

13. ISOLAMENTO DE PARCELAS NA PREVENÇÃO DE FLUXO GÊNICO EM *Oryza sativa* L.

Rubens Marschalek¹⁹, Jaqueline Nogueira Muniz²⁰, Fabiani da Rocha²¹, Samuel Batista dos Santos²²

Palavras chave: taxa de cruzamento, arroz, hibridação

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma espécie vegetal que, na sua forma domesticada, é autógama quase absoluta, pois a deiscência das anteras, liberando o pólen, inicia-se um pouco antes da abertura da lema e da pálea, fazendo com que este caia diretamente sobre o estigma receptivo (tendendo à cleistogamia) (GONZÁLEZ et al., 1985; MOLDENHAUER & GIBBONS, 2003; SLEPER & POEHLMAN, 2006). A taxa de fertilização cruzada em arroz tem diferentes estimativas, variando de 1 a 4 % (MOLDENHAUER & GIBBONS, 2003), de 0 a 3% (média de 0,50%) (SLEPER & POEHLMAN, 2006), e de 0,76% a 0,90% (GEALY et al., 2003; ZHANG et al., 2003; REANO & PHAM, 1998). Há, no entanto, relatos de taxas superiores a 50% quando se considera o arroz vermelho ou outras espécies do gênero *Oryza* (VAUGHAN & MORISHIMA, 2003), embora em outros estudos com arroz vermelho, esta taxa tenha ficado entre 0,14 a 0,48% (NOLDIN et al., 2002). Gealy & Estorninos Jr. (2008) obtiveram taxas de cruzamento entre arroz vermelho e cultivado variando de 0,007% (para cultivares de arroz tardias) a 0,25% (para cultivares precoces). Embora as taxas de cruzamento em arroz revelem-se baixas, a literatura registra cruzamentos em distâncias de até 110m (SONG et al. 2004).

O relato, por parte de produtores e técnicos, do aparecimento ocasional de genótipos atípicos (distintos da cultivar implantada na área) em lavouras catarinenses de sementes certificadas gerou a necessidade de se averiguar a razão disto. Uma das possibilidades seria a ocorrência de cruzamentos na produção de sementes genéticas e básicas. No entanto, não se descarta a possibilidade de que estas plantas atípicas possam provir de contaminações presentes na semente (misturas varietais-mecânicas), ou mesmo, de sementes remanescentes de lavouras anteriores.

A manutenção da pureza das linhagens de arroz e a condução segura das etapas do melhoramento dependem de informações mais seguras quanto ao fluxo gênico (taxa de fecundação cruzada). Assim, o objetivo desta pesquisa foi verificar se a distância de três metros, atualmente usada no estabelecimento das parcelas de semente genética, e o uso de linhas de bordadura, são medidas suficientes para isolar reprodutivamente o arroz. A hipótese é de que o fluxo gênico é praticamente anulado com este distanciamento ou com o uso de linhas de bordadura.

MATERIAL E MÉTODOS

Para constatar o cruzamento entre plantas de arroz usou-se como genitor masculino plantas do acesso “Roxo” (nº 54 do BAG de Arroz da Epagri), com o caráter marcador dominante-parcial “planta pigmentada” (cor roxa ou ‘purple leaf’), o mesmo usado por Song et al. (2004) e Reano e Pham (1998). Como genitor feminino, foi usada a cultivar Epagri 107, que apresenta cor de folha (planta) verde. Ambos os genótipos têm data de florescimento aproximada de 97 a 98 dias após semeadura. O intuito foi verificar quantas plantas arroxeadas surgiriam na descendência, portanto, resultantes de cruzamento, e quantas seriam verdes, por conseguinte, oriundas da autofecundação na Epagri 107.

