

SELEÇÃO *IN VITRO* PARA TOXIDEZ POR FERRO UTILIZANDO EMBRIÕES MADUROS DE ARROZ

HELAINE C. F. DE ALMEIDA¹; TATIANE M. SOUZA²; DAIANA D. WOLTER²; ANA M. PEDROLO²; ANTONIO C. DE OLIVEIRA³; LUCIANO C. DA MAIA³

¹ Acadêmica do Curso de Agronomia, estagiária de Iniciação Científica, FAEM/UFPel - helaine.nane@hotmail.com

² Centro de Genômica e Fitomelhoramento/FAEM/UFPel

³ Professor do Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPel - lucianoc.maia@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os principais objetivos dos programas de melhoramento de arroz estão se voltando para a obtenção de novas variedades com elevado rendimento, qualidade de grãos e resistência à estresses bióticos e abióticos (HU; LI 2008). Entre os estresses abióticos, a toxidez por ferro destaca-se por ser responsável por perdas significativas na produção de arroz irrigado. Os prejuízos causados pela toxidez dependem da concentração de ferro no solo, da tolerância da cultivar quanto a este estresse, da época da semeadura, do manejo da água e da época de submergência (SAHARAWAT, 2004).

A cultura de embriões é uma técnica usada para o crescimento de embriões a partir de sementes e óvulos em um meio de cultivo. Na cultura de embriões, a planta se desenvolve diretamente a partir do embrião ou indiretamente, através da formação de calo e posteriormente, a formação de brotos e raízes. A técnica foi desenvolvida inicialmente para quebrar a dormência de sementes, testar a viabilidade de sementes e auxiliar na produção de espécies raras e plantas haploides (HUSSAIN et al., 2012). A cultura de tecidos de plantas a partir de embriões maduros de arroz possui vantagens tais como fornecimento de material vegetal sem restrição de época e ambiente geográfico, com operação fácil e de pouca infecção por microorganismos (YAN et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi identificar, por meio de caracteres morfológicos, a resposta de duas cultivares de arroz sob diferentes concentrações de ferro, identificando a melhor dose para seleção *in vitro* através da cultura de embriões maduros.

2. METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no laboratório de Hidroponia e Duplo-haploides do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF), UFPel. Para o experimento foram utilizadas as cultivares Nipponbare e BRS Atalanta, classificadas neste trabalho como resistente e sensível à toxidez por Fe, respectivamente.

As sementes foram descascadas, desinfestadas em álcool 70%, durante um minuto, e após em solução de cloreto de mercúrio 1%, também por um minuto, seguidas de quatro lavagens com água destilada autoclavada, em agitação constante. Após a desinfestação, as sementes foram mantidas imersas em água destilada autoclavada por 16 horas a 4°C. Os embriões maduros foram excisados com o auxílio de um bisturi e transferidos para os frascos com a superfície abaxial em contato com o meio de cultura. O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 15 g L⁻¹ de sacarose e solidificado com 6 g L⁻¹ de ágar. Os tratamentos consistiram em cinco concentrações de EDTA férrico (T1 = 0mM; T2 = 0,17 mM; T3 = 0,34 mM; T4 = 0,85 mM; T5 = 1,7 mM de Fe) acrescentado ao meio de cultura MS. O tratamento

2, foi considerado como controle pois é a dose usual nos meios de cultura. Após o preparo de cada meio ajustou-se o pH para 5,4.

Após a inoculação dos embriões, os mesmos permaneceram no escuro por 4 dias a temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Passado este período, foram transferidos para sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas. As plântulas permaneceram no tratamento por 21 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, compondo um fatorial 2×5 , com dez repetições, cada uma delas representada por um frasco de vidro contendo cinco embriões em cada. As variáveis avaliadas foram: comprimento da parte aérea – CPA (cm), comprimento da raiz – CR (cm), número de raízes (NR), massa fresca de parte aérea – MFPA (mg), massa fresca de raiz – MFR (mg), massa seca de parte aérea – MSPA (mg) e massa seca de raiz – MSR (mg). Os dados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão utilizando o programa estatístico GENES (CRUZ,2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância, apresentados na Tabela 1 demonstram efeito significativo da interação entre genótipo e tratamento para as variáveis CPA, NR, MFPA, MFR, MSPA e MSR, indicando que para esses caracteres as cultivares estudadas apresentaram diferenças de comportamento frente ao estresse proposto.

