesar do aproveitamento máximo do espaço disponível na sala climatizada para a colocação das lâmpadas, a radiação obtida está, provavelmente, abaixo da ideal para a cultura do arroz. No entanto, esta não deve ser uma variável importante considerando que o tempo de permanência das plantas nesta condição foi de, no máximo, dez dias. As diferenças de intensidade e qualidade de luz entre a sala climatizada e a casa-de-vegetação permaneceram como uma variável não controlada.

As panículas foram colhidas individualmente na maturação e posteriormente avaliadas quanto ao grau de exerceção, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos.

O grau de exerceção da panícula foi tomado como a distância entre a base da panícula e a lígula da folha bandeira, em cm, sendo que valores positivos indicam exerceção completa da panícula e negativos exerceção incompleta. A fertilidade de espiguetas foi obtida através da contagem do número de grãos cheios e vazios e expressa como porcentagem de grãos cheios sobre o número total de grãos da panícula. O peso de 100 grãos foi obtido a partir da pesagem de

todos os grãos da panícula, cheios e vazios, e ajustando-se o valor correspondente para um número de 100 grãos.

Cada observação relativa a estas características foi expressa como porcentagem de redução em relação ao controle, que representou o valor médio do grau de exerceção, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos para cada genótipo nas condições da casa-de-vegetação. Após a análise de resíduos e regressão para verificação da normalidade e necessidade de transformação, a porcentagem de redução na exerceção da panícula foi transformada segundo a $\sqrt{x + 10}$, não sendo necessária a transformação para a porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas e porcentagem de redução no peso de 100 grãos. Os dados foram, então, submetidos à análise de variância para um experimento fatorial no delineamento completamente casualizado, considerando os efeitos dos fatores fixos. Os testes de complementação consistiram na comparação de médias pelo método dos quadrados mínimos a 5% de probabilidade, devido ao diferente número de repetições por tratamento, e análise de regressão linear nos níveis do fator duração, para verificar o comportamento de cada característica em função do aumento do período de frio. A regressão foi feita com os dados originais e não expressos como porcentagem de redução em relação ao controle, o qual foi incluído como o nível zero da duração do frio (17°C) na regressão.

A relação entre as três características foi verificada separadamente em cada estágio avaliado através do cálculo dos coeficientes de correlação de Pearson. As correlações entre os dois estádios e entre as quatro durações de frio para as variáveis estudadas também foram obtidas. Todas as análises foram realizadas no programa SAS (Statistical Analysis System).

4.3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos de genótipo, estágio e duração do frio, assim como das interações de primeira e segunda ordem entre estes fatores foram altamente significativos para as três características estudadas (Tabela 4.2), indicando que os genótipos, estádios e durações de frio testados diferiram quanto à porcentagem de redução na exerceção da panícula, na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos sob a temperatura de 17°C. A significância da interação tríplice indicou que cada nível de um fator foi afetado diferentemente pelos níveis dos outros dois e, por isso, as características foram estudadas considerando-se todos os níveis dos três fatores simultaneamente.

TABELA 4.2. Quadrados médios para as porcentagens de redução na exerceção da panícula, fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos de seis genótipos de arroz, em dois estádios de desenvolvimento e quatro durações de frio (17°C). UFRGS, 2001.

Causas de variação	GL	Redução na exerceção da panícula	Redução na fertilidade de espiguetas	Redução no peso de 100 grãos
Genótipo	5	891,5**	20396,8**	11863,2**
Estádio	1	1081,4**	8305,6**	11630,6**
Duração	3	77,5*	11450,3**	9943,7**
Genótipo x estágio	5	47,3**	1681,4**	973,6**
Genótipo x duração	14	12,3**	816,2**	513,2**
Estádio x duração	3	16,5**	902,4**	1129,0**
Genótipo x estágio x duração	13	11,2*	639,7**	442,5**
Erro	^a	4,9	37,0	136,1
CV(%)		20,9	11,2	23,2
R ²		0,90	0,98	0,87

^a O grau de liberdade do erro foi variável conforme a característica analisada.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Os elevados valores de porcentagem de redução na exerceção da panícula, superiores a 100% (Tabela 4.3), são devidos ao fato de que esta característica foi obtida por meio de medição com régua, obtendo-se desde valores positivos (exerceção completa) até negativos (exerceção incompleta). Desta forma, a mera redução no grau de exerceção da panícula de um valor de +2 cm no controle, para um valor de -2 cm, devido ao efeito do frio, ao ser computado como porcentagem de redução em relação ao controle equivaleria a uma porcentagem de redução da ordem de 200%.

TABELA 4.3. Médias de porcentagem de redução na exerceção da panícula de seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C) em dois estádios do período reprodutivo. UFRGS, 2001.

Genótipo	Microsporogênese			
	3 dias	5 dias	7 dias	10 dias
Quilla64117	0 b A	- ^{1/}	50 b A	55 bc A
Quilla66304	14 b B*	-	9 b B*	24 c AB*
Diamante	0 b B*	9 b B*	32 b AB*	80 bc A*
IR 8	168 a C*	332 a B*	443 a AB	540 a A*
IRGA 417	5 b B*	3 b B*	7 b B*	45 bc A*
BRS 7-Taim	7 b B*	17 b B*	47 b AB*	91 b A*

Genótipo	Antese			
	3 dias	5 dias	7 dias	10 dias
Quilla64117	0 d A	-	0 e A	0 e A
Quilla66304	64 c B	95 c AB	123 d A	148 cd A
Diamante	127 b AB	97 c B	176 c A	190 bc A
IR 8	509 a B	616 a AB	653 a A	718 a A
IRGA 417	130 b A	117 bc A	117 d A	129 d A
BRS 7-Taim	202 b A	208 b A	243 b A	276 b A

Letras minúsculas comparam genótipos dentro de estádio e duração do frio.

Letras maiúsculas comparam durações de frio dentro de genótipo e estádio.

* Indica diferença entre estádios dentro de genótipos e durações de frio.

^{1/} Indica que não foram avaliados perfilhos nestes tratamentos.

Em todas as durações de frio, a redução na exerceção da panícula foi, de forma geral, maior no estágio de antese que no de microsporogênese (Tabela 4.3), o que não surpreende, pois a temperatura baixa no momento da exposição da panícula causa exerceção incompleta pela diminuição na alongação do último entrenó (Vergara, 1991 apud Pandey & Gupta, 1993). Neste trabalho, o estágio de antese foi considerado como o início da exposição da panícula, quando as flores do ápice começam a abrir. Portanto, a diminuição na alongação do último entrenó pelo frio provavelmente foi a causa da menor exerceção da panícula no estágio de antese. Estes resultados concordam com os obtidos por Lee (1979) que, utilizando uma temperatura de 17°C por dez dias, também constatou que o estágio de antese foi o mais sensível ao frio quanto à exerceção da panícula. No presente trabalho, a única exceção foi o genótipo Quilla 64117, em que a redução na exerceção da panícula foi observada apenas no estágio de microsporogênese (Tabela 4.3).

Não houve uma separação clara entre genótipos tolerantes e sensíveis quanto à redução na exerceção da panícula em nenhum dos estágios e durações de frio (Tabela 4.3). Na antese, porém, o genótipo tolerante Quilla 64117 diferenciou-se dos demais não tendo apresentado redução na exerceção da panícula pelo frio. O sensível IR 8, por sua vez, foi o que apresentou a maior redução na exerceção da panícula, diferindo dos demais em todas as durações de frio e em ambos os estágios (Tabela 4.3).

A redução na exerceção da panícula em função da duração do frio dependeu do genótipo e do estágio do período reprodutivo considerado. Na microsporogênese, os genótipos IR 8, BRS 7 - Taim e Diamante apresentaram a maior redução na exerceção da panícula com sete dias de exposição ao frio

(Tabela 4.3). Somente nestes a regressão linear da exerceção da panícula nas diferentes durações de frio foi significativa, porém pelos coeficientes de determinação observou-se que apenas no IR 8 a regressão explicou a variação na característica (Tabela 4.4).

Na antese, os genótipos sensíveis apresentaram as maiores reduções na exerceção da panícula com menos tempo de frio e os tolerantes Quilla 66304 e Diamante com exposição mais longa ao frio. No entanto, nas maiores durações de frio os genótipos Quilla 66304 e Diamante foram tão ou mais afetados que os sensíveis, demonstrando que não apresentam tolerância ao frio no que se refere à redução na exerceção da panícula (Tabela 4.3). Já o Quilla 64117 não apresentou qualquer redução nesta característica em função dos diferentes períodos de frio na antese, o que indica que este genótipo é, portanto, tolerante ao frio com relação à exerceção da panícula (Tabela 4.3). Pela análise de regressão, observou-se que, com exceção deste último, todos os genótipos apresentaram reduções lineares significativas na exerceção da panícula em função da duração do frio na antese (Tabela 4.4).

Pelos valores dos coeficientes de regressão, verificou-se que a magnitude de redução na exerceção da panícula variou de genótipo para genótipo, sendo maior no IR 8 e menor no IRGA 417. A magnitude desses coeficientes no estágio de antese foi também mais um indicativo de que a maior redução na exerceção da panícula pelo frio ocorreu neste estágio (Tabela 4.4).

Os coeficientes "a" da regressão indicam o grau de exerceção da panícula na condição controle, isto é, na ausência de frio. Observa-se, portanto, que há diferenças intrínsecas entre os genótipos tolerantes e sensíveis quanto à

exerção da panícula na condição controle, sendo esta completa nos tolerantes (valores positivos) e incompleta nos sensíveis (valores negativos) (Tabela 4.4).

TABELA 4.4. Equações de regressão estimadas para as variáveis exercício da panícula (cm), fertilidade de espiguetas (%) e peso de 100 grãos (g) em função da duração do frio (17°C) para cada genótipo e estágio do período reprodutivo estudado. UFRGS, 2001.

Exerção da panícula (cm)	Microsporogênese		Antese	
	Equação	R ²	Equação	R ²
Quilla 66304	-	-	$y = 4,4 - 1,8 x^*$	0,67
Diamante	$y = 3,4 - 0,6 x^*$	0,26	$y = 2,7 - 1,5 x^*$	0,65
Quilla 64117	-	-	-	-
IR 8	$y = 1,6 - 2,7 x^*$	0,90	$y = 0,6 - 3,1 x^*$	0,77
IRGA 417	-	-	$y = -4,2 - 1,1 x^*$	0,63
BRS 7 -Taim	$y = -1,8 - 0,8 x^*$	0,28	$y = -3,7 - 1,8 x^*$	0,57
Fertilidade de espiguetas (%)	Microsporogênese		Antese	
	Equação	R ²	Equação	R ²
Quilla 66304	$y = 83,2 - 2,6 x^*$	0,19	$y = 85,7 - 16,5 x^*$	0,89
Diamante	$y = 95,9 - 1,5 x^*$	0,32	$y = 97,5 - 17,6 x^*$	0,93
Quilla 64117	$y = 96,0 - 5,7 x^*$	0,78	-	-
IR 8	$y = 87,8 - 19,6 x^*$	0,91	$y = 86,4 - 23,2 x^*$	0,96
IRGA 417	$y = 87,5 - 20,1 x^*$	0,95	$y = 84,5 - 24,2 x^*$	0,94
BRS 7 -Taim	$y = 51,4 - 14,6 x^*$	0,61	$y = 60,9 - 19,8x^*$	0,79
Peso de 100 grãos (g)	Microsporogênese		Antese	
	Equação	R ²	Equação	R ²
Quilla 66304	$y = 2,8 - 0,1 x^*$	0,34	$y = 2,8 - 0,5 x^*$	0,87
Diamante	$y = 3,5 - 0,1 x^*$	0,27	$y = 3,5 - 0,6 x^*$	0,92
Quilla 64117	$y = 3,8 - 0,3 x^*$	0,78	$y = 3,8 - 0,3 x^*$	0,53
IR 8	$y = 2,0 - 0,4 x^*$	0,88	$y = 1,9 - 0,5 x^*$	0,94
IRGA 417	$y = 2,2 - 0,5 x^*$	0,92	$y = 2,1 - 0,5 x^*$	0,92
BRS 7 - Taim	$y = 1,2 - 0,3 x^*$	0,58	$y = 1,4 - 0,4 x^*$	0,76

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

- Equações não significativas.

Estas diferenças podem ser devidas aos diferentes grupos a que pertencem os genótipos estudados, pois conforme Yoshida (1981a), a exerceção da panícula é rápida e completa nos genótipos Japônica e incompleta nos do grupo Indica. Apesar destas diferenças, neste trabalho a tolerância ao frio foi avaliada por meio da menor redução na exerceção da panícula em relação ao controle, a qual expressou a tolerância per se dos genótipos e, por isso, com base nesta característica, o único genótipo tolerante ao frio foi o Quilla 64117 no estágio de antese (Tabela 4.3).

No que se refere à porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas, o estágio de antese também foi, em geral, o mais sensível à temperatura baixa (Tabela 4.5). Com três dias de frio, não houve diferenças entre os estádios, a não ser no genótipo Diamante, que foi mais afetado na antese. A partir dos cinco dias de frio, a maioria dos genótipos apresentou as maiores reduções na fertilidade no estágio de antese, com exceção do BRS 7 - Taim e do Quilla 64117. O primeiro porque a sua porcentagem de redução na fertilidade não diferiu entre os estádios, sendo elevada em ambos, já nesta duração e, no caso do Quilla 64117 porque a maior redução na fertilidade foi observada na microsporogênese, na duração dez dias de frio (Tabela 4.5).

Em ambos os estádios, os genótipos sensíveis BRS 7 - Taim, IRGA 417 e IR 8 foram os que apresentaram as maiores reduções na fertilidade de espiguetas pela temperatura baixa, diferindo significativamente dos tolerantes nas durações sete e dez dias de frio (Tabela 4.5). Na microsporogênese, o Diamante foi o genótipo com a menor redução na fertilidade de espiguetas com dez dias de frio, porém na antese o Quilla 64117 foi o menos afetado nesta característica nas durações sete e dez dias (Tabela 4.5).

TABELA 4.5. Médias de porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas de seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C) em dois estádios do período reprodutivo. UFRGS, 2001.

Genótipo	Microsporogênese			
	3 dias	5 dias	7 dias	10 dias
Quilla64117	0 d C	- ^{1/}	14 c B	27 c A*
Quilla66304	18 c A	-	2 c B*	19 d A*
Diamante	1 d A*	2 d A*	7 c A*	6 e A*
IR 8	21 c C	37 c B*	83 ab A	89 b A*
IRGA 417	42 b C	48 b C*	70 b B*	93 ab A*
BRS 7-Taim	72 a B	92 a A	95 a A	99 a A

Genótipo	Antese			
	3 dias	5 dias	7 dias	10 dias
Quilla64117	5 d A	-	11 d A	7 c A
Quilla66304	7 d C	55 c B	51 c B	80 b A
Diamante	16 c D	27 d C	48 c B	80 b A
IR 8	18 c D	66 bc C	87 b B	100 a A
IRGA 417	44 b C	76 b B	99 a A	100 a A
BRS 7-Taim	66 a B	96 a A	99 a A	100 a A

Letras minúsculas comparam genótipos dentro de estágio e duração do frio.

Letras maiúsculas comparam durações de frio dentro de genótipo e estágio.

Indica diferença entre estádios dentro de genótipos e durações de frio.

^{1/}Indica que não foram avaliados perfilhos nestes tratamentos.

A influência da duração do frio sobre a redução na fertilidade de espiguetas, em ambos os estádios, dependeu do genótipo, sendo que para os tolerantes as maiores reduções foram observadas somente com dez dias de frio, enquanto que para os sensíveis, estas já foram observadas com períodos mais curtos (Tabela 4.5). No genótipo BRS 7 - Taim, em ambos os estádios, a maior redução ocorreu com apenas cinco dias de frio, enquanto nos outros dois sensíveis esta foi observada a partir dos sete dias de frio (Tabela 4.5).

Com exceção do genótipo Quilla 64117 no estágio de antese, a regressão linear da porcentagem de fertilidade de espiguetas em função da

duração do frio foi significativa para todos os genótipos, nos dois estádios do período reprodutivo (Tabela 4.4), demonstrando que quanto maior foi a duração do frio, maior foram os decréscimos na fertilidade dos genótipos. Pela magnitude dos coeficientes de regressão estimados, comprovou-se que a maior sensibilidade ao frio dos genótipos ocorreu no estágio de antese, e, pelos coeficientes de determinação, constatou-se que neste estágio a regressão explicou a maior parte da variação na característica nos cinco genótipos em que foi significativa, o que não aconteceu na microsporogênese (Tabela 4.4). Pelos coeficientes de regressão demonstrou-se que os genótipos sensíveis sofreram reduções superiores aos tolerantes na fertilidade de espiguetas pelo frio em ambos os estádios (Tabela 4.4).

O comportamento dos genótipos, durações de frio e estádios com relação à redução no peso de 100 grãos (Tabela 4.6) foi similar ao observado para a redução na fertilidade de espiguetas (Tabela 4.5). De fato, foi observada uma alta correlação entre estas duas características, em ambos estádios do período reprodutivo (Tabela 4.7), o que demonstrou a relação direta da redução na fertilidade de espiguetas sobre o peso de grãos em arroz.

