

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



Dissertação

**Avaliação de Genótipos de Arroz para Tolerância à Seca e
o Papel da Regulação Transcricional de Genes
Responsivos à Auxina**

Frederico Pedro Madabula

Pelotas, 2013

FREDERICO PEDRO MADABULA
Engenheiro Agrônomo

**Avaliação de Genótipos de Arroz para Tolerância à
Seca e o Papel da Regulação Transcricional de Genes
Responsivos à Auxina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Biotecnologia).

Orientador: Antonio Costa de Oliveira, PhD.
Co-Orientadores: Luciano Carlos da Maia, Dr.
Rogério de Sousa Oliveira, Dr.

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB-10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

M185a Madabula, Frederico Pedro
Avaliação de genótipos de arroz para tolerância à seca e o papel da regulação transcricional de genes responsivos à auxina / Frederico Pedro Madabula. – 72f. – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas. Centro de Desenvolvimento Tecnológico. Pelotas, 2013. – Orientador Antônio Costa de Oliveira ; co-orientador Luciano Carlos da Maia, Rogério de Sousa Oliveira.

1.Biotecnologia. 2. *Oryza sativa* L. 3.Arroz. 4.Déficit hídrico, 5.Estresses abióticos. 6.Plântulas. 7.PG6000. I.Oliveira, Antônio Costa de. II.Maia, Luciano Carlos da. III.Oliveira, Rogério de Sousa, IV.Título.

CDD: 633.18

Banca examinadora:

Prof. Dr. Antonio Costa de Oliveira (Presidente) – DF/UFPEL

Prof. Dr. Rogério Oliveira de Sousa – DS/UFPEL

Prof. Dr. Denise Colares – DB/UFPEL

Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi – DCTA/UFPEL

Dedicatória

Dedico aos meus pais ***Pedro Madabula*** e ***Esmeralda F. Comé***, meus irmãos;

Aos meus filhos ***Ayrton*** e ***Ashley***

Ofereço

Agradecimentos

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, pela oportunidade de frequentar o mestrado, que permitiu a realização deste trabalho, à CNPq/MCT-Mz pela concessão da bolsa de estudo;

Ao meu orientador professor Antônio Costa De Oliveira pela confiança, oportunidade de trabalhar no Centro de Genômica e Fitomelhoramento e pela sabia orientação;

Aos professores Luciano Carlos da Maia e Rogério Souza pela amizade e orientação, um mui obrigado;

Ao pesquisador do Embrapa professor Ariano por ter disponibilizado o material de vegetal;

Aos membros da banca professores Cesar Rombaldi; Denise Colares pelas sugestões;

Aos colegas do Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento, pelo convívio durante os dois anos, em especial ao Railson S. Dos Santos, que mais uma vez deixo um muito obrigado pelo apoio e pela amizade;

Aos colegas do IIAM Calisto Bias PhD, Dr. Manuel Amane, Anabela Zacarias PhD, dra. Carla do Vale, colegas do Laboratório de cultura de tecidos e de forma particular ao professor Carvalho Ecole, que de um modo incansável e incondicional sempre esteve ao meu lado ajudando e apoiando;

Ao meu amigo Milton Pinho em ti tenho um irmão, que junto nos apoiamos em diversas fases da vida acadêmica, social e profissional;

Aos meus pais, meus irmãos Antônio, Beatriz, Alfredo, Esmeralda, Manuel e Maria, sobrinhos Pedro, Fred, Ivan e Cidia, cunhados Tiago e Carla, pelo carinho e incentivo;

À minha família Elsa Matandalaze e meus filhos, mesmo distante souberam dar seu apoio;

A todos que de forma direta e indireta, contribuíram dando o seu apoio moral, técnico e acadêmico na minha formação, bem hajam.

A todos um mui *Khanimambo*

Meu muito obrigado.

Resumo

MADABULA, Frederico Pedro. *Avaliação de Genótipos de Arroz para Tolerância a Seca e o Papel da Regulação Transcricional de Genes Responsivos a Auxina*. 2013. 72f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Pelotas.

A seca é um dos fatores abióticos que mais afeta a produtividade das culturas. Mesmo em regiões tropicais, com precipitação regular, em certas fases do ciclo as culturas enfrentam situações de déficit hídrico, sendo que em decorrência das mudanças climáticas essa situação está se tornando cada vez mais severa. Em vista disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a tolerância à seca em genótipos de arroz e fazer a expressão de cinco genes ligados ao desenvolvimento do sistema radicular. Para a fenotipagem a condição de estresse por seca foi obtida com 10% de polietileno glicol, para uma pressão de -1,44MPa; para expressão as sequências dos genes foram obtidas no banco de dados RAP-DB e NCBI e o *mRNA* foi extraído usando o *Pure Link™ Plant RNA Reagent (Invitrogen™)*. As plântulas sob o estresse tiveram redução no desenvolvimento da parte aérea, matéria seca e número de raízes formadas e de um incremento no crescimento do sistema radicular, no conteúdo da matéria seca, razão entre a matéria seca radicular e da parte aérea. Os genótipos tiveram respostas variadas, quanto à associação das características do sistema radicular na resposta ao estresse. Não foi possível associar as respostas das características morfológicas com o perfil transcricional de um gene específico, embora diferenças entre os genótipos tenham sido observadas.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L, déficit hídrico, estresses abióticos, plântulas..

Abstract

MADABULA, Frederico Pedro. *Evaluation of Rice Genotypes for Drought Tolerance and the Roles of Transcriptional Regulation of Auxin Responsive Genes*. 2013. 72s. Dissertation (Master Degree in Biotechnology). Federal University of Pelotas.

Drought is one of the most important abiotic factor that affect the yield of many cultures. Even in tropical regions with regular precipitation, in the some stages of life cicle the culture´s face drought stress, and with climats change´s this situation are been more severe. For that the main objective os this work is to evaluate drought tolerance and gene transcricional of five genes regulated by auxin involved in rice roots development. For morphologycal characterization the drought stress condiction was obtained adding 10% of Polyethylene glycol 6000, for a pressure of -1,44MPa. The sequences for gene expression were obtained in RAP-DB and NCBI, the mRNA was extrated using the *Pure Link™ Plant RNA Reagent (Invitrogen™)*. Stressed seedlings register reduction in shoots length, shoot dry matter, and root number and an increase of root development, root dry matter, ratio of root and shoot dry matter. Genotypes showed varied responses as to the association of the characteristics of the radicular system in stress response. It was not possible to associate the morphological characteristics with the transcriptional profile of a specific gene, although differences between genotypes were observed.

Keywords: *O. sativa* L, water deficit, abiotics stress, seedlings

Lista de Figuras

- Figura 1** Desenho da placa utilizada para a *qPCR*: T: número do tratamento (1 = controle genótipo BRS SCS 112); PX: número do *primer* (N = normalizador/GAPDH)..... 36
- Figura 2** Expressão transcricional dos genes responsivos a auxina nas seis cultivares. As amostras “da cultivar BRS 112” serviram como amostras calibradoras. 2a gráfico de cores e 2b gráfico de barras, (a, b,...) existem diferenças significativas no perfil transcricional dos genes entre as cinco cultivares. 40
- Figura 3** Gráfico de cores evidenciando a expressão de cinco genes no sistema radicular, na fase vegetativa V4 do desenvolvimento, em genótipos de arroz, dendrograma gerado usando o coeficiente de Pearson. As amostras “da cultivar BRS 112” serviram como amostras calibradoras..... 41
- Figura 4** Gráficos de cores evidenciando a expressão de cinco genes no sistema radicular e na forma de gráficos de barra mostrando às diferenças entre o perfil transcricional, na fase vegetativa V4 do desenvolvimento, em genótipos de arroz. (a, b,...) Existem diferenças significativas entre o perfil transcricional de cada gene entre os diferentes genótipos. Gráfico A, B e C as amostras “da cultivar BRS 112” serviram como amostras calibradoras, D e E as amostras “da cultivar BRS Ligeirinho” serviram como amostras calibradoras. 44
- Figura 5** Comparação do comprimento da parte aérea. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre plântulas controle. (A, B,...) existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – FarroupilhaxArroz de Sequeiro 46
- Figura 6** Comparação do comprimento radicular. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre

plântulas controle. (A, B,...) existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – FarroupilhaxArroz de Sequeiro 47

Figura 7 Comparação da razão entre o comprimento radicular e o comprimento da parte aérea. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre genótipos que não foram submetidos ao estresse. (A, B,...) Existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – FarroupilhaxArroz de Sequeiro 49

Figura 8 Comparação do conteúdo da matéria seca. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre genótipos que não foram submetidos ao estresse. (A, B,...) Existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – FarroupilhaxArroz de Sequeiro 50

Figura 9 Comparação do conteúdo da matéria seca da parte aérea. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre genótipos que não foram submetidos ao estresse. (A, B,...) existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – FarroupilhaxArroz de Sequeiro 51

Figura 10 Comparação da razão da matéria seca radicular e da parte aérea. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre genótipos que não foram submetidos ao estresse. (A, B,...) existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – FarroupilhaxArroz de Sequeiro 52

Figura 11 Dendograma usando valores do desempenho relativo, a matriz de distâncias foi gerado no programa GENES a partir do qual foi gerado o dendograma no programa NTSYS. 56

Lista de Tabelas

Tabela 1 Genótipos contrastantes dentro de subespécies segundo os resultados de caracterização morfologia em hidroponia, por MISTURA (2008)32

Tabela 2 Cruzamentos selecionados para análise molecular e caracterização quanto à tolerância ao estresse por seca..... 33

Tabela 3 Genes envolvidos na regulam o sistema radicular analisados os quais foram desenhados a partir das sequências obtidas do *RAP-DB*, pelo programa *PrimerExpress 2* 35

Tabela 4 Heterose dos híbridos em relação aos seus genitores 44

Tabela 5 Comparação de NR (número de raízes), CPF (comprimento da primeira folha); CSF (comprimento da segunda folha); CC (comprimento do coleóptero); IPF (inserção da primeira folha); ISF (inserção da segunda folha). (A e B) Existem diferenças significativas ($P < 0.05$) dentro de cada genótipo entre as plantas mantidas em solução nutritiva e as submetidas ao estresse por PEG6000. (a, b,...) existem diferenças entre plântulas na mesma condição. .. 54

Tabela 6 Desempenho relativo das plântulas para os parâmetros NR (número de raízes), CR (Comprimento radicular); CC (comprimento do coleóptero); CPF (comprimento da primeira folha); CSF (comprimento da segunda folha); IPF (inserção da primeira folha); ISF (inserção da segunda folha) MSPA (Matéria seca da parte aérea); MSR (Matéria seca radicular); CR/CPA (Razão comprimento radicular e comprimento da parte aérea); MSR/MSPA (Razão matéria seca radicular e matéria seca da parte aérea) e heteroses dos híbridos. 56

Lista de Abreviaturas

ABA	Ácido Abscísico
ACC	Ácido 1-Aminociclopropano-1-Carboxílico
ADH	Álcool Desidrogenase
<i>Amplicon</i>	Produto da amplificação in vitro de um fragmento de DNA
ARF	Fatores de respostas a Auxina
ARL	Adventitious rootless
Aux	Auxina
BOD	Câmara de crescimento
CAND	Cullin-associated NEDD8-dissociated protein
CC	Comprimento do coleótilo
<i>cDNA</i>	DNA complementar, do inglês <i>complementary DNA</i>
CDS	Região codificadora, do inglês <i>Coding Sequence</i>
CGF	Centro de Genômica e Fitomelhoramento
CNPq	Conselho Nacional de Pesquisa
CONAB	Campanha Nacional de abastecimento
CPF	Comprimento da primeira folha
CRL	Raízes da coroa/ adventícias <i>crown rootless</i>
CSF	Comprimento da segunda folha
CT	Cycle Threshold
DNA	Ácido desoxiribonucleico
<i>DNTP</i>	Deoxyribonucleotide triphosphate
DTT	1,4-Dithiothreitol
EDTA	Ácido Ethylenediaminetetraacético
G-C	Guanina-Citosina
H	Híbrido
IAA	Acido indolilacético
IPF	Inserção da primeira folha
IRGSP	International Rice Genome Sequencing Project

IRRI	Instituto Internacional de Pesquisa do Arroz
ISF	Inserção da segunda folha
KCl	Cloreto de Potássio
MAS	Melhoramento assistido por marcadores
MCT-Mz	Ministério de Ciência e Tecnologia de Moçambique
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
Min	Minutos
ml	Mililitros
mM	Milimolares
MPa	Mega pascais
<i>mRNA</i>	Acido ribonucleico mensageiro
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NR	Número de raízes
°C	Graus centígrados
OP	Pressão osmótica
<i>OsCAND</i>	<i>Oryza sativa</i> Cullin-associated NEDD8-dissociated protein
<i>OsGNOM</i>	<i>Oryza sativa</i> guanine nucleotide exchange factor for ADP-ribosylation factor
<i>OsIAA</i>	<i>Oryza sativa</i> Indole-3-acetic acid
<i>OsPIN</i>	<i>Oryza sativa</i> Pin-formed
<i>OsRAA</i>	<i>Oryza sativa</i> <i>Root Architecture Associated</i>
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PDC	Piruvato Decarboxilase
PEG	Polietileno glicol
pH	Potencial hidrogeniônico
Pup1	Phosphorus uptake
<i>qPCR</i>	Reação Quantitativa de Polimerase em Cadeia
QR	Quantificação Relativa
QTL	Quantitative trait locus
RAP-DB	Rice Annotation Project – Data base
RT	Reação tempo real
<i>SAUR</i>	Small auxin up-regulated RNAs
SUB1	Submergência 1

t.ha ⁻¹	Tonelada por hectare
Tris-HCl	Tris Cloreto de Hidrogênio
U.µL	Unidades microlitros
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
V4	Estágio vegetativo do arroz com quatro folhas

Sumário

Dedicatória	iii
Agradecimentos	iv
Resumo	v
Abstract	vi
Lista de Figuras	vii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Abreviaturas	x
Sumário	xiii
1 Introdução	15
2 Objetivos	18
2.1 Objetivo geral	18
2.1.1 Objetivos Específicos	18
3 Revisão de Literatura	19
3.1 Seca e sua importância no Arroz	19
3.2 Bases genéticas no melhoramento para a seca	21
3.3 Fontes para a Tolerância à Seca	22
3.4 Sistema radicular no melhoramento a seca	23
3.5 Marcadores moleculares e melhoramento genético para a seca	25
3.6 Genes do sistema radicular regulados por auxinas	28
4 Material e Métodos	32
4.1 Descrição Geral dos Experimentos	32
4.2 Cruzamentos	33
4.3 Extração de RNA	33
4.4 Síntese do cDNA	34
4.5 Desenho dos Primers para <i>qPCR</i>	35
4.5.1 Validação dos <i>Primers</i>	35
4.6 Quantificação Relativa por <i>qPCR</i>	36

4.7	Caracterização a tolerância à seca.....	37
4.7.1	Cálculo da pressão osmótica.....	37
4.7.2	Características agronômicas medidas.....	38
5	Resultados e Discussão.....	39
5.1	Expressão gênica.....	39
5.1.1	Expressão gênica das cultivares	39
5.1.2	Expressão gênica das cultivares e os híbridos.....	40
5.1.3	Comparação da expressão gênica das cultivares e seus híbridos	41
5.2	Efeito do estresse com PEG6000 nas características morfológicas ..	45
5.2.1	Comprimento da Parte Aérea	45
5.2.2	Comprimento Radicular e Número de Raízes	47
5.2.3	Razão entre Comprimento Radicular e Comprimento da Parte Aérea	48
5.2.4	Matéria Seca Radicular	49
5.2.5	Matéria Seca da Parte Aérea	50
5.2.6	Razão entre Matéria Seca radicular e Matéria seca da Parte Aérea 51	
5.2.7	Comprimento e inserção da primeira e segunda folha e do coleóptilo.....	52
5.2.8	Desempenho Relativo	55
5.3	Expressão gênica e características morfológicas	57
6	Conclusões Gerais.....	59
6.1	Perspectivas	59
7	Referências.....	60

1 Introdução

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o segundo cereal extensivamente mais cultivado no mundo, logo depois do trigo, e é um alimento primário para cerca de dois terços da população mundial (PIRDASHTI SARVESTANI e BAHMANYAR, 2009; USDA, 2013). Em termos de produção global de cereais o arroz ocupa a terceira posição, depois do milho e trigo. Estresses abióticos como a seca, temperaturas extremas, salinidade, excesso ou deficiência de nutrientes, tem tido um impacto negativo na produtividade do arroz de terras altas (TAKEUCHI et al., 2011; DATTA et al., 2012). Como organismos sésseis, as plantas, por não poderem se mover dos fatores estressores, envolvem-se em diversos mecanismos de modo a adaptar-se às condições adversas desses ambientes (GRENNAN, 2006). As plantas devem ter capacidade de perceber as condições do ambiente, para poder ter uma resposta apropriada.

A seca é um grande limitante no cultivo de várias espécies agrícolas (CAPELL, BASSIE e CHISTON, 2004; SHEHAB et al., 2010; SHESHSHAYEE et al., 2011; SULTAN, 2012). Nos cereais influencia a produção e qualidade de grãos. Com as mudanças climáticas, a intensidade e frequência da seca estão se tornando cada vez mais severas (HIRAYAMA, WADA, e NEMOTO, 2006), e com o crescimento da população mundial, o desafio de aumentar a produção de alimentos, torna-se um problema cada vez mais sério (MOSTAJERAN e RAHIMI-EICHI, 2009).

Na agricultura a seca descreve uma situação de limitado fornecimento da água, que está abaixo de uma condição estabelecida como normal, numa dada região. Ainda, quando não é suficiente para atender as necessidades hídricas de uma dada cultura, durante o seu ciclo de cultivo, limitando a expressão das potencialidades genéticas das cultivares e levando a situações críticas quanto à segurança alimentar (PANDEY et al., 2006; KAMOSHITA et al., 2008; DATTA, et al., 2012). A importância do estudo desse fenômeno deve-se as seguintes razões: a sua imprevisibilidade, o modo de ocorrência, a intensidade, período e duração, também a sua interação com outros fatores como temperatura alta e disponibilidade de

nutrientes, que limitam o crescimento e desenvolvimento das culturas (ABARSHAHR et al., 2011).

Existem vastas áreas de produção do arroz de terras baixas e altas, sem irrigação artificial (sequeiro). A área mundial do cultivo de arroz nestas condições corresponde a cerca de 38% e contribui com 21% da produção mundial (VIKRAM et al., 2011; DIXIT et al., 2012). No Brasil, a área de produção em sequeiro do arroz equivale à área irrigada (CONAB, 2012), na África 80% das regiões produtoras do arroz são áreas sob sequeiro (MOHAPATRA, 2009) e na Ásia regiões baixas e altas em sequeiro de cultivo do arroz, experimentam estresses por seca de variada intensidade em diversos estágios do ciclo da cultura (DIXIT et al., 2012). Estimativas globais da perda de produção por consequências da seca chegam a ser de 18 milhões de toneladas anuais (KAMOSHITA et al., 2008).