A estimativa da taxa de cruzamento foi idealizada em duas situações complementares, o que resultou na elaboração de dois ensaios conduzidos paralelamente, em duas repetições. No primeiro ensaio (1), o genótipo Roxo foi colocado no centro das parcelas, como polinizador, sendo distanciados do genótipo genitor feminino (Epagri 107: receptora do pólen) pela distância de três metros de lâmina

¹⁹ Eng. Agr. Dr., Epagri-Estação Experimental de Itajaí, C.P. 277, 88301-970, Itajaí, SC, Brasil, fone (47)33415224, e-mail rubensm@epagri.sc.gov.br

²⁰ Bióloga (ex-bolsista do CNPq no Projeto do Processo 507396/2004-9 Edital CNPq 014/2004)

²¹ Eng. Agr., mestranda UDESC/CAV

²² Assistente de Pesquisa (Téc. Agr.): Epagri-Estação Experimental de Itajaí

de água sem vegetação (tratamento A – Figura 1). No tratamento B, não foi deixado distanciamento entre estes genótipos (Figura 1). Este ensaio foi transplantado em 27-9-2006, sendo que no centro das parcelas foram plantadas (escalonadamente) 12 plantas roxas (para assegurar provisão de pólen). O escalonamento deu-se de forma que quatro sementes da cultivar roxa foram semeadas uma semana antes da Epagri 107, outras quatro foram semeadas junto com a mesma, e as últimas quatro foram semeadas uma semana após a semeadura da Epagri 107. As plantas “Roxo” iniciaram o florescimento em 22-12-06. Plantas de Epagri 107 foram colhidas individualmente em 1-2-2007, num esquema radial equidistante conforme mostra a Figura 1.