Assim, a redução no peso de 100 grãos também foi, em geral, superior na antese, dependendo do genótipo e duração do frio (Tabela 4.6). Com três dias de frio, todos os genótipos apresentaram reduções similares no peso de 100 grãos entre os dois estádios. Porém, com cinco e sete dias de frio, a redução na fertilidade dos genótipos sensíveis foi maior na antese e, com dez dias de frio, não houve diferenças entre os estádios para estes genótipos. No caso dos genótipos tolerantes, na antese foram mais sensíveis que na microsporogênese a partir dos cinco dias de frio, com exceção do genótipo Quilla 64117, para o qual

os estádios não diferiram (Tabela 4.6). Estes resultados comprovaram, uma vez mais, a maior sensibilidade ao frio dos genótipos no estádio de antese.

TABELA 4.6. Médias de porcentagem de redução no peso de 100 grãos de seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C) em dois estádios do período reprodutivo. UFRGS, 2001.

Genótipo	Microsporogênese			
	3 dias	5 dias	7 dias	10 dias
Quilla64117	5 c B	- ^{1/}	30 Bc A	35 b A
Quilla66304	19 bc AB	-	7 c B*	26 bc A*
Diamante	12 bc A	5 c A*	14 c A*	14 c A*
IR 8	18 bc B	29 b B*	57 Ab A	75 a A
IRGA 417	33 b C	42 b C*	58 Ab B*	82 a A
BRS 7-Taim	71 a A	73 a A	63 a A	80 a A

Genótipo	Antese			
	3 dias	5 dias	7 dias	10 dias
Quilla64117	5 d A	-	26 c A	25 c A
Quilla66304	22 cd C	49 c B	55 b B	74 b A
Diamante	18 cd C	26 d C	52 b B	74 b A
IR 8	25 c C	61 bc B	77 a A	86 a A
IRGA 417	40 b C	73 ab B	88 a A	87 a A
BRS 7-Taim	59 a B	84 a A	88 a A	88 a A

Letras minúsculas comparam genótipos dentro de estádio e duração do frio.

Letras maiúsculas comparam durações de frio dentro de genótipo e estádio.

* Indica diferença entre estádios dentro de genótipos e durações de frio.

^{1/}Indica que não foram avaliados perfilhos nestes tratamentos.

Em ambos os estádios, os genótipos sensíveis apresentaram reduções superiores aos tolerantes no peso de 100 grãos, e na microsporogênese somente com dez dias de frio houve uma separação clara entre tolerantes e sensíveis (Tabela 4.6). Na antese, com sete dias de frio já foi possível diferenciar os tolerantes dos sensíveis, os quais apresentaram as maiores reduções, seguidos

pelos genótipos Quilla 66304 e Diamante, com redução intermediária e o Quilla 64117, com a menor redução no peso de 100 grãos (Tabela 4.6).

A regressão linear do peso de 100 grãos em função da duração do frio foi significativa para todos os genótipos nos dois estádios do período reprodutivo (Tabela 4.4). Da mesma forma que para a redução na fertilidade de espiguetas, o genótipo BRS 7 - Taim foi o que apresentou a maior redução nesta característica com menos tempo de frio, cinco dias, enquanto que nos outros dois sensíveis isto só ocorreu a partir dos sete dias de frio (Tabela 4.6).

TABELA 4.7. Correlações fenotípicas entre as características porcentagem de redução na exerceção da panícula (redexer), porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas (redfert) e porcentagem de redução no peso de 100 grãos (redpgraos) avaliadas em seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C) nos estádios de microsporogênese e antese. UFRGS, 2001.

Características	Microsporogênese			
	redexer	Redfert	redpgraos	
redexer	1,00	0,15	0,06	
redfert		1,00	0,97**	
redpgraos			1,00	
Características	Antese			
	redexer	1,00	0,35**	0,31**
	redfert		1,00	0,98**
	redpgraos			1,00

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

No presente trabalho, a tolerância ao frio foi expressa como a porcentagem de redução causada pelo frio nas três características estudadas em relação ao controle. Através deste procedimento, segundo Datta & Siddiq (1983), se avalia a tolerância per se dos genótipos e não o seu comportamento sob estresse. Num estudo em que a fertilidade de espiguetas foi dividida em quatro

componentes, Satake & Shibata (1992) observaram que os genótipos diferiram com relação a alguns dos componentes, como o número de grãos de pólen, mesmo na ausência de frio. Assim, ao se estudar o quanto cada característica diminuiu em relação à testemunha devido ao frio evitou-se a introdução de vícios de interpretação decorrentes de características intrínsecas a cada genótipo e os mesmos foram comparados através de um parâmetro comum. A tolerância ao frio, estudada através das mesmas características deste trabalho, apresentou herdabilidade elevada em um estudo dialélico realizado sob condições controladas (Acharya, 1987), demonstrando que é possível aumentá-la através da seleção de genótipos com menor redução na exerceção da panícula, na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos.

A avaliação destas características no presente trabalho permitiu verificar que a temperatura de 17°C por apenas três dias já foi capaz de provocar danos às plantas de arroz, os quais variaram conforme o genótipo, estágio e duração do frio. Sabe-se que a intensidade da temperatura é um fator importante na determinação do maior ou menor dano às plantas. Trabalhos realizados sob condições de temperatura controlada têm utilizado temperatura variável entre o dia e a noite (Lin & Peterson, 1975) ou temperatura constante, a qual tem variado de 10 até 20°C (Lin & Peterson, 1975; Lee, 1979; Khan et al., 1986). Na escolha da temperatura, além de levar em conta a intensidade do estresse em condições de campo, também é importante lembrar que temperaturas mais baixas permitem identificar maiores níveis de tolerância e as mais altas níveis mais moderados. A temperatura de 17°C foi escolhida por se acreditar que nesta intensidade já haveriam diferenças entre os genótipos tolerantes e sensíveis, e também por se

constatar que, nas condições do RS, extremos de temperatura não são comuns durante o período de cultivo do arroz.

Optou-se, então, por criar diferentes níveis de estresse através da variação na duração da temperatura. Como visto, de forma geral, em todas as durações de frio e estádios avaliados, os genótipos Indica se mostraram mais sensíveis que os Japonica, como seria esperado (Tabelas 4.3, 4.5 e 4.6). Entretanto, com relação à porcentagem de redução na exerceção da panícula, a separação entre eles não foi tão clara em nenhum dos estádios e durações (Tabela 4.3), ao contrário das outras duas características (Tabelas 4.5 e 4.6). Apesar da exerceção da panícula ter sido significativamente correlacionada com as outras duas características no estádio de antese (Tabela 4.7), a magnitude das correlações não foi alta. Segundo Chung (1979), a redução na exerceção da panícula pelo frio na antese teve relação com decréscimos na porcentagem de grãos cheios em arroz. De fato, a exerceção incompleta da panícula pode prejudicar a polinização e reduzir, assim, o rendimento de grãos (Griest, 1986 apud Pandey & Gupta, 1993). Porém, os danos causados pela temperatura baixa à exerceção da panícula e à fertilidade de espiguetas devem ter bases fisiológicas distintas, pois enquanto a diminuição na exerceção decorre de efeitos sobre a divisão e alongação celular, na fertilidade os processos de formação e germinação dos grãos de pólen é que são prejudicados. As distintas bases genéticas da exerceção da panícula e da fertilidade de espiguetas em condições de temperatura baixa (Pandey & Gupta, 1993; Sasaki, 1997) são mais uma evidência de que as correlações entre elas não devem ser de origem genética e sim efeitos indiretos da exerceção incompleta da panícula sobre a fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos. Assim, as diferentes bases genéticas e fisiológicas da exerceção da

panícula e fertilidade de espiguetas com relação à tolerância ao frio podem ser a causa da falta de separação entre genótipos tolerantes e sensíveis quando avaliados por meio da redução na exerceção da panícula em relação ao observado para as outras duas características. Independente das bases genéticas e fisiológicas serem diferentes ou não, o genótipo Quilla 64117 foi o menos afetado nas três características no estágio de antese (Tabelas 4.3, 4.5 e 4.6), indicando que é uma fonte de tolerância ao frio neste estágio.

Considerando a porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos, as quais foram altamente correlacionadas em ambos estádios (Tabela 4.7), observou-se que no estágio de antese é que foram constatadas as maiores reduções nestas características, indicando que a sensibilidade ao frio dos genótipos estudados foi maior neste estágio (Tabelas 4.4, 4.5 e 4.6). Entre os tolerantes isto foi ainda mais evidente, pois apesar de terem sido superiores aos sensíveis em ambos os estádios, seu grau de tolerância foi maior na microsporogênese, pois neste estágio apresentaram menores reduções na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos (Tabelas 4.4 e 4.5). Estes resultados são inesperados porque, de acordo com Lin & Peterson (1975) e Nishiyama (1984), a sensibilidade do arroz ao frio é maior na microsporogênese do que na antese. A maior sensibilidade na antese observada neste trabalho pode ter relação com a identificação dos estádios, que na microsporogênese foi feita pela distância entre as aurículas da folha bandeira e as da folha anterior, considerando-se um intervalo de -3 a 10 cm. Sabe-se que este parâmetro é variável conforme o genótipo (Yoshida, 1981a) e, assim, alguns dos perfis identificados poderiam estar adiantados ou atrasados em relação à microsporogênese máxima, podendo ser esta a causa dos menores danos

observados neste estágio. Shibata (1979), porém, recomenda um intervalo semelhante, de 3 a 12 cm, para a avaliação da tolerância ao frio na microsporogênese, o que invalida, pelo menos em parte, esta explicação.

Outra possibilidade seria devido aos danos que são observados em cada estágio pelo frio. Nishiyama (1982) apud Nishiyama (1995) ao submeter panículas de arroz no estágio de microsporogênese ao frio, observou diferenças consideráveis na fertilidade de espiguetas de diferentes posições na mesma panícula. Foi descoberto que o número de grãos de pólen por antera variou entre as espiguetas de diferentes posições, sendo menor nas espiguetas do ápice e maior nas da base. A relação com a fertilidade observada permitiu concluir que as espiguetas da base teriam maior proteção contra o declínio no número de grãos de pólen causado pela temperatura baixa. Portanto, diferentes graus de tolerância ao frio entre as espiguetas de uma mesma panícula poderiam ser a causa da menor redução na fertilidade de espiguetas observada no estágio de microsporogênese. Já na antese, espiguetas de diferentes posições parecem ser afetadas, ou seja, tanto as que estão prontas para a antese como as que estão mais atrasadas. Nestas últimas, o frio prejudica o amadurecimento do grão de pólen que ocorre continuamente até o dia da antese, levando à formação de grãos de pólen anormais, que não conseguem germinar (Koike & Satake, 1987 apud Nishiyama, 1995). Nas espiguetas em que os grãos de pólen formados são normais, o frio impede que a antese ocorra e, como a viabilidade do pólen maduro é de apenas cinco minutos após a liberação pela antera (Yoshida, 1981a), após o término do estresse o pólen já perdeu sua capacidade de germinar.

Correlações altamente significativas foram observadas entre os estádios de microsporogênese e antese para todas as variáveis estudadas (Tabela 4.8), demonstrando que, nas condições do presente trabalho, é viável selecionar para tolerância ao frio no período reprodutivo em apenas um deles. A antese seria preferível, neste caso, porque além de ter-se mostrado mais sensível à temperatura de 17°C para todas as características avaliadas, é de determinação mais fácil e precisa, independente do genótipo. A indicação da antese para avaliação da tolerância do arroz ao frio no período reprodutivo foi feita por Lee (1979), que também observou alta correlação entre esta e a microsporogênese no que se refere à esterilidade de espiguetas.

TABELA 4.8. Correlações fenotípicas entre os estádios de microsporogênese e antese para as características porcentagem de redução na exerceção da panícula, porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas e porcentagem de redução no peso de 100 grãos avaliadas em seis genótipos de arroz submetidos a quatro durações de frio (17°C). UFRGS, 2001.

Microsporogênese	Antese		
	Redução na exerceção (%)	Redução na fertilidade (%)	Redução no peso de 100 grãos (%)
Redução na exerceção (%)	0,78**	0,13	0,11
Redução na fertilidade (%)		0,74**	0,71**
Redução no peso de 100 grãos (%)			0,70**

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Além do estágio em que a planta será avaliada, a escolha da duração da temperatura é de grande importância, pois esta é que define o grau de estresse que será imposto. De acordo com Bertin et al. (1996), menores durações permitem detectar genótipos mais sensíveis e maiores durações os mais tolerantes. O genótipo BRS 7 - Taim foi o mais sensível, em ambos os estádios, quanto à redução na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos, pois

apresentou elevada redução nestas características com apenas três dias de frio (Tabelas 4.5 e 4.6). Os genótipos Japônica foram, como esperado, os mais tolerantes apresentando as menores reduções nestas características nas maiores durações de frio testadas (Tabelas 4.5 e 4.6). Considerando os genótipos avaliados neste trabalho, observou-se que um mínimo de sete dias foi necessário para separar os tolerantes dos sensíveis, em ambos os estádios, com relação à redução na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos (Tabelas 4.5 e 4.6), indicando que em períodos mais curtos algumas espiguetas podem ter escapado do frio. De fato, para que todas as espiguetas de uma panícula completem a antese, é necessário de sete a dez dias (Yoshida, 1981a). As correlações significativas entre as quatro durações de frio para as três variáveis estudadas (Tabela 4.9), indicam ser possível a seleção em apenas uma duração.

Assim, com base nos genótipos e condições testadas neste trabalho, acredita-se que a temperatura de 17°C por sete dias no estádio de antese é suficiente para diferenciar genótipos tolerantes de sensíveis ao frio quando avaliados em termos de porcentagem de redução no peso de 100 grãos. Esta característica, além de diferenciar os genótipos quanto à tolerância (Tabela 4.6), seria preferível em relação à porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas porque é de mais fácil determinação e porque apresentou correlação altamente significativa com a mesma.

Apesar das correlações significativas entre os dois estádios (Tabela 4.8), diferentes fontes de tolerância foram identificadas em cada um, sendo que o Quilla 64117 destacou-se pela tolerância na antese (Tabelas 4.4 e 4.5) e o Diamante na microsporogênese (Tabelas 4.4. e 4.5). Se estes resultados foram devido a bases genéticas distintas, pode-se supor que, pelo cruzamento entre

estes genótipos se possa selecionar recombinantes com alto grau de tolerância em ambos os estádios.

TABELA 4.9. Correlações fenotípicas entre as durações de frio (17°C) para as características porcentagem de redução na exerceção da panícula, porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas e porcentagem de redução no peso de 100 grãos avaliadas em seis genótipos de arroz em dois estádios do período reprodutivo. UFRGS, 2001.

Duração do frio	Redução na exerceção (%)			
	3 dias	5 dias	7 dias	10 dias
3 dias	1,00	0,94**	0,87**	0,80**
5 dias		1,00	0,88**	0,88**
7 dias			1,00	0,88**
10 dias				1,00
Duração do frio	Redução na fertilidade de espiguetas (%)			
	3 dias	5 dias	7 dias	10 dias
3 dias	1,00	0,74**	0,74**	0,59**
5 dias		1,00	0,86**	0,70**
7 dias			1,00	0,92**
10 dias				1,00
Duração do frio	Redução no peso de 100 grãos (%)			
	3 dias	5 dias	7 dias	10 dias
3 dias	1,00	0,70**	0,45**	0,46**
5 dias		1,00	0,75**	0,64**
7 dias			1,00	0,79**
10 dias				1,00

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

4.4. CONCLUSÕES

A metodologia mais indicada para a avaliação da tolerância ao frio no período reprodutivo do arroz é através da menor redução no peso de 100 grãos utilizando a temperatura de 17°C por sete dias no estágio de antese.

Dentre os genótipos estudados, o Quilla 64117 é o mais tolerante ao frio no estágio de antese e o Diamante o mais tolerante na microsporogênese.

CAPÍTULO V

HERANÇA DO CARÁTER GRAU DE EXERÇÃO DA PANÍCULA EM ARROZ SOB TEMPERATURA BAIXA

5.1. INTRODUÇÃO

O arroz é mais sensível à ocorrência de temperaturas baixas no período reprodutivo (Yoshida, 1981b), as quais têm uma relação direta com as perdas no rendimento de grãos. De acordo com Takeoka et al. (1992) apud Jacobs & Pearson (1994), o frio afeta os processos fisiológicos do meristema apical que determinam diretamente a diferenciação da panícula e assim o rendimento potencial e a fertilidade de espiguetas, resultando em menos grãos. Na Austrália, as perdas no rendimento de grãos em função da ocorrência de temperaturas baixas no período reprodutivo são da ordem de 20 a 40% e ocorrem a cada três a quatro anos (Jacobs & Pearson, 1994). No Rio Grande do Sul (RS), a situação é similar (Terres, 1987 apud Terres, 1991) pois o frio (temperaturas abaixo de 20°C) tem ocorrido uma vez a cada três anos com prejuízos no rendimento de grãos superiores a 25% (Terres & Galli, 1985).