A demanda mundial do arroz continua a crescer e o uso de áreas secas em zonas áridas e semi-áridas das regiões tropicais é uma oportunidade no atual cenário de mudanças climáticas (SHESHSHAYEE et al., 2011). Para obter altas produtividades, os programas convencionais de melhoramento têm tido limitações na geração de novas cultivares tolerantes a seca (RAMYA et al., 2010; SERRAJ et al., 2011). Dependendo do estágio, tempo e severidade, as plantas adotam diferentes mecanismos para escapar ao estresse da seca (VINOD, et al., 2006). Progressos têm sido obtidos na detecção de locos de características quantitativas (QTL's) conferido tolerância à seca em terras baixas e irrigadas (MOUMENI et al., 2011), mas o fraco conhecimento dos mecanismos de herança genética e a falta de técnicas eficientes para a seleção de materiais genéticos tolerantes à seca têm retardado a obtenção de novas cultivares para situações de déficit hídrico (BABU, 2010).

A emergência e desenvolvimento do sistema radicular são influenciados por reguladores de crescimento em especial auxinas, que regulam a emergência do sistema radicular lateral, ajudam no seu crescimento e desenvolvimento e favorecem a melhoria da qualidade do sistema radicular (Mauad, 2004)

Tolerância à seca refere-se à habilidade da planta de viver, crescer e se reproduzir satisfatoriamente com limitado fornecimento de água ou durante um período longo de déficit hídrico (FREURY et al., 2010). Analisar a tolerância a

estresse por seca durante a fase de germinação e ou na fase de plântula em condições controladas é uma forma de seleção de cultivares, com economia de tempo e livre de vários fatores do solo, condições do clima, práticas agronômicas e de forma rápida e precisa.

Para avaliar a tolerância à seca em condições controladas, em vários estudos tem se usado o polietileno glicol (PEG), um polímero osmótico, não iônico, inerte, de cadeia longa, solúvel em água e disponível em vários pesos moleculares, que reduz e mantém a pressão osmótica da solução, tendo a vantagem de não ser absorvido pelas raízes, sendo por isso um marcador confiável para testar a tolerância dos genótipos a seca (LÓPES, ARANDA e GIL, 2009; AHMADLOO, TABARI e BEHTAR, 2011; CHUTIA e BORAH, 2012). O PEG cria um meio para quantificar em condições controladas o estresse por seca, semelhante ao enfrentado pelas plantas em condições naturais de cultivo (NASER, 2009).

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Quantificar o perfil transcricional de cinco genes, que estão envolvidos no controle do desenvolvimento do sistema radicular, os quais respondem a níveis de auxina e avaliar modificações nas características morfológicas em genótipos de arroz sob o estresse por seca em hidroponia usando o agente osmótico polietileno glicol.

2.1.1 Objetivos Específicos

- Quantificar a expressão transcricional de cinco genes que regulam o sistema radicular, durante a fase vegetativa V4;
- Analisar a tolerância à seca de genótipos do arroz em hidroponia, usando o polietileno glicol como agente estressante;
- Relacionar características agronômicas com o perfil de expressão gênica.

Hipóteses

Genótipos de arroz que apresentam diferenças fenotípicas para caracteres do sistema radicular apresentam diferenças na expressão de genes, que respondem a auxinas.

Genótipos de arroz que apresentam diferenças fenotípicas para caracteres do sistema radicular apresentam diferenças na resposta ao estresse por seca

3 Revisão de Literatura

3.1 Seca e sua importância no Arroz

Estresses abióticos podem limitar a produtividade das culturas e a disponibilidade de terra para a agricultura, por isso há necessidade de compreender como as plantas se adaptam a essas condições adversas, com o objetivo de promover um melhoramento genético mais eficiente. Estresses abióticos como seca, salinidade, temperaturas extremas entre outros, geralmente reduzem a produtividade das plantas. Estima-se que se obtém cerca de 25% do potencial de uma cultivar, devido aos efeitos dos estresses ambientais (SORRELLS et al., 2011).

O estresse induzido pelo déficit de água, a seca, é um problema para cerca de 45% da área geográfica mundial, e é um dos maiores limitantes para a produtividade agrícola (AHMADI et al., 2012). Tal estresse induz nas plantas uma série de respostas complexas, desde a percepção do estresse, transdução de sinais e manifestação de respostas a nível celular, fisiológico e do desenvolvimento (BABU, 2010). A seca causa alterações metabólicas, que vão desde a limitação na síntese de metabólitos especializados a grandes alterações na composição de metabólitos primários, bem como muitas outras respostas fisiológicas e moleculares. Durante o estresse por seca existe uma necessidade osmótica de acúmulo dentro das células para a retenção da água e manutenção da pressão de turgor positiva (VERSLUES e JUENGER, 2001).

À seca leva primeiro a uma rápida redução do crescimento da parte aérea, e em menor extensão do sistema radicular. Esse fenômeno deve-se a limitações na condutividade hidráulica para a absorção da água, o que reduz a quantidade de água para o aumento de volume e expansão das células (LU e NEUMANN, 1999), fenômeno acompanhado por fechamento parcial ou completo dos estômatos, associado à redução da transpiração e da absorção de dióxido de carbono para a fotossíntese. Nessa condição a planta perde água dos tecidos, reduz o seu crescimento e desenvolvimento (reduz número de filhotes, altura da planta, número de grãos por panícula, peso de grãos, etc.), acúmulo de ácido abscísico, decréscimo

no potencial da folha para realizar a fotossíntese (VAJRABHAYA et al., 2001; ZOMBORI et al., 2008), acúmulo de açúcares solúveis e produção e acúmulo de aminoácidos livres, especialmente a prolina; (VAJRABHAYA et al., 2001; MOSTAJERAN e RAHIMI-EICHI, 2009). Se o estresse persistir, este leva aos seguintes processos: interrupção da fase reprodutiva; senescência prematura das folhas; murchamento; dessecação e morte da planta (NEUMANN, 2008). Em condições de sequeiro, o déficit hídrico, com aumento de climas áridos devidos às mudanças climáticas, pode vir a ser um limitante primário na produtividade agrícola (DATTA et al., 2012).

No arroz, o efeito da seca varia de acordo com a cultivar, grau do estresse, duração, coincidência com certos estágios de desenvolvimento (LANCERAS et al., 2004), severidade, podendo resultar em uma situação catastrófica crônica inerente ao estresse, o qual requer diferentes mecanismos de competição, estratégias de adaptação e objetivos de melhoramento (SERRAJ, 2011 e WAN et al., 2011). A seca tem sido considerada como um dos mais severos fatores abióticos que afetam a produção do arroz (ALLAH et al., 2010; WAN et al., 2011), mais importante que outros estresses como a salinidade, submersão, pragas e doenças (LANG e BAUU, 2008). O arroz é também sensível à seca durante o período reprodutivo, a chamada seca terminal, o que leva a vários níveis de esterilidade (LANG e BUU, 2008; MUTHURAJAN et al., 2010), redução do rendimento de grãos por até 80% (YANG et al., 2004), dependendo da duração e severidade. Ainda, este estresse ocorre frequentemente combinado com calor e estresse oxidativo (ZOMBORI et al., 2008).

A resposta da planta à seca é complexa e reflete a integração dos efeitos do estresse em todos os níveis de organização no espaço e no tempo (MAJEED et al., 2011). Cerca de 50% da produção mundial do arroz é afetada pela seca (MOSTAJERAN e RAHIMI-EICHI, 2009), é das principais restrições para cerca de 63,5 milhões de hectares semeados anualmente nas regiões da África, América Latina, sul e sudoeste da Ásia (ALLAH et al., 2010). Mesmo regiões mais produtivas em algumas fases do ciclo da cultura são afetadas pela seca. Na safra 2011/2012, o cultivo de arroz no Brasil registrou uma redução da área do cultivo, sendo que um dos motivos foi à falta de água nos reservatórios (CONAB, 2012).

A produtividade do arroz nas áreas que dependem da precipitação e/ou irrigação superficial está diretamente ligada ao total da queda pluviométrica, mas

mesmo quando as quantidades anuais forem adequadas, estados curtos de estresse durante uma longa separação entre dois períodos de precipitação resultam em grandes perdas econômicas (WANG et al., 2005; SERRAJ et al., 2011).

A produtividade em condições de limitado fornecimento de água pode ser determinada por resposta de fatores genéticos, tolerância e ao uso eficiente da água. O uso eficiente da água não é sinônimo de tolerância a seca e alta produtividade em condições de estresse por seca (BLUM, 2009).

3.2 Bases genéticas no melhoramento para a seca

Tolerância à seca é um caráter de herança quantitativa, com um fenótipo complexo e controle genético múltiplo (FLEURY et al., 2010). O lento progresso no desenvolvimento de cultivares tolerantes à seca reflete a falta de métodos específicos para selecionar um grande número de genótipos necessários para o melhoramento a déficit hídrico (KAMOSHITA et al., 2008). Tanto a genética clássica e a genética reversa oferecem oportunidade para aprofundar nosso conhecimento sobre a base genética da tolerância em plantas, sendo que essa informação pode ser usada para o melhoramento assistido por marcadores moleculares (MAS). Desenvolver cultivares tolerantes à seca é a forma mais eficaz para minimizar a perda de rendimento durante períodos de déficit hídrico. A introdução de um único gene numa cultivar de interesse pode não levar a tolerância à seca, pois requer a expressão de vários genes ao mesmo tempo (HARDY, 2010).

A variação genética é a base para o melhoramento, sendo que em busca da alta produtividade os melhoristas normalmente trocam germoplasma. Contudo, a tendência do uso de genótipos elites similares em vários programas de melhoramento de arroz levou ao estreitamento da base genética, o que faz com que muitas cultivares sejam vulneráveis a diversos estresses ambientais (HU et al., 2011). Uma forma de solucionar o problema seria a transformação de plantas com fatores de transcrição responsivos ao estresse, que sejam capazes de regular a expressão de diversos genes envolvidos na proteção contra a seca (HARDY, 2010). Promotores constitutivos utilizados em plantas transgênicas são eficazes na produção de níveis de expressão elevados de genes de interesse. No entanto, a expressão gênica excessiva pode ter efeitos prejudiciais sobre características

fisiológicas e morfológicas da planta durante condições normais de crescimento (HARDY, 2010). Genes responsivos aos estresses são geralmente regulados pela interação entre fatores de transcrição e cis-elementos localizados na região promotora dos genes alvos (REDILLAS et al., 2012).

Apesar da importância do sistema radicular na tolerância ao déficit hídrico, pouco se sabe sobre a sua base genética (ORMAN et al., 2011). Em cereais, ainda são poucos genes descritos, que regulam o desenvolvimento das raízes (COUDERT et al., 2010). A busca de QTL's é das principais áreas de pesquisa da variação do sistema radicular, que tem sido dificultado pela forte resposta do sistema radicular as condições ambientais (DE DORLODOT et al., 2007). Geneticistas reportam vários genes de herança aditiva e poligênica em muitas características das raízes tais como: comprimento máximo, diâmetro, peso seco, razão entre raízes e a parte aérea, densidade da massa radicular em diferentes profundidades de camadas de solo (SHESHSHAYEE et al., 2011).

3.3 Fontes para a Tolerância à Seca

A redução na produção de alimentos causada pelos fatores abióticos (seca, salinidade, temperaturas extremas, etc.) e o aumento da população leva os cientistas da área vegetal a uma revolução para genes, seguindo de uma revolução verde (HUSSAIN, 2011). A abordagem da descoberta de genes e sua expressão para o entendimento da tolerância a seca é uma questão complexa, em termos de dar sentido a esse número de genes responsivos, expressos em toda a planta em diversas fases de crescimento e em tempos variados. Uma larga variação genotípica na tolerância à seca continua existir dentro de *pools* (grupos gênicos) do arroz cultivado e suas relativas formas selvagens (SERRAJ et al., 2011). Progressos no melhoramento e na identificação de características, para tolerância à seca, irão resultar na seleção de variedades tradicionais, melhoradas e acessos selvagens, que tem uma alta adaptação a seca ou características que possam contribuir para o efeito (SERRAJ et al., 2011).

Num estudo comparando genótipos de arroz de porte alto e baixo obteve-se uma maior resistência ao estresse provocado pela seca nas cultivares de porte baixo, que resultou da transferência de assimilados para as panículas e também

pelo seu ciclo de cultivo curto (ABARSHAHR, 2011); Um estudo estimando as necessidades hídricas na cultura de arroz verificou que diversas cultivares diferem na resposta aos variados níveis de estresse (ALI et al., 2005). Um simples retrocruzamento poderá resultar em alta frequência de segregação com alelos desejáveis, quando num cruzamento for usada como genótipo recorrente uma linhagem adaptada (BABU, 2010).

A aplicação das atuais abordagens para melhorar a produtividade de culturas, em situações ambientais adversas, requer um bom entendimento dos mecanismos envolvidos durante a resposta da cultura a estresses. Vários genes responsivos a seca também são responsivos a salinidade (ZHOU, 2007). Uma vez que o estresse abiótico é um fenômeno complexo, informação sobre os genes envolvidos nesse processo é de vital importância. O acompanhamento de genes candidatos, responsáveis pela tolerância a estresses, através de sequências similares e estudos funcionais, está se tornando cada vez mais importante para MAS. Genes esses que servem como recursos úteis para estudos em genômica comparativa e podem ser usados como marcadores moleculares ou na transformação genética para desenvolver cultivares desejadas (ROORKIWAL e SHARMA, 2012).

Estudos genômicos, função e estrutura de sequências específicas, acompanhados por tecnologias de geração de grande volume de dados baseadas em *DNA*, são considerados chaves para compreender-se a associação gene-fenótipo em nível de sequências e genes candidatos (CAMPOS et al., 2004). Várias regiões do genoma foram identificadas como responsivos a seca, como por exemplo, em trabalhos de WANG et al., (2005) e WANG et al., (2007).

3.4 Sistema radicular no melhoramento a seca

A tolerância de uma cultura à seca está essencialmente ligada à capacidade de acesso da água no solo e seu uso na produtividade (Munns et al., 2010). As raízes são o principal órgão na planta para absorção da água e nutrientes (GOWDA, 2011, YANG et al., 2012). Sendo que os recursos no solo estão distribuídos de uma forma heterogênea, a distribuição espacial das raízes vai determinar a habilidade da planta para o seu uso eficiente (LYNCH, 1995; De DORLODOT et al., 2007).

Pequenas mudanças no sistema radicular podem ter efeitos significativos na produtividade (MENG et al., 2010).

A importância do crescimento do sistema radicular para manter a produtividade das culturas está sendo cada vez mais reconhecida e com crescente interesse para os melhoristas de plantas (BENGOUGH et al., 2011). Muitas das características, morfológicas e fisiológicas, de tolerância à seca são expressas ao nível das raízes. Características do sistema radicular estão relacionadas com tolerância à seca, mas são de difícil avaliação, pois envolvem métodos destrutivos e de baixa reprodutibilidade. O comprimento, a densidade, o número de raízes espessas são características importantes para a absorção da água no solo em condições de déficit hídrico (LILLEY e FUKAI, 1994). O incremento da razão raiz-parte aérea pode facilitar a manutenção do balanço da água em situações de estresse (ZOMBORI et al., 2008; REYNOLDS e TUBEROSA, 2008).

Ao nível molecular a expressão de genes envolvidos no crescimento e desenvolvimento do sistema radicular pode ser modificado via caminhos de sinalização dependência-ABA ou vias independentes do ABA (Zambori et al., 2008).

Muitos dos esforços para incrementar tolerância à seca através de MAS tem sido dedicados ao uso de QTL's relacionados ao sistema radicular, que contribuem para a tolerância a déficit hídrico. Em longo termo o aumento do desenvolvimento do sistema radicular restabelece o regime hídrico (ZOMBORI et al., 2008). O entendimento de características em plantas, que estão associados com a arquitetura e plasticidade em condições de déficit de água e a sua manipulação irão ajudar no nosso conhecimento sobre tolerância à seca (SOREN et al., 2010).

As raízes mostram um alto grau de plasticidade no desenvolvimento, particularmente em resposta a água e nutrientes. Embora essa plasticidade esteja sob controle genético de um grau variável, já foram identificados vários QTL's para características das raízes do arroz e milho (BENGOUGH et al., 2011), mas nenhum é efetivo para todas as condições agronômicas (COURTOIS et al., 2009).

O crescimento do sistema radicular é fortemente influenciado pelas características físicas, químicas e biológicas do solo (BENGOUGH et al., 2011). Dessa forma um sistema radicular profundo, capaz de extrair a água adicional, terá um impacto positivo na produtividade em áreas propensas à secas, onde a água residual está em camadas profundas (TUBEROSA e SALVI, 2006). Sistema

radicular profundo ou denso, o qual promove maior absorção da água em condições de estresse por seca, está positivamente correlacionado com o genótipo e não com o uso eficiente da água (BLUM, 2009). Numa situação de seca o crescimento das raízes é importante para recuperar a eficiência da planta na absorção da água (NEUMANN, 2008 e BENGOUGH, 2010). A maior resposta adaptativa da planta em condições de seca ao nível celular, com efeitos comprovados na produtividade é o ajuste da pressão osmótica (BLUM, 2005). Duas das grandes funções são: permitir a manutenção do turgor das folhas para o mesmo potencial da água, dessa forma apoia a condutância estomatal em condição de baixo fornecimento de água e melhorar a capacidade da raiz para a absorção da água. O aumento da biomassa em condições de estresse da seca é obtido em primeiro lugar pela maximização da absorção da água disponível para a transpiração estomatal (BLUM, 2009).

A elevada produção de matéria seca, de cultivares de arroz tolerantes à seca, não é devido ao uso eficiente da água, mas sim a capacidade de manter a transpiração, a qual é suportada por um sistema radicular profundo (BLUM, 2009). A condutividade hidráulica da raiz tende a diminuir em condições de déficit de água (NEUMANN, 2008; LU e NEUMANN, 1999), no entanto o aumento da condutividade hidráulica na raiz pode levar a redução do contato solo-raiz, ou facilitar o efluxo de água indesejada se o potencial de água no solo seco diminuir para valores abaixo do potencial na raiz (NEUMANN, 2008).

Num estudo do efeito da semeadura precoce e tardia em genótipos de arroz, conclui-se existir uma correlação positiva entre muitas características do sistema radicular e da parte aérea com as características da produção (ADEWUSI e NASSIR, 2011). O crescente aumento sobre o entendimento das interações entre o sistema radicular e tolerância à seca terá um impacto positivo na segurança alimentar (GOWDA, 2011). Qualquer progresso genético para a tolerância a fatores abióticos será duradouro, pela crescente utilização eficiente dos recursos, água e nutrientes no solo, nos sistemas de produção (DE DORLODOT et al., 2007).