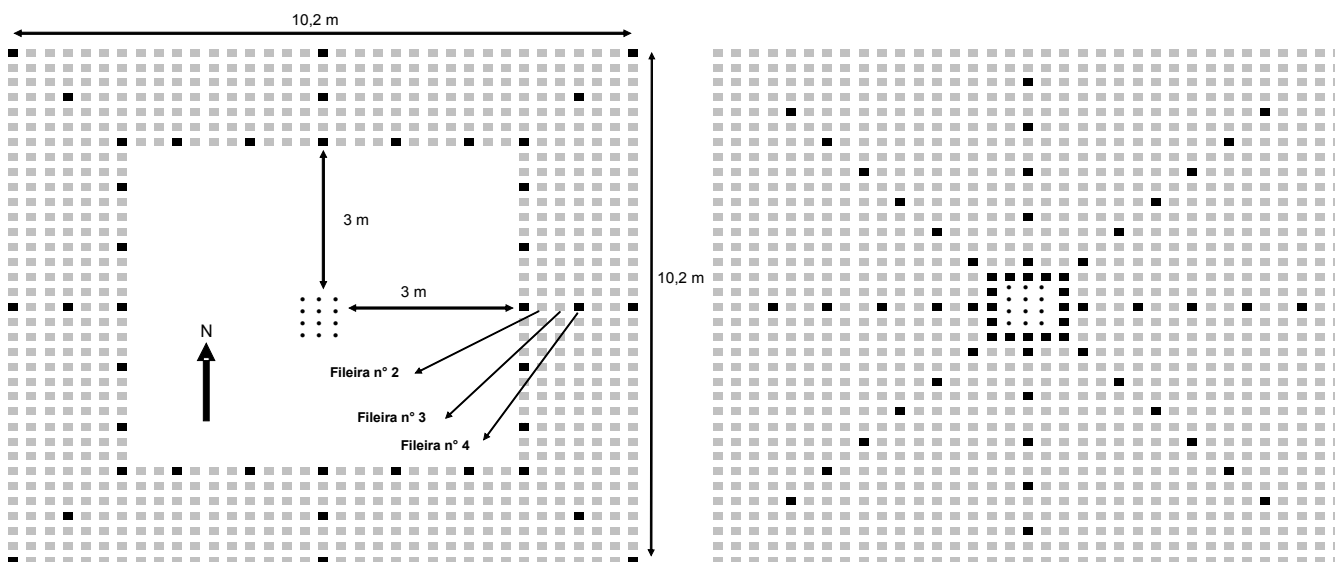


Figura 1: Esquema geral do Ensaio 1 (croqui) com a demonstração de plantio do Tratamento “A” (a esquerda), com isolamento de 3 m (retângulos em cinza são plantas de Epagri 107; os em cor preta, são as plantas de Epagri 107 colhidas); e do Tratamento “B” (a direita), sem isolamento. Os 12 pontos no centro das parcelas representam as plantas da cultivar ‘Roxo’ (no Ensaio 1), ou ‘Epagri 107’ (no Ensaio 2, e, neste caso, as plantas colhidas são somente as plantas centrais de Epagri 107).

Num segundo ensaio (2), inverteu-se a posição dos genótipos no esquema experimental. A cultivar Epagri 107 foi colocada no centro das parcelas, igualmente com a finalidade de ser a receptora de pólen. Esta foi então, cercada de plantas da cultivar Roxo (polinizadora), ora distanciada em três metros sem vegetação (tratamento A), ora sem este distanciamento (tratamento B). O ensaio foi transplantado em 11-10-2006, sendo o centro da parcela ocupado por 12 plantas de Epagri 107 semeadas escalonadamente para que houvesse, durante tempo considerável, espiguetas receptivas ao pólen circunvizinho (Roxo). Por ocasião da maturação dos grãos, optou-se pela colheita de apenas 7 a 8 plantas, dentre as 12 de Epagri 107, cujos florescimentos coincidiram em maior grau com o florescimento do Roxo, ocorrido em 9-1-2007.

Em ambos os ensaios, excetuando-se as plantas do centro das parcelas, que foram transplantadas manualmente, as restantes foram transplantadas com transplantadeira motorizada de 6 linhas, ajustada para o espaçamento de 0,30 x 0,15m. A adubação e demais tratos culturais seguiu as recomendações do ‘Sistema de Produção de Arroz Irrigado em Santa Catarina (EPAGRI, 2005)’. Condições meteorológicas no período de 22-12-06 a 10-01-07, época do florescimento nos dois ensaios, foram as seguintes: 88,2 mm de precipitações pluviométricas; umidade relativa média no período, de 78,3%; e ventos numa velocidade média de 8,22 km/h (Fonte: Epagri-Ciram).

As sementes (progênie), de cada planta de Epagri 107 previamente marcada e colhida (Figura 1), foram semeadas em julho de 2007 e também em agosto de 2008, em casa de vegetação, para verificar a porcentagem de surgimento de plantas arroxeadas, que sinalizariam a ocorrência de cruzamento. Foram assim geradas, por Ensaio, quatro taxas médias de cruzamento, referentes aos dois tratamentos (A e B) em duas repetições. Compararam-se pois, as médias dos tratamentos A e B.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dois ensaios originaram taxas de cruzamento aparentemente conflitantes (Tabela 1). No Ensaio 1, o isolamento de três metros foi ineficaz para reduzir a taxa de cruzamentos, quando comparado à falta de isolamento. Já no Ensaio 2, o isolamento de três metros desempenhou significativo papel na redução da fração detectável do fluxo gênico. O isolamento na distância de 3 metros reduziu a fecundação cruzada em 60,75% (de 0,0328% para 0,0128%) no Ensaio 1, o que todavia não foi uma redução significativa, e em 86,50% (de 0,7069% para 0,0954%) no Ensaio 2, o que é uma redução significativa estatisticamente, indicando que o isolamento tende a ser efetivo, mesmo que a distância mencionada ainda seja insuficiente para reduzir a zero o fluxo gênico.

Reano & Pham (1998), utilizando o mesmo marcador (cor arroxeadada de planta), não encontraram híbridos entre 600 a 900 sementes testadas em parcelas separadas de 1,5 m. Concluem os autores, que o fluxo gênico, caso presente, estaria ocorrendo em taxas menores que 0,08%, que foi a menor taxa encontrada pelos autores (por isso não teria sido detectado) o que condiz com o valor, também muito baixo (0,0128%) encontrado no presente estudo para genótipos isolados (Tabela 1, Ensaio 1).