Além da alta porcentagem de esterilidade de espiguetas, outros sintomas de dano também são observados em genótipos sensíveis ao frio no período reprodutivo como exerção incompleta da panícula, degeneração das

espiguetas na extremidade da panícula, emissão lenta das panículas e manchas de cor marrom nas glumelas (Terres, 1991). A exerceção incompleta da panícula é um sintoma comumente relatado em vários países (Chung, 1979; Hamdani, 1979; Sthapit, 1990; Alvarado & Grau, 1991).

O grau de exerceção da panícula depende do comprimento relativo entre o último entrenó e a bainha da folha bandeira (Kinoshita, 1984) e, portanto, da alongação deste entrenó no momento da antese. Quando a temperatura baixa neste estágio, a alongação é menor ou não ocorre, causando a exerceção incompleta da panícula (Vergara, 1991 apud Pandey & Gupta, 1993). Essa evita a exposição das espiguetas para que a polinização ocorra apropriadamente, propicia o aparecimento de doenças e reduz o rendimento de grãos (Griest, 1986 apud Pandey & Gupta, 1993).

A tolerância ao frio no período reprodutivo tem sido apontada como associada ao grau de exerceção da panícula, o qual poderia, então, ser usado como critério de seleção (Nanda & Seshu, 1979). De fato, esta característica foi sugerida como um indicativo da adaptabilidade dos genótipos à temperatura baixa (Kaneda, 1972 apud Takahashi, 1984). Segundo Lee (1979), cultivares de arroz diferiram significativamente quanto à exerceção quando submetidas à temperatura de 17°C por dez dias na fase de emissão da panícula. Decréscimos na porcentagem de grãos cheios observados em plantas de arroz submetidas a 17°C do perfilhamento à maturação foram atribuídos à redução na exerceção da panícula (Chung, 1979).

A genética do grau de exerceção da panícula sob temperatura baixa foi estudada em condições de campo e apontada como sendo de base genética

simples, com um gene dominante responsável pela execução completa (Mahishi et al., 1991; Pandey & Gupta, 1993).

No RS, apesar dos relatos de ocorrência da execução incompleta da panícula em consequência do frio no período reprodutivo do arroz (Souza, 1990), não existem dados a respeito da genética desta característica em condições de campo. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivos verificar a adequação da avaliação do grau de execução da panícula nas condições de ambiente do sul do Brasil e determinar a herança e herdabilidade desta característica.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os genótipos de arroz utilizados neste estudo foram Quilla 64117, Diamante, IRGA 417 e BRS 7 - Taim. Os dois primeiros são provenientes do Chile, pertencentes ao grupo Japônica e tolerantes ao frio, apresentando execução completa da panícula em temperatura baixa. As duas últimas são cultivares brasileiras de arroz, pertencentes ao grupo Indica e sensíveis ao frio, com execução incompleta da panícula em temperatura baixa.

5.2.1. Experimento conduzido a campo

Em 1997/98 foram realizados cruzamentos entre os quatro genótipos na forma de um dialélico parcial e a geração F_1 foi cultivada na safra seguinte para obtenção da geração F_2 . Em 1999/00 foi conduzido um experimento com os quatro genitores e a geração F_2 na Estação Experimental do Instituto Riograndense do Arroz (IRGA), em Santa Vitória do Palmar, RS. A escolha desta localidade baseou-se no fato de ser a região com maior incidência de temperaturas baixas durante a estação de crescimento do arroz.

O experimento foi instalado tardiamente, no dia 2 de dezembro de 1999, para forçar a coincidência do período de floração do arroz com o final do mês de fevereiro e meados do mês de março, quando a temperatura mínima é menor (Oliveira, 1997). A semeadura foi realizada à máquina, em sistema convencional, em parcelas com seis linhas de 5 metros de comprimento espaçadas em 0,3 metros, totalizando uma área de 9 m², tendo sido utilizada uma densidade de 10 g de sementes por parcela. A emergência das plantas ocorreu no dia 13 de dezembro e a adubação nitrogenada foi realizada aos 35, 50 e 60 dias da emergência, na dose de 50 kg/ha de uréia.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com três repetições e dez tratamentos (quatro genótipos e seis populações segregantes). Foram tomadas, ao acaso, 20 plantas por parcela (repetição) para os genótipos genitores e 70 para a geração F₂, num total de 60 plantas por genótipo genitor e 210 para cada população F₂. Em cada planta, um dos perfilhos foi marcado individualmente com um atilho amarrado na base e identificado com um número. A partir da fase de emborrachamento nos genótipos mais precoces, foram feitas observações semanais quanto ao estágio do período reprodutivo de cada perfilho, ou seja, se estava em emborrachamento, seu grau de exposição da panícula (%) e a porcentagem de antese na mesma, as quais serviram para determinar o momento mais provável de floração para cada perfilho.

Por ocasião da maturação, as panículas identificadas em cada tratamento foram colhidas individualmente, tomando-se o cuidado de coletá-las juntamente com a folha bandeira para posterior avaliação da exerceção.

As panículas dos genótipos genitores foram avaliadas quanto à exerceção, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos. As

panículas da geração F₂ foram avaliadas somente quanto à exerceção da panícula. A avaliação da porcentagem de fertilidade de espiguetas e do peso de 100 grãos não foi realizada devido à alta porcentagem de esterilidade constatada visualmente na geração F₂ dos cruzamentos entre os genótipos Indica e Japônica, a qual, por ser de natureza genética, impede a verificação dos efeitos do frio sobre a mesma.

A exerceção da panícula foi registrada como a distância entre a sua base e a lígula da folha bandeira, em cm. Assim, valores positivos indicaram exerceção completa e valores negativos exerceção incompleta da panícula, uma vez que a base estava dentro da bainha da folha bandeira.

A fertilidade de espiguetas nos genótipos genitores foi obtida através da contagem do número de grãos cheios e vazios e expressa como porcentagem de grãos cheios sobre o número total de grãos da panícula.

O peso de 100 grãos foi obtido a partir da pesagem de todos os grãos da panícula, cheios e vazios, e calculando-se o valor correspondente para um número de 100 grãos.

A análise estatística dos dados de exerceção da panícula, fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos para os genótipos genitores foi feita considerando-se um modelo de blocos ao acaso com subamostragem nas parcelas, sendo três repetições e 20 subamostras por repetição.

Após a análise de resíduos e regressão para verificar a normalidade e necessidade de transformação, respectivamente, os dados de exerceção da panícula e de porcentagem de fertilidade de espiguetas foram transformados segundo a $\sqrt{x + 10}$, não tendo sido necessário nenhum tipo de transformação para o peso de 100 grãos. Os dados foram, então, submetidos à análise de

variância, comparação de médias pelo teste de Duncan e cálculo dos coeficientes de correlação de Pearson, realizados no Programa SAS (Statistical Analysis System).

A herança da expressão da panícula foi estudada através da análise das distribuições de frequência do caráter nas seis populações avaliadas e a hipótese de um gene foi testada pelo teste de Qui-quadrado.

O valor do teste de Qui-quadrado foi obtido 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.

As distribuições de frequência para as gerações P_1 , P_2 e F_2 em cada um dos cruzamentos foram obtidas pelo agrupamento dos dados em classes, sendo o intervalo de classe tomado como $\frac{1}{4}$ do desvio padrão médio (Steel & Torrie, 1980).

As variâncias foram estimadas de acordo com Allard (1960):

$$VF = VF_2$$

$$VE = (VP_1 + VP_2) / 2$$

$$VG = VF - VE$$

Onde: VP_1 , VP_2 e VF_2 representam as variâncias das gerações P_1 , P_2 e F_2 , respectivamente.

As estimativas de herdabilidade no sentido amplo foram calculadas conforme Allard (1960):

$$h^2_a = (VF - VE) / VF$$

5.2.2. Experimento conduzido sob temperatura controlada

Este experimento foi conduzido na casa-de-vegetação e sala climatizada do IRGA, em Cachoeirinha, RS. Os genótipos genitores foram semeados em baldes de 19,5 cm de altura por 16 cm de diâmetro contendo solo coletado a campo e adubado com 2 g da fórmula 2-20-20, tendo sido utilizados 30 baldes por genótipo. Vinte dias após, foi feito um desbaste de forma a deixar três plantas por balde.

As plantas permaneceram na casa-de-vegetação até o estágio de antese, considerado a partir do início da exposição da panícula, quando um número variável de perfilhos por genótipo foi individualmente identificado e as plantas levadas para uma sala climatizada com temperatura constante de 17°C e fotoperíodo de 9h/15h por três dias. Como o objetivo da avaliação sob condição controlada é permitir a comparação com a condição de campo é que esta duração de frio foi escolhida, uma vez que não é usual períodos muito longos de frio a campo. Após este período, as plantas foram levadas de volta para a casa-de-vegetação, onde permaneceram até à maturação. O experimento foi conduzido no delineamento completamente casualizado com um número variável de repetições, que corresponderam ao número de perfilhos submetidos ao tratamento de frio na antese. As panículas foram colhidas individualmente e avaliadas quanto à exerceção, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos, da mesma forma descrita para o experimento realizado a campo.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Foi feita também uma análise de correlação entre os dados de exerceção, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos obtidos em ambos os experimentos para

investigar a relação entre o comportamento das características estudadas a campo e sob temperatura controlada nos quatro genitores e assim, verificar a adequação da avaliação a campo. Para isso foram obtidos os coeficientes de correlação simples entre as variáveis no Programa SAS (Statistical Analysis System), que calcula o coeficiente de correlação de Pearson.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O florescimento das plantas dos genitores e das progênies F_2 ocorreu a partir da segunda metade do mês de fevereiro e se estendeu até quase o fim do mês de março. Os genótipos tolerantes Quilla 64117 e Diamante floresceram aproximadamente 20 dias antes dos sensíveis BRS 7 - Taim e IRGA 417, por serem mais precoces. Como consequência, houve grande segregação para ciclo na geração F_2 dos cruzamentos sensível x tolerante, o que torna imprecisa a avaliação de diferentes plantas de um mesmo cruzamento, pois a variação de temperatura no momento do florescimento pode ser considerável de uma planta para outra. Para evitar que tais problemas mascarassem os resultados, apenas as panículas que floresceram no período de 19/02 a 18/03 foram consideradas na avaliação dos genitores e no estudo da herança da exerceção da panícula. Mesmo com diferentes épocas de florescimento dentro deste período estabelecido, a temperatura média e média das mínimas ocorrentes no florescimento de cada genitor e população F_2 foi similar, propiciando que todos os genitores e populações F_2 fossem avaliados em igualdade de condições e diminuindo a variação intrínseca às condições de campo. A temperatura média para o período considerado foi de $22,0^{\circ}\text{C}(\pm 1,5)$ e a temperatura mínima média foi de $17^{\circ}\text{C}(\pm 2,0)$, a qual é ideal porque está situada abaixo dos 20°C , considerada como limite

crítico para o dano de frio. Observa-se, portanto, que apesar da temperatura mínima estar dentro da faixa desejada para o estresse de frio, houve variação considerando-se que a temperatura média foi superior a 20°C, o que pode ser uma fonte de erro para o experimento.

Para verificar se estas condições de campo foram suficientes como estresse de frio e podem ser usadas para o estudo da herança da exerceção da panícula, os dados de exerceção da panícula, fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos obtidos nos genitores em Santa Vitória do Palmar foram relacionados aos obtidos nos mesmos genótipos sob temperatura controlada (Tabela 5.1). As três características avaliadas em Santa Vitória do Palmar foram positiva e significativamente correlacionadas com as avaliadas em condição de sala climatizada, com exceção da porcentagem de fertilidade de espiguetas (Tabela 5.1). Assim, pode-se concluir que o comportamento da exerceção da panícula em Santa Vitória do Palmar foi similar ao obtido quando se submeteu os genitores a 17°C por três dias na antese, demonstrando que os dados de campo podem ser utilizados no estudo da herança deste caráter.

TABELA 5.1. Correlações entre a exerceção da panícula, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos avaliadas nos genitores em condições de campo em Santa Vitória do Palmar, RS e sob temperatura controlada (17°C por três dias na antese). UFRGS, 2001.

Características avaliadas a campo	Características avaliadas sob temperatura controlada		
	Exerceção da panícula	Fertilidade de espiguetas	Peso de 100 grãos
Exerceção da panícula	0,90**	0,76**	0,83**
Fertilidade de espiguetas	0,73**	0,49	0,64**
Peso de 100 grãos	0,94**	0,86**	0,93**

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Nas condições de campo descritas foram observadas diferenças significativas entre os genótipos genitores com relação às médias de exercício da panícula, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos, o que indica que há variabilidade entre os mesmos (Tabela 5.2).

TABELA 5.2. Médias de exercício da panícula e desvio padrão da característica (entre parênteses), médias de porcentagem de fertilidade de espiguetas e do peso de 100 grãos para os genótipos genitores utilizados no estudo da herança do grau de exercício da panícula em arroz em condições de campo, em Santa Vitória do Palmar, RS. UFRGS, 2001.

Genótipo	Exercício da panícula (cm)	Fertilidade de espiguetas (%)	Peso de 100 grãos (g)
Quilla 64117	1,9 ($\pm 2,4$) a	91,4 a	3,3 a
Diamante	2,4 ($\pm 2,6$) a	87,9 b	3,1 b
BRS 7 - Taim	-1,8 ($\pm 2,0$) b	81,7 c	1,9 c
IRGA 417	-3,7 ($\pm 1,2$) c	76,8 d	1,6 d
CV(%)	11,3	3,9	10,3
R ²	0,69	0,59	0,92

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Os genótipos considerados tolerantes, Quilla 64117 e Diamante, tiveram o melhor desempenho com relação às três características analisadas, pois quando comparados aos sensíveis, apresentaram exercício completa da panícula (valores positivos), maior porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos superior (Tabela 5.2).

Quando se comparou os dados das três características avaliadas nas condições de campo e de sala climatizada, observou-se que, apesar de nesta última os valores do grau de exercício, fertilidade e peso de 100 grãos terem sido menores, as diferenças entre genótipos tolerantes e sensíveis foram mantidas. (Tabelas 5.2 e 5.3). Além disso, os genótipos sensíveis apresentaram uma diminuição considerável nas três características sob condição de temperatura

controlada, enquanto os genótipos tolerantes não (Tabela 5.3), comprovando a maior sensibilidade ao frio dos genótipos BRS 7 - Taim e IRGA 417 em termos de exerceção da panícula, fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos.

O elevado valor do coeficiente de variação relativo ao grau de exerceção da panícula avaliado nos genótipos na condição da sala climatizada (Tabela 5.3) deve ser decorrente da forma de medição da característica, que variou desde valores positivos até valores negativos.

TABELA 5.3. Médias de exerceção da panícula, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos para os genótipos genitores utilizados no estudo da herança do grau de exerceção da panícula em arroz em sala climatizada (17°C por três dias na antese) UFRGS, 2001.

Genótipo	Exerceção da panícula (cm)	Fertilidade de espiguetas (%)	Peso de 100 grãos (g)
Quilla 64117	1,3 a	90,7 a	3,7 a
Diamante	-0,9 b	79,9 b	2,9 b
BRS 7 - Taim	-7,5 c	24,2 d	0,7 d
IRGA 417	-8,0 c	53,5 c	1,3 c
CV(%)	-26,8	9,6	13,8
R ²	0,95	0,96	0,95

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Por estes resultados observa-se que, nas condições de Santa Vitória do Palmar, foi possível constatar diferenças significativas entre os genótipos com relação às características relacionadas à tolerância ao frio no período reprodutivo.

Apesar da porcentagem de fertilidade de espiguetas ser a forma mais usual de avaliação da tolerância ao frio de um genótipo no período reprodutivo, ela não pôde ser avaliada na geração F₂ dos cruzamentos em virtude da natureza dos mesmos, uma vez que os cruzamentos do tipo sensível x tolerante

envolveram genótipos Indica e Japônica. Alta esterilidade tem sido observada freqüentemente em cruzamentos deste tipo, a qual tem sido apontada como sendo decorrente de causas genéticas (Oka & Morishima, 1997). Na geração F₂ dos cruzamentos estudados, observou-se claramente a existência de segregação para fertilidade de espiguetas, a qual, por ser de origem genética, impediu a avaliação desta característica como um parâmetro da tolerância ao frio. A avaliação da fertilidade e do peso de 100 grãos nos genótipos genitores, por sua vez, foi feita com o objetivo de verificar a relação destas características com a exerceção da panícula para assim comprovar a utilidade da mesma como um indicativo de tolerância ao frio no período reprodutivo. Os coeficientes de correlação fenotípica obtidos indicaram uma associação altamente significativa entre todos os caracteres, de forma que quanto maior foi a exerceção da panícula, maior foi a porcentagem de fertilidade de espiguetas e maior o peso de 100 grãos (Tabela 5.4). Assim, nas condições ambientais do presente estudo, é possível utilizar a exerceção da panícula como um critério de avaliação da tolerância ao frio.

TABELA 5.4. Coeficientes de correlação fenotípica entre os caracteres de exerceção de panícula, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos avaliados nos genótipos genitores em condições de campo em Santa Vitória do Palmar, RS. UFRGS, 2001.