3.5 Marcadores moleculares e melhoramento genético para a seca

Desde o início do uso de marcadores, associados a uma característica, foi estabelecido inequivocamente que MAS reduz ou elimina a dependência de fatores

específicos de um ambiente durante a fase de seleção, o maior obstáculo em melhoramento convencional de características influenciadas por seca (REYNOLDS e TUBEROSA, 2008). Convencionalmente, os melhoristas de plantas usam condições de limitado fornecimento de água, para explorar a seleção à tolerância por seca em plantas cultivadas, para os componentes da produtividade. Esses esforços não tem tido efeitos desejados devido ao fraco conhecimento da base genética da tolerância à seca e a sua correlação negativa com a produtividade.

Avanços recentes na tecnologia permitem o desenvolvimento de várias ferramentas e abordagens genômicas, para à identificação da tolerância a seca, e características que respondem a diversos estresses em muitas espécies vegetais (VARSHNEY et al., 2005 citado por ROORKIWAL e SHARMA, 2012). Já foram detectados vários locos de características quantitativas através de análises genéticas moleculares (FUKAO, 2011).

O desenvolvimento de cultivares tolerantes à seca e que usem eficientemente a água é uma preocupação global (BARNABÁS et al., 2008), comparado com o alto custo da instalação de sistema de irrigação (BARNIER et al. 2008). A produtividade em situação limitada de fornecimento de água é determinada por fatores genéticos que controlam a alta produtividade ou a tolerância à seca (BLUM, 2005). Para a melhoria da produtividade agrícola no futuro, é necessário o entendimento molecular da expressão dos genes relacionados com a tolerância à seca (VAJRABHAYA et al., 2001). Identificando regiões do genoma que contribuam para a tolerância à seca, vai ajudar na obtenção de cultivares de arroz adaptadas a regiões de sequeiro, através de MAS (LANCERAS et al., 2004). O desenvolvimento de cultivares tolerantes à seca é uma forma eficiente para estabilizar e incrementar a produção do arroz (LI et al., 2004; GORANTLA, 2005; WAN, et al., 2011; DATTA, 2012). Adicionalmente marcadores moleculares oferecem um potencial para reunir características quantitativas no mesmo genótipo, com muita precisão, e com poucas perdas não intencionais, em poucos ciclos de seleção (SARREJ et al., 2011). MAS pode ser usado para monitorar a presença ou ausência de características de interesse na população a gerar e pode ser combinada com o melhoramento convencional (SOREN et al., 2010). Ao nível molecular a percepção dos estímulos ambientais e a subsequente ativação de resposta de defesa requerem uma cascata complexa de sinalização (TAKEUCHI et al., 2011).

Do ponto de vista de melhoramento, um importante entrave em muitos estudos de QTL's é que a seleção de linhas genitoras é baseada em diferenças em QTL's e não no seu potencial agrônomico, os quais muitas vezes apresentam baixa herdabilidade ou não estão correlacionados com alta produtividade (BARNIER et al., 2008). Embora essa abordagem maximize a possibilidade de identificação de QTL's para a característica alvo, isso não garante qualquer progresso em termos de desempenho no campo, quando o melhor alelo parental do QTL é introgridido nas melhores cultivares. Na verdade esses alelos podem já estar presentes nas linhas genitoras, que os melhoristas usam para desenvolver novas populações segregantes. Além de que os métodos de análise de QTL's atualmente adotados e o tamanho de indivíduos no mapeamento são na maior parte dos casos inadequados para a detenção eficaz de epistasia de QTL's. Um exemplo de sucesso dos QTL's é submergência 1 (SUB1) localizado no cromossomo nove, que é o gene *SUB1A*, o maior determinante para a tolerância a submergência (FUKAO et al., 2011), outro exemplo é o *Pup1* que confere tolerância à deficiência de fósforo em condições de cultivo japonês (CHIN et al., 2010)

De todos os estresses abióticos que limitam a produtividade, a seca é tida como a mais devastadora e mais complicada para os esforços dos melhoristas. Esforços tendentes a melhorar para tolerância à seca têm sido impedidos pela má compreensão da base genética e fisiológicas do rendimento em situações de deficiência de água. Apesar dos avanços tecnológicos, a contribuição do MAS no melhoramento para a geração de cultivares tolerantes a seca, tem sido insignificante (GORANTLA, 2005; TUBEROSA e SILVI, 2006). Sendo um grande desafio para os melhoristas moleculares lidar com características aditivas e poligênicas (REYNOLDS e TUBEROSA, 2008).

Sendo o fenótipo um resultado da interação entre o genótipo e o ambiente, a avaliação do genótipo desejado é muito dependente das condições ambientais. Há muitas dificuldades inerentes à seleção de arroz tolerante à seca para o cultivo em sequeiro de terras baixas: o acoplamento entre os processos da fotossíntese e a transpiração quando a água é limitada, daí a dificuldade em aumentar a matéria seca e a produção; A interação entre disponibilidade de nutrientes e estresse hídrico, mesmo com pequeno déficit da disponibilidade de água; a falta de compreensão dos mecanismos de tolerância à seca; a importância da fenologia e

potencial produtivo como componentes do rendimento em condições de limitado fornecimento de água, que substituem a eficácia das características da tolerante a estresse por seca (KAMOSHITA et al., 2008); complexidade do controle genético da tolerância à seca para a produção (multigênico, baixa herdabilidade, maior interação entre genótipo vs ambiente), causando inconsistência no potencial produtivo em diferentes ambientes e, portanto necessitando de mais testes em diferentes locais e anos (KAMOSHITA et al., 2008 e FLEURY et al., 2010), os diferentes tipos de seca e diferentes características da planta, que podem ser requeridos para cada tipo de seca (KAMOSHITA et al., 2008). Diferentes cultivares e níveis de seca, bem como sua interação resultam em diferentes respostas (ALI et al., 2005).

A seleção direta para seca é dificultado pela imprevisibilidade dos eventos da seca, fazendo com que a pressão de seleção seja inconsistente e contraditória entre diferentes anos (ALLAH et al., 2010), além de que as características do sistema radicular, fase vegetativa e reprodutiva variam de acordo com a estação e área de cultivo (ADEWUSI e NASSIR 2010). Para culturas anuais, como o arroz, em ambientes semi-áridos, com invernos suaves e verões quentes, uma estratégia é o desenvolvimento de cultivares de ciclo curto, tempo reduzido de floração e maturação de grãos, permitindo que as plantas usem a água disponível antes desta ser perdida. Outra estratégia seria o desenvolvimento de cultivares de crescimento lento e semear cedo (MANNUS et al., 2010). Programas de melhoramento precisam combinar diversos aspectos muito mais que introduzir tolerância à seca, como variedades tolerantes com alta produtividade em estações favoráveis, alta qualidade e resistência a doenças e pragas em uma única cultivar para que sejam adotadas pelos agricultores (SERRAJ et al., 2011).

3.6 Genes do sistema radicular regulados por auxinas

O arroz tendo sido eleita uma espécie modelo por apresentar um genoma relativamente pequeno, 389 Mbp, quando comparado com outros cereais, um número maior de sequências de *cDNA*, teve o seu genoma totalmente sequenciado, com o término em 2005 do Projeto Internacional de sequenciamento do genoma do arroz (*O. sativa*) subsp. *javanica* cv. Nipponbare, (IRGSP, 2005), distribuído nos 12

pares de cromossomas. Apresenta um genoma rico em guanina-citosina (G-C) (DELSENY et al., 2001).

A auxina desempenha um papel crítico na regulação de várias respostas da planta como: alongação da célula; divisão celular, fotoperiodismo, gravitropismo, iniciação radicular e dominância apical (DU et al., 2011). Os genes regulados por auxina dividem-se em primários, aqueles que respondem, quando ativados por fatores de transcrição preexistentes e os secundários, que precisam da síntese proteica de *novo* (TAIZ & ZEIGER, 2004). Os primários dividem-se em genes que regulam o crescimento e desenvolvimento, agrupados em três grandes classes: *Aux/IAA*, *SAUR* e *GH3* (JAIN et al., 2005) e os responsáveis pela resposta ao estresse: família que codificam as *glutathionas S-transferases* e os que codificam o ácido ACC, enzima chave na biossíntese do etileno (TAIZ & ZEIGER, 2004). A auxina é crucial no desenvolvimento e arquitetura das raízes (WANG, 2011).

As auxinas em alta quantidade promovem a formação de raízes laterais e adventícias, embora o alongamento da raiz primária seja inibido por concentrações maiores do que 10^{-8} M, através da produção do etileno, inibidor do crescimento da raiz. A auxina estimula as células do pericarpo a se dividirem. As células em divisão gradualmente formam o ápice radicular e a raiz lateral cresce através do córtex e da epiderme. A auxina favorece também a melhoria da qualidade do sistema radicular (MAUAD, 2004), leva a síntese de ácido ribonucleico (RNA), o qual intervém na formação dos primórdios foliares, estimulando o desenvolvimento e crescimento de novas raízes, (ONO et al., 1992).

A importância que a auxina desempenha no desenvolvimento da raiz é evidente, apesar de ainda não se conhecer muitos dos mecanismos moleculares. Evidências experimentais mostram a influência da alteração de auxinas no número de raízes, seja por perturbação de níveis internos ou da aplicação exógena de auxinas (INUKAI, 2005; GRUBER et al., 2011). Em *Arabidopsis*, os genes *AUX/IAA*, que codificam reguladores negativos de sinalização da auxina produziram fenótipos com reduzida ou nenhuma raiz. Proteínas, que funcionam como sinalizadores positivos da *AUX/IAA* regulam a expressão gênica interagindo com os fatores de respostas de Auxinas (*ARF*) (INUKAI et al., 2005). Forçando ou reduzindo a biossíntese de *IAA*, através da superexpressão ou repressão de *OsYCCA1*, gene da

família *GH3*, resulta em flutuações de nível do *IAA*, produzindo anomalias graves no caule, raiz, desenvolvimento de hastes e leva ao nanismo em plantas transgênicas do arroz (ZHANG, 2009). A perda de função do mutante de *Arabidopsis* *ARF8* apresenta aumento na formação de raízes laterais e a superexpressão de *ARF8* em *Arabidopsis* transgênicas inibe a formação de raízes laterais (TIAN et al., 2004 citado por INUKAI et al., 2005).

O crescimento da raiz primária é sustentado pela divisão celular dentro do meristema da raiz, o que garante a produção contínua de novas células, que se alongam e se diferenciam. A maior componente da arquitetura das raízes fibrosas em muitos cereais, incluindo o arroz são as raízes adventícias, que fazem parte do desenvolvimento normal do sistema radicular submerso em água. O gene *OsCAND1* da família das *Aux/IAA* é importante para a transdução de sinalização da auxina, influenciando a divisão celular e alongamento. Em *Arabidopsis*, seu homólogo *CAND1*, considera-se que esteja envolvido na estabilização de *AUX/IAAs*, na sinalização com auxina e na perda da função resultante da resistência à auxina. Plântulas de arroz mutante *Oscand1* apenas sobreviveram duas semanas, indicando o importante papel que este desempenha (WANG et al., 2011).

A formação de raízes adventícias em mutantes *cr14* e *Osgnom1* é suspensa, e se verifica redução de raízes laterais, do gravitropismo e do transporte polar de auxina. O padrão da expressão dos genes *OsPIN2*, *OsPIN5b* e *OsPIN19* são alterados em mutantes *Osgnom1* e a expressão padrão de *CRL4* coincide com o padrão de expressão de *OsPIN1*, indicando que o transporte polar de auxina é mediado por *CRL4/OsGNOM1* e é requerido para a iniciação e desenvolvimento das raízes adventícias, e em menor grau para a diferenciação das raízes laterais (LIU et al., 2009).

O papel de regulação da auxina em raízes adventícias foi também evidenciado em mutantes *arl1/cr1* que também são desprovidos de raízes adventícias, com poucas raízes laterais e mostram uma resposta anormal ao gravitropismo (INUKAI et al., 2005 e COUDERT et al., 2010).

Plantas transgênicas superexpressando *OsIAA1*, são menos sensíveis a auxina, que os genótipos selvagens, mas essa resposta não está relacionada com o

aumento da concentração da auxina. Plantas superexpressando *OsIAA1*, tem um decréscimo do número das raízes adventícias, maior comprimento das raízes seminais e maior comprimento de raízes laterais, também resulta na diminuição do comprimento da planta e modificações da arquitetura (SONG et al., 2009).

Nos seus estudos GE et al., (2004) observaram que *mRNA* de *OsRAA1* estava presente nas zonas em crescimento rápido. A partir desse estudo sugeriram que *OsRAA1* está relacionado com a morfologia e desenvolvimento do sistema radicular. A sua superexpressão causa o incremento do *IAA*, o que resulta no retardamento do geotropismo, também causa a redução do crescimento das raízes primárias e incremento de raízes adventícias e laterais.

A abordagem da descoberta de genes e sua expressão é uma questão complexa em termos de dar sentido a esse número de genes responsivos expressos em toda a planta em diversas fases de crescimento e em tempos variados. Para os próximos anos há previsão de perda de vastas áreas devido aos estresses abióticos como: seca, a salinidade, etc. O processo de adaptação a estresses ambientais é completo pela regulação da expressão gênica. A forma mais comum são estudos ao nível de *mRNA*, que podem ser realizado usando várias técnicas como o microarranjo, quantificação em *qPCR*, estudo do polimorfismo de sequenciamento de *cDNA* (Yan, 2005).

4 Material e Métodos

4.1 Descrição Geral dos Experimentos

Foram selecionados seis genótipos (tab. 1) com sistemas radiculares contrastantes segundo resultados obtidos por Mistura (2008), três com sistema radicular desenvolvido e três com um sistema radicular pouco desenvolvido pertencente às subespécies indica e japônica, dos quais se realizaram cruzamentos dialélicos. Para a avaliação da tolerância à seca foram selecionados dois híbridos e para a expressão relativa dos genes do sistema radicular foram usadas cinco combinações recíprocas, totalizando dez híbridos (tab. 2). Todas as atividades experimentais foram realizadas nas instalações do Campus Campão do Leão da UFPel.

Tabela 1 Genótipos contrastantes dentro de subespécies segundo os resultados de caracterização morfologia em hidroponia, por MISTURA (2008)

Genótipo	Sistema Radicular	Subespécie	DF (50%)
(1) SCS BRS 112 (43)	PDes.	Indica	125
(2) Arroz de Sequeiro (03) (35)	Des.	Japônica temperado	90
(3) Ligeirinho	Des.	Indica	74
(4) BRS Vencedora (34)	PDes	Japônica tropical	113
(5) Farroupilha (4)	PDes.	Japônica temperado	122
(6) BRS Colosso (28)	Des.	Japônica tropical	94

Onde: DF (50%) – Dias floração de 50% das plantas.

Des. – Desenvolvido

PDes. – Pouco desenvolvido;

4.2 Cruzamentos

Os cruzamentos dialélicos foram realizados durante o período de verão de 2011/2012 na casa de vegetação. Para cada combinação foram emasculadas cerca de 20 panículas, em média de 30 flores por panícula, com bomba de sucção, as quais depois foram encapuchadas com envelope de papel. A emasculação foi realizada no período da manhã até as 9 horas, para evitar que ocorresse a autopolinização. A fertilização, hibridação, foi realizada entre o período das 12h 30min - 14h, prestando-se atenção para evitar a contaminação por pólen de plantas não desejadas, após a fertilização foram de novo encapuchadas com envelope. Na tabela 2, as combinações selecionadas para o experimento.

Tabela 2 Cruzamentos selecionados para análise molecular e caracterização quanto à tolerância ao estresse por seca

Genótipo materno	Genótipo paterno	Designação	Experimento
Arroz de Sequeiro	BRS Ligeirinho	H.2x3	Ex.Relativa
BRS Ligeirinho	Arroz de Sequeiro	H.3x2	Ex.Relativa
BRS Vencedora	SCS BRS 112	H.4x1	Ex.Relativa
SCS BRS 112	BRS Vencedora	H.1x4	Ex.Relativa
BRS Colosso	SCS BRS 112	H.6x1	Ex.Relativa
SCS BRS 112	BRS Colosso	H.1x6	Ex.Relativa
Forroupilha	SCS BRS 112	H.5x1	Ex.Relativa
SCS BRS 112	Forroupilha	H.1x5	Ex.Relativa
BRS Colosso	BRS Ligeirinho	H.6x3	Ex.Relativa
BRS Ligeirinho	BRS Colosso	H.3x6	Ex.Relativa
Farroupilha	Arroz de Sequeiro	H.5x2	Caract. Morf.
BRS Colosso	Farroupilha	H.2x5	Caract. Morf.

Onde: Ex. Relativa – genótipos usado para quantificação relativa

Caract. Morf. – genótipos usados na caracterização morfológica

4.3 Extração de RNA

Para extração de RNA foram coletadas raízes de plântulas na fase vegetativa V4, cultivadas em hidroponia nas mesmas condições de cultivo, das plântulas usadas como controle para a caracterização morfológica, com três repetições e 8 plântulas por repetição, e usou-se o reagente *Pure Link™ Plant RNA Reagent (Invitrogen™)*. Maceraram-se os tecidos radiculares em nitrogênio líquido e transferiu-se para tubos de eppendorf de 1,5mL e adicionou-se 500µL de reagente *Pure Link™ (Invitrogen™)*. Homogeneizou-se a mistura em aparelho vortex e incubou-se por 5 minutos a temperatura ambiente (~25°C), colocando os tubos na

posição horizontal. Centrifugou-se o homogenato a 12,000xg por 2min, em temperatura ambiente. Transferiu-se o sobrenadante para um novo tubo de eppendorf livre de RNA de 1,5mL, adicionou-se 0,1mL de cloreto de sódio à 5M e misturou-se, em seguida adicionou-se clorofórmio gelado a fim de promover a solubilização dos lipídeos. Misturou-se através de inversão manual do tubo por 15 segundos. Centrifugou-se as amostras a 4°C por 10 minutos a 12.000xg, para separar as fases e transferiu-se 500ml da fase superior aquosa para um novo tubo livre de RNase. Adicionou-se volume igual de isopropanol, misturou-se e se deixou a temperatura ambiente por 10 minutos. Depois centrifugou se a 12.000xg por 10 minutos a 4° C. Verteu-se o sobrenadante com cuidado para não se perder o *pellet* e adicionou-se 1mL de álcool a 75%. Centrifugou-se por 1 minuto a 12.000xg e verteu-se o liquido com cuidado para não perder-se o *pellet*. Adicionou-se 25mL de água livre de RNase e guardou-se a -70° C até o momento da síntese de *cDNA*.