Tabela 1. Número de plântulas avaliadas e porcentagem de plântulas arroxeadas (cruzamento) nos ensaios 1 (Roxo no centro e Epagri 107 na circunvizinhança) e 2 (Epagri 107 no centro e Roxo na circunvizinhança), com (A) e sem isolamento (B) de três metros de lâmina de água sem cobertura vegetal.

	ENSAIO 1 ¹				ENSAIO 2 ²			
	Com isolamento (A)		Sem isolamento (B)		Com isolamento (A)		Sem isolamento (B)	
	Plântulas (n°)	Cruzamento (%)	Plântulas (n°)	Cruzamento (%)	Plântulas (n°)	Cruzamento (%)	Plântulas (n°)	Cruzamento (%)
Repet.n° 1	65.315	0,0138	26.018	0,0423	14.371	0,0904	11.008	0,6813
Repet.n° 2	83.374	0,0120	29.951	0,0234	16.916	0,1005	10.920	0,7326
Média		0,0128³		0,0328³		0,0954⁴		0,7069⁴
Repet.n° 1 ⁵	53.379	0,0	70.531	0,0				
Repet.n° 2 ⁵	62.712	0,0	75.508	0,0				

^{1/} Dados obtidos das sementes colhidas, radialmente, das plantas mais próximas à fonte de pólen: no caso das parcelas isoladas pela faixa de 3m, estas plantas estavam a 3m da fonte de pólen; no caso das parcelas sem isolamento, estas plantas estavam a 0,3m das plantas doadoras de pólen (distância igual a do espaçamento).

^{2/} Dados obtidos das sementes colhidas no centro da parcela, isto é, sementes das plantas de Epagri 107.

^{3/} Diferença não significativa para a porcentagem de cruzamentos nas parcelas isoladas e sem isolamento ($F=4,41$, $p=0,17$; $CV=41,54\%$).

^{4/} Diferença significativa para a porcentagem de cruzamentos nas parcelas isoladas e sem isolamento ($F=547,82$, $p=0,0018$; $CV=6,51\%$).

^{5/} Obtidas da totalidade das sementes das plantas localizadas, radialmente a 3,9 m (fileira n° 4) e 4,8m (fileira n° 7) do centro da parcela, nas parcelas com isolamento; e nas localizadas radialmente em torno do centro da parcela, em distâncias de 0,6m, 1,5m, 2,4m, 3,3m, 4,2m e 5,1m, nas parcelas sem isolamento.

Embora a comparação direta denote resultados conflitantes, é preciso considerar a complementaridade dos ensaios. No primeiro ensaio, a situação reflete a presença de plantas contaminantes (doadoras de pólen), em meio a um grande grupo de plantas receptoras de pólen, ou seja, quanto de fluxo gênico seria esperado com 'baixa pressão' de pólen contaminante. Já no segundo ensaio, a situação se inverte, e as plantas receptoras estão sujeitas a uma 'alta pressão' de pólen contaminante. O Ensaio 2 tem maior similaridade com a situação que este estudo se propôs a investigar, qual seja o plantio próximo de diferentes genótipos em áreas de produção de semente genética. Assim considerando, o uso da faixa de isolamento de três metros sem plantas, entre os genótipos envolvidos, torna-se eficiente na redução do fluxo gênico, todavia, não o inibindo por completo, o que seria imprescindível na produção de semente genética. Este fluxo, no entanto, poderia ter sido impedido por plantas de bordadura, o que não pode ser avaliado no Ensaio n° 2, visto que o desenho experimental, neste caso, não possibilitou isto. No entanto, no Ensaio 1 o efeito de linhas de bordadura pôde ser avaliado, sendo que neste caso o fluxo gênico foi nulo nas plantas isoladas por lâmina de água, localizadas da fileira n°4 (a 3,9m a partir do centro da parcela), e naquelas da fileira n° 7 (a 4,8m de distância do centro da parcela, isto é, a 4,8 m do polinizador). De maneira semelhante, nas parcelas sem o isolamento de lâmina de água, não se constatou fluxo gênico nas plantas situadas à 0,6m, ou mais, da fonte de pólen (centro da parcela). Assim, o uso e posterior descarte de linhas de bordadura talvez seja

uma estratégia mais eficiente na interrupção do fluxo gênico, que o isolamento de parcelas por meio de áreas de lâmina de água destituídas de vegetação.