	Exerceção da panícula	% Fertilidade	Peso 100 grãos
Exerceção da panícula	1,00	0,43**	0,68**
% Fertilidade		1,00	0,69**
Peso 100 grãos			1,00

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

As distribuições de freqüência dos genitores e geração F₂ para exerceção da panícula nos seis cruzamentos estudados encontram-se na Figura

5.1. Observou-se uma sobreposição entre os dois genótipos tolerantes, o que seria esperado, uma vez que eles não diferiram entre si quanto à execução da panícula (Tabela 5.2). No caso dos genitores sensíveis, apesar de também haver uma certa sobreposição, observou-se que o IRGA 417 apresentou menores valores de execução que o BRS 7 - Taim, o que também ficou evidenciado pelo teste de comparação de médias (Tabela 5.2). A variação observada em cada genótipo genitor para a execução da panícula é, provavelmente, decorrente dos efeitos do ambiente sobre o caráter no momento do florescimento de cada planta.

A distinção entre genótipos sensíveis e tolerantes pôde ser observada nos quatro cruzamentos sensível x tolerante, em que os primeiros apresentaram execução predominantemente negativa e os últimos maioria de valores positivos para o caráter (Figura 5.1). Os dados de execução da panícula para a geração F_2 destes cruzamentos revelaram uma distribuição contínua e a média da F_2 tendeu àquela do genitor sensível, sendo negativa em todos os cruzamentos (Figura 5.1).

Estes resultados discordam com os relatados na literatura, em que a execução da panícula foi de herança simples, sendo a execução completa condicionada por um gene dominante (Mahishi et al., 1991; Pandey & Gupta, 1993). Em tais estudos, porém, a execução da panícula foi tratada como uma variável discreta, sendo os dados classificados nas classes execução completa vs. incompleta e submetidos ao teste do Qui-quadrado. No presente trabalho, o caráter foi avaliado de forma quantitativa, sendo o grau de execução da panícula expresso, em cm, acima ou abaixo da lígula da folha bandeira. Este procedimento, aliado à influência de fatores ambientais, pode explicar a distribuição contínua dos dados (Mather & Jinks, 1982).

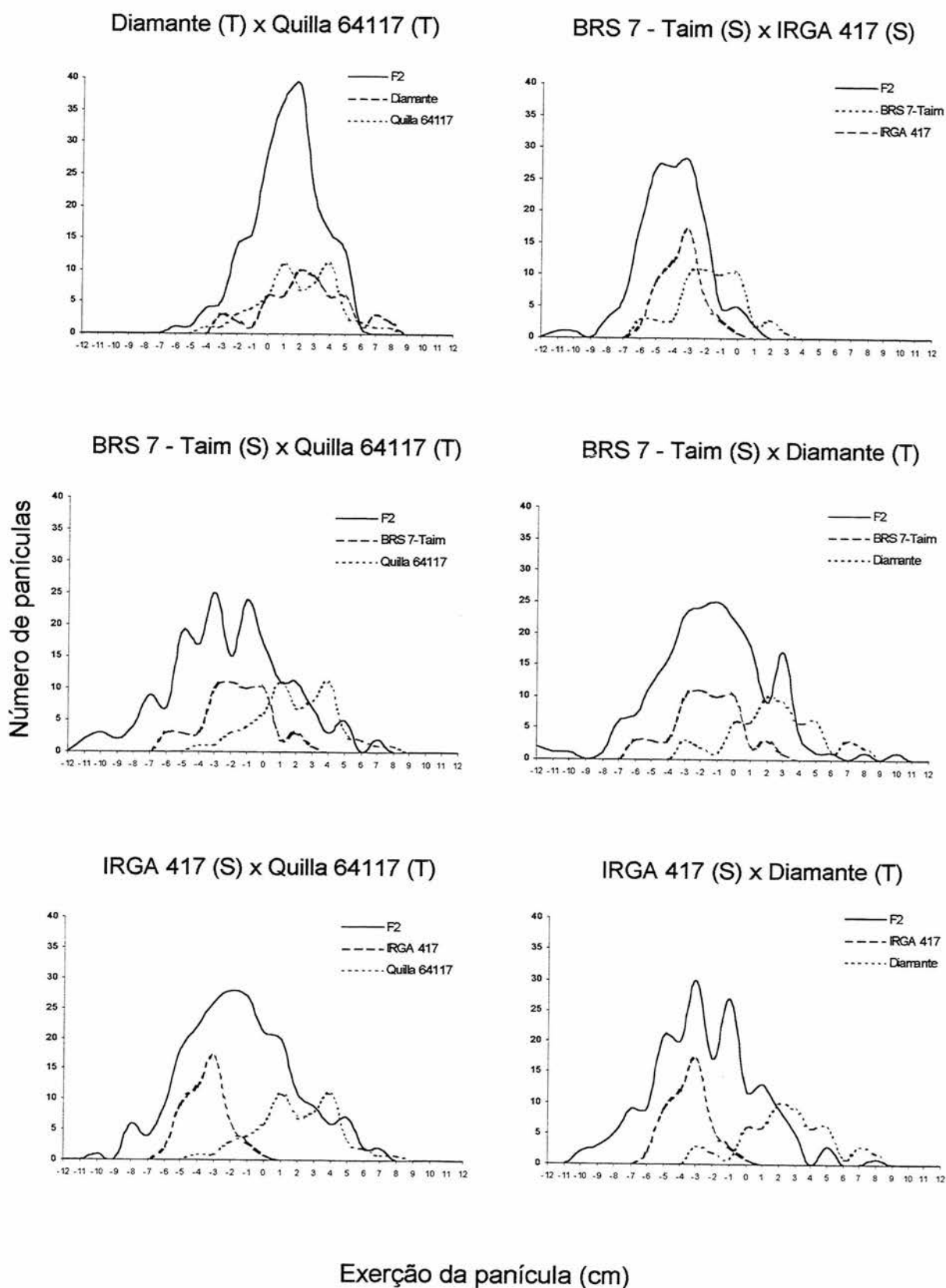


FIGURA 5.1. Distribuições de freqüência para o grau de exercção da panícula em seis cruzamentos de arroz entre dois genótipos tolerantes (T) e dois sensíveis (S) ao frio avaliados a campo em Santa Vitória do Palmar, RS. UFRGS, 2001.

Observando-se as diferenças entre as médias de expressão dos genitores e considerando-se, a partir daí, valores superiores a zero como expressão completa e valores iguais ou inferiores a zero como expressão incompleta, classificou-se os dados da geração F₂ nestas duas classes, submetendo-os ao teste do Qui-quadrado para um gene de diferença (Tabela 5.5).

TABELA 5.5. Número de panículas com expressão completa (superior a zero) e incompleta (igual ou inferior a zero) e ajuste do teste de Qui-quadrado em seis cruzamentos de arroz avaliados sob temperatura baixa em Santa Vitória do Palmar, RS. UFRGS, 2001.

Cruzamento	Exercção incompleta	Exercção completa	Total	χ^2 (3:1)
BRS 7 - Taim x Quilla 64117	139	44	183	1,8
BRS 7 - Taim x Diamante	135	57	192	2,3
IRGA 417 x Quilla 64117	157	62	219	1,3
IRGA 417 x Diamante	152	34	186	4,5*
BRS 7 - Taim x IRGA 417	137	4	141	36,9**
Diamante x Quilla 64117	64	134	198	5,7*

$$\chi^2_{.05(1)} = 3,84 \text{ e } \chi^2_{.01(1)} = 6,64$$

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Este critério de separação levou em conta a média e o desvio padrão dos genótipos genitores (Tabela 5.2), sendo o valor zero o ponto médio entre os tolerantes e sensíveis, com exceção dos cruzamentos envolvendo o genótipo IRGA 417, cuja média de expressão foi a menor.

Os resultados obtidos indicaram adequação do modelo para os cruzamentos BRS 7 - Taim x Quilla 64117, BRS 7 - Taim x Diamante e IRGA 417 x Quilla 64117, sendo a expressão completa da panícula condicionada por um gene recessivo (Tabela 5.5). No cruzamento IRGA 417 x Diamante, o modelo de um gene não explicou a segregação observada, no entanto esta ficou próxima à esperada para um gene de diferença, de forma que ao se considerar os valores

de exerceção iguais a zero observados na geração F_2 como exerceção completa, verificou-se a adequabilidade do modelo ($\chi^2 = 2,1$). O mesmo ocorreu para o outro cruzamento envolvendo o sensível IRGA 417, que apesar de já estar adequado ao modelo de um gene (Tabela 5.5), continuou assim quando se considerou valores iguais a zero como exerceção completa ($\chi^2 = 3,1$). A questão de considerar valores zero como exerceção completa ou incompleta foi arbitrária, uma vez que o zero foi o ponto médio entre os tolerantes e o sensível BRS 7 - Taim. Pode-se, portanto, concluir que um gene recessivo foi responsável pela exerceção completa nos quatro cruzamentos entre os genótipos tolerantes e sensíveis estudados (Tabela 5.5).

O cruzamento entre os genótipos sensíveis, como seria esperado, apresentou 97% das panículas com exerceção incompleta, indicando ausência de segregação. O cruzamento entre os dois genótipos tolerantes também não se adequou ao modelo de um gene de diferença, porém na F_2 foram observadas 32% de plantas com exerceção incompleta da panícula (Tabela 5.5 e Figura 5.1). Esta segregação transgressiva pode advir da atuação de genes complementares nos genitores, bem como de efeitos ambientais.

Apesar do fato de que no presente trabalho foram consideradas apenas as panículas que floresceram na mesma faixa de temperatura, as flutuações que ocorreram nesta faixa e a interação com outros fatores ambientais podem ser responsáveis por parte da variação observada nos genitores e geração F_2 . Em condições de temperatura controlada, tais efeitos são minimizados, uma vez que se utiliza uma temperatura constante e a mesma é aplicada num estágio preciso do desenvolvimento da planta. A maior limitação neste caso é o espaço disponível, que impede a avaliação de vários cruzamentos

ou mesmo de várias plantas de um mesmo cruzamento simultaneamente. Os resultados de Mahishi et al.(1991) e Pandey & Gupta (1993), também foram obtidos em condições de campo, porém em ambos os trabalhos as temperaturas médias máximas e mínimas foram 22 e 15°C, respectivamente, ou seja, as temperaturas predominantes foram substancialmente inferiores às que ocorreram em Santa Vitória do Palmar. Conforme Jennings et al. (1979), a avaliação consistente em condições de campo só é obtida em locais frios. Além disso, nos trabalhos de Mahishi et al.(1991) e Pandey & Gupta (1993), os cruzamentos analisados eram do tipo Indica x Indica, o que elimina a possibilidade de distorções na segregação naqueles cruzamentos, bem como de efeitos intrínsecos ao grupo. Já no presente trabalho, os cruzamentos sensível x tolerante foram do tipo Indica x Japônica, os quais, segundo Virk et al. (1998) podem apresentar distorções na segregação devido a diferenças na constituição genética entre os dois grupos (Seetharaman, 1964). Este pode não ter sido o caso no presente trabalho, em que a segregação observada nos cruzamentos entre genótipos sensíveis e tolerantes indicou que um gene recessivo foi responsável pela expressão completa nos genótipos Quilla 64117 e Diamante. Resultado semelhante foi relatado por Acharya (1987) que, num estudo dialélico, verificou que os alelos que aumentaram a expressão da panícula foram, na sua maioria, recessivos. Considerando-se a importância do substrato genético e do ambiente na expressão dos genes, pode-se inferir que as diferenças entre os resultados deste trabalho e os obtidos por Mahishi et al. (1991) e Pandey & Gupta (1993) são provavelmente devidos aos diferentes materiais genéticos e ambientes utilizados.

Sabe-se, que, de maneira geral, o grupo Japônica se caracteriza pela execução rápida e completa da panícula e o grupo Indica pela execução incompleta, porém a temperatura baixa agrava ainda mais o problema de execução parcial neste grupo (Yoshida, 1981a). Diferenças intrínsecas ao grupo aliadas à flutuação de temperatura não parecem ser suficientes para invalidar os resultados, uma vez que estes foram significativamente correlacionados com os obtidos sob temperatura controlada (Tabela 5.1), em que houve comprovado efeito da temperatura baixa sobre a execução da panícula, diminuindo-a nos genótipos Indica.

Pelos resultados obtidos observou-se que, nas condições de Santa Vitória do Palmar, foi possível detectar diferenças genéticas entre os genótipos no que se refere à execução da panícula. A relação destas diferenças genéticas com a maior ou menor tolerância ao frio não pode, porém, ser afirmada, pois a porcentagem de fertilidade de espiguetas não foi avaliada na geração F_2 . No entanto, o efeito da execução incompleta da panícula na diminuição da fertilidade e do peso de 100 grãos já foi relatado (Chung, 1979), indicando que a seleção para maior execução tem um papel ao menos indireto no aumento da tolerância ao frio. Isto também foi observado no presente trabalho, em que a execução da panícula nos genótipos genitores foi significativamente relacionada às outras duas características (Tabela 5.4).

As estimativas de herdabilidade no sentido amplo obtidas para os cruzamentos entre genótipos sensíveis e tolerantes foram moderadas (Tabela 5.6), indicando a possibilidade de ganho genético por meio da seleção de genótipos com maior execução da panícula, em condições de campo. No entanto este resultado não condiz com a análise genética realizada, em que um gene

recessivo foi responsável pela expressão completa da panícula nos genótipos Quilla 64117 e Diamante, sendo, portanto, esperada uma herdabilidade alta para o caráter. Este resultado pode ser devido a uma baixa expressividade deste gene, a qual dificultou a identificação das plantas com esta característica na geração F₂. Além disso, esta baixa expressividade do gene pode também ter contribuído para a alta frequência de panículas com expressão incompleta na geração F₂ do cruzamento entre os dois genótipos tolerantes (Figura 5.1 e Tabela 5.5).

TABELA 5.6. Valores de variância fenotípica (VF), de ambiente (VE) e genética (VG) e herdabilidade no sentido amplo para o caráter expressão da panícula em quatro cruzamentos de arroz. UFRGS, 2001.

Cruzamento	VF	VG	VE	h ² _a
BRS 7 - Taim x Quilla 64117	12,2	7,2	5,0	0,6
BRS 7 - Taim x Diamante	11,0	5,5	5,5	0,5
IRGA 417 x Quilla 64117	10,3	6,6	3,7	0,6
IRGA 417 x Diamante	9,6	5,4	4,2	0,6

A forma de avaliação do grau de expressão da panícula aliada à baixa expressividade do gene pode ter sido responsável pelo comportamento quantitativo deste caráter, cuja base genética é simples.

Pelo fato da expressão completa ter sido condicionada por um gene recessivo nos cruzamentos estudados, seria recomendado o uso de populações maiores para a seleção do caráter, uma vez que a classe desejável estará em menor frequência. No entanto, é importante salientar que, sob o ponto de vista do melhoramento, a herança condicionada por um gene recessivo é a ideal, pois uma vez selecionado o caráter é fixado já na próxima geração.

5.4. CONCLUSÕES

Há variabilidade entre os genótipos genitores para execução da panícula, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos nas condições de Santa Vitória do Palmar.

A associação da execução da panícula com as demais características demonstram que ela pode ser utilizada como indicativo da tolerância ao frio no período reprodutivo.

A característica de execução completa da panícula nos genótipos tolerantes Quilla 64117 e Diamante é condicionada por um gene recessivo.

A herdabilidade do caráter grau de execução da panícula é moderada, podendo ser devida à baixa expressividade do gene.

CAPÍTULO VI

VARIABILIDADE FENOTÍPICA E MOLECULAR EM GENÓTIPOS DE ARROZ COM DIFERENTES REAÇÕES AO FRIO

6.1. INTRODUÇÃO

A tolerância ao frio em genótipos sulbrasileiros de arroz é importante devido à ocorrência de temperaturas baixas nos estádios iniciais e no período reprodutivo, as quais prejudicam o estabelecimento da lavoura e o rendimento de grãos, respectivamente (Souza, 1990; Terres, 1991). A seleção para tolerância ao frio é, no entanto, dificultada devido à complexa base genética do caráter (Acharya & Sharma, 1983; Khan et al., 1986), aliada à falta de controle sobre o estresse em condições de campo. Além disso, é geralmente aceito que a tolerância ao frio em arroz varia conforme o período de desenvolvimento da planta (Vergara et al., 1976; Lee 1979). De fato, estudos realizados com germoplasma de diferentes origens e pertencente aos dois grupos, assim como estudos utilizando híbridos F_1 e os respectivos genitores demonstraram que a tolerância ao frio na germinação e no período vegetativo não foi correlacionada com a tolerância no período reprodutivo (Li et al., 1981; Datta & Siddiq, 1983; Kaw & Khush, 1986; Shahi & Khush, 1986; Kaw, 1991). Por isso, conforme Heu & Bae (1972), a seleção em apenas um período de desenvolvimento não é

suficiente em locais onde o estresse de frio pode ocorrer tanto no início como no fim do ciclo, o que dificulta ainda mais o melhoramento para tolerância ao frio em arroz, já que a seleção deve ser praticada em todos os períodos onde se pretende incorporar tolerância.