4.4 Síntese do *cDNA*

Para síntese de *cDNA* o RNA total foi tratado com *DNase I* (*Invitrogen*TM) e transcrita reversamente utilizando-se o kit comercial *SuperScript*TM *III First-Strand Synthesis System for RT-PCR* (*Invitrogen*TM), para tal foram realizados os seguintes passos: Em um tubo livre de RNases adicionou-se 2,0 µL de extrato de RNA previamente diluído, 1,0 µL *DNase I* (1 U.µL⁻¹), 1,0 µL de *DNase I reaction buffer* 10X [200 mM Tris-HCl (pH 8,4), 20 mM MgCl₂, 500 mM KCl], 6,0 µL H₂O e submeteu-se a mistura a 25°C por 15 min. Adicionou-se mais 1,0 µL de EDTA (25 mM; pH 8,0) e manteve-se a 65°C por 10 min. Posteriormente, colocou-se 1,0 µL de *Oligo DT* (50 µM), 1,0 µL de *DNTP Mix* (10 mM) e submeteu-se a 65°C por 5 min, seguido de 1 min a 0°C. Adicionou-se depois 4,0 µL de *RT Buffer* 5x, 4,0 µL de MgCl₂ (25 mM), 2,0 µL de DTT (1,4-*Dithiothreitol*) (0,1 M), 1,0 µL de *RNAse OUT*TM (40 U.µL⁻¹) e 1,0 µL de *SuperScript*TM *III* (200 U.µL⁻¹) submetendo-se a 50°C por 50 min, seguido de mais 5 min a 85°C. Por fim adicionou-se 1,0 µL de *RNAse H* (2 U.µl⁻¹) submetendo-se a 37°C por 20 min, completando a reação de síntese de *cDNA*.

A qualidade dos *cDNAs* foi avaliada através de uma reação de amplificação com o gene constitutivo *GAPDH*.

4.5 Desenho dos Primers para *qPCR*

O desenho dos *primers* para *qPCR* foi feito através do uso do programa *PrimerExpress 2*. (*Invitrogen*TM), respeitando-se os seguintes parâmetros exigidos pela empresa *Applied Biosystems*[®]: formação de um *amplicon* de tamanho variando entre 50 e 150 pb, conteúdo de CG entre 40% e 60%, finais 3' com menos de três bases C e G nos últimos cinco nucleotídeos e temperatura de anelamento variando entre 60 e 65°C (tab. 3). A busca por genes candidatos foi feita no banco de dados *NCBI* e *RAPDB*, para posterior desenho de *primers* e quantificação em *PCR*-quantitativo.

Tabela 3 Genes envolvidos na regulam o sistema radicular analisados os quais foram desenhados a partir das sequências obtidas do *RAP-DB*, pelo programa *PrimerExpress 2*

Gene	Loco	Oligonucleotídeos	Tm
ARL1/CRL1	Os03g0149100-00	Forward:	60
		GAGAGCGTGTGGAGGTCGTC	60
OsGNOM1/CRL4	Os03g0666100-00	Reverse:	
		GCTCTGGAGATCCTCGCAATC	
OsIAA1	Os01g0178500	Forward:	60
		TGCTCGCCATGAAACTAGTCG	60
OsCAND1	Os02g07120-00	Reverse:	
		GCCACGGACCTTGATCTTGAT	
OsRAA1	Os01g0257300	Forward:	60
		ACCATATACGCAAAAAACCGATG	59
OsRAA1	Os01g0257300	Reverse:	
		CTGACGACACGCGAGCC	
OsRAA1	Os01g0257300	Forward:	60
		CTAAAATCTCGCCGAGTCCACAAGC	60
OsRAA1	Os01g0257300	Reverse:	
		TTTTGGGTAGCAATCTCACGCGG	
OsRAA1	Os01g0257300	Forward:	58
		CTCTTCCAGTTCCACAAGCGT	57
OsRAA1	Os01g0257300	Reverse:	
		AAGGAGTCGCGGTTCTTGA	

4.5.1 Validação dos *Primers*

As curvas de dissociação foram avaliadas e somente *primers* com picos únicos e eficiência entre 1,95 e 2,05 foram utilizados. A *qPCR* foi realizada em aparelho *7500 Fast RealTime PCR System* (*Applied Biosystems*[®]), utilizando *SYBR*[®] *Green Master Mix* (*Applied Biosystems*[®]).

4.6 Quantificação Relativa por *qPCR*

A reação de amplificação foi realizada em um volume total de 20µL, contendo 2 µM de cada *primer*, 12,5 µL de SYBR® *Green PCR Master Mix*, 1 µL de cDNA (diluído 25 vezes) e água em quantidade suficiente para completar o referido volume. As amostras foram colocadas em 96 *Well Optic Plates* (*Applied Biosystems*®) e cobertas com *Optic Adhesives* (*Applied Biosystems*®). As condições de termociclagem foram como se segue: 50°C durante 20 min; Desnaturação inicial (95°C, durante 10 min); 40 ciclos (Desnaturação 95°C, durante 15 seg; Anelamento 60°C, durante 1 min; Extensão 72°C, durante 1 min); Extensão final (72°C, durante 5 min). A quantificação relativa de cada gene foi feita utilizando o método *Cycle Threshold (CT)* comparativo, como descrito por Livak e Schmittgen (2001).

Para cada *cDNA*, o gene *GAPDH* foi utilizado como normalizador para quantificação do acúmulo de transcritos (na mesma diluição mencionada anteriormente). O *CT* foi calculado na reação de PCR exponencial, e dele obteve-se o nível de expressão relativa (QR – Quantificação Relativa) pela fórmula $QR = 2^{-\Delta\Delta CT}$. Os resultados foram expressos como quantidade de *mRNA* em um diagrama de cores construído pelo programa *Multi Experiment Viewer (MeV)*, O Dendrograma foi gerado baseando no coeficiente de Pearson (SAEED et al., 2003). As amostras “da cultivar BRS 112” serviram como amostras calibradoras (fig.1), para a construção do gráficos entre as cultivares, entre cultivares e híbridos e nas combinações onde este era um dos genitores. Nas outras combinações usou-se as amostras da “cultivar BRS Ligeirinho”.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	T1-PN	T1-PN	T1-PN	T2-PN	T2-PN	T2-PN	T3-PN	T3-PN	T3-PN	T4-PN	T4-PN	T4-PN
B	T5-PN	T5-PN	T5-PN	T6-PN	T6-PN	T6-PN	T7-PN	T7-PN	T7-PN	T8-PN	T8-PN	T8-PN
C	T9-PN	T9-PN	T9-PN	T10-PN	T10-PN	T10-PN	T11-PN	T11-PN	T11-PN	T12-PN	T12-PN	T12-PN
D	T13-PN	T13-PN	T13-PN	T14-PN	T14-PN	T14-PN	T15-PN	T15-PN	T15-PN	T16-PN	T16-PN	T16-PN
E	T1-PX	T1-P PX	T1-P PX	T2-P PX	T2-PX	T2-PX	T3-PX	T3-PX	T3-PX	T4-PX	T4-PX	T4-PX
F	T5-P PX	T5-P PX	T5-PX	T6-PX	T6-PX	T6-PX	T7-PX	T7-PX	T7-PX	T8-PX	T8-PX	T8-PX
G	T9-P PX	T9-PX	T9-PX	T10-PX	T10-PX	T10-PX	T11-PX	T11-PX	T11-PX	T12-PX	T12-PX	T12-PX
H	T13-PX	T13-PX	T13-PX	T14-PX	T14-PX	T14-PX	T15-PX	T15-PX	T15-PX	T16-PX	T16-PX	T16-PX

Figura 1 Desenho da placa utilizada para a *qPCR*: T: número do tratamento (1 = controle genótipo BRS SCS 112); PX: número do *primer* (N = normalizador/*GAPDH*).

4.7 Caracterização a tolerância à seca

As sementes foi desinfestadas em hipoclorito de sódio a 10% por 1 minuto e lavada três vezes em água destilada, após isso foram enroladas em papel *germitest* e deixou-se no BOD (Câmara de crescimento) durante sete dias, a uma temperatura de 25°C e fotoperíodo de 16/8 (luz/escuro). Em seguida as plântulas foram transferidas para a hidroponia, com fotoperíodo de 16/8 (luz/escuro) e uma temperatura média de 25°C, a crescer na solução nutritiva, segundo formulação de CAMARGO e OLIVEIRA (1981), por uma semana. Findo esse período, uma parte foram colocadas em solução nutritiva com 10% de PEG6000, para simular o estresse hídrico e outras mantidas apenas em solução nutritiva, a uma temperatura de 25°C, por um período de duas semanas. Para as plântulas mantidas apenas em solução nutritiva, esta foi trocada a cada sete dias. Findo o período, procedeu-se a avaliação das características morfológicas para se avaliar as alterações induzidas pelo estresse. O experimento foi montado em forma de delineamento inteiramente casualizado com dois fatores, genótipo e tratamento, num arranjo de 8x2, com quatro repetições, cada repetição era constituída por cinco plantas, para as avaliações mediu-se quatro plântulas por repetição. A análise de variância foi feita para as duas condições (controle e estresse) e oito genótipos (seis cultivares e dois híbridos). As médias foram comparadas usando o teste de tukey (P=0.05).

4.7.1 Cálculo da pressão osmótica

A pressão osmótica foi calculada segundo fórmula proposta por MICHAEL e KAUFMANN (1973), a partir de concentração conhecida de PEG6000.

$$OP = -(1,8 \times 10^{-2})C - (1,8 \times 10^{-1})C^2 + (2,67 \times 10^{-1})CT + (8,39 \times 10^{-7})C^2T$$

Onde: OP - Pressão osmótica (MPa);

Temperatura (T)=25°C e

Concentração(C)=10% de PEG em 100g*kg⁻¹H₂O.

4.7.2 Características agronômicas medidas

Comprimento total da parte aérea (cm);

Comprimento radicular (cm);

Comprimento do coleóptilo (cm);

Comprimento da primeira folha (cm);

Comprimento da segunda folha (cm);

Inserção da primeira folha (cm);

Inserção da segunda folha (cm);

Massa seca radicular (gramas por repetição de 4 plântulas);

Massa seca da parte aérea (gramas por repetição de 4 plântulas).

Calculou-se:

Razão entre a matéria radicular e da parte aérea;

Razão entre comprimento radicular e da parte aérea;

Desempenho relativo (DR), $Dr = \frac{\text{plântulas estressadas}}{\text{plântulas sem estresse}} \times 100$

A partir dos dados do desempenho relativo foi gerado o dendograma para ver a dissimilaridade dos genótipos, usando o programa NTSYS versão 2.1 e métodos de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean).

5 Resultados e Discussão

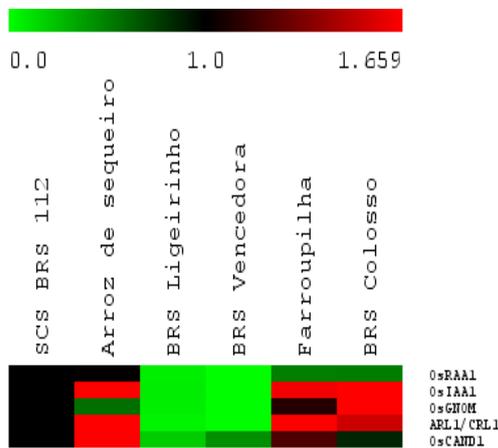
5.1 Expressão gênica

5.1.1 Expressão gênica das cultivares

Para todos os genes as cultivares BRS Ligeirinho e BRS Vencedora tiveram a expressão relativa inferior ($P < 0,05$), $QR < 1$, figuras 2a em forma de gráfico de cores e 2b em forma de gráfico de barras. Em todos os genótipos o nível de expressão dos genes foi inferior a $QR > 3$, com a exceção do gene *OsGNOM1* no genótipo BRS Colosso. Segundo LIU et al., 2009 o gene *OsGNOM1* é importante no padrão de expressão dos genes transportadores (*OsPIN2*, *OsPIN5b* e *OsPIN19*), teve uma expressão seis vezes maior, quando comparado ao controle. Na cultivar Arroz de Sequeiro os genes *OsIAA1*, *ARL1/CRL1*, *OsCAND1*, tiveram um nível de expressão acima do controle enquanto o *OsGNOM1* foi inferior ($P < 0,05$) ao controle. Nas cultivares BRS Ligeirinho e BRS Vencedora todos os cinco genes tiveram uma expressão abaixo ($P < 0,05$) do controle. A expressão do gene *OsRAA1* foi superior ($P < 0,05$) para nos genótipos Arroz de Sequeiro e SCS BRS 112 e menor nas cultivares BRS Ligeirinho e BRS Vencedora. Para o gene *OsIAA1* a maior ($P < 0,05$) expressão foi registrada na cultivar Arroz de Sequeiro e menor na cultivar BRS Vencedora. O gene *OsGNOM1*, foi mais expresso na cultivar BRS Colosso e menos expresso nas cultivares BRS Ligeirinho e BRS Vencedora. O gene *ARL1/CRL1* teve maior ($P < 0,05$) expressão nas cultivares Arroz de Sequeiro, Farroupilha, sendo que a BRS Ligeirinho e BRS Vencedora tiveram o menor nível de expressão. O gene *OsCAND1* teve a maior expressão na cultivar Arroz de Sequeiro, sendo que o menor valor foi observado na cultivar BRS Ligeirinho, esse gene *OsCAND1* é um controlador envolvido na sinalização por auxina no ciclo celular, passagem de G2/Mitose, após a formação da estrutura fundamental das raízes adventícias primordiais (WANG et al., 2011).

Seria de esperar maior nível de expressão nas cultivares de ciclo curto BRS Ligeirinho, seguido das cultivares de ciclo médio, BRS Colosso e Arroz de Sequeiro, médio tardio BRS Vencedora e tardio Farroupilha e SCS BRS 112.

A



B

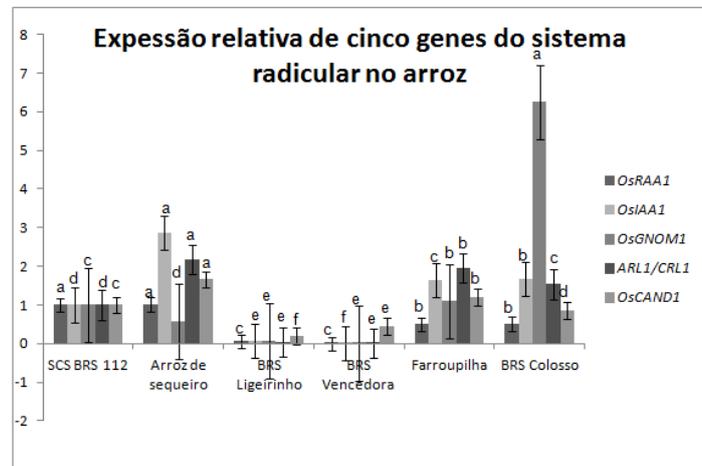


Figura 2 Expressão transcricional dos genes responsivos a auxina nas seis cultivares. As amostras “da cultivar BRS 112” serviram como amostras calibradoras. 2a gráfico de cores e 2b gráfico de barras, (a, b,...) existem diferenças significativas no perfil transcricional dos genes entre as cinco cultivares.

5.1.2 Expressão gênica das cultivares e os híbridos

No cruzamento entre as cultivares BRS Ligeirinho e BRS Colosso o híbrido H.3x6 teve um perfil próximo do seu genitor materno. No cruzamento entre as cultivares Arroz de Sequeiro e BRS Ligeirinho os dois híbridos foram mais próximos da cultivar BRS Ligeirinho, O híbrido H.5x1 teve um perfil de expressão mais próximo da cultivar Farroupilha em comparação ao híbrido H.1x5. No cruzamento entre as cultivares BRS vencedora e SCS BRS 112, o híbrido H.4x1 teve um perfil diferente dos seus genitores, sendo que o H.1x4 aproximou-se do genitor a cultivar SCS BRS 112. Para o cruzamento BRS Colosso e SCS BRS 112 os híbridos tiveram um perfil de expressão diferente dos seus genitores. O híbrido H.3x2 teve uma expressão próxima do seu genitor materno, a cultivar BRS Ligeirinho, comparado com o híbrido H.3x6. Os Híbridos H.1x4, H.6x1, assim como os híbridos H.4x1 e H.6x1, que partilham um genitor comum, a cultivar SCS BRS 112, tiveram semelhanças no perfil de expressão entre eles. (fig.3).

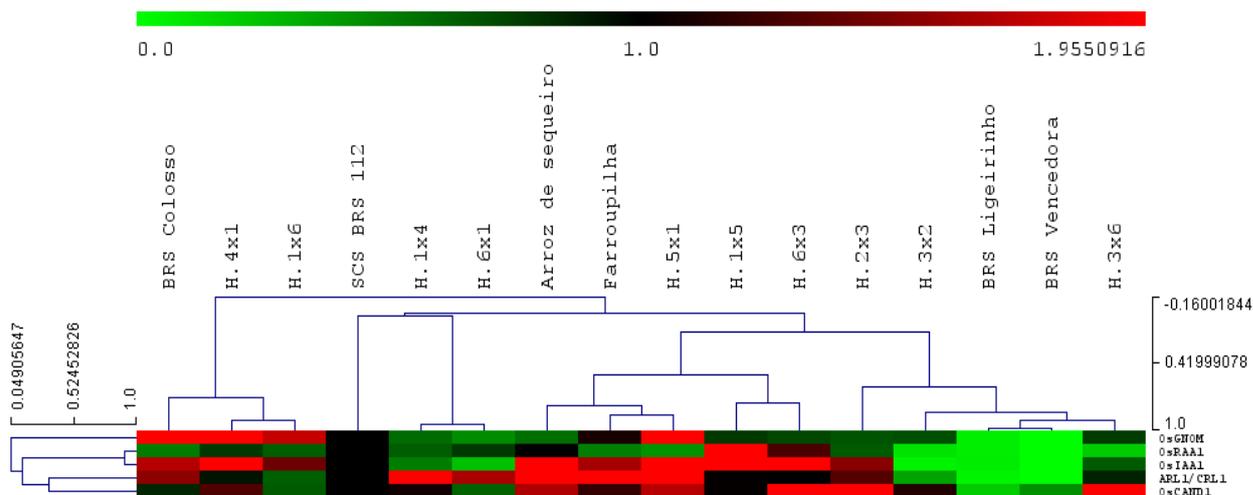


Figura 3 Gráfico de cores evidenciando a expressão de cinco genes no sistema radicular, na fase vegetativa V4 do desenvolvimento, em genótipos de arroz, dendrograma gerado usando o coeficiente de Pearson. As amostras “da cultivar BRS 112” serviram como amostras calibradoras

5.1.3 Comparação da expressão gênica das cultivares e seus híbridos

Para todas as combinações houve diferenças no perfil transcricional dos genes, entre os híbridos resultantes de cruzamentos recíprocos (fig.4).