CONCLUSÃO

Nas condições catarinenses de 2006/2007 o isolamento por área de lâmina d'água isenta de vegetação não impediu o fluxo gênico entre plantas de arroz, quando estas estavam distanciadas em até três metros, levando à taxas de fecundação da ordem de 0,0128% a 0,0954%

Plantas de arroz em linha (bordadura) atuam como barreira eficiente à dispersão do pólen do próprio arroz.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo apoio a este trabalho por meio da Bolsa concedida ao Processo 507396/2004-9, Edital 014/2004. Ao Prof. Dr. Jefferson Luís Meirelles Coimbra, CAV/UEDESC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EPAGRI. **Sistema de produção de arroz irrigado em Santa Catarina**. 2.ed. Florianópolis, 2005. 87p. (Epagri. Sistemas de Produção, 32).

GEALY, D.R.; ESTORNINOS Jr., L.E.. Use of SSR Markers to discern reciprocal outcrossing rates between weedy red rice types and rice cultivars having different degrees of flowering synchronization. In: RICE TECHNICAL WORKING GROUP, 32., San Diego. **Proceedings...** Crowley: Louisiana State University Agricultural Center, 2008, p.147.

GEALY, D.R.; MITTEN, D.H.; RUTGER, J.N. Gene flow between red rice (*Oryza sativa*) and herbicide-resistant rice (*O. sativa*): implications for weed management. **Weed Technology**, v.17, n.3, p.627-645, 2003.

GONZÁLEZ, J.; ROSERO, M.; ARREGOCÉS, O. Morfología de la planta de arroz. In: **Arroz: Investigación y producción**. Cali, CIAT, 1985. p.65-80

MOLDENHAUER, K.A.K.; GIBBONS, J.H. Rice morphology and development. In: SMITH, C.W.; DILDAY, R.H. **Rice**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2003. p.122-123.

NOLDIN, J.A.; YOKOYAMA, S.; ANTUNES, P.; LUZZARDI, R. Potencial de cruzamento natural entre arroz transgênico resistente ao herbicida glufosinato de amônio e o arroz daninho. **Planta Daninha**, v.20, n.2, p.243-251, 2002.

REANO, R., PHAM, J.L. Does cross-pollination occur during seed regeneration at the International Rice Genebank?

International Rice Research Notes, v.23, p.5-6, 1998. Disponível em: <http://www.irri.org/publications/irrn/pdfs/vol23no3/IRRN23-3.pdf>. Acesso em: 06 mes 2009.

SLEPER, D.A.; POEHLMAN, J.M. Breeding Rice. In: SLEPER, D.A.; POEHLMAN, J.M. **Breeding Field Crops**. Ames: Blackwell Publ., 2006. p.239-257.

SONG, Z.P., LU, B.R., CHEN, J.K.. Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions. **Biodiversity and Conservation**, v.13, p.579-590, 2004.

VAUGHAN, D.A., MORISHIMA, H. Biosystematics of the genus *Oryza*. Chapter 1.2. In: SMITH, C.W.; DILDAY, R.H., eds. **Rice. Origin, History, Technology, and Production**. Hoboken: John W. and Sons, 2003. p 27-65.

ZHANG, N.; LINScombe, S.; OARD, J. Out-crossing frequency and genetic analysis of hybrids between transgenic glufosinate herbicide-resistant rice and the weed, red rice. **Euphytica**, v.130, n.1, p.35-45, 2003.