Variações ao nível de seqüências de DNA têm sido muito utilizadas como marcadores para análise genômica em plantas. Vários são os tipos de marcadores de DNA disponíveis, os quais apresentam vantagens e desvantagens inerentes a cada técnica, e que são relativas a aspectos como custo, tempo para obtenção dos resultados e grau de polimorfismo (Ferreira & Grattapaglia, 1995; Milach, 1998a). De forma geral, as principais vantagens dos marcadores de DNA é que são independentes do ambiente e do período de desenvolvimento da planta e são mais confiáveis que os marcadores morfológicos e enzimáticos (Xu et al., 1998).

O uso de marcadores de DNA em arroz tem possibilitado a caracterização molecular de cultivares (Ko et al., 1994; Mackill, 1995; Garland et al., 1999), o estudo da diversidade genética dentro da espécie (Zhu et al., 1998) e a identificação dos grupos (Xu et al., 1998). Além disso, a construção de mapas moleculares altamente saturados (McCouch et al., 1988; Chen et al., 1997) tornou possível a associação de marcadores moleculares à tolerância ao frio nos períodos vegetativo (Yan et al., 1999; Suh et al., 2000) e reprodutivo do arroz (Saito et al., 1995).

A seleção assistida por marcadores moleculares através do mapeamento de QTLs (quantitative trait loci) é extremamente interessante por permitir que um caráter de herança quantitativa seja manipulado de forma qualitativa, por meio da seleção de marcadores de herança simples. A utilidade

desta ferramenta é ainda maior quando o caráter é de difícil seleção e fortemente influenciado pelo ambiente, como é o caso da tolerância ao frio em arroz. Assim, o uso destes marcadores possibilita a seleção para tolerância ao frio independente da ocorrência do estresse, permitindo que um grande número de indivíduos seja avaliado. A facilidade, rapidez e o baixo custo aliado ao grau de polimorfismo gerado fazem dos marcadores do tipo RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) bastante úteis para o mapeamento de características de importância agrônômica e seleção assistida (Ferreira & Grattapaglia, 1995). Marcadores de RAPD já foram associados tanto à tolerância quanto à sensibilidade ao frio no período vegetativo do arroz e foram indicados para seleção assistida do caráter (Kim et al, 1999; Chen, com. pessoal).

No processo de mapeamento, a escolha do germoplasma a ser utilizado é fundamental, pois quanto maior for a distância genética entre os genótipos que darão origem à população a ser mapeada, maior a chance de serem detectados polimorfismos a nível de DNA (Milach, 1998b). Assim, a divergência dos possíveis genótipos genitores quanto a vários marcadores e ao caráter de interesse deve ser levada em consideração na escolha da população a ser mapeada, pois dela dependerá o sucesso no mapeamento.

Neste sentido, este trabalho teve por objetivos caracterizar a reação ao frio de seis genótipos de arroz em três períodos de desenvolvimento, verificar a correlação entre estes períodos quanto à tolerância ao frio e identificar a população mais adequada para o mapeamento deste caráter em arroz por meio do polimorfismo existente entre os seis genótipos quanto a marcadores de RAPD e características fenotípicas de tolerância ao frio.

6.2. MATERIAL E MÉTODOS

Seis genótipos de arroz, sendo três tolerantes e pertencentes ao grupo Japônica (Quilla 66304, Quilla 64117 e Diamante) e três sensíveis e pertencentes ao grupo Indica (IR 8, IRGA 417, BRS 7 - Taim), foram caracterizados fenotípica e molecularmente, conforme descrito a seguir.

6.2.1. Caracterização fenotípica

A caracterização dos genótipos quanto à tolerância ao frio foi feita sob condições de temperatura controlada em três períodos de desenvolvimento por meio de experimentos conduzidos independentemente e relatados na seqüência.

Os experimentos conduzidos no período de germinação foram realizados no Laboratório de Sementes do Departamento de Plantas de Lavoura, UFRGS, e os experimentos conduzidos nos períodos vegetativo e reprodutivo foram realizados na casa-de-vegetação e sala climatizada do IRGA, em Cachoeirinha, RS.

6.2.1.1. Período de germinação

6.2.1.1.1. Experimento I

Neste experimento, os seis genótipos de arroz foram submetidos à germinação sob duas condições: 13°C por 28 dias (frio) e 28°C por sete dias (controle). As sementes foram desinfestadas em álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio 5% por 20 minutos, sendo após lavadas seis vezes com água destilada estéril. Foram, então, colocadas em placas de Petri contendo papel germinador umedecido com água destilada e 1 ml de Benomil 2,5 ppm para evitar contaminação. O experimento foi conduzido no delineamento de blocos

casualizados com três repetições, sendo os blocos constituídos por diferentes prateleiras na câmara de germinação. Foram colocadas 20 sementes por placa de Petri, constituindo a média desta placa uma repetição, num total de 60 sementes por genótipo.

O comprimento do coleóptilo das sementes foi medido, em mm, 28 dias após o início do experimento para a condição de frio e sete dias após para a condição controle. A avaliação da tolerância ao frio foi feita por meio da porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Redcol), obtida comparando-se os dados de comprimento do coleóptilo dos genótipos na condição de frio com os dados de comprimento na condição controle e calculando-se a porcentagem de redução neste comprimento pela germinação sob temperatura baixa.

6.2.1.1.2. Experimento II

Neste experimento, os seis genótipos de arroz foram submetidos à germinação sob temperatura variável tendo sido utilizado: 28°C por 72 horas, 13°C por 96 horas e novamente 28°C por mais 72 horas. A desinfestação das sementes e a condução do experimento foram feitos conforme o experimento I.

O comprimento do coleóptilo foi medido em duas ocasiões: após o período de 96 horas a 13°C e após o segundo período de 72 horas a 28°C. A avaliação da tolerância ao frio foi feita através do recrescimento do coleóptilo (Recresc), em mm, que consistiu na diferença entre a segunda e a primeira medições, ou seja, na capacidade de crescimento do coleóptilo após o período de frio.

6.2.1.2. Período vegetativo

Os seis genótipos de arroz foram semeados em baldes de 19,5 cm de altura por 16 cm de diâmetro contendo solo coletado no campo e adubados com 2 g da fórmula 2-20-20 e, 40 dias após a emergência das plantas, foi feita adubação nitrogenada com 2 g de uréia. Foram utilizados dois baldes por genótipo e 20 dias após foi feito um desbaste deixando-se três plantas por balde, as quais foram mantidas em casa-de-vegetação.

Quando estavam com seis folhas, metade das plantas de cada genótipo foi submetida à temperatura de 15°C por 12 dias em sala climatizada com fotoperíodo de 12 horas e a outra metade permaneceu na casa-de-vegetação como controle. A radiação utilizada na sala climatizada foi constituída por lâmpadas fluorescentes e incandescentes e estava em torno de 112.300 lux, o que corresponde a $1517,7 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$. Diferenças de intensidade e qualidade de luz entre a sala climatizada e a casa-de-vegetação constituíram uma variável não controlada.

Após os 12 dias de frio as plantas foram avaliadas quanto à estatura e grau de amarelecimento das folhas (data 1). A partir daí, a temperatura da sala foi programada para 28°C por um período de sete dias e, após este período, foi feita nova avaliação da estatura e do amarelecimento das folhas (data 2). Nestas mesmas datas, foram também avaliadas a estatura e o amarelecimento das folhas das plantas mantidas na casa-de-vegetação como controle. Para cada genótipo e data foram, então, avaliadas seis plantas (três em casa-de-vegetação e três na sala climatizada), sendo cada planta uma repetição, de forma que para cada genótipo se teve três repetições na condição de frio e três na condição controle. O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado.

A estatura foi avaliada medindo-se a distância da base da planta até a ponta da folha mais longa, em cm. O grau de amarelecimento foi avaliado por meio de leituras com aparelho clorofilômetro, as quais foram realizadas na base, meio e ápice da 4^a, 5^a e 6^a folhas de cada planta. Cada repetição foi constituída pela média das três folhas de cada planta, as quais foram obtidas a partir da média das três leituras de cada folha.

A tolerância ao frio no período vegetativo foi obtida pela comparação das avaliações realizadas na situação de frio com o controle e expressa como a porcentagem de redução na clorofila e na estatura das plantas nas datas 1 e 2 (Redclod1, Redclod2, Redestd1 e Redestd2).

6.2.1.3. Período reprodutivo

O experimento foi instalado da mesma forma que para o período vegetativo, porém foram utilizados dez baldes para cada genótipo, num total de 30 plantas por genótipo.

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado, com um número variável de repetições, as quais corresponderam ao número de perfilhos avaliados. A temperatura utilizada para a avaliação da reação dos genótipos ao frio foi a de 17°C, aplicada nos estádios de microsporogênese e antese por sete dias. Em cada genótipo, algumas plantas foram mantidas permanentemente na casa-de-vegetação como controle.

O estágio de microsporogênese foi visualmente determinado através da distância entre as aurículas da folha bandeira e as da folha anterior, tendo sido utilizado um intervalo de -3 a +10 cm como indicativo deste estágio

(Shibata, 1979). Tomou-se o cuidado de, para cada genótipo, selecionar perfilhos com diferentes distâncias, de modo a abranger toda a variação de -3 a 10 cm.

O estágio de antese foi considerado a partir do início da exposição da panícula e, no caso de haverem flores abertas, as mesmas foram manualmente eliminadas.

Os perfilhos selecionados foram identificados através de um atilho amarrado na base, quanto ao genótipo e estágio, e as plantas foram, então, levadas à sala climatizada com temperatura constante de 17°C e fotoperíodo de 9h/15h por sete dias. Após o período de frio, as plantas foram levadas de volta à casa-de-vegetação onde permaneceram até à maturação. Neste estágio, as panículas das plantas submetidas ao frio e as das plantas controle foram colhidas individualmente e posteriormente avaliadas quanto ao grau de exerceção, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos.

O grau de exerceção da panícula foi tomado como a distância entre a base da panícula e a lígula da folha bandeira, em cm, sendo que valores positivos indicam exerceção completa da panícula e negativos exerceção incompleta. A fertilidade de espiguetas foi obtida através da contagem do número de grãos cheios e vazios e expressa como porcentagem de grãos cheios sobre o número total de grãos da panícula. O peso de 100 grãos foi obtido a partir da pesagem de todos os grãos da panícula, cheios e vazios, e ajustando-se o valor correspondente para um número de 100 grãos.

Cada observação relativa a estas características foi expressa como porcentagem de redução em relação ao controle, que representou o valor médio de exerceção, porcentagem de fertilidade de espiguetas e peso de 100 grãos para cada genótipo nas condições da casa-de-vegetação. Desta forma, a tolerância

dos genótipos ao frio no período reprodutivo foi avaliada através das características de porcentagem de redução na exerceção da panícula, na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos na microsporogênese e antese (Redexerm, Redexera, Redfertm, Redferta, Redpgraom e Redpgraoa).

6.2.1.4. Análise estatística

Os dados relativos às características de tolerância ao frio avaliadas nos seis genótipos em três períodos de desenvolvimento foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. A associação entre os diferentes períodos de desenvolvimento e entre características dentro de um mesmo período quanto à tolerância ao frio foi verificada através do cálculo dos coeficientes de correlação de Pearson. Estas análises foram realizadas no Programa SAS (Statistical Analysis System).

Os dados fenotípicos foram também utilizados em uma análise de agrupamento para os seis genótipos de arroz, de forma a identificar os mais divergentes e, assim, a população mais adequada para o mapeamento da tolerância ao frio.

A partir dos dados médios dos seis genótipos para as 12 características foi produzida uma matriz de correlação utilizando a função Simint do Programa NT-SYS, a qual foi utilizada para a análise de agrupamento feita pelo método UPGMA (Unweighted Pairgroup Arithmetic Average Clustering Method). Com os resultados desta análise foi construído um dendrograma, mostrando a proximidade relativa entre os genótipos quanto à reação ao frio nos períodos de desenvolvimento avaliados.

6.2.2. Caracterização molecular

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Genética Molecular do Departamento de Plantas de Lavoura, UFRGS.

O DNA dos genótipos foi extraído a partir de folhas de plântulas jovens conforme o protocolo de Nelson (1993). A verificação de polimorfismos ao nível de DNA foi feita pela técnica de RAPD, que se baseia na reação de PCR (Polymerase Chain Reaction), utilizando o seguinte protocolo de reação: tampão Gibco, BRL 1X, MgCl₂ [2,5mM], dNTPmix [0,2mM], 25 ng de primer, 1U de Taq polimerase (*Thermus aquaticus* Gibco, BRL) e 20 ng de DNA genômico em 13 µl de volume final completado com água milliQ estéril.

A amplificação do DNA foi feita em termociclador MJ Research utilizando o seguinte programa: 94°C por 4', seguido de 45 ciclos de 94°C por 30" (desnaturação), 37°C por 30" (anelamento) e 72°C por 66" (extensão) e um estágio final de 72°C por 7'. Os produtos de RAPD foram separados por eletroforese em gel de agarose 2% com tampão TBE 0,5X e 0,192 µl/mL de Brometo de Etídio. Foi utilizado DNA ladder 1Kb (Gibco Research Laboratories, BRL) como marcador de tamanho e os géis foram visualizados em transiluminador UV e fotografados pelo sistema Kodak Digital Science.

Foram testados 99 primers da OPERON, porém os resultados foram baseados apenas em 74 primers que forneceram 161 bandas polimórficas e com intensidade confiável para análise (Tabela 6.1).

A partir dos dados moleculares foi realizada uma análise de agrupamento de forma a verificar quais os genótipos mais divergentes e, portanto, a população com maior grau de polimorfismo a nível de DNA a ser utilizada no mapeamento da tolerância ao frio em arroz. Para isto, os resultados

das análises de RAPD foram computados como 1 (presença de banda) e 0 (ausência de banda), constituindo uma matriz de dados relativa aos seis genótipos e 161 marcadores. A similaridade dos genótipos a partir desta matriz de dados foi feita pelo cálculo do coeficiente de Jaccard, utilizando a função Simqual do Programa NT-SYS. A partir da matriz de similaridade produzida foi realizada a análise de agrupamento pelo método UPGMA e construído o dendrograma.

TABELA 6.1. Primers (série e número) utilizados para a caracterização molecular de seis genótipos de arroz. UFRGS, 2001.

Série do primer	Número do primer
OPERON A	4, 9, 10, 12, 17 e 19
OPERON D	1, 2, 5, 8, 12, 15 e 19
OPERON E	1, 2, 4, 6, 9, 12, 14, 15, 17 e 20
OPERON L	1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 18 e 20
OPERON M	2, 10, 11, 12, 13 e 18
OPERON P	1, 3, 4, 6, 7, 8, 13, 14, 17, 18 e 19
OPERON T	1, 2, 4, 6, 9, 16, 17 e 20
OPERON U	2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 17, 19 e 20

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os seis genótipos de arroz diferiram significativamente entre si para as 12 características estudadas (Tabela 6.2), indicando a existência de variabilidade para tolerância ao frio nos três períodos de desenvolvimento. Cabe salientar que quanto maior o recrescimento do coleóptilo e menor a redução nas outras características avaliadas, maior é a tolerância ao frio do genótipo. Considerando o conjunto de características, pode-se observar que, de forma geral, os genótipos Japônica foram mais tolerantes ao frio que os genótipos Indica, o que concorda

com relatos anteriores (Li et al., 1981; Shahi & Khush, 1986). No entanto, a tolerância e sensibilidade dos genótipos dentro dos grupos Japônica e Indica, respectivamente, variou conforme a característica considerada.

TABELA 6.2. Médias das características porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Redcol), recrescimento do coleóptilo (Recresc), porcentagens de redução na clorofila nas datas 1 e 2 (Redclod1 e Redclod2), de redução na estatura nas datas 1 e 2 (Redestd1 e Redestd2), porcentagens de redução na exerceção, na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos na antese (Redexera, Redferta e Redpga) e na microsporogênese (Redexerm, Redfertm e Redpgm) em seis genótipos de arroz. UFRGS, 2001.

Genótipo	Germinação		Período vegetativo			
	Redcol	Recresc	Redclod1	Redclod2	Redestd1	Redestd2
BRS 7-Taim	38 a	9 b	36 a	38 b	14 ab	13 ab
IRGA 417	32 a	10 b	31 a	55 a	11 ab	4 b
IR 8	43 a	15 b	29 a	37 b	10 ab	8 b
Diamante	11 b	28 a	16 b	20 c	22 a	22 a
Quilla 66304	31 a	28 a	13 b	8 c	2 b	7 b
Quilla 64117	15 b	26 a	7 b	9 c	3 b	3 b

Genótipo	Período reprodutivo					
	Redexera	Redferta	Redpga	Redexerm	Redfertm	Redpgm
BRS 7-Taim	243 b	99 a	88 a	12 b	95 a	84 a
IRGA 417	125 d	99 a	88 a	14 b	67 c	58 c
IR 8	649 a	87 b	77 a	443 a	82 b	73 b
Diamante	162 c	46 c	47 b	11 b	6 d	14 e
Quilla 66304	139 cd	52 c	57 b	9 b	2 d	7 e
Quilla 64117*	1 e	11 d	26 c	50 b	14 d	30 d

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

As correlações entre as 12 características estudadas foram obtidas com o objetivo de verificar a relação entre os diferentes períodos de

desenvolvimento e entre as diferentes características avaliadas em um mesmo período quanto à tolerância ao frio (Tabela 6.3).