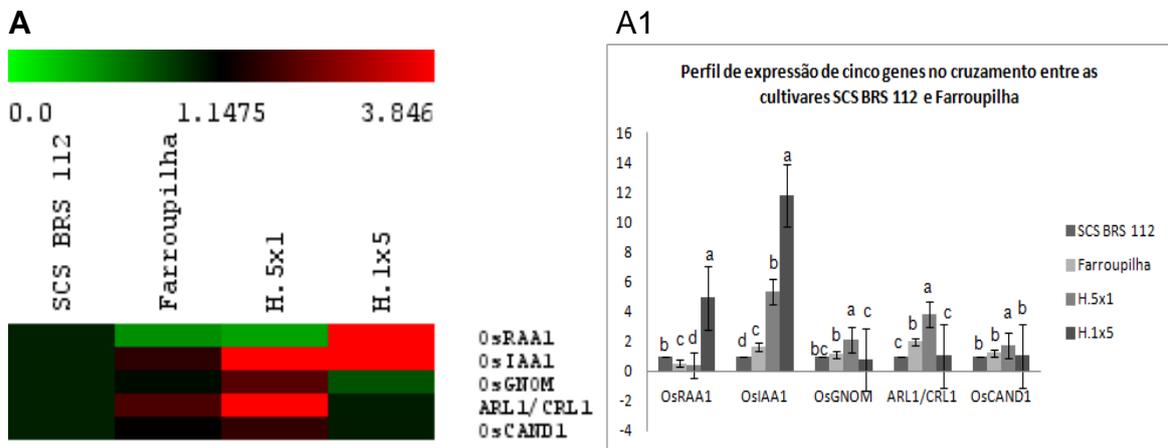
Para o gene *OsRAA1* o híbrido H.1x5 teve maior expressão e o seu recíproco, híbrido H.5x1, registrou a menor expressão. Para o gene *OsIAA1* os dois híbridos tiveram maior expressão em relação aos seus genitores. O híbrido, H.5x1 teve a maior expressão para os genes *OsGNOM1*, *ARL1/CRL1* e *OsCAND1* e nos mesmos genes o híbrido H.1x5 não deferiu dos genitores SCS BRS 112 (fig. 4A e 4A1).

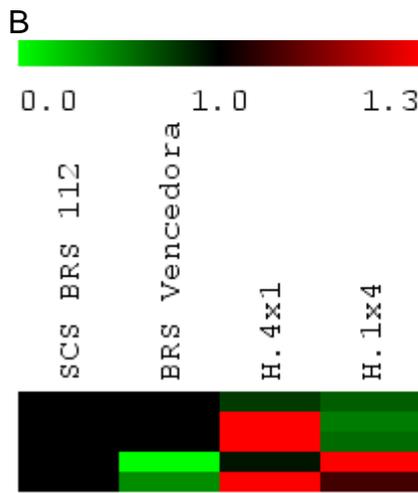
No cruzamento entre BRS Vencedora e SCS BRS 112, para todos os genes a cultivar BRS Vencedora foi aqui teve menor ($P < 0.05$) expressão, sendo que para os genes *OsIAA1* e *OsCAND1* a cultivar SCS BRS 112 teve valores de expressão igual aos híbridos, H.4x1 e H.1x4. Para os genes *OsIAA1* e *OsGNOM1* o híbrido H.4x1 teve a maior expressão. Para o gene *ARL1/CRL1*, o Híbrido H.1x4, foi aqui teve o maior acúmulo de transcritos. A Cultivar BRS Vencedora como genitor feminino contribui para o aumento de acúmulo de transcritos. (fig. 4B e 4B1).

No cruzamento entre as cultivares BRS Colosso e SCS BRS 112, o híbrido H.6x1 para os genes *OsIAA1*, *OsCAND1*, *OsGNOM1* teve a menor ($P<0,05$) expressão, para o gene *ARL1/CRL1* não diferiu dos seus genitores (fig. 4C e 4C1).

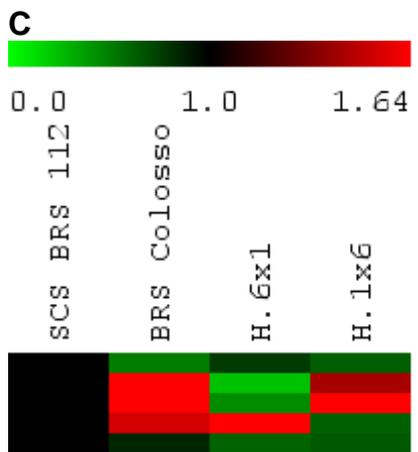
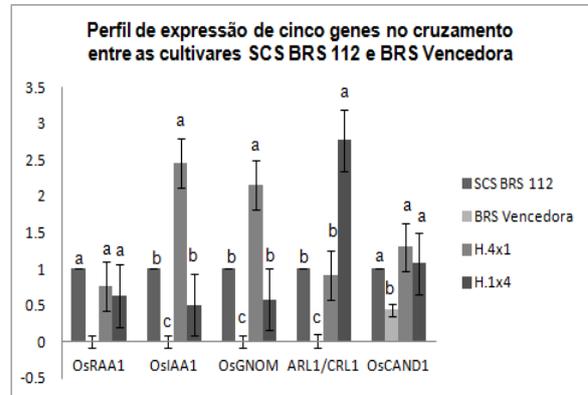
Para o cruzamento entre as cultivares BRS Colosso e BRS Ligeirinho, a cultivar BRS Ligeirinho teve menor ($P<0,05$) expressão para todos os genes. O híbrido H.6x3 teve maior ($P<0,05$) expressão dos genes *OsRAA1*, *OsAA1* e *OsCAND1* e o híbrido recíproco, H.3x6, teve maior ($P<0,05$) expressão para o gene *OsGNOM1*. Para o gene *ARL1/CRL1* a cultivar BRS Colosso foi aqui teve maior ($P<0,05$) expressão (fig. 4D e 4D1).

Para a combinação BRS Ligeirinho e Arroz de Sequeiro, o Arroz de Sequeiro teve maior ($P<0,05$) expressão dos genes *OsRAA1*, *OsAA1*, e *OsCAND1*, sendo que o híbrido H.2x3 teve maior ($P<0,05$) expressão nos genes *ARL1/CRL1* e *OsCAND1* e seu recíproco, H.3x2, teve maior expressão para o gene *OsGNOM1*. O híbrido H.2x3 teve maior ($P<0,05$) expressão que o seu genitor paterno BRS Ligeirinho para todos os genes. Para o gene *OsGNOM1* os dois híbridos tiveram maior ($P<0,05$) expressão que os seus genitores (fig. 4E e 4E1).

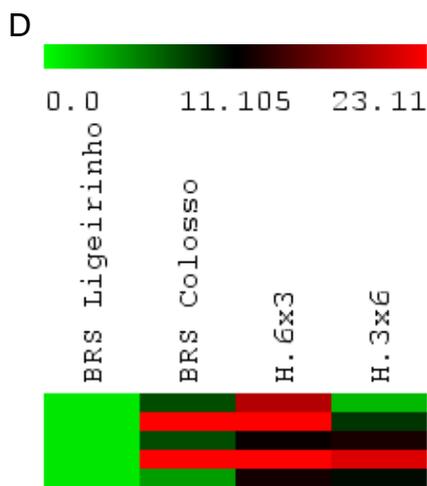
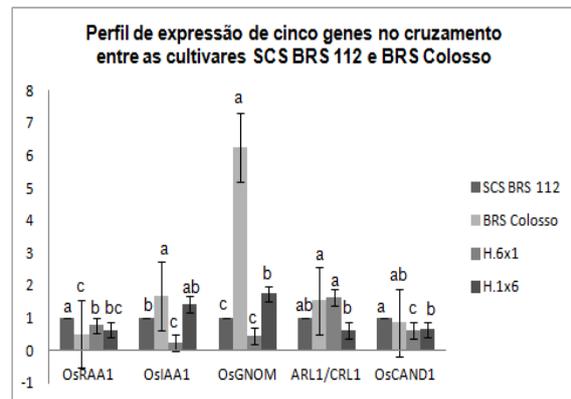




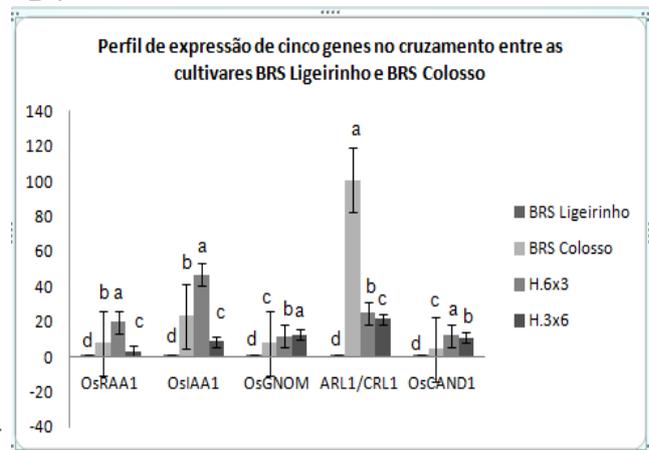
B1



C1



D1



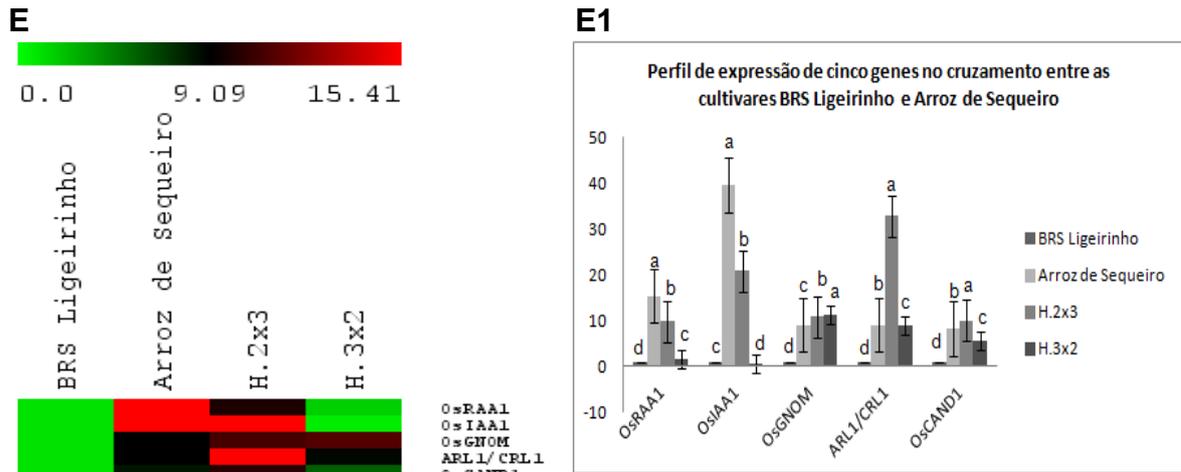


Figura 4 Gráficos de cores evidenciando a expressão de cinco genes no sistema radicular e na forma de gráficos de barra mostrando as diferenças entre o perfil transcricional, na fase vegetativa V4 do desenvolvimento, em genótipos de arroz. (a, b,...) Existem diferenças significativas entre o perfil transcricional de cada gene entre os diferentes genótipos. Gráfico A, B e C as amostras “da cultivar BRS 112” serviram como amostras calibradoras, D e E as amostras “da cultivar BRS Ligeirinho” serviram como amostras calibradoras.

Quanto ao ganho em relação aos genitores há a destacar o híbrido H.6x3 para o gene *OsRAA1* e *OsIAA1*; o híbrido H.1x5 para o gene *OsIAA1*; o Híbrido H.2x3 para o gene *ARL1/CRL1*. A redução nos transcritos do gene *ARL1/CRL1* nos híbridos H.6x3 e H.3x6, resultantes do cruzamento entre as cultivares BRS Ligeirinho e BRS Colosso, indicando que essa combinação não favoreceu o incremento da expressão desse gene (tab. 4).

Tabela 4 Heterose dos híbridos em relação aos seus genitores

	H.6x1	H.1x6	H.4x1	H.1x4	H.2x3	H.3x2	H.6x3	H.3x6	H.5x1	H.1x5
<i>OsRAA1</i>	0.02	-0.12	0.27	0.13	1.63	-6.50	15.22	-1.32	-0.33	4.16
<i>OsIAA1</i>	-1.09	0.08	1.95	0.01	0.56	-19.67	34.72	-3.22	3.99	10.49
<i>OsGNOM1</i>	-3.17	-1.88	1.66	0.08	5.78	6.12	7.19	7.99	1.03	-0.27
<i>ARL1/CRL1</i>	0.38	-0.64	0.42	2.27	27.70	3.80	-25.84	-29.26	2.37	-0.46
<i>OsCAIND1</i>	-0.31	-0.28	0.58	0.36	5.43	1.04	9.47	8.02	0.59	-0.08

5.2 Efeito do estresse com PEG6000 nas características morfológicas

Para contornar as dificuldades na seleção de genótipos tolerantes a seca em ambientes de cultivo, devido a condições do clima não controladas, heterogeneidade do solo, grande quantidade de material vegetal e tempo para avaliar (GEETHA et al., 2012), a alternativa é a simulação de condições de déficit hídrico em laboratório.

5.2.1 Comprimento da Parte Aérea

Uma das respostas adaptativas das plantas ao estresse por seca é a redução do crescimento da parte aérea e aceleração da senescência das folhas velhas. A diminuição da disponibilidade da água provoca danos a nível molecular e no crescimento da planta (ZHANG et al., 2012). Com a exceção da cultivar SCS BRS 112 e do híbrido H.5x2, houveram diferenças significativas ($P < 0,05$) no comprimento da parte aérea. Plântulas sob o estresse reduziram o crescimento da parte aérea quando comparadas as plântulas controle (fig. 5). Segundo DAVATGAR et al., e LU e NEUMANN (1998) essa resposta deve-se a redução na divisão e alongamento das células meristemáticas provocada pelo estresse, como consequência da redução da condutância hidráulica das raízes para as folhas (LU e NEUMANN, 1999).

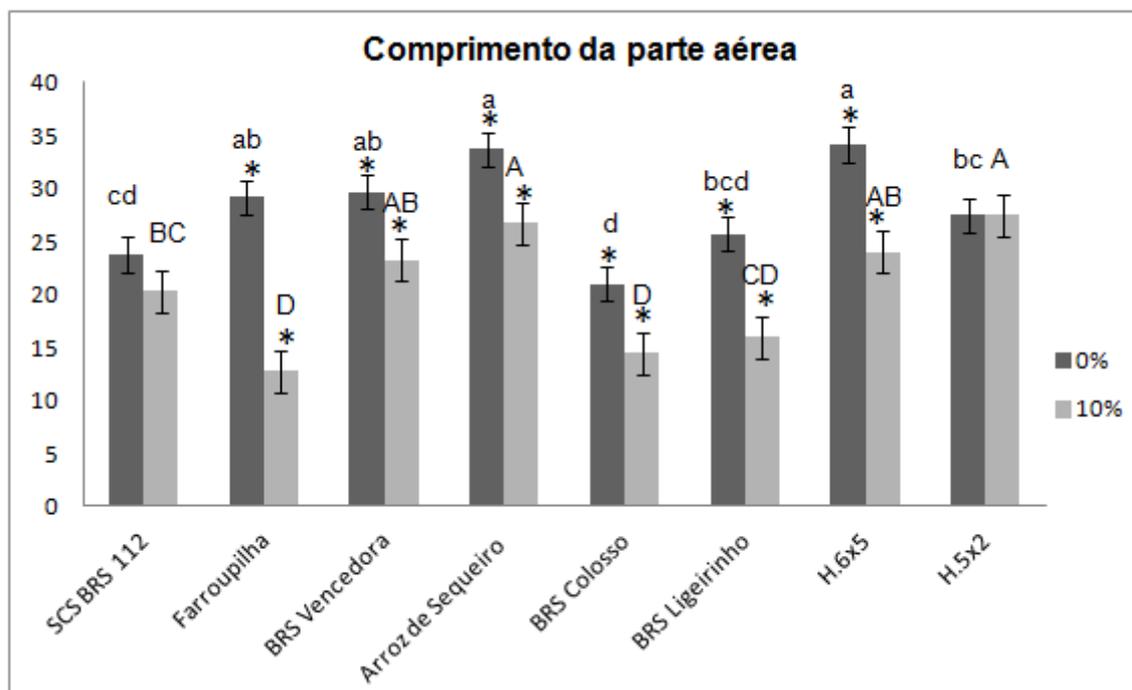


Figura 5 Comparação do comprimento da parte aérea. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre plântulas controle. (A, B,...) existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5-BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – FarroupilhaXArroz de Sequeiro

O crescimento da parte aérea é negativamente afetado com o estresse osmótico, o comprimento da planta reduz com a redução do potencial osmótico da solução nutritiva. No trabalho de ALMAGHRABI (2012), com oito cultivares de trigo, verificou-se que o aumento da concentração do PEG6000 reduz o aumento do comprimento em todas as cultivares.

Entre os genótipos sob o estresse os híbridos e as cultivares Arroz de Sequeiro e BRS Vencedora tiveram maior comprimento ($P < 0,05$) da parte aérea, sendo que a BRS Ligeirinho, BRS Colosso e Farroupilha registraram as menores médias. Os híbridos H.5x2 e H.6x5 sob o estresse tiveram melhor desempenho que o genitor Farroupilha, o híbrido H.6x5 foi também superior ao seu outro genitor, BRS Colosso. No controle o híbrido H.6x5 teve maior ($P < 0,05$) altura comparado com o genitor BRS Colosso, enquanto o H.5x2 teve menor altura em relação ao genitor Arroz de Sequeiro. b

5.2.2 Comprimento Radicular e Número de Raízes

Sendo que a principal função das raízes é a absorção de água e nutrientes, numa situação de seca o crescimento das raízes é importante para recuperar a eficiência da planta na absorção da água (NEUMANN, 2008 e BENGOUGH, 2010). As plântulas quando foram submetidas à situação de déficit hídrico, incrementaram significativamente ($P < 0,05$) o desenvolvimento das raízes (fig. 6), quando comparadas às mantidas na situação de fornecimento normal de água e nutrientes. O aumento do comprimento do sistema radicular é uma resposta que favorece o aumento da área de absorção, pela transferência de hidratos de carbono das folhas para as raízes (DAVATGAR et al., 2009). Resultado semelhante foi obtido por HENRY et al., (2012) num experimento conduzido em casa de vegetação, onde um grupo de plântulas de arroz eram mantidas em condições ideais de umidade e outro grupo foi suplementado apenas no início do experimento, verificou um aumento no comprimento máximo radicular em plantas estressadas. Num experimento com cultivares de trigo ALMAGHRABI (2012) obtiveram-se resultados contrários em todas as cultivares testadas.