A análise de regressão (Figura 1) foi realizada para as variáveis que apresentaram interação significativa entre genótipo e tratamentos, na qual foi possível demonstrar os efeitos das diferentes concentrações de ferro sobre as variáveis estudadas e inferir sobre a manifestação biológica dos referidos resultados. A tendência quadrática na análise de regressão foi verificada para a maioria das variáveis analisadas para as duas cultivares, sendo que a partir da dose 0,34 mM de ferro (T3) houve declínio nas doses mais altas. A MFR para cultivar Nipponbare teve a equação linear como a que melhor explica seu comportamento, diminuindo linearmente a sua massa fresca conforme o aumento da dose de ferro. Para a variável NR na cultivar Nipponbare não foi observada diferença significativa entre os tratamentos.

Através da análise do desempenho relativo (Tabela 2) dos genótipos frente ao estresse por ferro, foi possível verificar que para a cultivar Nipponbare, a dose 0,34 mM (T3) teve o melhor desempenho em quatro das sete variáveis avaliadas, enquanto para a cultivar BRS Atalanta, a dose 0mM (T1) teve melhor desempenho em cinco das sete variáveis avaliadas. O tratamento quatro (0,85 mM de ferro) teve uma queda no desempenho relativo em relação a dose controle (T2), no entanto, em nenhuma das variáveis avaliadas no tratamento quatro o decréscimo foi superior a 50%.

De modo geral, observou-se que quanto maior a concentração de ferro no meio de cultura, menor foi o crescimento morfológico das plantas. Embora neste trabalho tenha sido empregado a cultura de embriões, na qual descarta-se qualquer influência da reserva nutricional do endosperma, a cultivar BRS Atalanta, classificada como sensível, apresentou maior crescimento em relação a cultivar Nipponbare. Este comportamento pode ser explicado pelo ciclo das cultivares, sendo a BRS Atalanta de ciclo precoce e a Nipponbare de ciclo mais longo. Entretanto, as maiores quedas no crescimento das plântulas em função do aumento das doses de ferro no meio nutritivo, foram observadas na cultivar BRS Atalanta, demonstrando que esta sofre maiores prejuízos no seu crescimento quando comparada a cultivar Nipponbare.

Tabela 1. Resumo da análise de variância para os caracteres comprimento de parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), número de raiz (NR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) estudadas nas diferentes concentrações de ferro. CGF – FAEM/UFPeI, 2013.

Fonte de Variação	G.L	Quadrado Médio						
		CPA	CR	NR	MFPA	MFR	MSPA	MSR
Genótipos	1	299.60 *	39.04 *	2.02 ^{ns}	11949.99 *	6613.43 *	589.23 *	77.04 *
Tratamento	4	204.83 *	136.04 *	20.53 *	4458.24 *	3430.73 *	146.24 *	24.45 *
G x T	4	16.27 *	2.70 ^{ns}	22.22 *	362.51 *	1079.50 *	35.70 *	18.64 *
Erro	90	2.83	1.36	1.03	99.78	99.80	3.22	1.43
Total	99							
Cv(%)		14.05	17.98	17.84	25.77	39.08	21.95	27.84
Media Geral		11.97	6.49	5.68	38.76	25.56	8.17	4.29

*Existem diferenças a 5% de probabilidade; ^{ns} Não foi significativo.