Na germinação, as duas características avaliadas foram negativa e significativamente correlacionadas, porém a magnitude da correlação foi intermediária, indicando que a seleção para aumento do recrescimento do coleóptilo não implica necessariamente em diminuir a porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo e vice-versa. Estes resultados comprovam o observado no Capítulo I, em que a provável relação de cada uma destas características com diferentes mecanismos de tolerância ao frio foi discutida. Neste trabalho, esta correlação intermediária tem relação com o comportamento do genótipo Quilla 66304, que apesar de ter sido superior aos sensíveis quanto ao recrescimento do coleóptilo, não se diferenciou dos mesmos na porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Tabela 6.2).

No período vegetativo, as porcentagens de redução na clorofila e na estatura não foram correlacionadas em nenhuma das datas de avaliação (Tabela 6.3). Apesar de Smillie (1976) apud Poisson et al. (1996) ter relatado que tanto a alongação como a coloração das folhas são afetadas pela temperatura baixa, conforme Kaneda & Beachell (1972) a diminuição na estatura e o amarelecimento foliar parecem ser características independentes. Neste trabalho, a descoloração foliar abrangeu o valor médio das três últimas folhas da planta, e a estatura foi dada pelo comprimento da base da planta até a ponta da folha mais longa e, portanto, apenas esta foi levada em consideração na avaliação da redução na estatura pelo frio. Além disso, a falta de correlação entre estas características é um indicativo de que diferentes processos fisiológicos devem ter sido afetados pelo frio no período vegetativo. No caso da porcentagem de redução na clorofila,

TABELA 6.3. Coeficientes de correlação entre as características porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo (Redcol), recrescimento do coleóptilo (Recresc), porcentagens de redução na clorofila nas datas 1 e 2 (Redclod1 e Redclod2), de redução na estatura nas datas 1 e 2 (Redestd1 e Redestd2), porcentagens de redução na exergão, na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos na antese (Redexera, Redferta e Redpga) e na microsporogênese (Redexerm, Redfertm e Redpgm) avaliadas em seis genótipos de arroz. UFRGS, 2001.

	Redcol	Recresc	Redclod1	Redclod2	Redestd1	Redestd2	Redexera	Redferta	Redpga	Redexerm	Redfertm	Redpgm
Redcol	1,0											
Recresc	-0,5*	1,0										
Redclod1	0,6**	-0,9**	1,0									
Redclod2	0,5*	-0,9**	0,8**	1,0								
Redestd1	-0,2	0,3	0,3	0,3	1,0							
Redestd2	-0,3	-0,1	0,1	-0,1	0,8**	1,0						
Redexera	0,6**	0,5*	0,4	0,4	0,1	0,1	1,0					
Redferta	0,7**	-0,8**	0,9**	0,9**	0,2	0,0	0,5*	1,0				
Redpga	0,7**	-0,8**	0,9**	0,8**	0,1	0,1	0,9**	0,9**	1,0			
Redexerm	0,5*	-0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	1,0		
Redfertm	0,6**	-0,9**	0,8**	0,8**	0,2	-0,1	0,6**	0,8**	0,4	0,4	1,0	
Redpgm	0,6**	-0,9**	0,8**	0,8**	0,1	0,1	0,6**	0,8**	0,4	0,4	0,9**	1,0

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

o sistema fotossintético deve ser o mais afetado e, na porcentagem de redução na estatura, a diminuição na divisão e alongação celular deve ser mais prejudicada. Independente da confirmação destas suposições, pode-se afirmar que, para os seis genótipos e condições de frio testadas, a temperatura baixa no período vegetativo teve maior influência sobre a coloração das folhas do que sobre a estatura das plantas (Tabela 6.2).

As únicas correlações significativas no período vegetativo foram aquelas entre as duas datas de avaliação, tanto para a redução na clorofila como para a redução na estatura, o que indica que a avaliação em apenas um momento já foi suficiente para diferenciar os genótipos quanto à reação ao frio. Porém, considerando-se a redução na clorofila observa-se que na data 2 é que ocorreram as maiores reduções para quase todos os genótipos, indicando que os danos ao sistema fotossintético das plantas aumentaram sob temperatura normal. Este resultado concorda com relatos da literatura de que o dano de frio se manifesta mais seriamente após a normalização da temperatura (Tajima et al., 1983 apud Tajima, 1995). Já no que se refere à redução na estatura, foi verificado o contrário, ou seja, a redução foi maior quando avaliada logo após o frio, na data 1 (Tabela 6.2), o que demonstra que durante o período de temperatura normal as plantas retomaram o crescimento. Isto está de acordo com o observado por Kondo (1954) apud Salahuddin & Vergara (1974) de que apesar da temperatura baixa inibir a alongação da lâmina e bainha da folha, as plantas podem crescer normalmente após um período de temperatura baixa.

No período reprodutivo, as porcentagens de redução na fertilidade de espiguetas e no peso de 100 grãos foram significativa e altamente correlacionadas tanto na microsporogênese como na antese (Tabela 6.3),

demonstrando, além do efeito direto da diminuição na fertilidade de espiguetas sobre o peso de 100 grãos, que é possível selecionar para tolerância ao frio em apenas um destes estádios. Já as correlações da porcentagem de redução na exerceção da panícula com as reduções na fertilidade e no peso de 100 grãos foram significativas apenas no estádio de antese (Tabela 6.3), comprovando que o efeito do frio sobre a exerceção da panícula é maior na antese que na microsporogênese. O estádio de antese, por corresponder ao momento da exerceção da panícula, é aquele onde se espera maior redução nesta característica, como foi de fato observado (Tabela 6.2). Porém, a magnitude das correlações não foi alta, indicando que a diminuição na fertilidade e no peso de 100 grãos, apesar de sofrer influência da exerceção da panícula, como observado por Chung (1979), resultou em grande parte dos efeitos diretos do frio sobre os processos fisiológicos relacionados à formação dos grãos de pólen.

No que se refere às correlações entre os diferentes períodos de desenvolvimento, observou-se que elas variaram conforme a característica considerada (Tabela 6.3). Assim, a germinação e o período vegetativo foram significativamente correlacionados para as características de germinação em relação à porcentagem de redução na clorofila em ambas as datas de avaliação, não havendo correlação entre a tolerância ao frio na germinação e no vegetativo quando esta foi avaliada por meio da redução na estatura. Bertin et al. (1996) também constataram que a correlação entre a tolerância ao frio na germinação e no período vegetativo foi dependente da característica, tendo sido observada correlação significativa quando a tolerância foi expressa como grau de amarelecimento foliar e ausência de correlação quando expressa como porcentagem de sobrevivência das plantas.

As correlações entre os períodos de germinação e reprodutivo foram significativas para todas as características quando a tolerância ao frio na germinação foi expressa como porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo. Porém, quando foi expressa por meio do recrescimento do coleóptilo, apenas as correlações com a porcentagem de redução na fertilidade e no peso de 100 grãos na antese e microsporogênese foram significativas (Tabela 6.3).

A tolerância ao frio no período vegetativo foi significativamente correlacionada com a tolerância no reprodutivo quando avaliada por meio da redução na clorofila em ambas as datas, não sendo correlacionada quando avaliada por meio da redução na estatura (Tabela 6.3). As correlações entre estes períodos de desenvolvimento foram altamente significativas quando se considerou a redução na clorofila em relação à redução na fertilidade e no peso de 100 grãos na antese e microsporogênese, porém em relação à redução na exerceção da panícula houve significância apenas entre a redução na clorofila na data 1 e a redução na exerceção na antese. Ao avaliarem linhagens F_3 de cruzamentos Indica x Japônica Kaneda & Beachell (1972) não observaram associação entre a exerceção da panícula e a coloração das plântulas submetidas ao frio, sendo que as únicas exceções foram plantas com elevado grau de amarelecimento foliar.

Ao se considerar os resultados conjuntamente, observa-se que a magnitude e significância das correlações entre as características (Tabela 6.3) variaram conforme a sua capacidade de diferenciar os genótipos tolerantes dos sensíveis, o que é de se esperar já que as correlações obtidas são fenotípicas. Assim, as maiores correlações foram observadas entre as características que diferenciaram nitidamente os três genótipos tolerantes dos três sensíveis, sendo

que as correlações em que uma das características envolvidas não diferenciou completamente os genótipos, foram mais baixas ou não significativas (Tabela 6.3). Este foi o caso das correlações envolvendo as características de porcentagem de redução na estatura nas datas 1 e 2, bem como as de porcentagem de redução na exerceção nos dois estádios, que foram características que não diferenciaram completamente os três genótipos tolerantes dos três sensíveis (Tabela 6.2).

Neste trabalho, os três períodos de desenvolvimento foram, de forma geral, significativamente correlacionados entre si (Tabela 6.3), porém como as correlações obtidas são fenotípicas não é possível afirmar que a seleção em apenas um deles será eficiente para aumentar a tolerância ao frio nos demais. Além disso, cabe salientar-se que estas correlações foram obtidas com base em apenas seis genótipos, sendo específicas para os mesmos e para o estresse de frio utilizado, de forma que para outros genótipos e condições de frio as relações observadas podem ser alteradas. De fato, trabalhos envolvendo maior número de genótipos e híbridos F_1 sugerem que a tolerância ao frio nos períodos vegetativo e reprodutivo é diferente e governada por mecanismos que atuam em direções opostas (Kaw & Khush, 1986; Shahi & Khush, 1986). Já entre a germinação e o período vegetativo, correlações significativas foram relatadas (Takahashi, 1997) indicando que a seleção para tolerância ao frio na germinação deve ser eficaz no aumento da tolerância no período vegetativo.

Pelos resultados obtidos foi possível verificar que os três genótipos Japônica estudados são tolerantes ao frio nos três períodos de desenvolvimento, no entanto, se isto é devido a um gene que confere tolerância ao frio em todos estes períodos, ou a vários genes que atuam em cada período separadamente,

permanece por ser investigado. Pelas distintas bases genéticas da tolerância ao frio nos períodos iniciais e reprodutivo já relatadas (Acharya & Sharma, 1983; Kwak et al., 1984; Khan et al., 1986; Nagamine & Nakagahra, 1991), esta última suposição parece ser a mais provável, o que dificultaria a seleção para tolerância ao frio em apenas um período de desenvolvimento, tornando necessária a seleção em cada período separadamente.

Com base nisso, a identificação de marcadores moleculares para tolerância ao frio em cada período de desenvolvimento seria extremamente interessante e, neste sentido, o mapeamento molecular do caráter é o passo inicial. Como a primeira decisão a ser tomada neste caso é a escolha da população a ser mapeada, foi verificada a diversidade molecular e fenotípica dos seis genótipos estudados.

Com os dados relativos a 161 marcadores de RAPD foi obtida uma matriz de similaridade (Tabela 6.4) a partir da qual foi realizada a análise de agrupamento dos genótipos (Figura 6.1).

Tabela 6.4. Matriz de similaridade (índice de Jaccard) entre seis genótipos de arroz obtida a partir de dados de 161 marcadores RAPD. UFRGS, 2001.

	IRGA 417	BRS 7-Taim	IR 8	Quilla 66304	Quilla 64117	Diamante
IRGA 417	1,00	0,66	0,58	0,12	0,09	0,10
BRS 7-Taim		1,00	0,76	0,10	0,09	0,09
IR 8			1,00	0,09	0,11	0,09
Quilla 66304				1,00	0,68	0,74
Quilla 64117					1,00	0,81
Diamante						1,00

A similaridade entre os genótipos tolerantes e sensíveis estudados com base no índice de Jaccard foi mínima (Tabela 6.4 e Figura 6.1), indicando que qualquer cruzamento Indica x Japônica pode ser utilizado para o desenvolvimento da população a ser mapeada. Isto demonstra o alto grau de polimorfismo existente entre os genótipos Indica e Japônica estudados com base em marcadores RAPD. Zhu et al. (1993) também observaram elevado grau de polimorfismo ao construírem um mapa molecular a partir de uma população proveniente de um cruzamento Indica x Japônica.

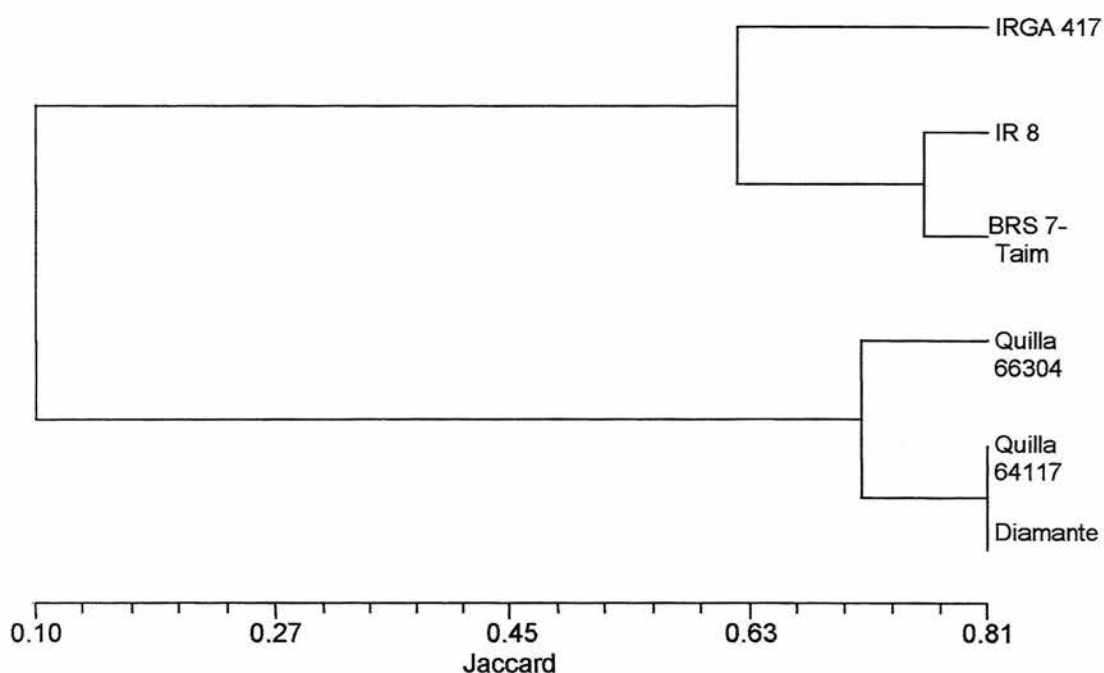


FIGURA 6.1. Dendrograma de seis genótipos de arroz baseado no índice de Jaccard obtido a partir de 161 marcadores RAPD. UFRGS, 2001.

Os cruzamentos interespecíficos são recomendados como forma de aumentar o polimorfismo para o mapeamento molecular em plantas autógamas (Oliveira, 1998). Em arroz, apesar deles serem utilizados (Causse et al., 1994), o alto grau de polimorfismo observado nos cruzamentos intersubespecíficos faz

com que também sejam muito utilizados para a associação de marcadores moleculares a características de importância agrônômica (Yanagihara et al., 1995; Xiao et al., 1995; Redoña & Mackill, 1996), com a vantagem adicional de que por não envolverem espécies silvestres têm aplicação mais direta nos programas de melhoramento.

Para a escolha da população de mapeamento, os genótipos que apresentam fenótipos extremos para a característica a ser mapeada são preferíveis e, por isso, os dados médios dos seis genótipos para as 12 características foram utilizados na obtenção de uma matriz de correlação (Tabela 6.5), a partir da qual foi feita a análise de agrupamento (Figura 6.2).

TABELA 6.5. Matriz de correlação entre seis genótipos de arroz obtida com base em 12 características de tolerância ao frio avaliadas nos períodos de germinação, vegetativo e reprodutivo. UFRGS, 2001.

	IRGA 417	BRS 7-Taim	IR 8	Quilla 66304	Quilla 64117	Diamante
IRGA 417	1,00	0,85	0,39	0,72	-0,24	0,63
BRS 7-Taim		1,00	0,77	0,86	-0,22	0,88
IR 8			1,00	0,68	0,14	0,82
Quilla 66304				1,00	-0,26	0,94
Quilla 64117					1,00	-0,27
Diamante						1,00

No agrupamento dos genótipos feito com base nos dados fenotípicos (Figura 6.2) não foi observada uma diferenciação tão clara entre os genótipos Indica e Japônica como aquela obtida pelo agrupamento molecular (Figura 6.1). A exceção foi o genótipo Quilla 64117, que se mostrou extremamente divergente em relação aos demais sendo, portanto, o mais indicado como genitor tolerante da população de mapeamento. Da mesma forma, entre os genótipos Indica

estudados, o IRGA 417 seria o mais adequado como genitor sensível pela sua divergência em relação aos demais e, em especial, em relação ao Quilla 64117 (Figura 6.2).

Assim, apesar dos dados moleculares indicarem que qualquer população Indica x Japônica pode ser utilizada no mapeamento da tolerância ao frio em arroz devido ao alto polimorfismo existente entre os grupos, os dados fenotípicos foram fundamentais para a escolha adequada dos genótipos genitores, demonstrando sua importância neste sentido.