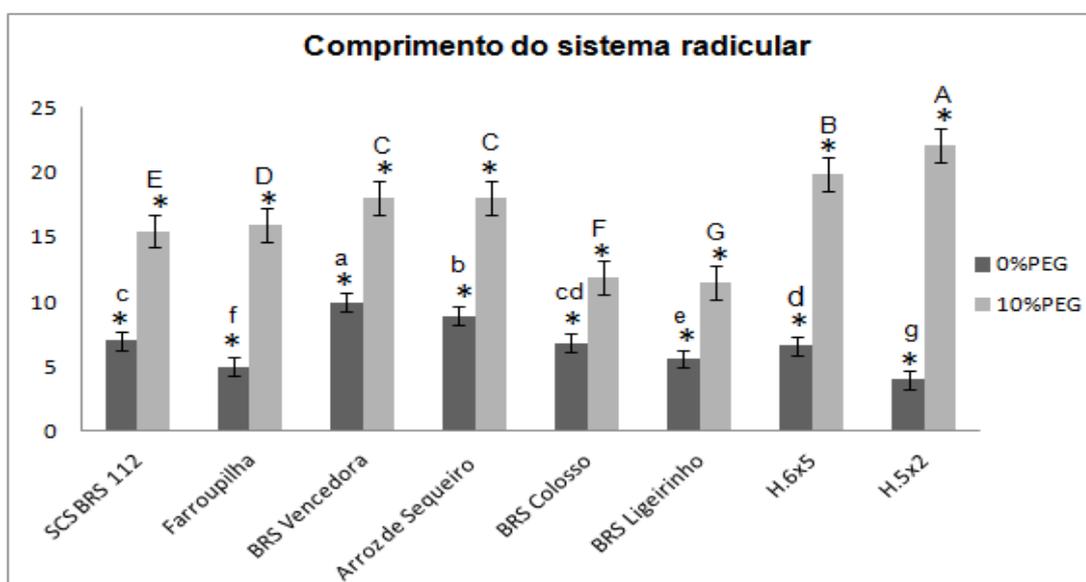


Figura 6 Comparação do comprimento radicular. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre plântulas controle. (A, B,...) existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – Farroupilha x Arroz de Sequeiro

Na situação de estresse os híbridos tiveram maior comprimento significativo ($P < 0,05$), sendo que o BRS Ligeirinho registrou menor incremento no comprimento radicular. O número de raízes, com exceção do genótipo BRS Colosso foi superior ($P < 0,05$) em plântulas que não foram submetidas ao estresse com PEG6000 (tab. 3), indicando que com o estresse as plantas reduzem a emissão de novas raízes e aumentam o crescimento em comprimento das raízes formadas. Em condições de campo intervêm outros fatores que impedem o crescimento em comprimento das raízes, o que leva a formação de raízes mais grossas, para melhor vencer o atrito. O genótipo BRS Ligeirinho teve o maior número significativo ($P < 0,05$) de raízes, comparado com todos os genótipos tanto em situação normal como sob o estresse. O genótipo SCS BRS 112, pertencente à mesma subespécie, indica, de BRS Ligeirinho, na condição normal teve o menor número, resultado esperado segundo o trabalho de MISTURA (2008). Sob o estresse o genótipo Farroupilha registrou menor número de raízes.

5.2.3 Razão entre Comprimento Radicular e Comprimento da Parte Aérea

Na situação de déficit hídrico o aumento da razão sistema radicular parte aérea é um estratégia para sobrevivência. Em todos os genótipos houve aumento da razão entre o comprimento do sistema radicular e a da parte aérea das plântulas sob o estresse, comparado com as mantidas apenas em solução nutritiva. Sendo que a cultivar Farroupilha foi a que melhor respondeu entre as plântulas sob o estresse (fig.7). O incremento da razão raiz-parte aérea facilita a manutenção do balanço da água em situações de estresse (ZOMBORI et al., 2008; REYNOLDS e TUBEROSA, 2008)

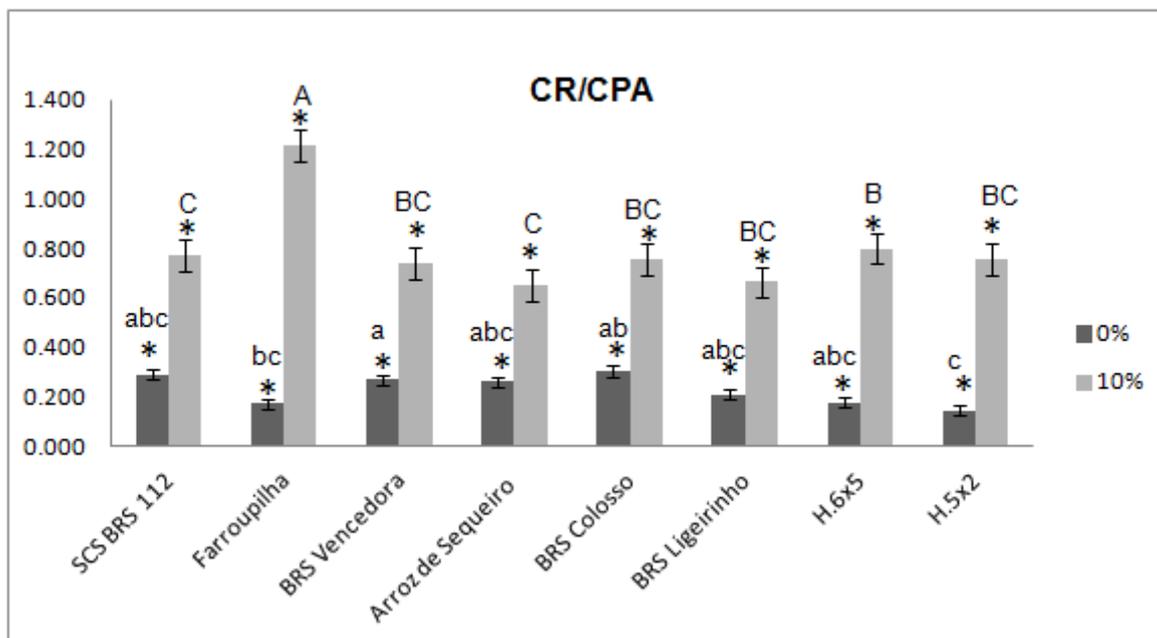


Figura 7 Comparação da razão entre o comprimento radicular e o comprimento da parte aérea. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre genótipos que não foram submetidos ao estresse. (A, B,...) Existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – FarroupilhaxArroz de Sequeiro

5.2.4 Matéria Seca Radicular

A matéria seca do sistema radicular das plântulas sob o estresse foi superior ($P < 0,05$) às plântulas mantidas apenas em solução nutritiva (fig. 8). Esse resultado pode-se explicar pelo aumento no comprimento do sistema radicular. Segundo LU e NEUMANN (1999) esta é uma resposta adaptativa resultante da transferência dos assimilados das folhas e caules que permite um incremento no crescimento do sistema radicular, aumentando, desse modo, a área para absorção de água. Resultado contrário foi obtido por ALMAGHRABI (2012) trabalhando com a cultura de trigo, em que o estresse com diferentes níveis de PEG6000 reduziu o peso de matéria seca radicular.

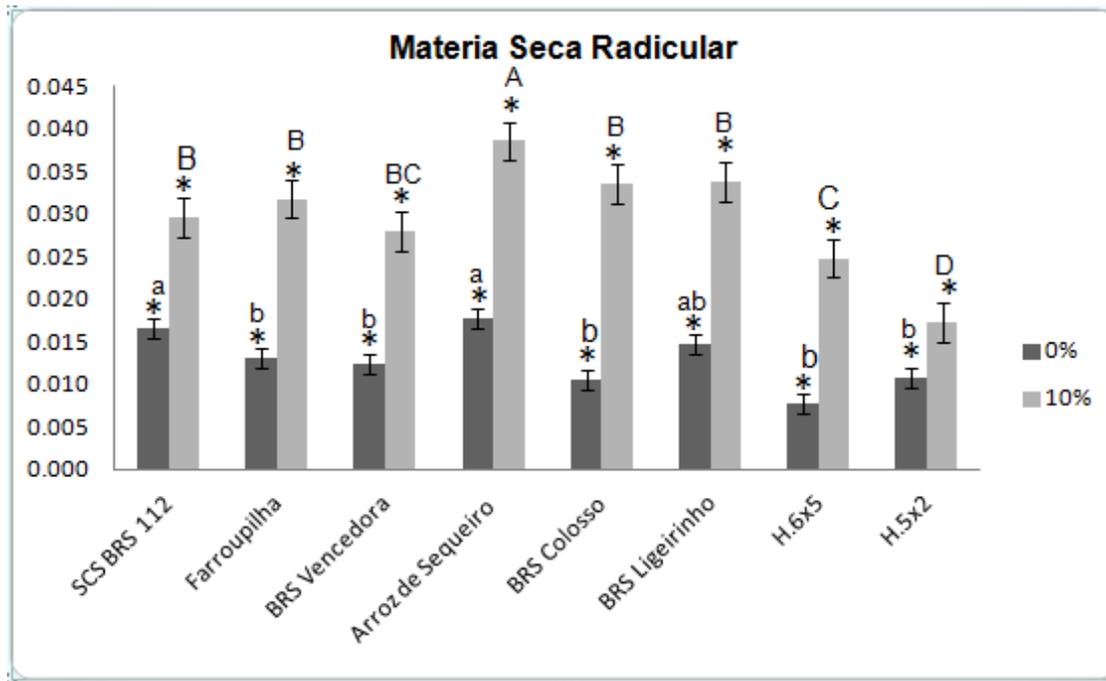


Figura 8 Comparação do conteúdo da matéria seca. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre genótipos que não foram submetidos ao estresse. (A, B,...) Existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – Farroupilha x Arroz de Sequeiro

A cultivar Arroz de Sequeiro teve uma resposta superior ($P < 0,05$) aos restantes genótipos sob o estresse, essa diferença explica-se pelo fato de ser uma cultivar adaptada a condições de cultivo em sequeiro e os híbridos tiveram o menor incremento. Na condição sem estresse, o Arroz de Sequeiro teve maior conteúdo de matéria seca maior comprimento e os híbridos, H.5x2 e H.6x5 tiveram valores mais baixos (fig. 5).

5.2.5 Matéria Seca da Parte Aérea

A matéria seca da parte aérea das plântulas estressadas diminuiu significativamente ($P < 0,05$), com exceção da cultivar BRS Colosso e híbrido H.6x5 (fig. 9). Essa diminuição é uma resposta de adaptação das plantas ao estresse. Resultado vai de acordo com diversos estudos onde, como resposta ao estresse por seca, como consequência da diminuíram o crescimento da parte aérea. Resultado semelhante foi obtido por ZHANG (2012) em duas cultivares de milho sob o estresse

com 12% w/v de PEG 6000. SAFFAN (2008) também obteve resultado semelhante num estudo com cultivares de feijão, feijão Mungo e trigo. A cultivar Arroz de Sequeiro, nas duas condições, teve maiores ($P < 0,05$) conteúdos de matéria seca na parte aérea, resultado que era esperado por ser uma cultivar adaptada a situações de seca. Sob o estresse a cultivar Farroupilha teve o menor valor da MSPA. Na condição normal foram as cultivares Farroupilha e BRS Colosso e o híbrido H.6x5 a registrar menores conteúdos de matéria seca.

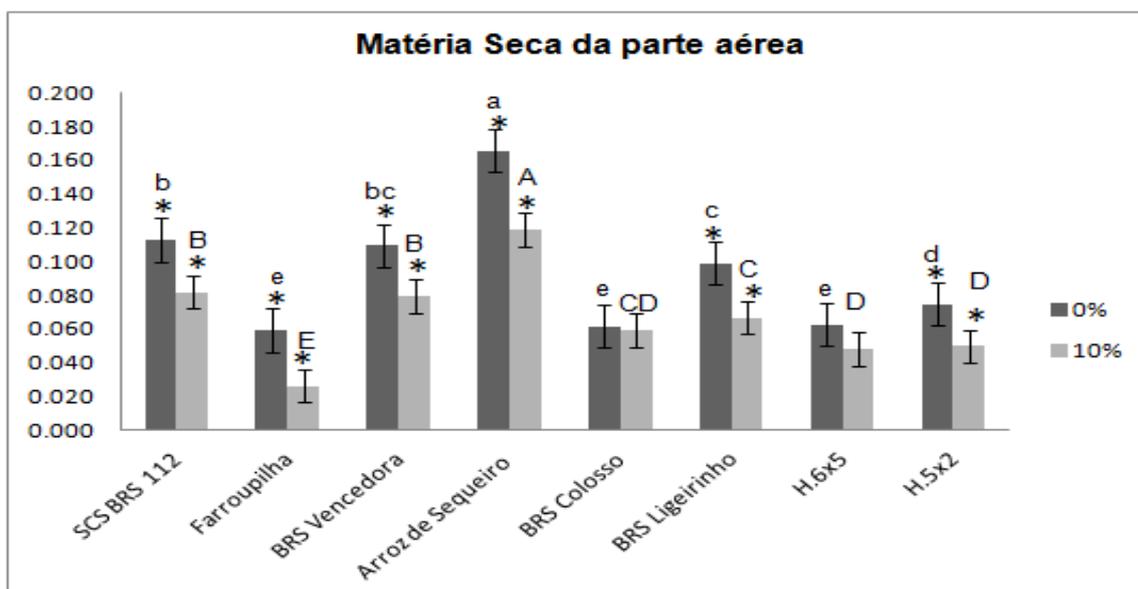


Figura 9 Comparação do conteúdo da matéria seca da parte aérea. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por 10% de PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre genótipos que não foram submetidos ao estresse. (A, B,...) existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6X5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2- FarroupilhaxArroz de Sequeiro

5.2.6 Razão entre Matéria Seca radicular e Matéria seca da Parte Aérea

A razão entre matéria seca radicular e da parte aérea, em plântulas sob o estresse, foi superior ($P < 0,05$) à razão das plântulas mantidas apenas em solução nutritiva (fig. 10). Essa resposta é pelo fato de o comprimento da parte aérea ter reduzido e o comprimento do sistema radicular ter registrado um aumento significativo ($P < 0,05$), quando as plântulas foram submetidas ao estresse.

Entre as plântulas sob o estresse e as mantidas apenas em solução nutritiva, a cultivar Farroupilha, que tem ciclo longo foi superior ($P < 0,05$) (fig. 10).

Essa resposta foi devido à redução do comprimento da parte aérea e consequentemente do peso seco, aliado ao incremento do comprimento e matéria seca radicular.

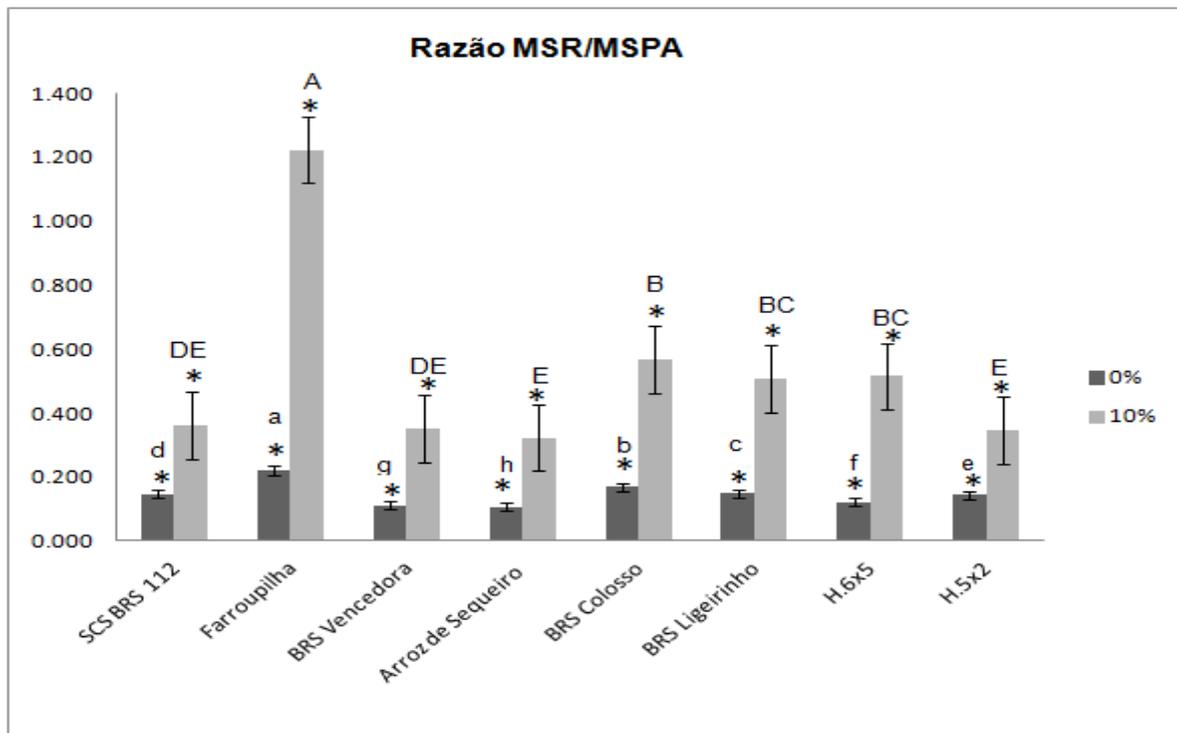


Figura 10 Comparação da razão da matéria seca radicular e da parte aérea. (*) Existem diferenças significativas ($P < 0,05$) dentro de cada genótipo entre as plântulas controle e as sob o estresse por PEG6000. (a, b,...) Existem diferenças entre genótipos que não foram submetidos ao estresse. (A, B,...) existem diferenças entre genótipos sob o estresse (teste de Tukey). H.6x5- BRS ColossoxFarroupilha, H.5x2 – Farroupilha x Arroz de Sequeiro

5.2.7 Comprimento e inserção da primeira e segunda folha e do coleóptilo

LU e NEUMANN (1999), usando o PEG, verificaram que o estresse causa redução da expansão foliar, como resultado da diminuição do conteúdo relativo da água, que leva a perda do turgor e limita a expansão das células. A inibição do crescimento das folhas é a resposta primária ao crescimento de toda a planta (LU e NEUMANN, 1998), que pode ser resultado da redução na taxa de produção de novas células. No presente estudo a inserção da primeira e segunda folha não foram muito afetados pelo estresse induzido (tab. 5). Apenas nas cultivares Farroupilha e Arroz de Sequeiro houve redução do comprimento da inserção da primeira folha em

plântulas sob o estresse. As cultivares BRS Colosso e BRS Ligeirinho tiveram os menores valores ($P < 0,05\%$) nas duas condições quanto à inserção da segunda folha.

O comprimento do coleótilo foi superior em genótipos mantidos apenas em solução nutritiva com a exceção da cultivar BRS Colosso, que foi igual nas duas condições e do híbrido H.5x2, que foi superior sob o estresse. Na situação sem estresse o genótipo Arroz de Sequeiro teve o maior desempenho significativo ($P < 0,05$) sendo que os dois híbridos tiveram os menores desempenhos. Na condição de estresse o híbrido H.6x5 foi superior ($P < 0,05$) e o híbrido H.5x2 teve o menor desempenho (tab.4).

Os comprimentos da primeira e segunda folha tiveram uma resposta variável para os diferentes genótipos (tab. 5). As folhas das plantas sob o estresse apresentavam maior área seca, como resultado da transferência de hidratos de carbono para suprir o crescimento do sistema radicular, o que reduz a área para a realização da fotossíntese. O estresse osmótico por PEG reduz as taxas de fotossíntese (CHUTIA e BORAH, 2012).