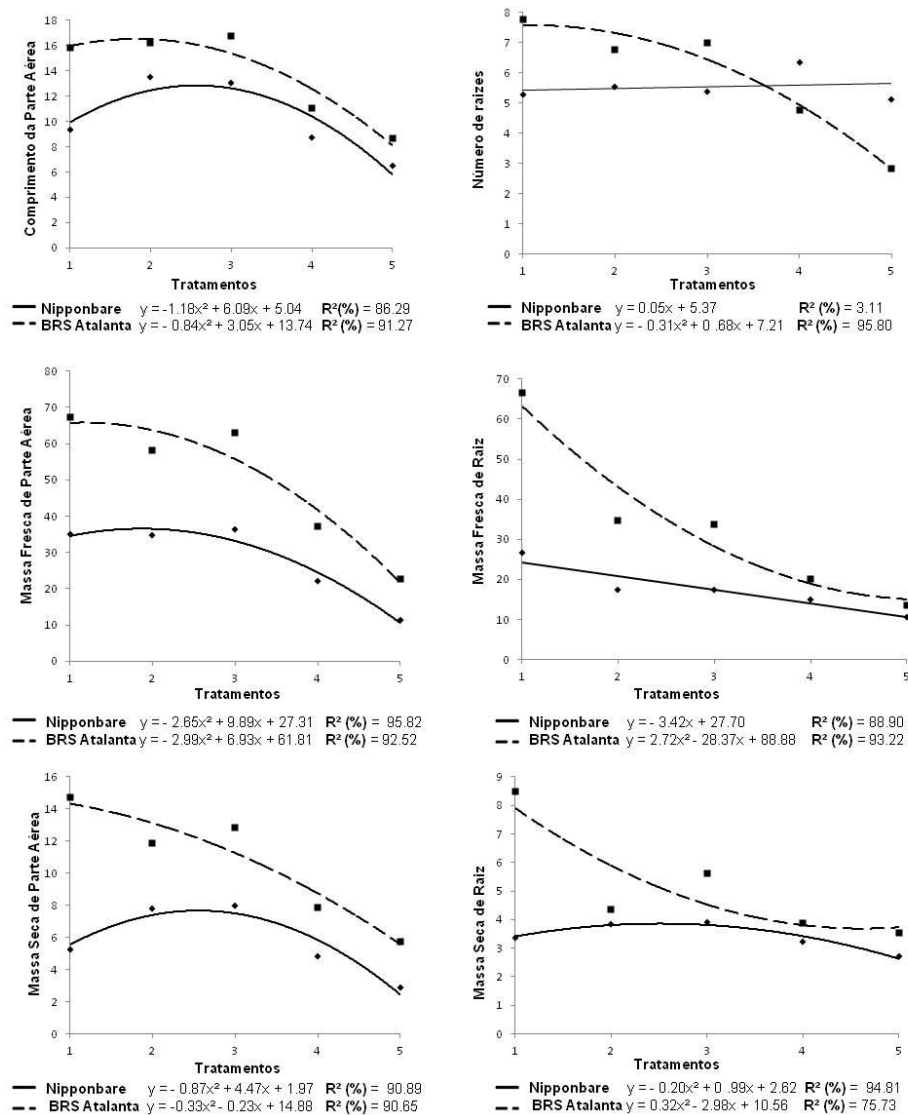


Figura 1 – Regressão para comprimento de parte aérea (CPA), número de raiz (NR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) estudadas nas diferentes concentrações de ferro. CGF – FAEM/UFPeI, 2013.

Tabela 2. Desempenho relativo para os caracteres comprimento de parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), número de raiz (NR), massa fresca de parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) estudadas nas diferentes concentrações de ferro. CGF – FAEM/UFPeL, 2013.

Cultivar	Doses	CPA	CR	NR	MFPA	MFR	MSPA	MSR
Nipponbare	0	-30.61	-20.13	-4.87	0.46	53.46	-32.31	-12.11
	0.17	100	100	100	100	100	100	100
	0.34	-2.95	19.23	-2.89	4.55	0.35	2.05	2.08
	0.85	-35.15	-40.69	14.80	-36.73	-13.13	-38.21	-15.63
	1.7	-51.58	-70.24	-7.40	-67.69	-38.59	-63.21	-29.69
BRS Atalanta	0	-2.33	-18.45	14.87	15.58	91.74	24.07	94.50
	0.17	100	100	100	100	100	100	100
	0.34	3.02	14.29	3.40	8.45	-2.84	8.53	29.13
	0.85	-32.16	-19.07	-29.39	-35.98	-42.27	-33.45	-11.47
	1.7	-46.77	-66.14	-58.36	-61.12	-60.80	-51.49	-19.22

4. CONCLUSÃO

Entre as concentrações utilizadas neste estudo, é possível sugerir que a dose do tratamento 4 (0,85 mM de ferro) pode ser utilizada para seleção *in vitro* para toxidez por ferro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRUZ, C.D. Programa **Genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648p.

HU, Y; LI; S G. Studies on the high frequency plant regeneration from mature embryos of heavy-panicle type restorer line Shuhui 527 and its transformation. **Southwest China Journal of Agricultural Sciences**, v.21, p.262-266, 2008.

HUSSAIN, Z.; KHAN, M.; BANO, R.; RASHID, H.; CHAUDHRY, Z. Protocol optimization for efficient callus induction and regeneration in three Pakistani rice cultivars. **Pak J. Bot**, v. 42, p. 879-887, 2010.

HUSSAIN, A.; QARSHI, I. A., NAZIR, H., ULLAH, I. Plant Tissue Culture: Current Status and Opportunities. In LEVA, A.; RINALDI, L.M.R. **Recent Advances in Plant in vitro Culture**. Editora: InTech, 2012. Cap. 1, p.1-28.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, v.15, 473-497, 1962.

SAHRAWAT, K.L. Iron toxicity in Wetland rice and role of other nutrients. **Journal of Plant Nutrition**, v.27, p.1471-1504, 2004.

YAN, L.; LI, X.; WU, D. The Comparison in Tissue Culture Ability of Mature Embryo in Different Cultivars of Rice. **Agricultural Sciences in China**, v.9, n.6, p.840-846, 2010.