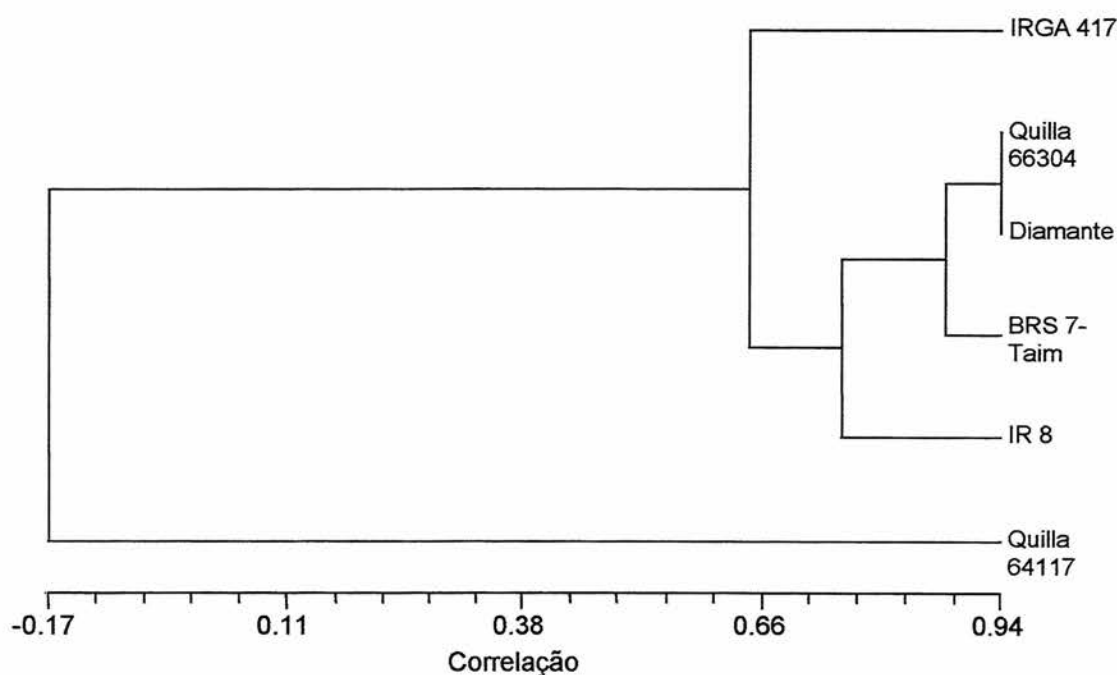


FIGURA 6.2. Dendrograma de seis genótipos de arroz baseado na correlação obtida a partir de 12 características de tolerância ao frio. UFRGS, 2001.

Deve ser lembrado, porém, que este agrupamento foi feito com base no conjunto das características avaliadas e, por isso, indica a melhor população se o objetivo for o mapeamento da tolerância ao frio nos três períodos estudados.

O genótipo Quilla 64117 destacou-se pela tolerância ao frio nos três períodos avaliados, mas foi provavelmente seu comportamento superior aos demais genótipos Japônica no período reprodutivo a causa do resultado observado (Tabela 6.2).

Assim, se o objetivo for o mapeamento da tolerância ao frio em apenas um dos períodos de desenvolvimento, a população mais adequada pode ser outra.

6.4. CONCLUSÕES

Os três genótipos Japônica são superiores aos Indica com relação à tolerância ao frio nos três períodos de desenvolvimento estudados.

As correlações fenotípicas entre os períodos de desenvolvimento do arroz quanto à tolerância ao frio dependem da característica avaliada.

A população mais indicada para o mapeamento da tolerância ao frio é a que envolve o genótipo tolerante Quilla 64117 e o sensível IRGA 417.

DISCUSSÃO GERAL

A tolerância ao frio em arroz é uma característica complexa em que o fenótipo final é o resultado da interação entre a intensidade da temperatura, sua duração, do período de desenvolvimento e do genótipo da planta. Este trabalho é um passo inicial no sentido de entender a complexidade do problema e de fornecer subsídios para o aumento da eficiência do melhoramento para tolerância ao frio no sul do Brasil.

Neste caminho, o entendimento das bases genéticas do caráter é fundamental, porém para que tais estudos sejam viabilizados é imprescindível e ter formas de diferenciar a tolerância e sensibilidade dos genótipos ao frio com o máximo de precisão e confiabilidade possível. A classificação dos 24 genótipos com base na porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo e recrescimento do mesmo foi diferente (Capítulo I), e a melhor separação entre as testemunhas tolerantes e sensíveis utilizadas foi obtida por meio da redução no comprimento do coleóptilo. A correlação obtida entre estas características indica que elas provavelmente não estão relacionadas ao mesmo processo fisiológico, ou seja, que avaliam diferentes aspectos da tolerância ao frio na germinação. Isto concorda com os resultados da análise dialélica realizada (Capítulo II), em que as CGC e CEC de cada genótipo dependeram da característica avaliada. As implicações destes resultados para o melhoramento são de que a seleção para tolerância ao frio na germinação com base na porcentagem de redução e no

recrescimento do coleóptilo deve fornecer resultados complementares, já que estas características não parecem estar relacionadas ao mesmo aspecto da tolerância ao frio.

A CGC do genótipo Quilla 66304 para ambas as características (Capítulo II) faz com que seja o mais indicado como fonte de tolerância ao frio na germinação. A seleção para tolerância ao frio neste período, por meio da avaliação do recrescimento do coleóptilo, não deve ser praticada em gerações iniciais, pois os efeitos gênicos mais importantes entre os genótipos estudados foram os não aditivos e as interações gênicas (Capítulo III).

No período reprodutivo, a metodologia mais adequada para diferenciar genótipos tolerantes de sensíveis ao frio foi aquela em que plantas no estágio de antese foram submetidas a 17°C por sete dias e avaliadas quanto à porcentagem de redução no peso de 100 grãos (Capítulo IV), a qual permitiu comprovar a maior tolerância ao frio dos genótipos Japônica em relação aos genótipos Indica avaliados. A porcentagem de redução na exerceção da panícula não permitiu separar claramente os genótipos e, com base nesta característica, somente o genótipo Quilla 64117 pode ser considerado tolerante. Analisando-se juntamente com os resultados da análise genética do Capítulo V, o gene recessivo responsável pela exerceção completa da panícula nos genótipos Quilla 64117 e Diamante não deve ser o mesmo, pois enquanto no Quilla 64117 ele deve ser, de fato, relacionado à tolerância ao frio propriamente dita, no genótipo Diamante deve estar relacionado à maior exerceção per se. No entanto, mesmo sendo esta independente do frio e talvez relacionada ao grupo Japônica a que pertence o genótipo, a seleção para aumento da exerceção em condições de frio é desejável

porque influencia positivamente a fertilidade de espiguetas e o peso de 100 grãos, como demonstrado nos Capítulos IV e V.

De acordo com Datta & Siddiq (1983), a tolerância ao frio é específica para o período de desenvolvimento considerado e, por isso, o método de avaliação e a escolha da característica deve ser período específico, sendo o grau de amarelecimento e a diminuição no crescimento considerados confiáveis para a avaliação da tolerância no período vegetativo e a esterilidade de espiguetas indicada no reprodutivo. Como as correlações obtidas entre as características estudadas no capítulo VI foram relacionadas à sua capacidade de diferenciação entre genótipos tolerantes e sensíveis, os resultados obtidos para a redução na estatura e na exerceção da panícula não indicam que elas não são adequadas para avaliação da tolerância ao frio, mas que podem ser relacionadas a processos fisiológicos que não foram afetados pelo frio nos seis genótipos estudados.

Conforme Miedema (1982), a seleção simultânea para todas as características de tolerância ao frio é praticamente impossível de ser feita e inefetiva e, assim, a melhor estratégia seria a seleção de fontes de tolerância para cada característica separadamente e a recombinação das mesmas. Pelos resultados deste trabalho, os genótipos Quilla 66304 e Quilla 64117 são fontes de tolerância específicas para os períodos de germinação e reprodutivo, respectivamente, passíveis de recombinação para seleção de plantas com tolerância em ambos os períodos de desenvolvimento.

A associação de marcadores moleculares com características específicas de tolerância ao frio em cada período aumentaria a eficiência da seleção e, de acordo com Price & Courtois (1999), a probabilidade de sucesso no mapeamento de uma característica é aumentada pela escolha de genitores tão

divergentes quanto possível (pelo menos para a característica de interesse). Neste trabalho esta divergência já existe, em parte, pelo fato dos genitores tolerantes serem Japônica e os sensíveis Indica, o que foi, inclusive, confirmado pelos dados moleculares (Capítulo VI). Assim, com base na divergência molecular verificada, qualquer combinação entre genótipos tolerantes e sensíveis seria adequada para o mapeamento da tolerância ao frio. Porém, considerando o conjunto de características avaliadas nos três períodos de desenvolvimento, a população mais indicada seria a que envolve os genótipos Quilla 64117 e IRGA 417, como genitores tolerante e sensível, respectivamente, os quais apresentaram elevada divergência fenotípica.

CONCLUSÕES GERAIS

As características de porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo e recrescimento do mesmo são as mais adequadas para a avaliação da tolerância ao frio na germinação e os maiores níveis de tolerância são observados em genótipos do grupo Japônica, como o Diamante e o Quilla 64117. O genótipo BR-IRGA 410 é uma possível fonte de tolerância ao frio na germinação entre os genótipos Indica avaliados, pela sua baixa porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pelo frio.

O genótipo Quilla 66304 é o mais indicado como genitor em cruzamentos visando aumentar a tolerância ao frio na germinação, como evidenciado pela sua CGC para as características de porcentagem de redução no comprimento e recrescimento do coleóptilo.

Os efeitos gênicos não-aditivos e as interações não-alélicas são os mais importantes na herança da tolerância ao frio na germinação, avaliada por meio do recrescimento do coleóptilo.

A tolerância ao frio no período reprodutivo é passível de ser avaliada em condições de temperatura controlada submetendo-se plantas no estágio de antese à temperatura de 17°C por sete dias e avaliando-se a porcentagem de redução no peso de 100 grãos em relação ao controle. Com base nesta metodologia, os genótipos Quilla 64117 e Diamante são os mais tolerantes nos estádios de antese e microsporogênese, respectivamente.

A exerceção completa da panícula pode ser avaliada em condições de campo e é condicionada por um gene recessivo nos genótipos Quilla 64117 e Diamante. No genótipo Quilla 64117 este gene parece relacionado com a tolerância ao frio enquanto no Diamante parece estar relacionado a maior exerceção per se.

A população a ser utilizada no mapeamento da tolerância ao frio em arroz nos três períodos de desenvolvimento estudados é a que envolve o genótipo tolerante Quilla 64117 e o sensível IRGA 417.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHARYA, S. Genetic parameters and their implication in breeding cold tolerant varieties of rice (*Oryza sativa* L.) **Crop Improvement**, Ludhiana, v.14, n. 1, p.100-103, 1987.
- ACHARYA, S.; SHARMA, K.D. Genetics of cold tolerance at rice reproductive stage. **International Rice Research Newsletter**, Los Baños, v.8, n.2, p.10-11. 1983.
- ALLARD, R.W. **Principles of Plant Breeding**. New York: J. Wiley, 1960. 485p.
- ALVARADO, J.R.; GRAU, P.B. Mejoramiento del arroz en Chile por tolerancia a frío. In: REUNIÓN SOBRE MEJORAMIENTO DE ARROZ EN EL CONO SUR, 1991, Goiânia. **Trabajos...** Montevideo: IICA – PROCISUR, 1991. 150 p. p.105-114. (Diálogo / IICA -PROCISUR, 33)
- AZAMBUJA, I.H.V.; FAGUNDES, P.R.R.; MAGALHÃES Jr., A.M. de. Importância sócio-econômica da lavoura de arroz irrigado. In: MAGALHÃES JÚNIOR, A.M. de; FAGUNDES, P.R.R. (Coords.) **Agricultura real: arroz irrigado**. Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 1996. p.7-8. (EMBRAPA-CPACT. Documentos, 20).
- BERTIN, P.; BOUHARMONT, J. Use of somaclonal variation and *in vitro* selection for chilling tolerance improvement in rice. **Euphytica**, Wageningen, v.96, p.135-142. 1997.
- BERTIN, P.; KINET, J.M.; BOUHARMONT, J. Evaluation of chilling sensitivity in different rice varieties. Relationship between screening procedures applied during germination and vegetative growth. **Euphytica**, Wageningen, v.89, p.201-210, 1996.
- BLUM, A. Cold resistance. In: _____. **Plant breeding for stress environments**. Boca Raton: CRC, 1988. cap.5, p.99-132.
- CARNAHAN, H.L.; ERICKSON, J.R.; MASTENBROEK, J.J. **Rice breeding**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1972. Tolerance of rice to cool temperatures – USA: p.535-540.
- CAUSSE, M. et al. Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. **Genetics**, Austin, v.138, p.1251-1274, 1994.

- CHANG, T.T. Rice. In: SIMMONDS, N.W. (Ed.) **Evolution of crop plants**. London: Longman, 1974. p.98-104.
- CHEN, X. et al. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.95, p.553-567, 1997.
- CHUNG, G.S. **Report of a rice cold tolerance Workshop**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1979. The rice cold tolerance program in Korea: p. 7-19.
- COLY, A. Testing rice varieties of Indica type for cold tolerance at seedling stage. **Japanese Journal of Crop Science**, Tokyo, v.49, n.4, p.543-547, 1980.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1994. 390 p.
- CRUZ, R.P. da; MILACH, S.C.K. Avaliação de genótipos de arroz quanto à tolerância ao frio na germinação. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., 1999a, Pelotas. **Resumos...** Pelotas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1999a. p.42-44.
- CRUZ, R.P. da; MILACH, S.C.K. Variabilidade genética em arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) para tolerância ao frio durante a germinação. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.22, n.3, p.699, 1999b. Supplement.
- DATTA, D.; SIDDIQ, E.A. Genetic analysis of cold tolerance at seedling phase in rice. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v.43, p.345-349, 1983.
- DICKERSON, G.E. Biological interpretation of the genetic parameters of populations. In: HANSON, W.D.; ROBINSON, H.F. **Statistical Genetics and Plant Breeding**. Washington: National Academy of Sciences, 1963. p.95-107. (National Research Council Publication, 982).
- FALCONER, D.S. **Introduction to quantitative genetics**. 3.ed. Harlow: Longman Scientific and Technical, 1989. 463p.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2 ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220p.
- FORNASIERI FILHO, D.; FORNASIERI, J.L. **Manual da cultura do arroz**. Jaboticabal: Funep, 1993. 221p.
- FUTSUHARA, Y.; KIKUCHI, F. Gene analysis for agronomic traits. In: TSUNODA, S.; TAKAHASHI, N. (Eds.) **Biology of rice**. Tokyo: Japanese Science Society Press, 1984. p. 275-291.

- GARLAND, S.H. et al. The use of microsatellite polymorphisms for the identification of Australian breeding lines of rice (*Oryza sativa* L.). **Euphytica**, Wageningen, v.108, p.53-63, 1999.
- GLASZMANN, J.C. Isozymes and classification of Asian rice varieties. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.74, p.21-30, 1987.
- GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, East Melbourne, v.9, p. 463-493, 1956.
- GUORUI, Z. Advances in research on cold tolerance in rice. **Jiangsu Journal of Agricultural Sciences**, Nanjing, v.7, n.3, p. 52-56, 1991.
- GUPTA, H.S.; BHUYAN, R.N.; PATTANAYAK, A. Development of cold-tolerant rice through anther culture. **International Rice Research Notes**, Los Baños, v.21, n.1, p.20. 1996.
- HAMDANI, A.R. **Report of a Rice Cold Tolerance Workshop**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1979. Low-temperature problems and cold tolerance research activities for rice in India: p.39-48.
- HEU, M.H.; BAE, S.H. **Rice breeding**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1972. Selection for lines of rice tolerant to low temperature in Korea: p.533-534.
- JACOBS, B.C.; PEARSON, C.J. Cold damage and development of rice: a conceptual model. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 34, n. 7, p. 917-919, 1994.
- JENNINGS, P.R.; COFFMAN, W.R.; KAUFFMAN, H.E. Temperature tolerance. In:_____. **Rice Improvement**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1979. cap.10, p.183-186.
- JONES, D.B.; PETERSON, M.L. Rice seedling vigor at sub-optimal temperatures. **Crop Science**, Madison, v.16, p.102-105, 1976.
- JULIANO, B.O. **Rice in human nutrition**. Los Baños: International Rice Research Institute and Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1993. cap.1, p.1-15.
- KANEDA, C.; BEACHELL, H.M. **Rice breeding**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1972. Resistance of Japonica x Indica breeding lines to low temperatures: p.541-545.
- KAW, R.N. Genetic parameters of cold tolerance in rice. **Indian Journal of Genetics**, New Delhi, v.51, p.59-65, 1991.

KAW, R.N. et al. Estimates of combining ability for vegetative stage cold tolerance in rice. **Korean Journal of Breeding**, Suwon, v.18, n.1, p.48-52, 1986.