Tabela 5 Comparação de NR (número de raízes), CPF (comprimento da primeira folha); CSF (comprimento da segunda folha); CC (comprimento do coleóptero); IPF (inserção da primeira folha); ISF (inserção da segunda folha). (A e B) Existem diferenças significativas ($P < 0.05$) dentro de cada genótipo entre as plantas mantidas em solução nutritiva e as submetidas ao estresse por PEG6000. (a, b,...) existem diferenças entre plântulas na mesma condição.

Genótipos	NR		CPF		CSF		CC		IPF		ISF	
	Contr.	Estr.	Contr.	Estr.	Contr.	Estr.	Contr.	Estr.	Contr.	Estr.	Contr.	Estr.
Farroupilha	7,81Ad	4,74Bg	2,45Af	1,44Bg	7,061Ad	4.60Bg	1,84Af	1,28Bf	3,50Ac	2,35Bg	7,45Ab	6,88Ad
BRS Vencedora	6,81Ag	5,0Bf	2,66Ae	2,51Be	5,98Bf	8,13Ad	1,69Ae	1,49Bd	3,34Ae	3,56Ac	6,64Ac	7,29Ac
Arroz de Sequeiro	8,63Ac	5,19Be	3,15Ac	2,75Bd	9,708Ac	8,687Bc	1,99Aa	1,40Be	4,30Aa	3,67Bb	8,90Aa	7,73Ab
SCS BRS 112	11,13Ab	7,00Bb	3,59Aa	3,30Bc	10,10Ab	9,13Bb	1,87Ac	1,23Bg	3,36Ad	3,37Ad	5,93Ae	6,25Ae
BRS Colosso	5,31Ah	6,94Bc	2,74Bd	3,48Ab	6,26Be	6,86Ae	1,67Af	1.7Ac	2,75Af	3,91Ae	4,55Ah	4,88Ag
BRS Ligeirinho	11,5Aa	8,75Ba	3,40Bb	3,58Aa	10,71Aa	1055Aa	1,91Ab	1,81Bb	3,87Ab	3,89Aa	5,02Ag	4,87Ah
H.6x5	7,18Af	5,43Bd	1,20Bh	1,56Af	3,81Ah	3,40Bh	1,15Ag	1,1Ah	2,27Ah	1,97Ah	5,17Af	5,59Af
H.5x2	7,48Ae	5,00Bf	1,31Bg	1,43Ah	4,73Bg	6,20Af	1,08Bh	2,7Aa	2.6Ag	3,13Af	6,34Bd	8,48Aa

Onde: Contr - controle
Estr. – estresse

5.2.8 Desempenho Relativo

Quanto ao desempenho relativo para os parâmetros Comprimento radicular, Matéria seca radicular, Razão entre matéria seca radicular e matéria seca da parte aérea, razão entre comprimento radicular e comprimento da parte aérea as plântulas sob o estresse tiveram um melhor desempenho em relação às plântulas controle. Quanto ao número de raízes apenas a cultivar BRS Colosso registrou um maior aumento na situação de estresse, sendo que a cultivar BRS Ligeirinho também teve um desempenho acima dos 80%. Para o comprimento da primeira folha há a destacar as cultivares Arroz de Sequeiro, BRS Ligeirinho e BRS Colosso e os híbridos, que tiveram um desempenho acima dos 80%, enquanto que para a segunda folha foram as cultivares Arroz de sequeiro, BRS Vencedora, BRS Colosso e o híbrido H.5x2 a registrar um bom desempenho. Na inserção da primeira e segunda folha somente a cultivar Farroupilha é que teve um desempenho abaixo dos 80%, enquanto que para a inserção da segunda folha. Quanto ao comprimento da parte aérea foi a cultivar SCS BRS 112 e o híbrido H.5x2 a terem um desempenho acima dos 80%, para a matéria seca da parte aérea a cultivar BRS Colosso é que teve um bom desempenho (tab.6).

A cultivar Farroupilha, apesar de ser muito afetado, principalmente quanto ao comprimento da parte aérea revelou-se um bom doador dos genes para a tolerância a seca, os dois híbridos, H.6x5 e H.5x2, que têm em comum o genitor cultivar Farroupilha, tiveram um bom desempenho relativo (tab.6). Quanto à heterose o híbrido H.5x2, foi o que teve maiores incremento em relação ao desempenho relativo médio dos genitores.

As cultivares Arroz de Sequeiro e BRS Ligeirinho ficaram muito próximas quanto ao desempenho relativo e estes com o BRS Vencedora. A cultivar Farroupilha e o híbrido H.5x2 distanciaram-se dos demais genótipos (fig.11). A diferenciação do híbrido H.5x2 pode estar relacionada ao fato de ter como genitor feminino a cultivar Farroupilha e ter tido uma maior heterose em grande parte dos caracteres avaliados (fig.6).

Tabela 6 Desempenho relativo das plântulas para os parâmetros NR (número de raízes), CR (Comprimento radicular); CC (comprimento do coleóptero); CPF (comprimento da primeira folha); CSF (comprimento da segunda folha); IPF (inserção da primeira folha); ISF (inserção da segunda folha) MSPA (Matéria seca da parte aérea); MSR (Matéria seca radicular); CR/CPA (Razão comprimento radicular e comprimento da parte aérea); MSR/MSPA (Razão matéria seca radicular e matéria seca da parte aérea) e heteroses dos híbridos.

Genótipo	NR	CR	CC	CPF	CSF	IPF	ISF	CPA	MSPA	MSR	CR/CPA	MSR/MSPA
Farroupilha	60	320.6	75.1	56	47	50.6	67.1	39.2	47.3	223.1	817.5	471.9
BRS Vencedora	72.4	180.9	76.8	78.9	109.3	100	118.9	78.8	69.6	300	229.6	430.8
Arroz de Sequeiro	56.8	202.3	79.1	127.9	112.3	100	91	73.1	72.4	205.6	276.7	284.1
SCS BRS 112	63.4	223.3	47.5	69.7	78.6	93.5	114.6	92.7	69.6	181.3	240.8	260.3
BRS Colosso	121.7	175.5	105.2	91.4	95.7	123.9	113	72.3	93.8	250	242.7	266.7
BRS Ligeirinho	86.7	202.7	87.3	117.7	102	105.6	118.6	59.4	70.5	235.7	341.2	334.2
H.6x5	58.4	295.2	90.5	128.5	76.5	81.1	92	53.6	75	350	550.7	466.7
H.5x2	61	561.4	281.3	116.8	125.5	118.4	136.9	90.9	67.2	215.6	638.2	319.7
Heterose H.6x5	-32.45	47.15	0.35	54.8	5.15	-6.15	1.95	-2.15	4.45	113.45	20.6	97.4
Heterose H.5x2	2.6	299.95	204.2	24.85	45.85	43.1	57.85	34.75	7.35	1.25	91.1	-58.3

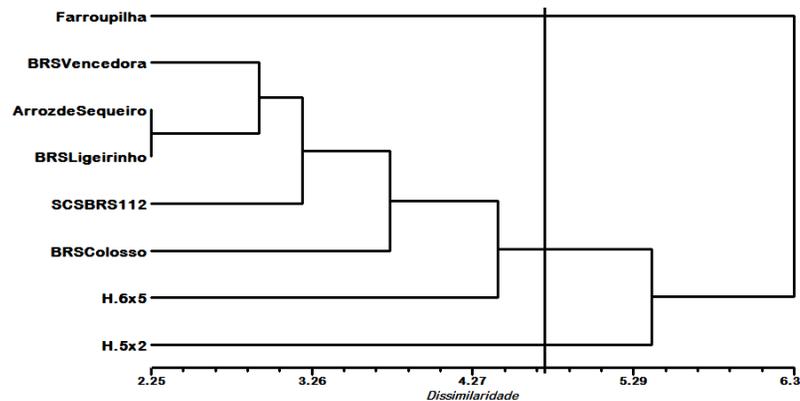


Figura 11 Dendrograma usando valores do desempenho relativo, a matriz de distâncias foi gerado no programa GENES a partir do qual foi gerado o dendrograma no programa NTSYS.

O híbrido H.5x2 e a cultivar Arroz de Sequeiro têm um bom desempenho nas condições de déficit hídrico. O híbrido mantém o desenvolvimento da parte aérea ao mesmo tempo, que incrementa o comprimento do sistema radicular e têm o melhor desempenho relativo. A cultivar Arroz de Sequeiro incrementa a matéria seca radicular e da parte aérea.

A cultivar Farroupilha foi aqui teve o menor desempenho relativo.

5.3 Expressão gênica e características morfológicas

A baixa disponibilidade de água no solo restringe o crescimento e transpiração da planta. Na subespécie japônica temperada a cultivar Farroupilha de ciclo longo foi significativamente inferior ($P < 0,05$) a Arroz de Sequeiro de ciclo médio, quanto ao comprimento do sistema radicular (fig.6). Resultado similar ao de Mistura (2008), mesmo sob o estresse. O mesmo resultado foi verificado para o comprimento da parte aérea (fig.5). Essa diferença pode estar relacionada com o maior nível da expressão do gene *OsCAND1* na cultivar Arroz de Sequeiro em relação Farroupilha (fig.9). Segundo WANG et al., 2011 *OsCAND1* é um gene envolvido no processo de divisão celular, na transição da fase G2/M, e que é expresso na zona da coifa depois de se ter estabelecido a estrutura fundamental, mutantes *Oscand1* tem o desenvolvimento da planta retardado e não sobrevivem além de duas semanas.

Na subespécie Indica a cultivar BRS Ligeirinho, em condição sem estresse, teve maior número de raízes que o SCS BRS 112 (tab.4), resultado similar a Mistura (2008). Entretanto, quando se trata do comprimento radicular, o SCS BRS 112 foi superior (fig.3), que pode estar relacionado com o maior nível de expressão dos genes *ARL1/CRL1* e *OsGNOM1*, genes envolvidos na iniciação e desenvolvimento do sistema radicular adventício e o gene *OsCAND1* na cultivar SCS BRS 112 (fig.2). O *OsGNOM1* é também um importante mediador do transporte polar da auxina, através da regulação dos genes transportadores *OsPIN's*.

Para a Subespécie Japônica temperado, em condição normal, quanto ao número de raízes, o BRS Vencedora foi superior ($P < 0,05$) ao BRS Colosso, contrariando os resultados obtidos por Mistura (2008) (tab.4). Apesar de um nível de expressão superior ($P < 0,05$) para todos os genes na cultivar BRS Colosso comparado com o BRS Vencedora (fig.2), a expressão de outros genes podem ter tido maior influência para esse resultado.

6 Conclusões Gerais

Embora diferenças tenham sido observadas não é possível associar caracteres do sistema radicular com o nível expressão de genes estudados.

No geral genótipos de arroz reduzem o crescimento da parte aérea sob o estresse osmótico e incrementam o desenvolvimento do sistema radicular, mas não foi possível associar caracteres do sistema radicular com a resposta dos genótipos em condição de déficit hídrico.

6.1 Perspectivas

Estudar dos padrões de expressão espacial e temporal de genes e reguladores de expressão, ARF, em resposta ao estresse hídrico irá permitir a compreensão os mecanismos ativados em situações de estresse hídrico, possibilitando o desenvolvimento de cultivares adaptadas a condições de seca.

7 Referências

ABARSHAHR, M; RABIEI, B e SAMIZADEH LAHIGI, H. Assessing Genetic Diversity of Rice Varieties under Drought Stress Conditions. **Notulae Scientia Biologicae**, v.3, n.1, p.114-123, 2011.

ADEWUSI, K e NASSIR, A. Assessment for drought adaptive and reproductive traits of field-planted upland rice genotypes in a derived savannah ecology. **Journal of Plant Breeding and Crop Science**, v.3, n.11, p.283-292, 2011.

AHMADI, G; AKBARABADI, A; KAHRIZI, D; REZAIZAD, A e GHEYTOULI, M. Study of drought tolerance of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes in seedling stage. **Bihrean Biologist**, v.6, n.2, p.77-80, 2012.

AHMADLOO, F; TABARI, M e BEHTARI, B. Effect of drought stress on the germination parameters of Cupressus seeds. **international journal forest soil and erosion**, v.1, n.1, p.11-17, 2011.

ALI, Y; SARWAR, G; ASLAM, Z; HUSSAIN, F; RAFIQUE, T. Evaluation of advanced rice germplasm under water stress environment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v.2, n. 1, p. 27-33, 2005.

ALLAH, A; AMMAR, M e BADAWI, A; Screening rice genotypes for drought resistance in Egypt. **Journal of Plant Breeding and Crop Science**, v.2, n.7, p.205-215, 2010.

ALMAGHRABI, O. Impact of Drought Stress on Germination and Seedling Growth Parameters of Some Wheat Cultivars. **Life Science Journal**, v.9, n.1, 9p, 2012.

BABU, R. Breeding for drought resistance in rice: an integrated view from physiology to genomics. **Plant Breeding**, v.1, n.4, p.1133-1141, 2010.

BARNABÁS, B; JÄGER, K e FEHÉR, A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. **Plant, Cell and Environment**, v.31, p.11–38, 2008.

BENGOUGH, A; MCKENZIE, B; HALLETT, P e VALENTINE, T. Root elongation, water stress, and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.1, p.59–68, 2011.

BERNIER, J; ATLIN, G.; SERRAJ, R; KUMAR, A e SPANER, D. Breeding upland rice for drought resistance. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p.927–939, 2008.

BLUM, A. Drought resistance – is it really a complex trait? **Functional Plant Biology**, v.38, 753–757, 2011.

BLUM, A. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential—are they compatible, dissonant, or mutually exclusive? **Australian Journal of Agricultural Research**, v.56, p.1159–1168, 2005.

BLUM, A. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. **Field Crops Research**, v.112, p.119–123, 2009.

CAMARGO, de O; OLIVEIRA, O. Tolerância de cultivares de Trigo níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia**, Campinas. v.49, p.21-23.1981.

CAMPOS, H; COOPER, M; HABBEN, J; EDMEADES, G e SCHUSSLER, J. Improving drought tolerance in maize: a view from industry. **Field Crops Research**, v.90, p.19–34, 2004.

CAPELL, T; BASSIE, L e CHRISTOU, P. Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. **Proceedings of National Academy of Sciences**, v.101, p.9909-9914, 2004.

CHIN, J; LU, X; HAEFELE, S; GAMUYAO, R; ISMAIL, A; WISSUWA, M e HEUER, S. Development and application of gene-based markers for the major rice QTL Phosphorus uptake 1. **Theoretical and Applied Genetics**, v.120, p.1073–1086, 2010.

CHUTIA, J; BORAH, S. Water Stress Effects on Leaf Growth and Chlorophyll Content but Not the Grain Yield in Traditional Rice (*Oryza sativa* Linn.) Genotypes of Assam, India II. Protein and Proline Status in Seedlings under PEG Induced Water Stress. **American Journal of Plant Sciences**, v.3, p.971-980, 2012.

CONAB, 2012. Acompanhamento da Safra Brasileira. Grãos. Safra 2011/2012, quarto levantamento. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 631.165 (05). 38p.

COUDERT, Y; PERIN, C; COURTOIS, B; KHONG, N e GANTET, P. Genetic control of root development in rice, the model cereal. **Trends in Plant Science**, v.15, n.4, p.219-226, 2010.

COURTOIS, B; AHMADI, N; AHMADI, F; PRICE, A. H; RAMI, J; FROUIN, J; HAMELIN, C e RUIZ, M. Rice Root Genetic Architecture: Meta-analysis from a Drought QTL Database. **Rice**, v.2, n.2-3, p.115–128, 2009.

DATTA, K; BAISAKH, N; GANGULY, M; KRISHNAN, S; YAMAGUCHI, K e DATTA, S. Overexpression of Arabidopsis and Rice stress genes' inducible transcription factor confers drought and salinity tolerance to Rice. **Plant Biotechnology Journal**, v.10, p.579–586, 2012.

DAVATGAR, N; NEISHABOURI, M; SEPASKHAH, A e SOLTANI, A. Physiological and morphological responses of rice (*Oryza sativa* L.) to varying water stress management strategies. **International Journal of Plant Production**, v. 3 n.4, p.19-32, 2009.

DE DORLODOT, S; FORSTER, B; PAGÈS, L; PRICE, A; TUBEROSA, R e DRAYE, X. Root system architecture: opportunities and constraints for genetic improvement of crops. **Trends in Plant Science**, v.12, n.10, p.474-81, 2007.

DELSENY, M; SALSESA, J; COOKEA, R; SALLAUDB, C; REGADB, F; LAGODAB, P; GUIDERDONIB, E; VENDELONC, M; BRUGIDOU, C e GHESQUIÈREC, A. Rice genomics: Present and future. **Plant Physiol. Biochem**, v.39, p.323–334, 2001.

DIXIT, S; SWAMY, B; VIKRAM, P; AHMED, H; STA CRUZ, M; AMANTE, M; ATRI, D; LEUNG, H e KUMAR, A. Fine mapping of QTLs for rice grain yield under drought reveals sub-QTLs conferring a response to variable drought severities. **Theoretical and Applied Genetics**, v.125, n.1, p.155-169, 2012.

DU, C; XU, Y; WANG, Y e CHONG, K. Adenosine Diphosphate Ribosylation Factor-GTPase-Activating Protein Stimulates the Transport of AUX1 Endosome, Which

Relies on Actin Cytoskeletal Organization in Rice Root Development. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.53, n.9, p.698–709, 2011.

FLEURY, D; JEFFERIES, S; KUCHEL, H e LANGRIDGE, P. Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in Wheat. **Journal of Experimental Botany**, v.61, n.12, p.3211–3222, 2010.

FUKAO, T; YEUNG, E e SERRES, J. The Submergence Tolerance Regulator SUB1A Mediates Crosstalk between Submergence and Drought Tolerance in Rice. **Plant Cell**, v. 23, p.412–427, 2011.

GE, L; CHEN, H; JIANG, J; ZHAO, Y; XU, M; XU, Y, TAN, K; XU, Z; CHONG, K. Overexpression of OsRAA1 Causes Pleiotropic Phenotypes in Transgenic Rice Plants, including Altered Leaf, Flower, and Root Development and Root Response to Gravity. **Plant Physiology**, v. 135, p.1502–1513, 2004.

GEETHA, A; SIVASANKAR, A; LAKSHMI, L; SURESH, J e SAIDAIAH, P. SCREENING OF SUNFLOWER GENOTYPES FOR DROUGHT TOLERANCE UNDER LABORATORY CONDITIONS USING PEG. **SABRAO Journal of Breeding and Genetics**, v.44, n.1, p. 28-41, 2012.

GHANNOUM, O. C4 photosynthesis and water stress. **Annals of Botany**, v.103, p.635–644, 2009.

GORANTLA, M; BABU, P; LACHAGARI, V; FELTUS, F; PATERSON, A e REDDY, A. Functional genomics of drought stress response in rice: Transcript mapping of annotated unigenes of an *indica* rice (*Oryza sativa* L. cv. Nagina 22). **Current Science**, v.89, n. 3, p.96-514, 2005.

GOWDA, V; HENRYA, A; YAMAUCHIC, A; SHASHIDHAR, H e SERRAJ, R. Root biology and genetic improvement for drought avoidance in rice. **Field Crops Research**, p.1–13, 2011.