KAW, R.N.; KHUSH, G.S. Combining ability for low-temperature tolerance in rice. In: **INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM**, 1986, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 1986. p.593-612.

KAW, R.N.; KHUSH, G.S. Estimates of combining ability for cold stability in rice. **Oryza**, Cuttack, v.24, p. 19-23, 1987.

KETATA, H.; EDWARDS, L.H.; SMITH, E.L. Inheritance of eight agronomic characters in a winter wheat cross. **Crop Science**, Madison, v.16, n.1-2, p.19-22, 1976.

KHAN, D.R.; MACKILL, D.J.; VERGARA, B.S. Selection for tolerance to low temperature-induced spikelet sterility at anthesis in rice. **Crop Science**, Madison, v.26, p.694-698. 1986.

KIM, K.M. et al. Selection of RAPD marker for growth of seedlings at low temperature in rice. **Molecules and Cells**, Seoul, v.9, n.3, p.265-269, 1999.

KINOSHITA, T. Gene analysis and linkage map. In: TAKAHASHI, N.; TSUNODA, S. (Eds.). **Biology of rice**. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1984. p.187-274.

KO, H.L. et al. Random amplified polymorphic DNA analysis of Australian rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **Euphytica**, Wageningen, v.80, p.179-189. 1994.

KRISHNASAMY, V.; SESHU, D.V. Seed germination rate and associated characters in rice. **Crop Science**, Madison, v.29, p.904-908, 1989.

KWAK, T.S. et al. Inheritance of seedling cold tolerance in rice. **Sabrao Journal**, Misima, v.16, n.2, p.83-86, 1984.

LEE, J. H. **Report of a rice cold tolerance Workshop**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1979. Screening methods for cold tolerance at Crop Experiment Station Phytotron and at Chuncheon: p. 77- 90.

LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stresses**. 2.ed. New York: Academic Press, 1980. v.1, p.23-64.

LI, C.C. Gene effects for seedling cold tolerance in four rice crosses. **Journal of the Agricultural Association of China**, Taipei, v.101, p.27-34, 1978.

LI, C.C.; RUTGER, J.N. Inheritance of cool-temperature seedling vigor in rice and its relationship with other agronomic characters. **Crop Science**, Madison, v.20, p.295-298, 1980.

- LI, P. et al. Effect of low temperature of chlorophyll fluorescence at 77K of flag leaves in hybrid rice F_1 and its parents. **Chinese Journal of Rice Science**, Hangchow, v.6, n.2, p.57-62, 1992.
- LI, T.G.; VISPERAS, R.M.; VERGARA, B.S. Correlation of cold tolerance at different growth stages in rice. **Acta Botanica Sinica**, Beijing, v.23, p.203-207, 1981.
- LIN, S.S.; PETERSON, M.L. Low temperature-induced floret sterility in rice. **Crop Science**, Madison, v. 15, n. 5, p. 657-660, 1975.
- LIN, H-X. et al. RFLP mapping of QTLs for yield and related characters in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.92, p.920-927, 1996.
- LYONS, J.M. Chilling injury in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.24, p.445-466, 1973.
- McCORMICK, S. Male gametophyte development. **The Plant Cell**, Rockville, v.5, p.1265-1275, 1993.
- McCOUCH, S.R. et al. Molecular mapping of rice chromosomes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.76, p.815-829, 1988.
- McKENZIE, K.S. et al. Breeding improved rice cultivars for temperate regions: a case study. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 34, n. 7, p. 897-905, 1994.
- MACKILL, D.J. Classifying japonica rice cultivars with RAPD markers. **Crop Science**, Madison, v.35, p.889-894, 1995.
- MACKILL, D.J.; COFFMAN, W.R.; GARRITY, D.P. **Rainfed lowland rice improvement**. Manila: International Rice Research Institute, 1996. 242p.
- MAHISHI, D.M.; MAHADEVAPPA, M.; REDDY, P.G. Inheritance of panicle exertion in *Oryza sativa* under low temperature. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 2., 1991, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 1991. p. 175-177.
- MAJUMDER, M.K.; SESHU, D.V.; SHENOY, V.V. Implication of fatty acids and seed dormancy in a new screening procedure for cold tolerance in rice. **Crop Science**, Madison, v.29, p.1298-1304, 1989.
- MATHER, S.K.; JINKS, J.L. **Biometrical Genetics**. 3.ed. Cambridge: University Press, 1982. 396 p.
- MATSUBA, S. et al. Evaluation of cold tolerance in transgenic rice with AFP (anti-freeze protein) - like genes. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS

SYMPOSIUM, 4., 2000, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 2000. p.369.

MATSUO, T. Origin and differentiation of cultivated rice. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v.3, p. 69-111.

MAYA, O.I.M. **Identificación de metodologías para la evaluación de tolerancia a temperaturas bajas en arroz (*Oryza sativa* L.)**. Palmira: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, 1988. 123 f. Tese (Graduação em Engenharia Agrônômica) - Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, 1988.

MERCADO Mercantil e Corretora de Mercadorias Ltda. Disponível em: <<http://www.clicmercado.com.br/historicofs.htm>>. Acesso em: 30 ago. 2001.

MIEDEMA, P. The effects of low temperature on *Zea mays*. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.35, p.93-128, 1982.

MILACH, S.C.K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: _____. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: S.C.K. Milach, 1998a. p.17-28.

MILACH, S.C.K. Mapeamento molecular de características de importância agrônômica. In: _____. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: S.C.K. Milach, 1998b. p.67-73.

MURATA, N.; YAMAYA, J. Temperature-dependent phase behaviour of phosphatidylglycerol from chilling-sensitive and chilling resistant plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v.74, p.1016-1024, 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. p.737-739.

NAKAGAHRA, M.; OKUNO, K.; VAUGHAN, D. Rice genetics resources: history, conservation, investigative characterization and use in Japan. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 35, n.1-2, p.69-77, 1997.

NANDA, J.S.; SESHU, D.V. **Report of a rice cold tolerance Workshop**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1979. Breeding strategy for cold-tolerant rices: p. 91-99.

NELSON, J.C. DNA isolation from cereals. In: 1993 ITMI WHEAT MAPPING WORKSHOP, 1993, Ithaca. **Laboratory manual...** Ithaca: Cornell University, 1993. p.15-17.

- NISHIYAMA, I. Climatic influence on pollen formation and fertilization. In: TSUNODA, S.; TAKAHASHI, N. (Ed.) **Biology of rice**. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1984. p.153-171.
- NISHIYAMA, I. Factors and mechanisms causing cool weather damage. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Physiology**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995. v.2, p.776-793.
- OKA, H-I. Intervarietal variation and classification of cultivated rice. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v.18, p.79-89, 1958.
- OKA, H-I. Considerations on the genetics basis of intervarietal sterility in *Oryza sativa*. In: SYMPOSIUM ON RICE GENETICS AND CYTOGENETICS, 1964, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 1964. p.158-174.
- OKA, H-I.; MORISHIMA, H. Wild and cultivated rice. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v.3. p. 88-111.
- OKABE, S.; TORIYAMA, K. **Rice breeding**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1972. Tolerance to cool temperatures in Japanese rice varieties: p.529-531.
- OKUMOTO, Y. Seedlings. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant**. v.3 – Genetics. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. p.256-262.
- OLIVEIRA, H. T. de. **Climatologia das temperaturas mínimas e probabilidade de ocorrência de geada no Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 1997. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1997.
- OLIVEIRA, A.C. de. Construção de mapas genéticos em plantas. In: MILACH, S.C.K. (Ed.) **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: S.C.K. Milach, 1998. p.41-56.
- PANDEY, D.K.; GUPTA, H.S. Genetics of panicle exertion in cold tolerance rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Breeding**, Berlin, v. 111, p. 82-85, 1993.
- PAULL, R.E. Temperature-induced leakage from chilling-sensitive and chilling-resistant plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 68, p.149-153, 1981.
- POISSON, C.; PUARD, M.; DECHANET, R. Improvement of cold tolerance in rainfed upland rice. In: UPLAND RICE RESEARCH IN PARTNERSHIP, 1996, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 1996. p.222-230.

- PRASAD, T. K. Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 114, p.1369-1376, 1997.
- PRICE, A.; COURTOIS, B. Mapping QTLs associated with drought resistance in rice: Progress, problems and prospects. **Plant Growth Regulation**, The Hague, v.29, p.123-133, 1999.
- REBETZKE, G.J. et al. Breeding long coleoptile, reduced height wheats. **Euphytica**, Wageningen, v.106, p.159-168, 1999.
- REDOÑA, E.D.; MACKILL, D.J. Mapping quantitative trait loci for seedling vigour in rice using RFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.92, p.395-402, 1996.
- RHO, Y.D. Assesment of cold tolerance of Korean rice varieties by chlorophyll fluorescence analysis. **International Rice Research Notes**, Los Baños, v.10, p.14-16, 1985.
- ROUGHAN, P.G. Phosphatidylglycerol and chilling sensitivity in plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v.77, p.740-746, 1985.
- SAITO, K. et al. Chromosomal location of quantitative trait loci for cool tolerance at the booting stage in rice variety 'Norin-PL8'. **Breeding Science**, Tokyo, v.45, n.3, p.337-340, 1995.
- SALAHUDDIN, A.B.M.; VERGARA, B.S. Criteria for screening rice cultivars resistant to low water temperature at seedling stage. **Sabrao Journal**, Misima, v.6, n.2, p.151-156, 1974.
- SASAKI, T. Cold tolerance. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v.3, p.534-550.
- SATAKE, T. **Climate and rice**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1976. Sterile-type cool injury in paddy rice plants: p.281-300.
- SATAKE, T.; SHIBATA, M. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XXXI. Four components participating in fertilization. **Japanese Journal of Crop Science**, Tokyo, v.61, n.3, p.454-462, 1992.
- SEETHARAMAN, R. Certain considerations on genic analysis and linkage groups in rice. In: SYMPOSIUM ON RICE GENETICS AND CYTOGENETICS, 1964, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 1964. p.205-214.
- SHAHI, B.B.; KHUSH, G.S. Genetic analysis of cold tolerance in rice. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 1986, Los Baños.

Proceedings... Los Baños: International Rice Research Institute, 1986. p.429-435.

SHIBATA, M. **Report of a rice cold tolerance Workshop**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1979. Progress in breeding cold-tolerant rice in Japan: p.21-24.

SMILLIE, R.M.; NOTT, R. Assay of chilling injury in wild and domestic tomatoes based on photosystem activity of the chilled leaves. **Plant Physiology**, Bethesda, v.63, p.796-801, 1979.

SOUZA, P.R. Alguns aspectos da influência do clima temperado sobre a cultura do arroz irrigado, no sul do Brasil. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v.43, n.389, p.9-11, 1990.

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

STEEL, R.D.G.; TORRIE, J.L. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw-Hill, 1980. 418p.

STEINMETZ, S. Zoneamento agroclimatológico da cultura do arroz irrigado no estado do Rio Grande do Sul: recomendação de épocas de semeadura por município. In: MAGALHÃES JÚNIOR, A.M. de; FAGUNDES, P.R.R. (Coords.) **Agricultura real: arroz irrigado**. Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 1996. p.9-18. (EMBRAPA-CPACT. Documentos, 20).

STHAPIT, B.R. Studies on the cold tolerant rice in Lumle, Nepal: a review. In: INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, 1990, Seoul. **Proceedings...** Seoul: International Rice Research Institute, 1990. p.1-4.

STHAPIT, B.R.; WILSON, J.M. Chilling tolerance in February seeded Chaite rices (*Oryza sativa*) of Nepal. **Annals of Applied Biology**, Wellesbourne, v.121, p.189-197, 1992.

STHAPIT, B.R.; WITCOMBE, J.R. Inheritance of tolerance to chilling stress in rice during germination and plumule greening. **Crop Science**, Madison, v.38, p.660-665, 1998.

STHAPIT, B.R.; WITCOMBE, J.R.; WILSON, J.M. Methods of selection for chilling tolerance in Nepalese rice by chlorophyll fluorescence analysis. **Crop Science**, Madison, v.35, p.90-94, 1995.

SUH, J.P. et al. Identification of QTLs for cold tolerance related traits in a Korean weedy rice (*Oryza sativa* L.). In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 4., 2000, Los Baños. **Abstracts...** Los Baños: International Rice Research Institute, 2000. p.91.

- TAJIMA, K. Factors and mechanism of chilling injury. In: MATSUO, T. et al. (Eds.) **Science of the Rice Plant: Physiology**. Tokyo: Food and agriculture Policy Research Center, 1995. v.2, p.798-812.
- TAKAHASHI, N. Differentiation of ecotypes in *Oryza sativa* L. In: TAKAHASHI, N., TSUNODA, S. (Eds.) **Biology of rice**. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1984. p.31-67.
- TAKAHASHI, N. Inheritance of seed germination and dormancy. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v.3, p.348-359.
- TERRES, A. L. Melhoramento de arroz irrigado para tolerância ao frio no Rio Grande do Sul – Brasil. In: REUNIÓN SOBRE MEJORAMIENTO DE ARROZ EN EL CONO SUR, 1991, Goiânia. **Trabajos...** Montevideo: IICA – PROCISUR, 1991. 150 p. p.91 - 103. (Diálogo / IICA -PROCISUR, 33)
- TERRES, A.L.; GALLI, J. Efeitos do frio em cultivares de arroz irrigado no Rio Grande do Sul – 1984. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária de Terras Baixas de Clima Temperado, Capão do Leão, RS. **Fundamentos para a cultura do arroz irrigado**. Campinas: Fundação Cargill, 1985. p. 83-94.
- TILQUIN, J.P.; DETRY, F. Efficiency of natural selection against cold-induced sterility in bulked families. **International Rice Research Notes**, Los Baños, v. 18, n.1, p.33, 1993.
- TORIYAMA, K.; FUTSUHARA, Y. Genetical studies on the cool tolerance and other characters. **Japanese Journal of Breeding**, Tokyo, v. 11, p.191-198, 1961.
- VERGARA, B.S. et al. Screening of the rice germplasm for low temperature tolerance at different stages of growth. **Sabrao Journal**, Misima, v.8, n.2, p.97-104, 1976.
- VIRK, P.S.; FORD-LLOYD, B.V.; NEWBURY, H.J. Mapping AFLP markers associated with subspecific differentiation of *Oryza sativa* (rice) and an investigation of segregation distortion. **Heredity**, London, v.81, part 6, p.613-620, 1998.
- WANG, Y. et al. The effect of chilling and light on chl a fluorescence induction kinetics in flag leaves of hybrid rice and its parents. **Acta Botanica Austro Sinica**, Guangzhou, n.8, p.92-99, 1992.
- WANG, Z.Y.; TANKSLEY, S.D. Restriction fragment length polymorphism in *Oryza sativa* L. **Genome**, Ottawa, v.32, p.1113-1118, 1990.
- WILSON, J.M.; GREAVES, J.A. Assessment of chilling sensitivity by chlorophyll fluorescence analysis. In: WANG, C.Y. (Ed.). **Chilling injury of horticultural crops**. London: CRC, 1990. p.130-139.

XIAO, J. et al. Dominance is the major genetic basis of heterosis in rice as revealed by QTL analysis using molecular markers. **Genetics**, Austin, v.140, p.745-754, 1995.

XU, J. et al. Classification of rice germplasm. II. Discrimination of indica from japonica via analysis of amplicon length polymorphisms. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.17, n.8, p.640-645, 1998.

YAN, C. et al. Identification of QTL for cold tolerance at early seedling stage in rice (*Oryza sativa*) via RFLP markers. **Chinese Journal of Rice Science**, Hangchow, v.13, n.3, p.134-138, 1999.

YANAGIHARA, S. et al. Molecular analysis of the inheritance of the S-5 locus, conferring wide compatibility in Indica/Japonica hybrids of rice (*O. sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.90, p.182-188, 1995.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981a. cap. 1, p.1-63.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981b. cap. 2, p. 65-110.

ZHU, LI-H. et al. Construction of a molecular map of rice and gene mapping using a double haploid population of a cross between Indica and Japonica varieties. **Rice Genetics Newsletter**, Mishima, v.10, p.132-134, 1993.

ZHU, J. et al. AFLP markers for the study of rice biodiversity. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.96, p.602-611, 1998.

VITA

Renata Pereira da Cruz, filha de Antônio Carlos Zanotta da Cruz e Vania Pereira da Cruz, nasceu em 09 de setembro de 1970, em Pelotas, Rio Grande do Sul.

Estudou nos Colégios Recanto Infantil e São José, onde completou seus estudos de primeiro e segundo graus. Em 1988 ingressou na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, graduando-se como Engenheiro-Agrônomo em agosto de 1992. Durante o ano de 1993 foi bolsista de Aperfeiçoamento desenvolvendo projeto na área de cultura de protoplastos vegetais no laboratório de Biologia Celular do Departamento de Zoologia e Genética do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas.

Em março de 1994 ingressou no Curso de Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, o qual concluiu em agosto de 1996.

Durante o segundo semestre de 1996 foi bolsista Recém-Mestre da FAPERGS, desenvolvendo projeto no laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Plantas de Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Em março de 1997 iniciou seu Curso de Doutorado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.