GRENNAN, A. Abiotic Stress in Rice. An “Omic” Approach. **Plant Physiology**, v. 140, p.1139–1141, 2006.

GRUBER, V; ZAHAF, O; DIET, A; DE ZELICOURT, A; DE LORENZO, L e CRESPI, M. Impact of Environment on Root Architecture in Dicotyledoneous Plants *in* Costa de Oliveira, A. e Varshney, R.K. **Root Genomics**. Ed. Springer, Berlin, 2011. p.113-132.

HARDY, A. Candidate Stress Response Genes for Developing Commercial Drought Tolerant Crops. MMG 445 **Basic Biotechnology**, v.6, p.54-58, 2010.

HENRY, A; CAL, A; BATOTO, T; TORRES, R e SERRAJ, R. Root attributes affecting water uptake of rice (*Oryza sativa*) under drought. **Journal of Experimental Botany**, v.63, n. 2, p.695–709, 2012.

HIRAYAMA, M; WADA, Y e NEMOTO, H. Estimation of Drought Tolerance Based on Leaf Temperature in Upland Rice Breeding. **Breeding Science**, v.56, p.47-54, 2006.

HU, B; FU, X; ZHANG, T; WAN, Y; LI, X; HUANG, Y; DAI, L; LUO, X e XIE, J. Genetic Analysis on Characteristics to Measure Drought Resistance Using Dongxiang Wild Rice (*Oryza rufupogon* Griff.) and Its Derived Backcross Inbred Lines Population at Seedling Stage. **Agricultural Sciences in China**, v.10, n.11, p.1653-1664, 2011.

HUSSAIN, S; IQBAL, M; ARIF, M e AMJAD, M. Beyond osmolytes and transcription factors: drought tolerance in plants *via* protective proteins and aquaporins. **Biologia Plantarum**, v.55, n.3, p.401-413, 2011.

International Rice Genome Sequencing Project. The map-based sequence of the rice Genome. **Nature**, v. 436, p.793-800, 2005.

INUKAI, Y; SAKAMOTO, T; UEGUCHI, M; SHIBATA, Y; GOMI, K; UMEMURA, L; HASEGAWA, Y; ASHIKARI, M; KITANO, H e MATSUOKA, M. Crown rootless1, Which Is Essential for Crown Root Formation in Rice, Is a Target of an AUXIN RESPONSE FACTOR in Auxin Signaling. **The Plant Cell**, v.17, p.1387-1396, 2005.

JAIN, M; KAUR, N; TYAGI, A.K e KHURANA, J.P. The auxin-responsive GH3 gene family in rice (*Oryza sativa*). **Functional & Integrative Genomics**, v.6, n.1, p.36–46, 2006.

KOMOSHITA, A; BABU, R; BOOPATHI, N.M e FUKAI, S. Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. **Field Crops Research**, v.109, p.1–23, 2008.

LANCERAS, J; PANTUWAN, G; JONGDEE, B e TOOJINDA, T. Quantitative Trait Loci Associated with Drought Tolerance at Reproductive Stage in Rice. **Plant Physiology**, v. 135, p.384–399, 2004.

LANG, N e BUU, B. FINE MAPPING FOR DROUGHT TOLERANCE IN RICE (*Oryza sativa* L.). **Omonrice**, v.16, p.9-15, 2008.

Li, M; Wang, G e Lin, J. Application of external calcium in improving the PEG-induced water stress tolerance in liquorice cells. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v.44, p.275-284, 2003.

LI, Z; ATLIN, G e WAN, J. Drought Tolerant Rice Cultivars for North China and South/Southeast Asia by Highly Efficient Pyramiding of QTLs from Diverse Origins. **A Proposal**. 27p, 2004.

LILLEY, J e FUKAI, S. Effect of timing and severity of water deficit on four diverse rice cultivars. I. Rooting pattern and soil water extraction. **Field Crops Research**, v.37, p.205–213. 1994.

LIU, S; WANG, J; WANG, L; WANG, X; XUE, Y, WU, P e SHOU, H. Adventitious root formation in rice requires *OsGNOM1* and is mediated by the *OsPINs* family. **Cell Research**, v.19, n.9, p.1110-1119, 2009.

LIVAK e SCHMITTGEN. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. **Methods**, v.25, p.402–408, 2001.

LÓPEZ, R; ARANDA, I e GIL, L. Osmotic adjustment is a significant mechanism of drought resistance in *Pinus pinaster* and *Pinus canariensis*. **Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales**, v.18, n.2, p.159-166, 2009.

LU, Z e NEUMANN, P Water-stressed maize, barley and rice seedlings show species diversity in mechanisms of leaf growth inhibition. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. 329, p.1945–1952, 1998.

LU, Z e NEUMANN, P. Water Stress Inhibits Hydraulic Conductance and Leaf Growth in Rice Seedlings but Not the Transport of Water via Mercury-Sensitive Water Channels in the Root. **Annals of Botany**, v.101, p. 901–907, 1999.

LYNCH, J. Root architecture and plant productivity. **Plant Physiology**, v.109: n.1, p.7–13, 1995.

MA, Y; LIU, L; ZHU, C; SUN, C; XU, B; FANG, J; TANG, J; LUO, A; CAO, S; LI, G; QIAN, Q; XUE, Y e CHU, C. Molecular analysis of rice plants harboring a multi-functional T-,DNA tagging system. **Journal of Genetics & Genomics**, v.36, n.5, p.267-276, 2009.

MAJEED, A; SALIM, M; BANO, A; ASIM, M e HADEES, M. Physiology and productivity of rice crop influenced by drought stress induced at different developmental stages. **African Journal of Biotechnology**, v.10, n.26, p.5121-5136, 2011.

MENG, Y; XIAOXIA, X; CHEN, D; WU, P e CHEN, M. Micro RNA-mediated signaling involved in plant root development. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.393, n.3, p.345–349, 2010.

MICHEL, B e KAUFMANN, M. The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 60001. **Plant physiology**, v.51, p.914-916, 1973.

MISTURA, Claudete. Variação fenotípica em caracteres associados ao sistema de raízes em plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.). 2008. 56p. **Dissertação, (Mestrado em Agronomia)** – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MOHAPATRA, S. Drought-proof rice for African farmers. **Rice Today**, p.41-42, 2009.

MOSTAJERAN A e RAHIMI-EICHI V. Effects of Drought Stress on Growth and Yield of Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars and Accumulation of Proline and Soluble Sugars in Sheath and Blades of Their Different Ages Leaves. **American-Eurasian Journal of Food Agriculture and Environment**, v.5, n.2, p.264-272, 2009.

MOUMENI, A; KOUJI, K; HIROAKI, H; ASANO, T; HOSAKA, A; RAMIAH, R; SERRAJ, R; KUMAR, A; LEUNG, H e KIKUCHI, S. Comparative analysis of root transcriptome profiles of two pairs of drought-tolerant and susceptible rice near-isogenic lines under different drought stress. **BMC Plant Biology**, v.11, n.174, 17p, 2011.

MUNNS, R; JAMES, R; SIRAUULT, X; FURBANK, R e JONES, H. New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water deficit. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n.13, p.3499–3507, 2010.

MUTHURAJAN, R; SHOBBAR, Z; JAGADISH, S; BRUSKIEWICH, R; ISMAIL, A; LEUNG, H e BENNETT, J. Physiological and Proteomic Responses of Rice Peduncles to Drought Stress. **Molecular Biotechnology**, 10p, 2010.

NASER, L; KOUROSH, V; BAHMAN, K e REZA, A. Soluble sugars and proline accumulation play a role as effective indices for drought tolerance screening in Persian walnut (*Juglans regia* L.) during germination. **Fruits**, v.65, p.97–112, 2010.

NEUMANN, P. Coping Mechanisms for Crop Plants in Drought-prone Environments. **Annals of Botany**, v.101, n.7, p.901–907, 2008.

ONO E; RODRIGUES J e PINHO S. Interação entre auxinas e ácido bórico no enraizamento de estacas caulinares de *cafeea arabica* L. CV mundo novo. **Sciencia agricola**, São Paulo, v.49, n.1, p.23-27, 1992.

ORMAN, B; LIGEZA, A; SZAREJKO, I e MALUSZYNSKI. Est-Based Approach for dissecting root Architecture in Barley using Mutant Traits of other Species *in* Costa de Oliveira, A. e Varshney, R.K. **Root Genomics**, Berlin, 2011. p.11-72.

PANDEY, S; BHANDARI, H; DING, S; PRAPERTCHOB, P; SHARAN, R; NAIK, D; TAUNK, S e SASTRI, A. Coping with Drought in Rice Farming in Asia: Insights from a Cross-Country Comparative Study. Invited paper prepared for presentation at the International Association of Agricultural Economists Conference, Gold Coast, Australia, 47p, 2006.

PIRDASHTI, H; SARVESTANI, Z e BAHMANYAR, M. Comparison of Physiological Responses among Four Contrast Rice Cultivars under Drought Stress Conditions. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v.49, p.52-53, 2009.

RAMYA, M; RAVEENDRAN, M; SATHIYAMOORTHY, S e RAMALINGAM, J. *In silico* analysis of drought tolerant genes in rice. **International Journal of Biological and Medical**, v.1, n.3, p.36-40, 2010.

REDILLAS, M; JEONG, J; KIM, Y; JUNG, H; BANG, S; CHOI, Y; HA, S; REUZEAU, C e KIM, J. The overexpression of *OsNAC9* alters the root architecture of rice plants enhancing drought resistance and grain yield under field conditions. **Plant Biotechnology Journal**, p.1–14, 2012.

REYNOLDS, M e TUBEROSA, R. Translational research impacting on crop productivity in drought-prone environments. **Current Opinion in Plant Biology**, v.11, n.2, p.171–179, 2008.

ROORKIWAL, M e SHARMA, P. Sequence similarity based identification of abiotic stress responsive genes in chickpea. **Biomedical Informatics**. Volume v.8, n.2, p.92:97, 2012.

SAEED, A; SHAROV, V; WHITE, J; LI, J; LIANG, W; BHAGABATI, N; BRAISTED, J; KLAPA, M; CURRIER, T; THIAGARAJAN, M; STURN, A; SNUFFIN, M; REZANTSEV, A; POPOV, D; RYLTSOV, A; KOSTUKOVICH, E; BORISOVSKY, I; LIU, Z; VINSAVICH, A; TRUSH, V e QUACKENBUSH J. TM4: a free, open-source system for microarray data management and analysis. **Biotechniques**, v.34, p.374–378, 2003.

SAFFAN, S. Effect of Salinity and Osmotic Stresses on Some Economic Plants. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v.4, n.2, p.159-166, 2008.

SERRAJ, R; MCNALLY, K; LOEDIN, I; KOHLI, A; HAEFELE, S; ATLIN, G e KUMAR, A. Drought Resistance Improvement in Rice: An Integrated Genetic and Resource Management Strategy. **Plant Production Science**, v.14, n.1: p.1—14, 2011.

SHEHAB, G; AHMED, O e EL-BELTAGI, H. Effects of Various Chemical Agents for Alleviation of Drought Stress in Rice Plants (*Oryza sativa* L.). **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, v.38, n.1, p.139-148, 2010.

SHESHSHAYEE, M; ABOU-KHEIR, E; ROHINI, S; SRIVASTAVA, N; MOHANRAJU, B; NATARAJA, K; PRASAD, T.G e UDAYAKUMAR, M. Phenotyping for root traits and their improvement through biotechnological approaches for sustaining crop productivity in Costa de Oliveira, A. e Varshney, R.K. **Root Genomics**. Ed. Springer. Berlin, 2011. p.205-23,

SONG, Y; YOU, J e XIONG, L. Characterization of OsIAA1 gene, a member of rice Aux/IAA family involved in auxin and brassinosteroid hormone responses and plant morphogenesis. **Plant Molecular Biology**, v.70, n.3, p.297–309, 2009.

SOREN, K; ALI, K; TYAGI, V; TYAGI, A. Recent advances in molecular breeding of drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). **Indian Journal of Biotechnology**, v.9, p. 233-251, 2010.

SORRELLS, M; A. DIAB, A e NACHIT, M. Comparative genetics of drought tolerance. **CIHEAM - Options Mediterraneennes**, p.191-201, 2011.

SULTAN, M; HUI, L; YANG, L e XIAN, Z. Assessment of Drought Tolerance of Some *Triticum* L. Species through Physiological Indices. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.48, n.4, p.178–184, 2012.

TAIZ, L e ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, n. 3. 719p, 2004

TAKEUCHI, K, GYOHDA, A; TOMINAGA, M; KAWAKATSU, M; HATAKEYAMA, A; ISHII, N; SHIMAYA, K; NISHIMURA, K; RIEMANN, M; NICK, P; HASHIMOTO, M; KOMANO, T; ENDO, A; OKAMOTO, T; JIKUMARU, Y; KAMIYA Y; TERAOKA, T e TOMOKAZU, T; RSOsPR10 Expression in Response to Environmental Stresses is Regulated Antagonistically by Jasmonate/Ethylene and Salicylic Acid Signaling Pathways in Rice Roots. **Plant cell physiology**, v.52, n.9, p.1686–1696, 2011.

TUBEROSA, R e SALVI, S. Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. **TRENDS in Plant Science**, v.11, n. 8, p.406-412, 2006.

USDA. Grain:World Markets and Trade. 55p. 2013. Disponível em <http://usda01.library.cornell.edu/usda/current/grain-market/grain-market-02-08-2013.pdf>, acessado em 22-02-2013.

VAJRABHAYA, M; KUMPUN, W e CHADCHAWAN, S. The Solute Accumulation: The Mechanism for Drought Tolerance in RD23 Rice (*Oryza sativa* L.) Lines. **Science Asia**, v.27, p.93-97, 2001.

VERSLUES, P e JUENGER, T. Drought, metabolites, and Arabidopsis natural variation: a promising combination for understanding adaptation to water-limited environments. **Current Opinion in Plant Biology**, v.14, p.240–245, 2011.

VIKRAM, P; SWAMY, B; DIXIT, S; AHMED, H; STA CRUZ, M; SINGH, A e KUMAR, A. qDTY1.1, a major QTL for rice grain yield under reproductive-stage drought stress with a consistent effect in multiple elite genetic backgrounds. **BMC Genetics**. v.12, n.89, 15p, 2011.

VINOD, M; SHARMA, N; MANJUNATHA, K; KANBAR, A; PRAKASH, N e SHASHIDHAR, H. Candidate genes for drought tolerance and improved productivity in rice (*Oryza sativa* L.); **Journal of Biosciences**, v.31, p.69–74, 2006.

WAN,L; ZHANG, J; ZHANG, H; ZHANG, Z; QUAN, R; ZHOU, S e HUANG, R. Transcriptional Activation of *OsDERF1* in *OsERF3* and *OsAP2-39* Negatively Modulates Ethylene Synthesis and Drought Tolerance in Rice, **PLoS ONE**, v.6, n.9,14 p, 2011.

WANG, H; ZHANG, H e LI, Z. Analysis of Gene Expression Profile Induced by Water Stress in Upland Rice (*Oryza sativa* L. var. IRAT109) Seedlings using Subtractive

Expressed Sequence Tags Library. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.49, n.10, p.1455–1463, 2007.

WANG, X; HE, F; MA, X; MAO, C; Hodgman, C; Lu, C e Wu, P. *OsCAND1* Is Required for Crown Root Emergence in Rice. **Molecular Plant**, v.4, n.2, p.289–299, 2011.

WANG, X; ZHU, J; MANSUETO, L e BRUSKIEWICH, R. Identification of candidate genes for drought stress tolerance. **University of Science**, 6B, v.5, p.382-388, 2005.

Yan, S; Tang, Z; Su, W e Sun, W. Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in rice root. **Proteomics**, v. 5, n.1, p.235–244, 2005;

YANG, X; LI, Y; REN, B; DING, L; GAO, C; QIRONG, Q e GUO, S. Drought-Induced Root Aerenchyma Formation Restricts Water Uptake in Rice Seedlings Supplied with Nitrate. **Plant cell physiology**, v.53, n.3, p.495–504, 2012.

ZHANG, L; GAO, M; HU 1, XIFENG, J; ZHANG, X; KAI WANG, K e ASHRAF , M. Modulation Role of Abscisic Acid (ABA) on Growth, Water Relations and Glycinebetaine Metabolism in Two Maize (*Zea mays* L.) Cultivars under Drought Stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v.13, p.3189-3202, 2012.

ZHANG, S; LI, C; CAO, J; ZHANG, Y; ZHANG, S; XIA, Y; SUN, D e SUN, Y. Altered Architecture and Enhanced Drought Tolerance in Rice via the Down-Regulation of Indole-3-Acetic Acid by TLD1/OsGH3.13 Activation. **Plant Physiology**, v. 151, p.1889–1901, 2009.

ZOMBORI, Z; JANCSÓ, M; ZVARA, Á; PAUK, J e GYÖRGYÉY; J. Investigation of the effect of drought stress on the rice Transcriptome. **Acta Biologica Szegediensis**, v.52, n.1, p.143-145, 2008.

Biografia

Frederico Pedro Madabula, Engenheiro Agrônomo pela Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal da Universidade Eduardo Mondlane (FAEF – UEM). Nascido aos nove de julho de 1980 na cidade de Maputo, de nacionalidade moçambicana. Em agosto de 2001 inicia o seu curso em ciências agronômicas tendo concluído as disciplinas curriculares em Junho de 2005, a partir de março de 2005 iniciou o seu estágio no Centro de Biotecnologia da UEM, que culminou com a apresentação do seu projecto final com o tema “*Análise da Aplicação da Técnica de Electroforese em Tecidos vegetais*”, aos 20 de abril de 2006, sendo-lhe atribuído o título de engenheiro agrônomo. Em Novembro de 2006 ingressa no Instituto de Investigação Agrária de Moçambique (IIAM), onde foi afeto no Laboratório de Cultura de Tecidos, desde então dedicou-se a multiplicação *in vitro* nas culturas de banana, batata, batata doce, batata africana e mandioca. Em 2007 foi treinado em cultura de tecidos e análise de carotenoide totais na batata doce, no Centro Internacional da Batata em Peru-Lima e tendo posteriormente estabelecimento dessas atividades no Laboratório de Cultura de tecidos do IIAM. Em 2008 no âmbito do programa *Generation Challenge Program* participou no estudo da Caracterização Molecular da Mandioca, no laboratório do Instituto Internacional da Agricultura Tropical na *Bioscience in East and Central Africa – BecA*, em Nairobi. Em 2010 candidata-se para a bolsa de estudo no âmbito do convênio firmado entre o Ministério de Ciência e Tecnologia de Moçambique e o Ministério de Ciência e Tecnologia do Brasil, coordenadas pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico. Em março de 2011, sob orientação do prof. Antônio Costa De Oliveira, inicia o mestrado em Biotecnologia na Universidade Federal de Pelotas seguido a linha de pesquisa de melhoramento vegetal, trabalhando com a cultura do arroz.